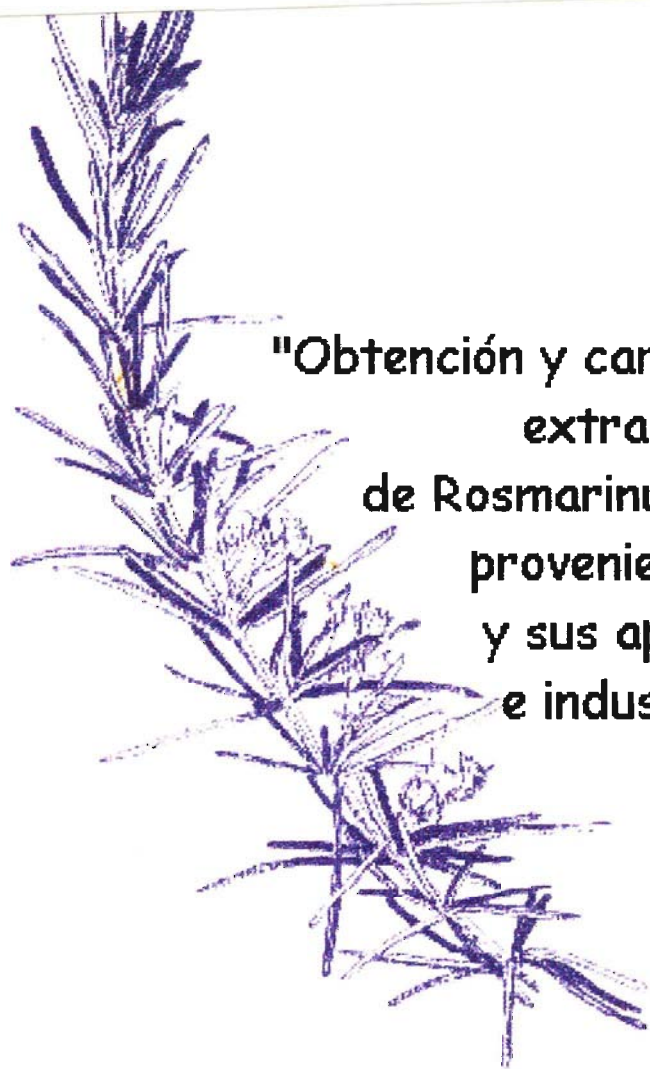




**"Obtención y caracterización de aceites esenciales,
extracto seco y materia seca
de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*,
provenientes de cultivos orgánicos
y sus aplicaciones en postcosecha
e industrialización de alimentos"**

Primera Presentación de Resultados

Quillota, 19 de Noviembre de 2002

EQUIPO DE INVESTIGACIÓN

Gabriela Verdugo Ramírez

Ingeniero Agrónomo M. Sc

Docente Facultad de Agronomía Universidad Católica de Valparaíso

Directora Proyecto

José Antonio Olaeta Coscorroza

Ingeniero Agrónomo

Docente Facultad de Agronomía Universidad Católica de Valparaíso

Director Alterno

Ligia Morend Valdebenito

Ingeniero Agrónomo

Facultad de Agronomía Universidad Católica de Valparaíso

Investigadora

Carolina Fredes González

Ingeniero Agrónomo

Facultad de Agronomía Universidad Católica de Valparaíso

Investigadora

Silvana Cortés

Alumna Tallerista Proyecto

Facultad de Agronomía Universidad Católica de Valparaíso

Pilar Pérez

Alumna Tallerista Proyecto

Facultad de Agronomía Universidad Católica de Valparaíso

Alejandro Olivares

Alumno Tallerista Proyecto

Facultad de Agronomía Universidad Católica de Valparaíso

PRESENTACIÓN

La primera presentación de resultados del proyecto "Obtención y caracterización de aceites esenciales, extracto seco y materia seca de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*, provenientes de cultivos orgánicos y sus aplicaciones en postcosecha e industrialización de alimentos" tiene como objetivo dar a conocer a profesionales y empresarios del rubro agrícola afines con la producción orgánica los avances técnicos en la investigación, relacionados con la variación de los compuestos antioxidantes (ácido rosmarínico, ácido carnósico y ácido ursólico) en romero durante las estaciones del año, los contenidos de aceites esenciales y contenidos de principios antimicrobianos (timol y carvacrol) en tomillo en primavera e invierno y los ensayos en postcosecha e industrialización que se han formulado para espárragos, radicchios y productos mínimamente procesados como pulpa de palta y chirimoya.

