

«RESEÑA»

MÉTODOS DE AISLAMIENTO DE ACEITES ESENCIALES EN BASES ESPECIADAS

Yamilka Sánchez* y Jorge A. Pino

Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, Carretera al Guatao, km 3 1/2,

La Habana, Cuba, CP 19 200

E-mail: jpino@iia.edu.cu

RESUMEN

Las mezclas especiadas sólidas en los últimos años han sido ampliamente utilizadas en la industria alimentaria. En Cuba muchos productos son elaborados con mezclas de especias importadas, por lo que duplicar estas mezclas disminuiría los costos de producción. En la actualidad existen numerosos métodos de obtención de aceites esenciales, aunque no se ha definido un procedimiento analítico único para la caracterización de estas mezclas. Encontrar un método adecuado que permita aislar y concentrar cuantitativamente aceites esenciales en mezclas especiadas sólidas, facilitará la duplicación de estas mezclas.

Palabras claves: aceite esencial, métodos de aislamiento, especias.

ABSTRACT

Isolation methods for essential oils in spice-base formulation

The spice-base formulations have been broadly used in the food industry in the last years. In Cuba many products are elaborated with imported formulations and for that, there is a reason to duplicate these mixtures to diminish the production costs. At present time, there are many isolation methods for the essential oils, although there has not been defined a unique analytical procedure for the characterization of these spice-base formulations. To find an appropriate method that allows for isolating and quantitatively concentrating the essential oils in these solid mixtures, will facilitate the duplication of these formulations.

Key words: essential oil, isolation methods, spice-base formulation.

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos orgánicos que corresponden a diferentes clases químicas como: hidrocarburos terpénicos y sus derivados oxigenados, fenoles, aldehídos alifáticos y aromáticos, entre otros (1), los cuales son en su mayoría sensorialmente activos en las especias, por ejemplo: el cuminaldehído aporta fundamentalmente el aroma del comino, el cinamaldehído lo hace al aroma de la canela, así como el timol y el carvacrol a todos los tipos de oréganos (2). Los aceites esenciales en su mayoría son obtenidos a partir de las especias, las cuales han sido empleadas a lo largo de la historia por infinidad de culturas para condimentar los alimentos, debido a que están constituidas por sustancias aromáticas o sápidas que le comunican caracteres agradables al olfato y al

*Yamilka Milagro Sánchez Cabrera: Licenciada en Química (UH, 2006), Reserva Científica. Trabaja en el laboratorio Químico-Físico en la Vicedirección de Carne. Sus principales líneas investigativas están enfocadas al aislamiento de aceites esenciales en mezclas especiadas sólidas.

paladar (3, 4). Es por esta razón que principalmente se emplean para condimentar muchos alimentos y bebidas, aumentando a la vez las secreciones del tubo digestivo y estimulando el apetito. En la actualidad se conoce una gran variedad de especias, pero sólo en algunas de ellas, como la pimienta negra, clavo, nuez moscada, cilantro, laurel, canela y jengibre está concentrado el uso en el arte culinario (5).

El hombre ha ido desarrollando las mezclas especiadas sólidas, que son preparadas a partir de mezclas de especias o de sus principios aromáticos combinadas con diferentes soportes sólidos como el azúcar, la sal, el almidón, y otros. La preparación de mezclas especiadas competitivas, disminuye el costo de las producciones, lo que trae como consecuencia que muchos productores se sientan atraídos por las duplicaciones. Actualmente existen varias razones por las cuales se duplican las bases especiadas: para preparar otra que sea competitiva y de un costo más barato que la que se oferta a un cliente determinado; conocer lo que la compañía elaboradora de mezclas aromatizantes puede ofrecer, etc. (2). El éxito de las mezclas duplicadas está en el conocimiento previo de cada uno de los componentes que forman parte de la mezcla original, así como las proporciones en que se encuentran cada uno de ellos, es por esto que se hace necesario contar con una técnica adecuada que permita concentrar y separar los componentes volátiles de los aditivos no volátiles (6).

