

Evaluación del rendimiento del aceite esencial de caléndula (*Calendula officinalis* L) obtenido por OAHD

Evaluation of the performance of the calendula essential oil (*Calendula Officinalis* L) obtained by OAHD

Avaliação do rendimento do óleo essencial de caldula (*Calendula Officinalis* L) obtido pela OAHD

Golda Meyer Torres; Olga Isabel Sarmiento; Ruth Isabel Ramírez; Osvaldo Guevara

Escuela de Ciencias Básicas Tecnología e Ingeniería. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD)
Kilómetro 1 vía Pántano de Vargas, Duitama, Colombia.

*golda.torres@unad.edu.co

Fecha recepción: 27 de diciembre de 2017

Fecha aceptación: 08 de mayo de 2018

Resumen

En este trabajo se determinó el rendimiento (%v/w) del aceite esencial de caléndula (*Calendula officinalis* L.) obtenido mediante dos métodos: hidrodestilación (HD) y la hidrodestilación asistida por calentamiento óhmico (OAHD); se emplearon flores frescas (Ff) y secas (Fs). Se evaluó el efecto de los métodos de extracción y del estado de la flor sobre el tiempo total de extracción (min), tiempo de acumulación del aceite (min) y el rendimiento de la extracción (cantidad de aceite extraído-mL sobre 100 gramos de material vegetal). Los resultados relacionaron diferencias significativas ($p < 0,05$) al comparar el tiempo total de extracción (min) y el rendimiento (%v/w) en función del método de extracción y estado de la flor. Los mejores resultados se presentaron con el método OAHD: registrando rendimientos del 1,249 % para Ff y de 1,289% para Fs; lo que indica que es un método de extracción superior, en relación con la hidrodestilación. El análisis del rendimiento (%v/w), frente al tiempo de extracción (min) indica que la máxima cantidad de aceite se registró en las muestras en estado fresco tanto en la HD como en la OAHD, pero al emplear las flores secas (Fs) se registraron mayores tiempos tanto en la HD como en la OAHD; por lo tanto, el estado del material vegetal influyó en la cantidad de aceite obtenido y en la cinética de extracción.

Palabras clave: extracción de aceites esenciales, aceite esencial de caléndula, rendimiento de extracción, hidrodestilación, calentamiento óhmico.

Abstract

In this work yield (%v/w) of calendula essential oil (*Calendula officinalis* L.) obtained by two methods, hydrodistillation (HD) and ohmic-assisted hydrodistillation (OAHD) was determined; fresh flowers (Ff) and dried flowers (Fs) were used. The effect of the extraction methods and the state of the flower on the total extraction time (min), oil accumulation time (min) and extraction yield (amount of oil extracted, mL per 100 grams of plant material) was evaluated. The results showed significant differences ($p < 0.05$) when comparing the total time of extraction (min) and the yield (% v/w) as a function of the method of extraction and the state of the flower. The best results were obtained by OAHD method, registering yields of 1.249% for Ff and 1.289% for Fs, an indication that this is a superior extraction method when compared to hydrodistillation. Analyzing yield (% v/w) versus extraction time (min) indicates that the maximum amount of oil was registered for fresh samples both when using HD and OAHD, but when using dried flowers (Fs), longer times were registered both for HD and OAHD, therefore, the state of the plant material influenced the amount of oil obtained and the extraction kinetics.

Keywords: extraction of essential oils, calendula essential oil, extraction yield, hydrodistillation, ohmic heating.

