

Extracción del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum L.*) con CO₂ supercrítico

Carlos Romero^{1*}, Yulissa Belisario¹ y Marianela Blasco¹

¹Departamento de Química Tecnológica, Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo,
Naguanagua, Venezuela

Recibido: 22-03-04 Aceptado: 29-09-04

Resumen

Se experimentó el uso de CO₂ en condiciones supercríticas para la extracción del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum L.*) con la finalidad de establecer las condiciones de extracción. Se analizó la influencia de factores como: humedad y corte de la hoja, presión y temperatura de extracción, número de ciclos de extracción, flujo de extracción y la temperatura de descarga; utilizando un diseño experimental factorial fraccionado 1/8. Las extracciones se realizaron en un equipo Speed-SFE (Applied Separations) y los resultados de los experimentos con sus respectivas réplicas se analizaron utilizando la técnica de análisis de varianza (ANOVA), por medio del programa estadístico Statgraphics Plus. La composición del aceite esencial se analizó por cromatografía de gases en un equipo Varian 3300, equipado con un detector de ionización a la llama FID y acoplado a un integrador computarizado. Los resultados mostraron dos extractos: aceite y cera. Los factores influyentes sobre el rendimiento de la extracción resultaron ser: flujo, número de ciclos temperatura de extracción y el corte de la hoja. Mediante la cromatografía de gases se identificaron y cuantificaron los componentes principales del aceite, tales como: eugenol, linalool, benzaldehído, zingibirene y -terpineno.

Palabras clave: Aceites esenciales; extracción supercrítica; *Ocimum basilicum*.

Essential oil extraction from basil (*Ocimum basilicum L.*) with supercritical CO₂

Abstract

Carbon dioxide (CO₂) at supercritical conditions was studied for extraction of essential oil from basil (*Ocimum basilicum L.*) for establishing of extraction conditions. The effects of the following factors were analyzed, using a 1/8 fractional factorial experimental design: humidity and court of leaves, pressure and extraction temperature, extraction cycles, extraction flow and discharge temperature. Supercritical extractions were performed by a Speed-SFE extractor (Applied Separations). Results and replicas were analyzed with ANOVA method, by means of Statgraphics plus software. Composition of essential oil was determined by 3300 Varian gas chromatograph with a FID detector and coupled to an integrator register. Results show two extracts: oil and wax. Influential factors on extraction turned out to be: flow, cycles and extraction temperature, and cut of leaves. Gas chromatography allowed to identify and to quantify the following main components of oil: eugenol, linalool, benzaldehyde, zingibirene and -terpinene.

Key words: Oil essentials; *Ocimum basilicum*; Supercritical extraction.

* Autor para la correspondencia. E-mail: cromero@uc.edu.ve

Introducción

Los aceites esenciales son sustancias aromáticas extraídas de flores, frutos, hierbas, maderas, raíces, etc. Desde el punto de vista químico, son mezclas complejas de sustancias volátiles de hasta más de 100 componentes de los tipos: monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanos, y compuestos alifáticos de bajo peso molecular como alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos. Son sensibles a los rayos ultravioleta y a las temperaturas extremas; son insolubles en agua, moderadamente solubles en vinagre y muy solubles en ceras vegetales, aceites, cremas, geles, alcoholes, grasa, etc.

El uso de aceites esenciales en la industria farmacéutica, fragancias y de sabores se ha incrementado considerablemente en las últimas décadas, por esta razón se investigan nuevos métodos de extracción y obtención de aceites que minimicen los costos energéticos, optimicen la pureza y calidad de dichos aceites y además, sean amigables con el medio ambiente. La extracción con fluidos supercríticos, en la cual el fluido es llevado a condiciones de presión y temperatura superiores a la presión y temperatura crítica, puede alcanzar estas exigencias y proporcionar beneficios como: extractos libres de contaminantes biológicos, mayor rendimiento, ausencia del solvente en el extracto, mayor presencia de agentes activos, reciclaje del solvente, flexibilidad de las variables del proceso, equipos automatizados, etc. (1-3).