La presente investigación esta siendo financiada por la Fundación para la Innovación Agraria y la Universidad Católica de Valparaíso. Las actividades se han realizado en las instalaciones de la Facultad de Agronomía de esta casa de estudios superiores en Quillota a partir de noviembre del año 2000 y se ha contado con la colaboración del Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Técnica Federico Santa María para los análisis químicos y con el Laboratorio Ximena Polanco para la obtención de extracto seco.

RESUMEN Y AVANCES DE LA PROPUESTA

El Proyecto "Obtención y caracterización de aceites esenciales, extracto seco y materia seca de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*, provenientes de cultivos orgánicos y sus aplicaciones en postcosecha e industrialización de alimentos", tiene como objetivo general caracterizar los componentes químicos con capacidad antiséptica en tomillo y antioxidante en romero, de plantas seleccionadas en la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso y aplicarlos en postcosecha y conservación de productos hortícolas, para ver su efecto y utilidad.

La importancia de la investigación radica en que estas especies son fuentes naturales de compuestos que pueden sustituir sustancias sintéticas de riesgo para la salud y empleadas con frecuencia en los alimentos.

El material vegetal empleado proviene de la anterior investigación: "Desarrollo de la producción de plantas medicinales y aromáticas", UCV-FIA, código 014/94, que finalizó en agosto de 1999. Estas especies se eligieron para seguir investigando por el gran potencial de uso industrial que poseen y las buenas características de su aceite esencial y de cultivo agronómico. En esa oportunidad la selección clonal de romero obtuvo rendimientos de aceite esencial entre 3,7-4,2 % sobre peso seco (28 % de cineol, 32 % de camfor, 1,2 % de borneol) mediante arrastre con vapor. En el caso del cultivo de tomillo el rendimiento fue de 1,25 % de aceite esencial sobre peso seco (48 % de timol/carvacrol). Ambas especies superaron el mínimo aceptado por la Farmacopea Europea (Pharm. Eur.1997). En romero, los rendimientos obtenidos de materia seca fueron de 7.000 k/ha (55.000 plantas por hectárea). En tomillo, los rendimientos de materia seca obtenidos fueron de 5.000 k/ha (base en planta seca, 55.000 plantas por hectárea).

La investigación fue planeada para 31 meses, con fecha de inicio noviembre de 2000 y de término mayo de 2003.

Se ha investigado clones de romero y tomillo, seleccionados por su calidad fitoquímica, realizando un seguimiento de su fenología y curva de composición química, a partir de materia prima seca, aceite esencial y extracto seco.

Para romero, a partir de material vegetal de plantas establecidas en 1997, se ha caracterizado los contenidos de ácido rosmarínico y ácido carnósico por medio de Cromatografía líquida con detector ultravioleta (HPLC-UV) y ácido ursólico por medio de gravimetría para las cuatro estaciones del año.

Basados en que los principios aromáticos pueden fluctuar en los diferentes estados fenológicos (follaje, inicio floración y plena floración) se está analizando los contenidos de aceites esenciales en estos tres estados a través del año.

Con el objetivo de aproximarse a un producto con valor agregado en base a romero se ha realizado la obtención de un extracto seco a partir de la tecnología spray dry, cuya composición ha sido analizada por un período de tres meses con el fin de determinar su estabilidad. El spray dry para la obtención de extracto seco fue elegida por corresponder a una técnica muy utilizada en farmacia por su inocuidad.

Para verificar el poder antioxidante sobre grasas y compararlo con un producto importado formulado en base a extracto de romero se realizará una prueba en Rancimat (capacidad anti ranciedad en grasas) para el extracto obtenido. Estas pruebas se complementarán con su utilización en postcosecha de frutas y hortalizas donde ha sido poco estudiado.

