

Extracción y caracterización química del aceite esencial de Eucalipto obtenido por microondas y ultrasonido

Extraction and chemical characterization of essential oil from Eucalyptus obtained by microwave and ultrasound

Diana Nolazco Cama^{1,2}, Elizabeth Villanueva-Quejia³, Beatriz Hatta Sakoda¹ & Lena Tellez Monzon²

¹ Departamento de Tecnología de alimentos y productos agropecuarios, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

² Departamento académico de Química, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

³ Departamento de Ingeniería de alimentos y productos agropecuarios, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

*Autor de correspondencia: dnolazco@lamolina.edu.pe

Diana Nolazco Cama  <https://orcid.org/0000-0002-8192-7611>

Elizabeth Villanueva-Quejia  <https://orcid.org/0000-0002-9609-5379>

Beatriz Hatta Sakoda  <https://orcid.org/0000-0001-5022-9231>

Lena Tellez Monzon  <https://orcid.org/0000-0001-9282-8638>

ARTÍCULO BREVE

INFORMACIÓN DE ARTÍCULO

Artículo recibido: 18/02/2019
Artículo aceptado: 28/06/2020
En línea: 30/07/2020

PALABRAS CLAVE:

Aceite esencial,
eucaliptol,
1,8 cineol,
microondas libre de solventes,
ultrasonido.

BRIEF ARTICLE

ARTICLE INFORMATION

Article received: 18/02/2020
Article accepted: 28/06/2020
On line: 30/07/2020

KEYWORDS:

Essential oil,
eucalyptol,
1,8 cineol,
solvent-free microwave,
ultrasound.

RESUMEN

La extracción por microondas libre de solventes y la asistencia con ultrasonido, como tecnologías emergentes ofrecen ventajas en la extracción de aceites esenciales, siendo importante la investigación del efecto sobre el rendimiento y la composición del aceite esencial. Se evaluó la influencia de la humedad de las hojas y potencia de extracción sobre el rendimiento del aceite esencial de eucalipto extraído por microondas libre de solventes, y una comparación con la asistencia con ultrasonido. La extracción se realizó por microondas a 300 y 600 watts, a 70, 80 y 90% de humedad en las hojas, seleccionando la potencia que evidenció mayor rendimiento del aceite esencial. Posteriormente, se evaluó el efecto del ultrasonido a 180 watts, 40kHz por 15 minutos sobre el rendimiento y la composición química. Se identificaron los analitos obtenidos por ambos métodos de extracción, mediante cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas (CG-EM). El mayor rendimiento (0,55%) se obtuvo a 600 watts y 90% de humedad mediante microondas. La asistencia con ultrasonido incrementó a 0,80% el rendimiento y 17 analitos adicionales en el aceite esencial. Se identificó como componente mayoritario al eucalipto l o 1,8-cineol, encontrado en 42,43% y 37,15% correspondiente a la extracción con microondas libre de solventes y microondas con asistencia de ultrasonido.

ABSTRACT

The solvent-free microwave extraction and the ultrasound-assisted extraction, as emerging technologies, offer advantages in the essential oil extraction, being the research about the effect on the yield and chemical composition of the essential oil important. The influence of leaves moisture and extraction power on the yield of solvent-free microwave eucalyptus essential oil, and a comparison with the ultrasound-assisted extraction was evaluated. The extraction was done by microwaves at 300 and 600 watts, 70, 80 and 90% humidity in the leaves, selecting the power that shows the highest yield of the essential oil. Afterwards, the effect of ultrasound at 180 watts, 40 kHz per 15 minutes on the yield and chemical composition was evaluated. The analytes obtained by both extraction methods were identified, by gas chromatography coupled to a mass spectrometer (GC-MS). The highest yield (0,55%) was obtained at 600 watts and 90% humidity by microwaves. The ultrasound-assisted extraction increased to 0,80% the yield and 17 analytes more in the essential oil. Eucalyptol or 1,8 cineol was identified as a major component, found in 42,43% and 37,15% corresponding to solvent-free microwave extraction and ultrasound-assisted extraction.