Métodos de aislamiento de aceites esenciales

La selección del método de aislamiento de los aceites esenciales es una etapa importante en el análisis de un producto alimenticio, pues este puede influir en la composición final del producto, trayendo como consecuencia afectaciones en los resultados cualitativos y cuantitativos, es por esto que antes de ser seleccionado se deben tener en cuenta los criterios siguientes (7): volatilidad, polaridad de los componentes, susceptibilidad a reordenamientos químicos, cantidad de producto, distribución de los aceites en el producto, estado físico y composición de la matriz del producto y propósito del análisis (cualitativo o cuantitativo).

El índice de compuestos volátiles es una medida de la razón de la evaporación de un compuesto o una mezcla. Para lograr una extracción con pérdida mínima de

volátiles es necesario antes de seleccionar el disolvente conocer los puntos de ebullición de los componentes de la muestra. La polaridad de los componentes influye grandemente en la selección del disolvente, por ejemplo, si los compuestos volátiles son hidrosolubles de alta polaridad, entonces para fines cuantitativos será necesario extraer el destilado acuoso si la destilación fue el método seleccionado (8).

La estabilidad de la mayoría de los compuestos volátiles presentes en los aceites esenciales, no es un gran problema, sin embargo, se debe tener conocimiento de cualquier reordenamiento importante que pudiera ocurrir, debido a que existen compuestos que por prolongado calentamiento en medio acuoso pueden hidrolizarse.

La cantidad de producto a analizar depende de los resultados que se quieran obtener, cualitativos o cuantitativos. El estado físico del producto (sólido, graso, acuoso, etc.) probablemente es uno de los principales criterios a la hora de seleccionar el método de aislamiento. Cuando la matriz es sólida, antes de ser analizada debe ser homogenizada con agua, debido a que este tipo de matrices mayormente no presentan distribuido de forma homogénea los componentes volátiles en el producto. El conocimiento de la composición general de las matrices sólidas es otro de los elementos importantes a tener en cuenta antes de su análisis, porque la existencia de macromoléculas puede provocar bajos recobrados de los compuestos volátiles, un ejemplo de esto es el caso de muestras que contiene almidón, pues este polisacárido tiene una estructura que tiende a ocluir los componentes volátiles. Si la destilación es el método seleccionado, la composición del producto alimenticio puede causar la formación de emulsión o espuma (7).

Los aceites esenciales son en su mayoría volátiles, lo cual implica que la destilación sea el método más empleado para separar y concentrar aceites esenciales de una matriz de un producto alimenticio. Es un método que ofrece la ventaja de obtener un destilado sin sustancias no volátiles que pudieran interferir en la separación e identificación de los componentes.

El aislamiento de los aceites esenciales generalmente está basado en la volatilidad y solubilidad de los compuestos del aroma. Existen variedades de métodos que

pueden ser empleados para la extracción de aceites esenciales en muestras sólidas como: destilación (hidrodestilación o destilación por arrastre con vapor), extracción con disolvente, destilación-extracción simultáneas y concentración en la fase vapor (análisis del espacio de cabeza) (4,5,7,9).

La destilación es una técnica que tiene como principio básico que si se destilan dos líquidos heterogéneos, como el agua y un aceite esencial, los vapores emitidos por cada uno de ellos no ejercen influencia uno sobre otro y por tanto, sus presiones de vapor se adicionan totalmente. El agua tiene la capacidad que al hervir puede arrastrar todo líquido no miscible con ella y esto es debido a que cuando la presión de vapor es igual a la presión atmosférica, el sistema entra en ebullición y la presión parcial de cada vapor será inferior a la presión externa, trayendo como consecuencia que cada líquido bulla a una temperatura inferior a su punto de ebullición. La destilación tiene la desventaja de que en ella se pueden perder muchos compuestos volátiles, es un método que puede provocar la oxidación o la hidrólisis de algunos compuestos (10).