Resumo

Neste trabalho foi determinado o rendimento (%v/w) do óleo essencial de calêndula (*Calendula officinalis* L.) obtido por dois métodos: hidrodestilação (HD) e hidrodestilação por aquecimento ôhmico (OAHD); flores frescas (Ff) e flores secas (Fs) foram utilizadas. O impacto dos métodos de extração e o estado da flor no tempo total de extração (min), tempo de acumulação de óleo (min) e rendimento da extração (quantidade de óleo extraído, mL por 100 gramas de material vegetal) foi avaliado. Os resultados relacionaram diferenças significativas ($p < 0,05$) ao comparar o tempo total de extração (min) e o rendimento (%v/w) dependendo do método de extração e estado da flor. Os melhores resultados foram apresentados com o método OAHD, registrando rendimentos de 1,249% para Ff e 1,289% para Fs, indicando que é um método de extração superior em relação à hidrodestilação. A análise do rendimento (%v/w) versus o tempo de extração (min) indica que a quantidade máxima de óleo foi registrada nas amostras frescas tanto para HD quanto para OAHD, mas ao usar as flores secas (Fs), tempos maiores foram registrados tanto para HD quanto para OAHD, portanto, o estado do material vegetal influenciou a quantidade de óleo obtida e a cinética de extração.

Palavras-chave: Extração de aceitação, aceitação essencial de calendula, produção de extração, destilação hidrelétrica, aquecimento ôhmico.

Introducción

Los aceites esenciales son fracciones líquidas volátiles; son mezclas homogéneas de más de 100 compuestos químicos orgánicos. La calêndula en su composición tiene entre 0,2 a 0,3% de aceites esenciales, conformados en gran proporción por terpenos, compuestos oxigenados, aldehídos, cetonas y ácidos libres. La Hidrodestilación (HD) es el método más empleado en la extracción de aceites esenciales pero presenta desventajas, como registrar largos tiempos de extracción, degradación de componentes volátiles y alto consumo energético [1-3]. En la aplicación de la HD, en la extracción de aceites esenciales, se debe seguir lo que se expone en la British Pharmacopoeia (1980); en este método, una cantidad conocida de muestra se disuelve en una cantidad de agua. Al equipo destilador debe acoplarse una trampa de Clevenger, para la recolección de los aceites esenciales. Se están aplicando técnicas emergentes, como la hidrodestilación asistida por calentamiento ôhmico (OAHD), en la cual se obtienen mayores rendimientos y conservación de la bioactividad del aceite [4,5]. En la OAHD, la temperatura aumenta rápidamente debido al efecto de electroporación y calentamiento interno de las vacuolas que contienen el aceite esencial, lo que permite la permeabilización de los tejidos vegetales y la mayor difusividad del aceite, por lo tanto, los rendimientos de extracción son mayores a los que se obtienen por otros métodos [4,5]. Durante el calentamiento ôhmico, las membranas celulares se hacen más permeables a una temperatura inferior a la cual las membranas celulares son

normalmente permeables, un fenómeno conocido por electroporación o electro-permeabilización, el cual es un efecto no térmico, propio de este tipo de calentamiento, y que lleva a ampliar la difusividad del calor, a través de la paredes celulares. Esta permeabilización, causa un aumento significativo en la conductividad eléctrica de las membranas celulares lo que facilita la permeabilidad de estas. Esto tiene como resultado la salida del aceite esencial del compartimiento celular. [6].

El objetivo de este trabajo fue evaluar el rendimiento (%v/w) de extracción del aceite esencial obtenido mediante hidrodestilación (HD) e hidrodestilación asistida por calentamiento ôhmico (OAHD) en flores de calêndula, frescas (Ff) y secas (Fs) de calêndula (*Calendula officinalis* L.).

Parte experimental

Las plántulas de calêndula (*Calendula officinalis* L), se adquirieron en el invernadero del SENA CEDAGRO Duitama Boyacá, con 68 días de germinación. Luego fueron trasplantadas con los requerimientos climáticos y agronómicos respectivos hasta la semana 16, tiempo en el que el cultivo presentó la máxima floración. Las flores frescas se secaron en horno a 52°C, por 72 horas. Para extraer el aceite, fueron empleados dos métodos de extracción: hidrodestilación (HD) y la hidrodestilación asistida por calentamiento ôhmico (OAHD). Se realizó extracción de aceite con flores frescas (Ff) y secas (Fs).