INTRODUCCIÓN

Eucalyptus es un árbol australiano de la familia *Myrtaceae*, es uno de los géneros más importantes que incluye 140 géneros y unas 3,800 especies y subespecies, distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales. Es cultivado ampliamente en Brasil, África, Sudeste de Asia y Sur de Europa (CHAH, 2016). El aceite esencial de eucalipto (AEE) al igual que otras plantas aromáticas tienen uso funcional (Mohammadhosseini *et al.*, 2017) y debido a ello, se ha permitido que sean componentes de muchos medicamentos patentados en forma de jarabes, pastillas, gotas nasales (Bruneton, 1995) para la congestión nasal, resfriado, enfermedad bronquial y otros problemas respiratorios (van Wyk & Wink, 2017).

Se ha demostrado que el AEE en su forma de vapor resulta tóxico para bacterias, hongos, patógenos (del suelo y postcosecha) e insectos; lo que podría resultar en su uso potencial como fumigante para laboratorios, hospitales, almacenes de granos alimenticios, etc. (Dhakad *et al.*, 2017). Su actividad antimicrobiana se atribuye a la presencia de sus componentes 1,8-cineol, β -cimeno, D-limoneno, α -pineno, α -terpineol, entre otros (Mossa *et al.*, 2017; González-Guñez *et al.*, 2016; Natividad, 2019; Kringel *et al.*, 2017).

Existen varios métodos para la extracción de aceites esenciales, los más utilizados son la extracción por arrastre de vapor y la hidrodestilación por Clevenger; sin embargo, existen otras tecnologías emergentes como la extracción asistida por microondas, extracción con microondas libre de solventes (EMLS) y con la asistencia de ultrasonido (EMAU), que han demostrado ventajas sobre la destilación tradicional, siendo más rápido, efectivo y con un menor impacto ambiental, evitando el uso de solventes (Filly *et al.*, 2014; Nora & Borges, 2017). Sin embargo, en las comparaciones de cantidad y tipo de compuestos químicos en aceites esenciales obtenidos por microondas, se ha demostrado la aparición de mayor número de compuestos oxigenados que son más

odoríferos a diferencia de otros monoterpénicos (Filly *et al.*, 2014); que puede tener importancia sobre el efecto antioxidante y antimicrobiano (Memarzadeh *et al.*, 2015; Zhu *et al.*, 2020).

Por estas razones, se evaluó la influencia de la potencia y humedad de las hojas en la extracción por microondas, y el efecto del ultrasonido como pretratamiento en el rendimiento y la composición química del aceite esencial de *Eucalyptus globulus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Las hojas de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) procedieron de Huarochiri (Lima, Perú); éstas fueron cosechadas entre agosto y octubre de 2018, presentando una humedad promedio de 69%.

Acondicionamiento del material vegetal para la extracción. Las hojas se cortaron en un procesador de alimentos (Robot Coupe, CL50, Francia), luego se sumergieron en agua destilada a diferentes proporciones de hoja: agua (1:0,8; 1:10; 1:12,5) por 1 hora para alcanzar humedades de 70, 80 y 90%; (método 931.04 de la AOAC, 2016), y finalmente se escurrieron y empacaron en bolsas de polietileno para su almacenamiento a -18°C hasta su extracción.

Extracción por microondas libre de solventes (EMLS). La muestra descongelada (300 g) fue colocada en un recipiente de vidrio de 1L en un microondas (NEOS, Milestone, Italia) controlado por un microprocesador con sistema de control automático de temperatura por infrarrojo. La extracción se realizó a dos niveles de potencia: 300 y 600 watts, durante 30 minutos con temperatura de condensación de 4°C , para cada una de las 3 condiciones de humedad (70, 80 y 90%); haciendo un total de 6 tratamientos. El AEE fue recolectado en un frasco ámbar y almacenado a -18°C hasta su caracterización química. Se seleccionó la potencia y porcentaje de humedad que evidenció el mayor rendimiento del AEE.