La hidrodestilación es un procedimiento que se emplea para la separación de compuestos volátiles de mezclas ricas en aceites esenciales o en especias. Es una destilación por arrastre con vapor de agua a presión atmosférica, donde el material del cual los componentes volátiles del aceite son aislados es completamente cubierto con agua y se hierve por un tiempo determinado. Los componentes volátiles colectados en un separador para aceites menos densos (trampa de *Clevenger*) o para aceites más densos que el agua (trampa *Dean-Stark*) constituyen un concentrado de los compuestos del aceite esencial aislado de la matriz. Esta técnica puede tener la desventaja de que la presencia de agua caliente puede favorecer la hidrólisis y reordenamientos térmicos durante la destilación. Una modificación de la misma consiste en ajustar el valor de pH a 7 para minimizar la hidrólisis (7).

La destilación por arrastre con vapor está basada en el mismo principio del método anterior, pero en este caso el vapor de agua es producido por un generador que se encuentra separado del recipiente que contiene la matriz sobre una rejilla, este se pone en contacto directamente con la matriz al ser introducido hacia el fondo del recipiente. Esta destila-

ción puede realizarse a presión atmosférica o en la variante a presión reducida. Esta última variante tiene la ventaja de que minimiza la formación de artefactos debido a que se trabaja a bajas temperaturas. La principal desventaja que tiene esta técnica es que reduce el rendimiento de los componentes menos volátiles, alarga el tiempo de destilación y requiere de trampas frías para recoger los compuestos más volátiles y de un riguroso control de la presión. En cualquier caso, el destilado debe ser extraído con grandes volúmenes de algún disolvente orgánico para recuperar los compuestos volátiles (7).

La destilación molecular es un procedimiento en el cual los compuestos más volátiles son vaporizados de la superficie de un líquido y condensados a una corta distancia sobre una superficie fría a un alto vacío. Esto es un procedimiento adecuado para aislar compuestos volátiles de matrices grasas (7).

La destilación-extracción simultánea es una técnica que se ha hecho popular para el aislamiento y concentración de los compuestos volátiles (11). Este procedimiento es una combinación de la hidrodestilación a presión atmosférica y la extracción con disolvente al mismo tiempo, el cual es de fácil manipulación y adecuado para el análisis de rutina. En esta técnica el disolvente es refluado a través de la muestra acuosa hasta que la mayor cantidad de volátiles se haya removido, luego mediante una extracción líquido-líquido se separan los volátiles del destilado. La Fig.1 muestra el dispositivo empleado en SPME para la extracción de compuestos volátiles

Con este método se obtiene un líquido enteramente concentrado que facilita el análisis por espectrometría de masa o repetidas inyecciones para posteriores análisis. Su principal desventaja es que no resulta adecuado para el aislamiento de materiales termolábiles por la alta temperatura. Aunque exista la posibilidad de realizar esta técnica a presión reducida, en la práctica es casi imposible, porque requiere emplear algún disolvente de mayor punto de ebullición, el cual posteriormente debe ser eliminado a presión atmosférica antes del análisis cromatográfico del extracto (5). La extracción sólido-líquido mediante el extracto *Soxhlet* es una técnica fácil y reproducible para productos sólidos. Esta consiste en hacer pasar continuamente el disolvente con una temperatura cercana al punto de ebullición a través de

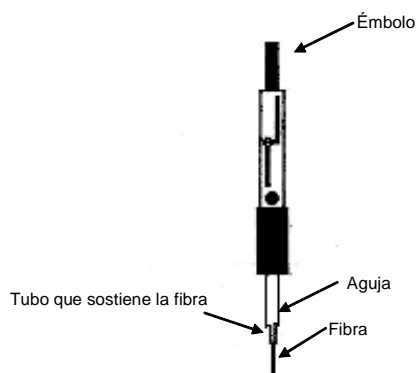


Fig. 1. Dispositivo empleado en SPME para la extracción de compuestos volátiles.

la muestra, arrastrando a la descarga los compuestos a aislar, esto ocurre cuando el volumen de disolvente condensado sobrepasa el dedal que contiene la muestra dentro del extractor *Soxhlet* regresando nuevamente al balón donde será redistilado y condensado. La exactitud de los resultados cuantitativos está en dependencia del tipo de disolvente utilizado y con la frecuencia a la cual ocurra la descarga. La principal desventaja de este procedimiento es que los volúmenes de disolvente a manipular son considerablemente elevados (12).