El presente trabajo muestra los resultados obtenidos en la evaluación de la extracción del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum L.*) que es una planta típica silvestre de las regiones tropicales, por medio de CO_2 en condiciones supercríticas. Con el fin de explorar el efecto de algunos factores que afectan el rendimiento de la extracción (2) se elabora un diseño experimental factorial (4, 5).

Materiales y Métodos

Se empleó como materia prima las hojas de albahaca, recolectadas en Montalbán Municipio Montalbán del Estado Carabobo, a 645 metros sobre el nivel del mar y temperatura promedio de 24°C , para luego ser llevadas al laboratorio y ser secadas a temperatura ambiente por 5 días y tratadas según el diseño experimental. El corte de las hojas se realizó con dos tamices de áreas de 1 cm^2 y $0,5\text{ cm}^2$.

Se elaboró un diseño experimental factorial, 2^7 fraccionado $1/8$ ortogonal (6, 7), el cual permitió experimentar con 16 combinaciones diferentes de los factores. Se realizó una réplica a cada experimento. En la Tabla 1 se muestran los 7 factores y las 16 combinaciones experimentales, con sus respectivos niveles.

La extracción se realizó en un equipo SPEED-SFE (Applied Separations), el cual permitió manipular presión y temperatura de extracción, flujo y temperatura de descarga. Para la recolección de extractos se utilizó un sistema que permite separar el aceite de las ceras. El sistema está formado por dos separadores de 100 mL. De capacidad, conectados entre sí por una tubería de acero inoxidable con un diámetro de 1,5 mm. Uno de los separadores es conectado a la tubería de descarga del equipo SPEED-SFE y sumergido en una mezcla refrigerante (hielo + NaCl), la cual mantiene una temperatura aproximada a 0°C ; en este separador se recolectaron las ceras. El segundo separador es sumergido en CO_2 sólido (hielo seco) a una temperatura menor a -10°C y conectado al rotámetro que mide el flujo de descarga; en este separador se recolecta el aceite esencial.

Los resultados de los experimentos con sus respectivas réplicas se analizaron con el método ANOVA, por medio de un programa estadístico Statgraphics plus™, con el fin de determinar los efectos de los factores sobre el rendimiento de la extracción.

Tabla 1
Diseño Experimental. Factores y niveles

Experimento	Humedad de la hoja	Corte de la hoja	Número de Ciclos	Temperatura de extracción (°C)	Presión de extracción (bar)	Flujo de extracción (L/min.)	Temperatura de descarga (°C)
1	Seca	Cortada	2	40	150	2	90
2	Seca	Cortada	2	40	200	4	100
3	Seca	Cortada	4	50	150	2	100
4	Seca	Cortada	4	50	200	4	90
5	Seca	Entera	2	50	150	4	90
6	Seca	Entera	2	50	200	2	100
7	Seca	Entera	4	40	150	4	100
8	Seca	Entera	4	40	200	2	90
9	Fresca	Cortada	2	50	150	4	100
10	Fresca	Cortada	2	50	200	2	90
11	Fresca	Cortada	4	40	150	4	90
12	Fresca	Cortada	4	40	200	2	100
13	Fresca	Entera	2	40	150	2	100
14	Fresca	Entera	2	40	200	4	90
15	Fresca	Entera	4	50	150	2	90
16	Fresca	Entera	4	50	200	4	100

La identificación de los componentes del aceite se realizó por sus índices de retención cromatográficos (8, 9) por comparación contra compuestos patrones disponibles en el laboratorio, disueltos al 1% en tolueno.

Los análisis de cromatografía de gas fueron realizados en un equipo Varian 3300, equipado con un detector de ionización a la llama FID y acoplado a un integrador computarizado. El gas portador fue hidrógeno de alta pureza (Oxicar 99,95). Se usó una columna SGE capilar de silica fundida BPX-5 (30 m, 0,22 I.D, 0,33 O.D). La temperatura del inyector fue de 200°C y la temperatura del detector 110°C. El volumen inyectado de la muestra fue 1 µL.