Extracción por microondas asistida con ultrasonido (EMAU). Para el estudio del efecto de la asistencia del ultrasonido como pretratamiento a la extracción con microondas, las hojas de eucalipto descongeladas, con la humedad seleccionada, puestas en una bolsa de polietileno que se selló herméticamente, se sometieron al pretratamiento con ultrasonido en un baño ultrasónico (Branson Ultrasonics, CPX-952-338R, USA). Este tratamiento se realizó a 180 watts, 40kHz y por 15 minutos, utilizando agua como medio de transmisión en una proporción de 2:1 (hojas: agua). Finalmente, se realizó la extracción por microondas a la potencia elegida.

Rendimiento de aceite esencial. El rendimiento se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{Rendimiento} = (\text{Peso de aceite esencial}) / (\text{Peso de hojas}) \times 100$$

Identificación de compuestos del AEE por Cromatografía de Gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). Se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies, 7890, USA) acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent Technologies, 5975C, USA), y un sistema de datos HP Chem Station, se manipuló una columna capilar J&W DB-5ms (60 m x 250 μm x 0,25 μm). La rampa de temperatura empezó en 50°C y subió 5°C/min hasta 180°C; 2,5°C/min hasta 200°C por 2 minutos y finalmente a 25°C/min hasta 300°C, por 1 min. La temperatura de la cámara de ionización fue de 250°C. El gas utilizado fue helio (99,995 %) a una velocidad de flujo de 1ml/min. Los espectros de masas y corrientes iónicas fueron a 4,75 scan s^{-1} , en el rango de m/z 35-500. Se necesitaron 20 μl de aceite esencial de eucalipto que fue diluido en 1 ml de diclorometano (QP). Para la caracterización cromatográfica de los analitos se realizó el cotejo de los tiempos de retención y los patrones de fragmentación de los espectros de masas experimentales con los hallados en la librería (database\NIST versión 2).

Análisis estadístico. Para determinar el efecto de la humedad (70, 80 y 90%) y la potencia (300 y 600 watts) en la EMLS, se analizó el rendimiento AEE (%) mediante un experimento factorial, teniendo como factores humedad (3 niveles: 70,80 y 90%) con la potencia (300 y 600 watts). Cada combinación tuvo 3 repeticiones. Se analizó el cumplimiento de los supuestos: errores con distribución normal y la homogeneidad de varianzas. Se usaron pruebas de comparación LSD de Fisher para analizar las interacciones entre los dos factores. Posteriormente, para comparar los dos métodos de extracción del aceite esencial (EMLS y EMAU) a la mejor potencia de extracción se aplicó un diseño completamente al azar (DCA). Se utilizó el programa InfoStat versión 2020.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la humedad y de la potencia en la extracción del aceite esencial por microondas libre de solventes (EMLS)

En la Tabla 1 se presentan los rendimientos a diferentes condiciones de humedad de las hojas de *Eucalyptus globulus* y potencias de extracción en la EMLS. Como se puede observar, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, siendo el tratamiento con mayor contenido de humedad de las hojas de eucalipto (90%) y mayor potencia de extracción (600 watts), el que presentó un mayor rendimiento de aceite esencial (0,55%).

Tabla 1. Rendimiento de AEE a diferentes condiciones de humedad de las hojas de *Eucalyptus globulus* y potencias de extracción por microondas libre de solventes

Humedad (%)	Rendimiento (%)	
	Potencia de EMLS	
	300 watts	600 watts
70	0,02±0,006 ^a	0,36±0,021 ^d
80	0,07±0,012 ^b	0,45±0,025 ^c
90	0,15±0,013 ^c	0,55±0,031 ^f

Los resultados se expresan como el promedio \pm la desviación estándar de tres repeticiones. Letras distintas (^{a, b, c, d y f}) en la misma columna indican diferencias significativas entre ellas de menor a mayor en orden alfabético, según la prueba de comparación LSD ($p \leq 0,05$).