Para tomillo, la investigación se inició con la selección de un clon, el que fue propagado vegetativamente en primavera y otoño. Sobre plantas establecidas de 9 meses, se obtuvo material vegetal para la obtención de aceite esencial por medio de destilación con arrastre de vapor.

Los contenidos de aceites esenciales han sido caracterizados en dos épocas, lo cual se debe completar para todo el año.

Su capacidad antiséptica se medirá sobre postcosecha de frutas y hortalizas con mínimo procesamiento (alimentos de 4° gamma).

RESULTADOS

Para determinar la composición química y porcentaje de aceites esenciales en tomillo bajo tres épocas de cosecha (verano-otoño, invierno y primavera) y dos estados fenológicos (follaje y plena floración), se estimó dos floraciones durante una temporada de crecimiento. Frente a estos sucesos, se ha obtenido materia fresca, materia seca y aceite esencial para determinar las fluctuaciones en los contenidos de Timol y Carvacrol en los distintos estados fenológicos de esta especie.

Estas mediciones se han realizado durante el verano e invierno, quedando la de primavera.

Los resultados de verano-otoño indicaron un promedio de 1.35% de aceite esencial (extraído de hierba seca con un 14% de humedad). Para plantas con follaje, los contenidos de timol fueron de 23.3 % y de carvacrol de 1% y para plantas en floración de 24% y 1.43%, respectivamente.

Los resultados de invierno indicaron un promedio de 1.18% de aceite esencial (extraído de hierba seca con un 23% de humedad). Para plantas con follaje, los contenidos de timol fueron de 2.7 % y de carvacrol de 0.13% y para plantas en floración de 2.63% y 0.2%, respectivamente.

De acuerdo a lo anterior, en invierno se observa una drástica disminución de los contenidos de timol y carvacrol en el aceite esencial. Esto se puede deber a que las muestras fueron extraídas durante una época de bajas temperaturas y alta pluviometría.

En ambas épocas, el compuesto predominante fue un tipo de terpineol, cuyo potencial antiséptico sería inferior al timol y carvacrol. Por lo tanto, cabe destacar que el clon analizado no es del tipo Timol.

Las muestras de primavera podrían aclarar la situación actual presentada.

Para evaluar el uso de tomillo como antiséptico se seleccionaran diferentes productos hortofrutícolas susceptibles principalmente a *Erwinia carotovora*, basados en la acción antimicrobiana del timol y carvacrol sobre esta bacteria. Esta parte de la investigación se está realizando en las instalaciones del laboratorio de postcosecha e industrialización de la Facultad de Agronomía.

Para postcosecha de frutas; los sustratos potenciales serán limones y chirimoyas.

Para postcosecha de hortalizas; los sustratos potenciales serán espárragos, radicchios y lechugas.

Para conservación de alimentos mínimamente procesados; los sustratos serán apio troceado y pulpa de palta.

Estos sustratos podrán ser modificados de manera de ajustarse a los productos utilizados por la(s) empresa(s) participantes.

Las variables a medir serán presencia de microorganismos, síntomas de pudrición, cambios de color y aroma en los sustratos correspondientes.

Para complementar dichas observaciones se realizarán análisis de calidad (nivel de jugos, % ácido ascórbico, color y sólidos solubles) y enzimáticas.

Para caracterizar los principales componentes químicos de la materia fresca, materia seca en romero durante el año y de aceites esenciales de acuerdo a su floración se consideró que el romero es una especie siempre viva, lo que facilita su cosecha durante todo el año.

Frente a esto, se obtuvo materia fresca y seca en los meses de enero, mayo, julio y noviembre.

Para la materia fresca y seca (obtenida por medio de secado artificial a 35°C, 48 horas) se analizó químicamente los contenidos de los siguientes compuestos:

Ácido carnósico (carnosic acid)