Se elaboró una curva patrón del índice de refracción de una mezcla aceite-hexano para llevar el control del proceso de extracción. Con

esto se logró conocer la concentración aceite-hexano por unidad de tiempo. Se prepararon soluciones del aceite de referencia a diferentes concentraciones conocidas (%m-m), y midiendo el índice de refracción corregido a 20°C (ecuación 1), se elaboró la curva patrón respectiva (figura 1).

$$IR = F(T_1 - T) \quad (1)$$

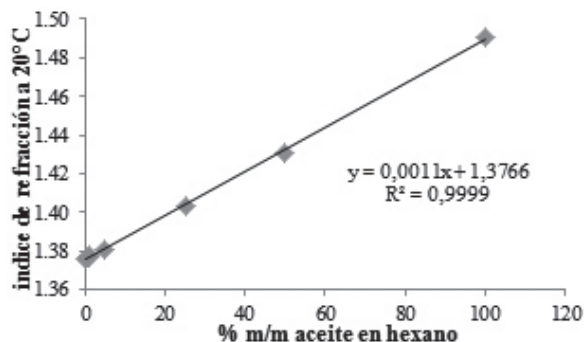


Figura 1. Curva patrón índice de refracción mezcla hexano aceite de caléndula (*Calendula officinalis* L). En la ecuación: y, es el índice de refracción de cada fracción de aceite; x, es la cantidad de aceite esencial por fracción de tiempo en % m/m

La hidrodestilación (HD) se llevó a cabo usando un equipo con trampa de Clevenger de acuerdo con la United States Pharmacopoeia, USP 32

NF27. 300 gramos de flores frescas(Ff) y secas (Fs), se colocaron en 500 mL de agua destilada, respectivamente.

En la primera hora de extracción, la cantidad de aceite fue recogida cada 5 minutos, posteriormente cada 15 y la última hora cada 30 min. El sistema de calentamiento óhmico (OAHD), fue diseñado y fabricado por el equipo de ingenieros de la Escuela de Ciencias Básicas Tecnología e Ingeniería (ECBTI) UNAD Duitama, éste consistió en un cilindro en Nylon cuyo diámetro interno 30,5 mm y longitud 168 mm para una capacidad de 490 mL, y un soporte en acero inoxidable con referencia comercial 304; se adaptaron dos electrodos de acero inoxidable de la misma referencia, para la hermeticidad del equipo se adaptaron empaques siliconados y unas abrazaderas en acero inoxidable.

El equipo operó a 166 V, un amperaje en promedio de 1,9 A y como medio conductor se empleó una solución de NaCl al 1%. En la parte superior se adaptó la trampa de Clevenger (figura 2). En la OAHD: se trabajó con 100 gramos flores frescas (Ff) y 150mL de solución salina; 50 gramos de flores secas (Fs) y 150 mL de solución salina; luego que el proceso alcanzó la temperatura de ebullición, se recolectó el aceite esencial durante los primeros 15 minutos en intervalos de 4 minutos, después cada 8 minutos hasta terminar la extracción.