Con respecto, al efecto de la potencia sobre el rendimiento del AEE, Gupta *et al.* (2013) indican que el uso de microondas genera un aumento en la temperatura de la muestra causando una degradación de las células de la planta y consecuentemente un corto tiempo de extracción. La mayor potencia de microondas hace que las moléculas en el material vegetal giren rápidamente y produzcan energía térmica detectada por el aumento de temperatura cuando se expone a la radiación de microondas (Cusma *et al.*, 2018). A la misma conclusión llegaron Moradi *et al.* (2018) y Khalili *et al.* (2018), quienes indicaron que un incremento del 50% de la potencia aumentó la concentración de compuestos oxigenados y disminuyó los hidrocarburos monoterpenos en aceites esenciales de romero, tomillo y toronjil, respectivamente.

Asimismo, los resultados demuestran que la humedad del material vegetal en la extracción es un factor importante en el rendimiento de los aceites esenciales (Wilson *et al.*, 2016). En la EMLS es importante un porcentaje alto de humedad para mejorar el rendimiento, este proceso coevapora el aceite esencial con el agua *in situ* del material vegetal (Cravotto & Carnaroglio, 2017), debido a que el calentamiento interno del agua *in situ* con una alta constante dieléctrica dentro del material vegetal destruye las células vegetales, y el calentamiento es rápido en este proceso (Drinić *et al.*, 2020), lo que conduce a la ruptura de las glándulas y los receptáculos oleíferos; por lo tanto, es importante que las hojas sean humedecidas previo a la extracción (Chun-Hui *et al.*, 2012; Khalili *et al.*, 2018; Kusuma *et al.*, 2018), pudiendo alcanzar humedades altas como lo reportado por Lucchesi *et al.* (2004) (85% para tomillo, 90% para albahaca y 95% para menta) para aumentar el rendimiento en comparación con otros procesos de extracción como el de arrastre por vapor.

Efecto del pretratamiento con ultrasonido en la extracción del aceite esencial por microondas libre de solventes (EMAU)

En la Figura 1, se puede observar los rendimientos de las extracciones sin y con la asistencia del ultrasonido. El pretratamiento con ultrasonido en la extracción con microondas sin solvente a una potencia de 600 watts tuvo un efecto significativo sobre el rendimiento, siendo este de $0,80 \pm 0,02\%$, a diferencia de la extracción libre de solvente sin pretratamiento con ultrasonido ($0,55 \pm 0,005\%$).

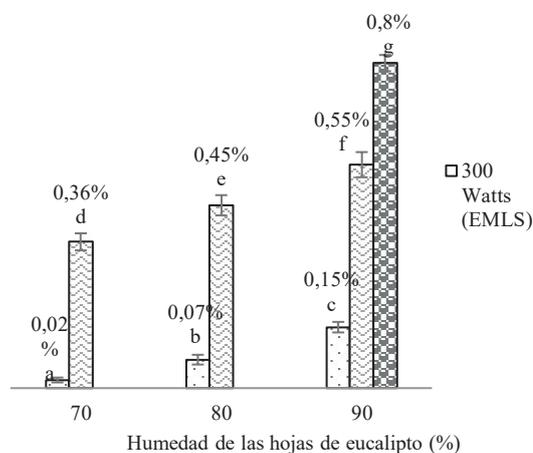


Figura 1. Rendimiento (%) del aceite esencial de hojas de *Eucalyptus globulus* sin y con la asistencia del ultrasonido

Resultados similares se obtuvieron para la extracción de aceite esencial de pimienta blanca en donde se comparó solo la extracción por microondas frente a la extracción de microondas asistida por ultrasonido (Wang *et al.*, 2018). Al respecto, Bahmani *et al.* (2018) y El Asbahani *et al.* (2015) refieren que una ventaja del ultrasonido es la intensificación de la transferencia de masa y la ruptura celular en la hoja, logrando una extracción selectiva acelerando la liberación del aceite esencial de la planta, cuando se usa en combinación con otras técnicas; este efecto es significativo cuando el material vegetal posee estructuras secretoras distribuidas en las superficies de las hojas.