La microextracción en fase sólida (SPME) es un método simple de extracción y concentración desarrollada por los '90 (13). El análisis por SPME se realiza mediante el empleo de un dispositivo en forma de jeringa que consta de un émbolo y una aguja que tiene adyunto un tubo que se encuentra unido a una fibra cubierta por una fase estacionaria en la mayoría de los casos polimérica. La aguja hace la función de una cubierta protectora. El dispositivo es empleado introduciendo la aguja con la fibra aspirada, a través de una membrana que mantiene hermetizada la muestra dentro del vial, se baja el émbolo y se expone la fibra a la muestra o al espacio de cabeza. Cuando los analitos orgánicos son adsorbidos, se aspira la fibra y se retira la aguja del vial. Finalmente el analito se desorbe de la fibra térmicamente o mediante el empleo de un disolvente orgánico en dependencia de la técnica analítica a utilizar (14-17).

La SPME presenta una serie de ventajas frente a las técnicas de preconcentración mencionadas anteriormente, debido a que trae consigo un ahorro de tiempo de preparación y costos por no empleo de disolventes (18), puede ser automatizada y requiere pequeños volúmenes de muestra. Puede ser utilizada con todos los tipos de muestras, ya sean gaseosas como por ejemplo aire o aliento, líquidas como aguas o bebidas, o sólidas como sedimentos o alimentos, etc. (4). Además, puede ser aplicada en la determinación de compuestos de diferente volatilidad. Como inconveniente puede mencionarse que debido a la limitada capacidad de las fibras (la cantidad de recubrimiento es muy pequeña) en ocasiones no se obtienen unos límites de detección bajos, sobre todo si la SPME se utiliza combinada con la cromatografía de líquidos. En el análisis de aceites esenciales esta técnica se ha introducido paulatinamente con éxito (19-21).

Existen diferentes variables que pueden afectar la eficiencia del proceso de SPME, pues la etapa de extracción puede verse afectada por parámetros como: tipo de fibra, volumen de muestra, tiempo y temperatura de extracción, agitación de la muestra, presencia de sales, pH del medio, modo de extracción, entre otros (22, 23). La etapa de desorción depende del tipo utilizada, térmica o mediante el empleo de un disolvente orgánico.

Etapas de extracción

El tipo de fibra a emplear en la extracción depende de la polaridad de la fase estacionaria por la cual esté recubierta, la regla similar disuelve a similar es aplicable a la SPME, pues los compuestos polares son adsorbidos por fibras polares y los no polares por fibras no polares. Para la extracción de compuestos volátiles se requiere de una fibra cubierta por una capa de polímero gruesa y para los semivolátiles de una capa más fina. Las capas gruesas requieren más tiempo para alcanzar el equilibrio de extracción, pero al mismo tiempo como pueden extraer mayor cantidad de analito son más sensibles.

La Tabla 1 muestra que en la actualidad existen muchos tipos de recubrimientos con diferentes grados de polaridad. La fibra apolar de PDMS, es preferida para la extracción de compuestos polares, sin embargo, puede también ser empleada para compuestos más pola-