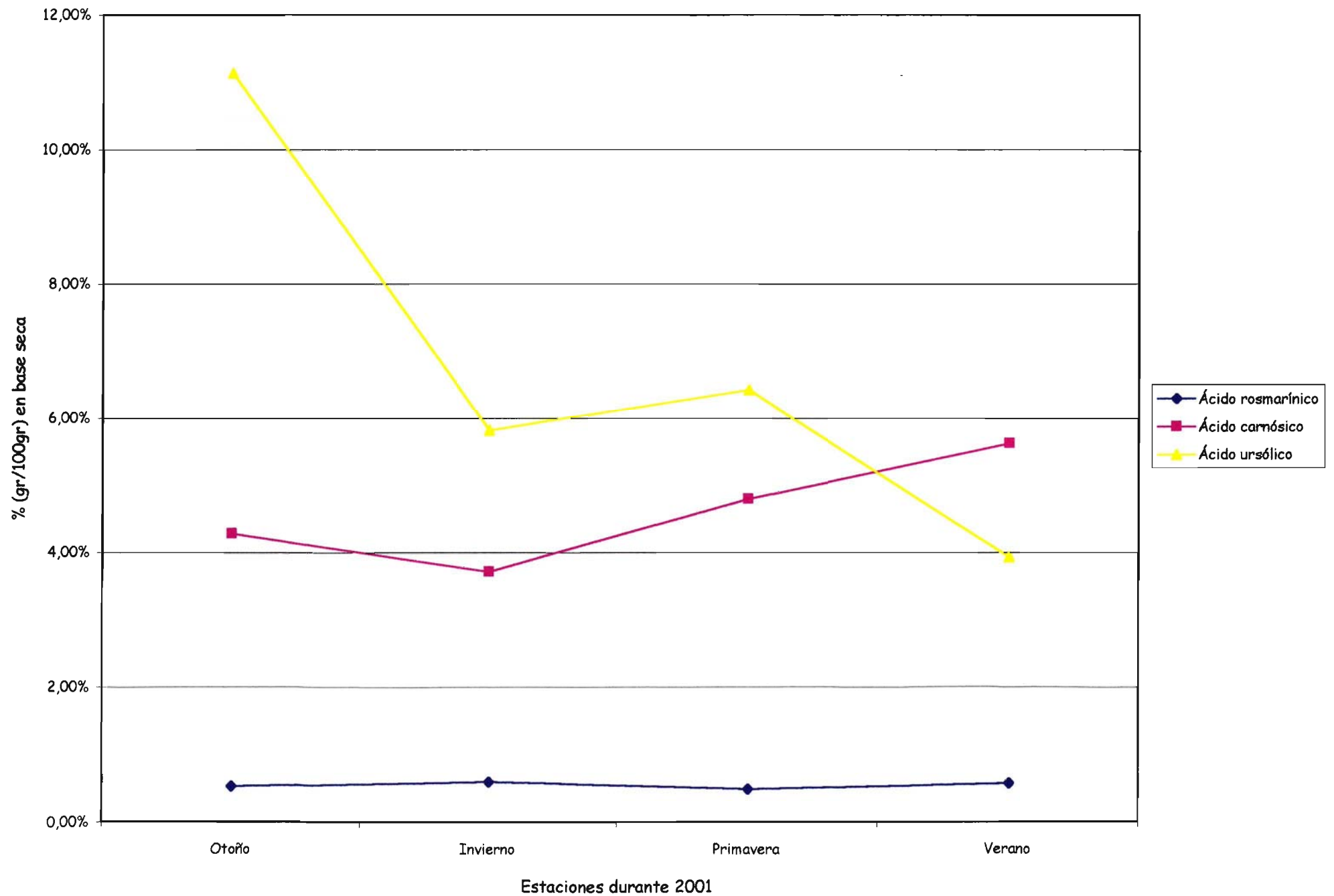
Ácido rosmarínico (rosmarinic acid)

Ácido ursólico (ursolic acid)

Las variaciones de estos compuestos se observan en la Figura 1.

Para romero se ha estimado tres floraciones durante el año, se ha cosechado materia fresca durante el verano, otoño y primavera en follaje, inicio de floración y plena floración. La obtención de aceites esenciales a partir de los tres diferentes estados ha sido mediante un destilador de investigación.

Figura 1. Variación de compuestos antioxidantes en materia seca de romero (selección Limache)



Los compuestos analizados son los siguientes:

Cineol (1.8 cineole)

Canfor (camphor)

Pineno (alfa y beta pineno)

Borneol

A partir de los datos obtenidos se realizará una curva de fluctuaciones de los principales compuestos dentro del extracto y aceite esencial.