Resultados y Discusión

Los experimentos de extracción con CO₂ en condiciones supercríticas arrojaron dos extractos: ceras y aceite. Los rendimien-

tos de los dos extractos se muestran en la Tabla 2.

Los factores que afectaron favorablemente la extracción del aceite esencial de albahaca se muestran en la Tabla 3, los cuales deben estar en el nivel alto para un mayor rendimiento de la extracción. Estos factores son: numero de ciclos, flujo de CO₂ y corte de la hoja.

Los experimentos que resultaron con mayor extracción del aceite esencial fueron los numerados como: 4, 7, 15 y 16, siendo el último el de mayor rendimiento. Como se puede observar en la Tabla 1; el número de ciclos para estos experimentos es cuatro, lo que significa que un largo tiempo de extracción estática, mejora el rendimiento de la extracción por permitir un mayor tiempo de contacto entre la matriz y el CO₂ para alcanzar el equilibrio en la fase de extracción.

Tabla 2
Rendimiento porcentual de la extracción supercrítica

Experimento	Aceite		Cera	
	Original	Réplica	Original	Réplica
1	0,884	0,624	0,337	0,305
2	0,980	1,167	0,991	0,860
3	1,021	1,240	0,468	0,465
4	1,402	1,571	1,153	0,962
5	1,243	0,974	0,741	1,020
6	0,870	0,919	0,729	0,563
7	1,631	1,537	0,970	0,809
8	1,228	1,095	0,369	0,228
9	0,730	0,450	0,506	0,499
10	0,996	1,043	0,402	0,572
11	1,169	1,317	1,021	1,170
12	1,050	0,964	0,305	0,407
13	1,014	0,828	0,232	0,124
14	0,899	1,177	0,987	0,694
15	1,302	1,010	0,612	0,882
16	1,848	1,586	1,256	1,438

Tabla 3
Resultados ANOVA para los factores que afectan la de extracción del aceite

Factor	F	Valor p	Promedio de porcentaje de rendimiento Nivel	
			Bajo	Alto
Número de Ciclos	31,47	0,0000	0,92	1,31
Flujo de CO ₂	10,66	0,0033	1,01	1,23
Corte de la hoja	5,26	0,0309	1,04 (cortada)	1,20 (entera)

El flujo de CO₂ de 4 L/min. no permite condensar los compuestos volátiles en el primer separador. Los componentes más volátiles son condensados en el segundo separador, favoreciendo la extracción de aceite.

El análisis cromatográfico, como el mostrado en la Figura 1, permitió identificar y cuantificar los componentes principales del aceite esencial los cuales resultaron ser: benzaldehído, α -terpineno, cineole, linalool,

eugenol y zingibireno. La composición porcentual del aceite esencial de albahaca se muestra en la Tabla 4.

Estudios para desarrollar métodos de extracción con CO₂ señalan que presiones entre 98 y 197 bar, favorecen la extracción de terpenos (10). Los resultados de la composición cromatográfica, corroboran este resultado, debido a la presencia de linalool, zingibireno y α -terpineno.