Tabla 1. Características de algunas fibras disponibles en el mercado

Fase estacionaria	Polaridad	Grosor (µm)	Temperatura máxima (°C)
Polidimetilsiloxano (PDMS)	No polar	100	280
		30	280
		7	340
Polidimetilsiloxano/ divinilbenbenceno (PDMS/DVB)	Semi-polar	65	270
		60	270
		65	270
Poliacrilato (PA)	Polar	85	320
Carboxen/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS)	Semi-polar	75	320
Carbowax/divinilbenbenceno (CW/DVB)	Polar	85	320
		65	270
		70	320

res, particularmente después de optimizar las condiciones de trabajo (23-25). Cada analito-fibra necesita un tiempo determinado para alcanzar el estado de equilibrio, es por esto que cuando se realiza un análisis mediante SPME, el tiempo de extracción necesario para que los analitos de interés sean completamente extraídos debe ser previamente establecido. Los analitos que necesitan un tiempo elevado para alcanzar el equilibrio, en estos casos para no alargar el tiempo de análisis, se trabaja con tiempos de extracción menores, cuando esto sucede cualquier alteración en la medida del tiempo podría provocar variaciones en la cantidad de analito extraído.

Un parámetro que influye de dos formas opuestas en el proceso de SPME es la temperatura de extracción, debido a que un aumento de esta temperatura aumenta la difusión de los analitos en la muestra, la velocidad de extracción y como consecuencia la cantidad de analito extraído. Cuando la extracción es realizada en el espacio de cabeza, un aumento de la temperatura provoca aumento de la concentración de los analitos, lo cual hace más rápida la extracción. Por otra parte, la eficiencia de la extracción puede verse afectada porque un aumento de temperatura puede disminuir los coeficientes de distribución de los analitos entre la muestra y la fibra.

La agitación de la muestra es un parámetro que acelera la difusión de los analitos desde la matriz de la muestra hacia la fibra o de la muestra al espacio de cabeza

y de allí hacia la fibra, como consecuencia el equilibrio de distribución entre la muestra y la fibra se alcanza rápidamente.

El coeficiente de distribución de los analitos que se encuentran en forma no ionizada en la muestra, puede ser aumentado por la presencia de sal trayendo consigo un aumento de la cantidad de analito extraído. Por otra parte si los analitos están en forma ionizada la eficacia de la extracción puede verse afectada. El pH de la muestra es otro de los factores que debe tenerse en cuenta a la hora de optimizar el proceso de SPME, pues los analitos a extraer deben encontrarse en su forma neutra.

Existen dos formas de realizar la extracción de los analitos, en el espacio de cabeza (HS-SPME) o directamente en la muestra (DI-SPME). La HS-SPME ocurre cuando los analitos son transportados desde la matriz de la muestra al espacio de cabeza y de allí a la fibra, después de un tiempo la fibra es recogida dentro del protector para su posterior inyección. Esta manera de extraer los analitos permite proteger la fibra de compuestos de elevado peso molecular u otras interferencias no volátiles que pudieran estar presentes en la matriz. Además permite modificar la matriz de la muestra, como por ejemplo al variar el pH sin daño de la fibra (26).

Etapa de desorción

La cuantificación en SPME depende en gran medida de la desorción de los analitos concentrados en la fibra, es una etapa que se realiza de acuerdo a la técnica analítica que será empleada para este fin. Cuando el análisis se hace mediante el empleo de un cromatógrafo de gases, la desorción es realizada térmicamente y los parámetros que deben ser optimizados son la temperatura y tiempo de desorción, siempre es importante desorber los analitos a la máxima temperatura a la cual puede ser utilizada la fibra y para evitar efecto memoria el tiempo debe ser el adecuado para lograr la desorción completa de los analitos. Cuando se emplea un cromatógrafo de líquidos la desorción es realizada mediante el empleo de un disolvente orgánico, en este caso deben ser optimizado el tipo y volumen de disolvente, el disolvente debe ser compatible con la fibra y

la técnica analítica que será empleada, el volumen de disolvente debe ser el menor posible sin que se produzca el efecto memoria de manera que el factor de preconcentración sea mayor.