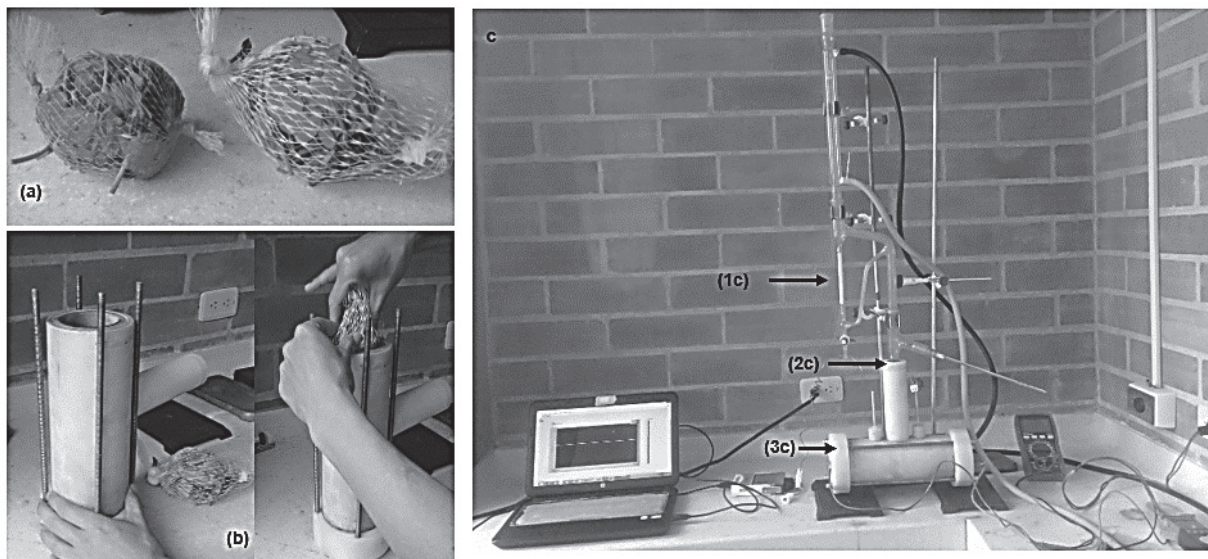


Figura 2. Proceso de extracción del aceite esencial de caléndula por OAHD: (a): adecuación de la muestra; (b): celda óhmica; (c): equipo destilador OAHD; (1c): Trampa de Clevenger; (2c): adecuación equipo destilador a la celda óhmica; (3c): sistema de calentamiento óhmico.

El diseño de la investigación relacionó dos métodos de extracción: hidrodestilación (HD) e hidrodestilación asistida por calentamiento óhmico (OAHD); con dos tratamientos (estado de la flor: flores frescas (Ff) y (flores secas (Fs); 3 réplicas por tratamiento.

Los datos se procesaron a través del programa SPSS 24 para determinar el análisis de varianza-ANOVA. Las diferencias significativas se evaluaron a través de la prueba de Tukey; el nivel de significancia fue del 95% ($\alpha=0,05$).

Resultados

Los resultados del contenido del aceite esencial de caléndula (*caléndula officinalis* L.). Obtenido mediante hidrodestilación (HD) e hidrodestilación asistida por calentamiento óhmico (OAHD), fueron expresados en términos de rendimiento (%v/w), empleando la ecuación 2 y se recopilan en la tabla 1. Para llegar a obtener los mililitros (mL) de aceite en cada fracción y por cada método de extracción,

los datos fueron procesados con la ecuación de la curva patrón aceite-hexano (figura 1); de ésta se obtuvo la cantidad (%m/m) de aceite esencial de cada extracción por fracción de tiempo; a partir de este resultado se logró obtener el volumen (mL) de aceite al relacionar los gramos de aceite con su densidad real (0,8856 g/mL). Se determinó el tiempo de extracción por cada método y tratamiento y se definió como la diferencia entre el tiempo total de extracción y el tiempo de acumulación del aceite esencial (tabla 1). El tiempo de acumulación del aceite (min) se obtuvo a partir de la observación del desarrollo experimental cuando cada sistema alcanzó la temperatura de ebullición (89°C en HD y 95°C OAHD) y se acumuló la emulsión aceite-agua, que contenía las primeras gotas de aceite. El tiempo total de extracción (min) se registró cuando se alcanzó el máximo rendimiento de aceite esencial. La variación del rendimiento (%v/w) en función del tiempo de extracción (min) se ilustra en la figura 3.

Tabla 1. Efecto de la HD-OAHD sobre el tiempo de extracción y rendimiento del aceite esencial.