Cuadro 1. Caracterización de aceite esencial de romero en verano bajo tres estados fenológicos (follaje, inicio de flor y plena floración).

Muestra ac. esencial		G/100gr de muestra en base recibida				
Hierba fresca/seca	Estado fenológico	Alfa pineno	Beta pineno	cineol	canfor	borneol
Hierba fresca	Follaje	8,4	7,0	24,8	22,1	3,6
Hierba fresca	Inicios floración	7,9	7,1	26,6	23,9	3,7
Hierba fresca	Plena floración	7,8	6,7	25,0	24,2	3,4
Hierba seca	Follaje	9,6	7,4	22,8	21,9	3,9
Hierba seca	Inicios floración	8,7	7,2	24,8	20,8	3,4
Hierba seca	Plena floración	8,3	6,4	26,0	21,8	3,5

Cuadro 2. Caracterización de aceite esencial de romero en otoño bajo tres estados fenológicos (follaje, inicio de flor y plena floración).

Muestra ac. esencial		G/100gr de muestra en base recibida				
Hierba fresca/seca	Estado fenológico	Alfa pineno	Beta pineno	cineol	canfor	borneol
Hierba fresca	Follaje	7,6	7,6	24,7	26,0	4,8
Hierba fresca	Inicios floración	7,4	7,5	25,1	26,0	4,4
Hierba fresca	Plena floración	7,5	7,6	25,2	24,2	4,5
Hierba seca	Follaje	9,2	8,2	22,9	23,3	4,0
Hierba seca	Inicios floración	9,1	8,6	24,5	22,2	3,9
Hierba seca	Plena floración	8,4	8,1	24,0	22,5	4,3

De los cuadros anteriores se puede deducir que los principales componentes del aceite esencial de romero analizado son cineol y canfor (sobre 45%).

El canfor se conoce por sus propiedades antisépticas, nematocidas y fungicidas.

Para la obtención del extracto seco se realizó previamente una verificación del proceso de obtención de residuo sólido (otoño), con el objetivo de determinar la cantidad de materia prima requerida para el proceso de spray dry. Por otro lado, se verificó la presencia de los tres compuestos antioxidantes.

El primer extracto seco se obtuvo de muestras de invierno (julio), cuyos contenidos de principios antioxidantes se señalan en los siguientes cuadros.

Cuadro 3. Contenidos de compuestos antioxidantes del extracto seco de romero de invierno obtenidos en la primera fracción del extracto seco

Tiempo (días)	Resultado en base recibida (gr/100 gr)		
	Ácido carnósico	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
0	No se detecta	4,1 (gr/100 gr)	8,8 (gr/100 gr)
7	No se realiza	4,5 (gr/100 gr)	No se realiza
14	No se realiza	4,4 (gr/100 gr)	No se realiza
28	No se realiza	4,6 (gr/100 gr)	8,4 (gr/100 gr)

Cuadro 4. Contenidos de compuestos antioxidantes del extracto seco de romero de invierno obtenidos en la fracción restante del extracto seco

Tiempo (semanas)	Resultado en base recibida (gr/100 gr)		
	Ácido carnósico*	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
12	4,3 (gr/100gr)	4,2 (gr/100 gr)	39,7 (gr/100 gr)

Cuadro 5. Contenidos de compuestos antioxidantes de romero en un producto comercial importado

	Resultado en base recibida (gr/100 gr)		
	Ácido carnósico*	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
Antioxidantes en propilenglicol	1,4	0,06	12,8

Para evaluar el uso de romero como antioxidante se seleccionaran diferentes productos hortofrutícolas. Para el cumplimiento de este objetivo se utilizará las instalaciones del laboratorio de postcosecha e industrialización de la Facultad de Agronomía.

Para conservación de alimentos mínimamente procesados; los sustratos serán chirimoya troceada, palta troceada y apio troceado.

Dado consideraciones logísticas, para determinar el efecto sobre grasas, se realizará una prueba en un equipo Rancimat, donde se comparará el poder antioxidante del extracto obtenido en relación a otro importado cuyas características se observan en el Cuadro 5 y utilizado por una empresa nacional.