CONCLUSIONES

Las técnicas de extracción con Soxhlet y HS-SPME parecen ser las más adecuadas para el aislamiento de aceites esenciales en mezclas de especias debido a la exactitud cualitativa y cuantitativa que puede lograrse mediante su empleo. No obstante, la HS-SPME parece más apropiada debido a que no emplea disolventes, es de fácil manipulación y los tiempos de extracción son relativamente cortos, lo que la hace ventajosa frente a las otras técnicas tradicionales de aislamiento y concentración de aceites esenciales.

REFERENCIAS

1. Wright, J. Essential oils. En: Food flavorings. Ashurts P. (Ed.), Gaithersburg, Maryland, Aspen Publishers Inc., 1999.
2. Pino, J.; Sánchez Y.; Quijano C. y Roncal, E. Ciencia y Tecnología de Alimentos 18: 27-32, 2008.
3. Peter, K. Introduction. En: Handbook of Herbs and Spices. Vol 1. Peter, K. (Ed.), Abington, England: Woodhead Publishing Ltd., 2001.
4. Pérez, R.; Navarro, T. y de Lorenzo, C. Flavour. Fragr. J. 22: 265-273, 2007.
5. Reineccius, G. Flavor Chemistry and Technology. Boca Ratón, CRC Press, 2006.
6. Tainter, D. y Grenis, A. Especies y aromatizantes alimentario. Zaragoza: Acribia, 1996.
7. Lawrence, B. y Shu, C.-K. Essential oils as components of mixtures: analysis and differentiation. En: Flavor Measurement. Ho, C. y Manley, C. (Eds.), New York: Marcel Dekker Inc., 1993.
8. Reineccius, G. Instrumental methods of analysis. En: Food Flavour Technology. Taylor A. (Ed.), Scheffield, UK: Academic Press Ltd., 2001.
9. Díaz, C.; Díaz, I.; Sánchez, H. y Pérez, S.; J. Agric. Food Chem. 53: 5385-5389, 2005.
10. Pino, J. y Borges, P. Alimentaria (301): 39-45, 1999.
11. Chaintreau, A. Flavour Fragr. J. 16: 136-148, 2001.
12. Pino, J. Principios y métodos para el análisis del Aroma de los Alimentos, La Habana: Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, 1995.
13. Arthur, C. L y Pawliszyn, J. Anal. Chem. 62: 2145-2149, 1990.
14. Sides, A.; Robards, K. y Helliwell, S. Trends in Anal. Chem. 19:322-330, 2000.
15. Snow, N. y Slack, G. Trends in Analytical Chemistry 21: 608-617, 2002.
16. Spanier, A.; Shahidi, F.; Parlimant, T.; Mussiman, C.; Ho, C. y Tratras, E. Food Res. Int. 35: 898-899, 2002.
17. Vas, G. y Vékey, K. J. Mass Spectrom 39: 233-254, 2004.
18. Pawliszyn, J. Theory and Practice. En: Solid Phase Microextraction. Wiley-VCH (Ed.), New York: 1997.
19. Czerwinski, J.; Zygmunt, B.; Namiensnik, J. Fresenius' J. Anal. Chem. 356: 80-83, 1996.
20. Coleman, W.; Lawrence, B.; J. Chromatogr. Sci. 38 (3), 95-99, 2000.
21. Cornuk, A.; Carnat, A.; Martin, B.; Coulon, J.; Lamaison, J. y Berdague, J. J. Agric. Food Chem. 49, 203-209, 2001.
22. Pawliszyn, J. Applications of solid-phase Microextraction, Cambridge, Royal Society of Chemistry, 1999, pp.3-21.
23. Wardencki, W.; Michulec, M. y Cury, J. Int. J. Food Sci Technol. 39: 703-717, 2004.
24. Mani, V. En: Applications of Solid Phase Microextraction. Cambridge, Royal Society of Chemistry, p. 57, 1999.
25. Roberts, D.; Pollien, P. y Milo, C. J. Agric. Food. Chem. 48:2430-2437, 2000.
26. Kataoka, H.; Lord, H. y Pawliszyn, J. J. Chromatogr. A 880: 35-62, 2000.