	HD		OAHD	
	Ff	Fs	Ff	Fs
Tiempo total extracción (min.)	42 ^a ± 0,001 ^{b-c}	90 ^a ± 0,0018 ^{b-c}	15 ^a ± 0,0011 ^{b-c}	45 ^a ± 0,00109 ^{b-c}
Tiempo acumulación del aceite (min.)	20 ^a ± 6,24 ^a	20 ^a ± 4,08 ^a	6 ^a ± 1,57 ^a	2 ^a ± 2,35 ^a
Duración de la extracción (min.)	22 ^a ± 1,25 ^a	70 ^a ± 0,82 ^a	9 ^a ± 0,94 ^a	43 ^a ± 0,47 ^a
Rendimiento % v/w	0,8251 ^a ± 0,001 ^{b-c}	0,5614 ^a ± 0,001 ^{b-c}	1,2499 ^a ± 0,0003 ^{b-c}	1,2847 ± 0,00038 ^{b-c}

^a Media aritmética de los datos.

^b indica que hay diferencias significativas $p \leq 0,05$, (n=3)

^c indica que hay diferencias significativas entre las medias de los grupos estimadas al nivel de 0,05, según Teste de Tukey

Discusión

Dependiendo de método de extracción se pueden obtener menores tiempos de acumulación del aceite, que pueden ir desde 5 minutos hasta 30 minutos, esto depende de la forma como se realice la transferencia de calor y de masa al material vegetal para alcanzar el equilibrio térmico. En la tabla 1, los datos indican que el tiempo de la acumulación de aceite después que el sistema llega a la temperatura de ebullición, es más rápido por el método de OAHD que por el método de HD.

En investigaciones similares, se registraron tiempos en la OAHD e HD de 5,83 min y 27,79 min [4]; de 6,17 min y 33 min respectivamente [5], valores que concuerdan con los obtenidos cuando se emplearon

flores estado fresco (6 min) pero no cuando se emplearon flores en estado seco (2 min). En cuanto a los valores obtenidos en el tiempo de acumulación del aceite por HD en flores frescas y secas se registraron menores tiempos a los reportados en otros estudios [4,5]. Los cortos tiempos registrados por OAHD vienen en función del incremento de la temperatura de ebullición, esto se da por los fenómenos de transporte y eventos no térmicos (electroporación) que se registran con mayor intensidad en las flores secas que frescas; en la HD en cualquiera de los estados de la flor, los tiempos son mayores debido a los gradientes de conducción y convección que se presentan en el proceso.

El rendimiento (%v/w) relaciona la máxima cantidad de aceite que se puede obtener a partir

de las flores de *Calendula* (*caléndula officinalis* L.) en estado fresco y seco. Los resultados (tabla 1) registran diferencias significativas en todos los tratamientos ($p \leq 0,05$): el estado de la flor como el método de extracción influyen en la cantidad de aceite obtenido, presentándose un efecto combinado ($T \geq 0,00178$), en donde los mejores resultados están en el método OAHD, indicando que es un método superior a la HD. La relación del rendimiento frente al tiempo total de extracción (figura 3), indica que los máximos rendimientos lo registran las muestras en estado fresco tanto en la HD como en la OAHD: en la HD, la extracción del aceite requirió un menor tiempo que en Fs, resultados que concuerdan y son similares a los reportados por Salome *et al.* [7] y Abdullabekova *et al.* [8], este mismo análisis se relaciona con los datos obtenidos en la OAHD, los cuales guardan una relación muy próxima a los reportados por Gavahian *et al.* [4]; Gavahian *et al.* [5] y Damyeh & Niakousari [9].