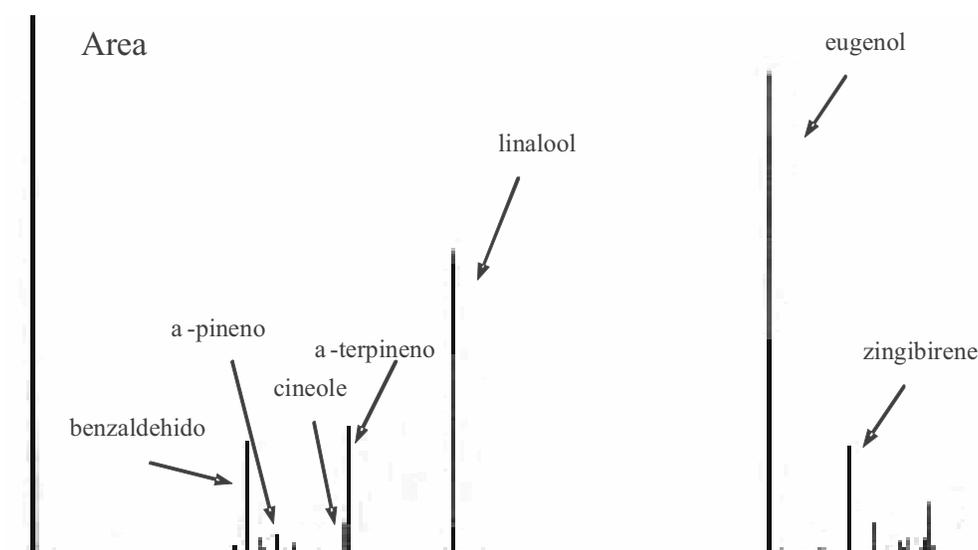


Figura 1. Cromatograma típico del aceite esencial de albahaca.

La presencia de eugenol sugiere un efecto favorable de la humedad de la hoja, como modificador natural (2, 4) favoreciendo su extracción.

Conclusiones

Se evaluó el efecto de siete factores operacionales y no operacionales sobre la extracción del aceite esencial de albahaca utilizando CO₂ en condiciones supercrítica.

Se realizó la extracción con un arreglo experimental de 16 experimentos, obteniendo dos extractos, ceras y aceites. Los rendimientos del aceite se ubican entre 0,450 y 1,848 por ciento. Los rendimientos de ceras están entre 0,228 y 1,438 por ciento.

Los factores que significativamente influyen en el rendimiento del aceite esencial de albahaca resultaron ser: número de ciclos, flujo de CO₂ y corte de la hoja.

Las condiciones adecuadas de operación para un mayor rendimiento de aceite son: número de ciclos 4, flujo de CO₂ 4 L/min., hoja no cortada, presión de operación 200 bar y temperatura de descarga 100°C.

Tabla 4
Composición porcentual del aceite esencial de albahaca

Compuesto	Porcentaje
α -pineno	0,63
α -terpineno	4,40
Benzaldehído	6,29
Cineole	0,66
Linalool	33,30
Eugenol	35,22
Zingibireno	5,03
Otros no identificados	14,47

Se analizó el aceite y se identificaron como compuestos principales: benzaldehído, α -terpineno, cineole, linalool, eugenol y zingibireno.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo (CDCH-UC) por el financiamiento parcial de la investigación y a Germania Marquina por prestarnos sus equipos y suministros.

Referencias Bibliográficas

1. MARR R., GAMSE T. **Chemical Engineering and Processing** 39(1):19-28, 2000.
2. MODE W., MULHOLLAND D., RAYMOR M. **Phytochemical Analysis** 7: 1-15, 1996.
3. SMITH R. **Journal of Chromatography A** 856(1-2): 83-115, 1999.
4. OOSTDYK S., GROB R., SNYDER J., MCNALLY M. **Journal of Chromatographic Science** 31:177-182, 1993.
5. BICKING M. **Journal of Chromatographic Science** 30: 358-360, 1992.
6. JOHNSON R. **Probabilidad y Estadística para Ingenieros de Miller y Freund**, Prentice Hall Hispanoamericana (México), pp. 442-505, 1997.
7. PHILLIP R., Taguchi **Techniques for Quality Engineering**. Mc.Graw Hill Inc. New York (USA), pp. 63-151, 1988.
8. JENNINGS W., SHIBAMOTO T. **Qualitative Analysis of Flavor and Fragrances volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography**. Academic Press New York (USA), pp. 465-469, 1980.
9. MASADA Y., **Analysis of Essential Oil by Gas Chromatography and Mass Spectrometry**. John Wiley & Sons Inc., New York (USA), pp. 269-275, 1976.
10. MCNALLY P., MARY E. **Journal of AOAC international** 79(2):18-22, 1996.