La relación rendimiento versus tiempo conduce al análisis de la cinética de extracción [5,10,11]. El análisis de la figura 3 permite identificar las fases del proceso de extracción: Fase 1, corresponde a la cantidad de aceite que se acumula en un tiempo específico [1,11,12,13], que es igual tiempo de acumulación del aceite; la menor magnitud de esta fase corresponde al tratamiento OAHD (tabla1), siendo más marcada para el estado de la flor seca. Esta fase se caracteriza por desarrollarse de una forma rápida, debido a que las primeras gotas que se encuentran en la superficie de la vacuola del material vegetal migran y se disuelven rápidamente en el flujo de vapor que circunda la matriz vegetal, esto sucede por la sinergia que existe entre los fenómenos de transporte masa y calor específicamente en el OAHD, dado que dichos fenómenos de transporte se realizan en una sola dirección. Para el método de HD en flores frescas y secas, se lleva a cabo a un tiempo mayor, existiendo una prolongación, debido a que las transferencias de masa y calor se realizan en sentido contrario, esto, por la existencia de gradientes de convección y conducción. La fase 2, corresponde a una difusión interna del aceite esencial hacia el medio exterior dado por el calentamiento interno sobre el medio acuoso que

rodea a las vacuolas o compartimiento celulares en donde se almacena el aceite [11]. En los argumentos de Armijo *et al.* [12], indica que esta fase es dominada por procesos de transferencia de masa hacia el vapor desde el interior de la matriz que contiene el aceite esencial. Esta fase tiene su inicio después del tiempo de acumulación de aceite y finaliza cuando se obtiene el máximo rendimiento.

Dependiendo del método de extracción, esta fase se puede realizar en menos tiempo para obtener una mayor cantidad de aceite, tal como se observa en la figura 3 por el método OAHD, donde para un tiempo total de 15 min se obtuvo un rendimiento de aceite de 1,2499%v/w en flores frescas y un tiempo de 45 min con un rendimiento de 1,2847%v/w en flores secas; estos resultados evidencian una mayor capacidad de difusión molecular del aceite que migra del interior al exterior como resultado del efecto combinado de los fenómenos de transporte de masa y calor que suceden en la misma dirección, mientras que para el método de HD es mayor la amplitud de la fase debido a la forma como se transmite el calor y a los gradientes de convección y conducción que se dan en el proceso. Se puede observar la última, fase 3, que representa el final de la extracción de los aceites de la matriz vegetal, la cual es independiente del tiempo de extracción.

El tiempo de extracción total para las flores secas (Fs) por HD y OAHD aumentaron, cuando deberían haber registrado tiempos similares o incluso menores a las flores frescas (Ff): en este sentido es importante analizar el estado del material vegetal, en relación a su rehidratación, el cual no es el proceso inverso al secado; en ambos fenómenos se tienen diferentes mecanismos de transferencia de materia [14,15,16] que pueden condicionar la extracción del aceite esencial: la absorción de agua dentro del material, luego la lixiviación de solutos y el hinchamiento de la muestra, pueden afectar la cinética de extracción específicamente en la fase 2, en donde se registra la difusión del aceite del medio interno al medio externo. La capacidad de sorción de las Fs puede ralentizarla los procesos de transferencia de masa y disminuir la difusión molecular del aceite, lo que ocasiona el aumento en el tiempo de extracción.

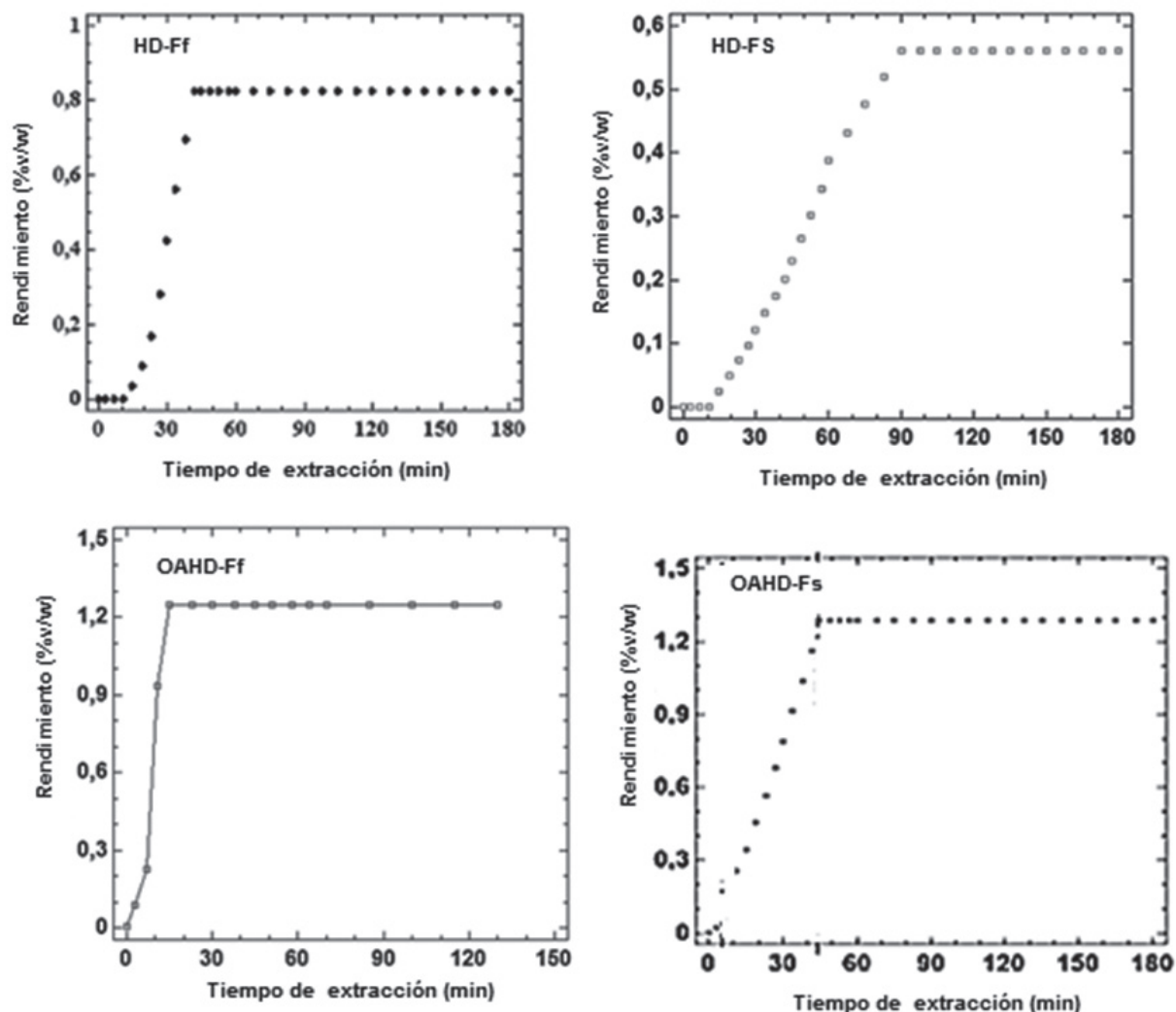


Figura 3. Rendimiento (% v/w) del aceite esencial de caléndula en Ff y Fs obtenido por HD y OAHD en función del tiempo de extracción (min).

Conclusiones

Los mejores rendimientos lo exhibe el método de extracción OAHD. Existiendo marcadas diferencias en el tiempo de acumulación del aceite (min) y en el tiempo de extracción (min). En las diferentes técnicas de extracción, tanto convencionales como emergentes, se puede llegar a obtener rendimientos similares pero la diferencia real e importante se registra en el tiempo total de extracción. El estado del material vegetal influye en la cantidad de aceite obtenido, y se observa que el tiempo también presenta variabilidad al comparar las dos técnicas (HD y OAHD) para un mismo estado de la flor.

Agradecimientos

Ing. Claudio Camilo González, decano de la ECBTI de la Unad, a los docentes de Programa de Ingeniería de Alimentos y Electrónica.

Referencias bibliográficas

- [1] Bampouli A, Kyriakopoulou K, Papaefstathiou G, Louli, V, Krokida M, Magoulas K. Comparison of different extraction methods of *Pistacia lentiscus* var. chia leaves: Yield, antioxidant activity and essential oil chemical composition. *J Appl Res Med Aromat Plants*. 2014;1(3):81-91.

- [2] Morsy NFS. A short extraction time of high quality hydrodistilled cardamom (*Elettaria cardamomum* L. Maton) essential oil using ultrasound as a pretreatment. *Ind Crops Prod.* 2015;65(3):287-92.
- [3] Stanojevic L, Radulovic N, Djokic T, Stankovic B, Ilic D, Cakic M, Nikolic V. The yield, composition and hydrodistillation kinetics of the essential oil of dill seeds (*Anethii fructus*) obtained by different hydrodistillation techniques. *Ind Crops Prod.* 2015;65(3):429-36.
- [4] Gavahian M, Farahnaky A, Javidnia K, Majzoobi M. Comparison of ohmic-assisted hydrodistillation with traditional Hydrodistillation for the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2012;14:85-91.
- [5] Gavahian M, Farahnaky A, Farhoosh R, Javidnia K, Shahidi F. Extraction of essential oils from *Mentha piperita* using advanced techniques: Microwave versus ohmic assisted hydrodistillation. *Food Bioprod. Process.* 2015;94(2):50-8.
- [6] Blumrosen G, Abazari A, Golberg A, Yarmush M, Toner M. Single-step electrical field strength screening to determine electroporation induced transmembrane transport parameters. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1858(9):2041-9.
- [7] Salomé LF, Soto RM, Cruz N, González V. Chemical composition of scented extracts obtained from *calendula officinalis* by three extraction methods. *Bot Sci.* 2015;93(3):633-8.
- [8] Abdullabekova V, Juraeva A, Azizov O, Yunusxodjaeva N. Essential Oil of *calendula officinalis*. Tashkent pharmaceutical institute. 2014;7(2):1-4.
- [9] Damyeh M, Niakousari M. Impact of ohmic-assisted hydrodistillation on kinetics data, physicochemical and biological properties of *Prangos ferulacea* Lindle. Essential oil: Comparison with conventional hydrodistillation. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2016;33:387-96.
- [10] Filly A, Fernandez X, Minitu M, Visinoni F, Cravotto G, Chemat F. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs. *Food Chem.* 2014;150(6):193-8.
- [11] Boukroufa M, Boutekedjiret C, Petigny L, Rakotomanomana N, Chemat F. Bio-refinery of orange peels waste: A new concept based on integrated green and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin. *Ultrason Sonochem.* 2014;24(1):72-9.
- [12] Armijo J, Vicuña G, Romero y Otiniano C, P, Condorhuamán C, Hilario R. Modelamiento y simulación del proceso de extracción de aceites esenciales mediante la destilación por arrastre con vapor. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* 2012;15(2):19-27.
- [13] Kusuma HS, Mahfud M. Microwave hydrodistillation for extraction of essential oil from *Pogostemon cablin Benth.*: Analysis and modelling of extraction kinetics. *J Appl Res Med Aromat Plants.* 2017;4(1):46-54.
- [14] Fitzpatrick J, Lauwe A, Coursol M, O'Brien A, Fitzpatrick K, Ji J, *et al.* Investigation of the rehydration behaviour of food powders by comparing the behavior of twelve powders with different properties. *Powder Technology.* 2016;297(11):340-48.
- [15] Rojas ML, Agosto PED. Microstructure elements affect the mass transfer in foods: The case of convective drying and rehydration of pumpkin. *LWT - Food Sci. Technol.* 2018;93(4):102-8.
- [16] Zielinska M, Markowski, M. The influence of microwave-assisted drying techniques on the rehydration behavior of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food Chem.* 2016;196(7):1188-96.