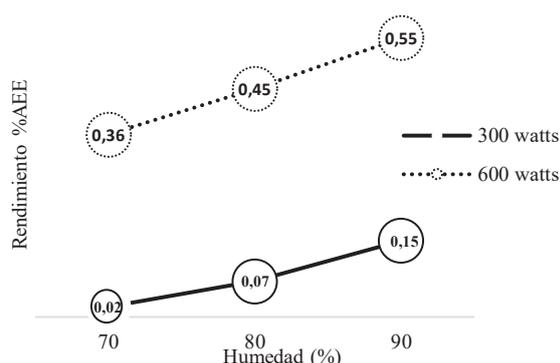


Figura 2. Rendimiento (%) del aceite esencial de hojas de *Eucalyptus globulus* a dos potencias de extracción

El análisis estadístico realizado (Figura 2) evidencia que a 600 watts se obtuvo una mayor media con humedad de 90%, y la interacción entre la humedad y la potencia resultó significativa (p-value 0,0442), similar comportamiento reportó Bahmani *et al.* (2018). Concluyendo que, a mayor potencia, mayor rendimiento de aceite esencial.

Características químicas del aceite esencial de eucalipto obtenido por EMLS y EMAU

Los componentes químicos del aceite esencial de hojas de *Eucalyptus globulus* con tratamientos EMLS y EMAU, se muestran en la Tabla 2. Los componentes principales en ambos tratamientos fueron eucaliptol o 1,8 cineol, α - pineno, aromadendreno, D-limoneno, varidifloreño y gurjuneno. En el análisis cromatográfico, correspondientes al 99,9% del área total, se identificó una mayor cantidad de analitos en la EMAU siendo 46 analitos en comparación a los 41 en EMLS, de los cuales 29 compuestos son comunes en ambos tratamientos de extracción y 17 son analitos adicionales en la EMAU.

Tabla 2. Componentes químicos del aceite esencial de hojas de *Eucalyptus globulus* con tratamientos EMLS y EMAU.

Nº	COMPONENTES	MOLÉCULA	ÁREA (%)	
			EMLS	EMAU
1	α - Pineno	C ₁₀ H ₁₆	11,10	11,19
2	D-Limoneno	C ₂₀ H ₃₄	5,36	5,08
3	Eucaliptol	C ₁₀ H ₁₈ O	42,43	37,15
4	α -Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	2,23	0,88
5	α -terpineol acetato	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	3,34	6,78
6	α -Gurjuneno	C ₁₅ H ₂₅	3,88	4,03
7	Aromadendreno	C ₁₅ H ₂₄	10,26	10,14
8	L-Alloaromadendreno	C ₁₅ H ₂₅ O	3,17	3,21
9	Varidifloreño	C ₁₅ H ₂₄	4,03	3,26
10	Globulol	C ₁₅ H ₂₆ O	3,27	4,52
11	Viridiflorol	C ₁₅ H ₂₆ O	1,18	1,88
12	Epiglobulol	C ₁₅ H ₂₆ O	--	1,06
13	β -Pineno	C ₁₀ H ₁₆	0,57	0,56
14	β -Mirceno	C ₁₀ H ₁₂	0,63	0,47
15	α -Felandreno	C ₁₀ H ₁₆	0,13	0,09
16	p-Cimeno	C ₉ H ₁₃	0,15	0,48
17	γ -Terpineno	C ₉ H ₁₅	0,62	0,20
18	L-4-Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	0,37	0,31
19	Acetato de geraniol	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0,42	0,76
20	Isoledeno	C ₁₂ H ₂₄	0,48	0,56
21	α -Copaeno	C ₁₆ H ₂₃	0,17	--
22	α -Cubebeno	C ₁₅ H ₂₄	--	0,13
23	Cadineno	C ₁₅ H ₂₄	0,18	--
24	β -Gurjuneno	C ₁₅ H ₂₅	0,66	0,75
25	β -Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	0,14	--
26	1,1,1,3 α - trimetil-7-metilenedecahidro-1H-Ciclopropa[a]naftaleno	C ₁₀	0,21	--

27	2-isopropil-5-metil-9-metillen-biciclo [4.4.0] dec-1-eno	C ₁₀	--	0,16
28	α -Panasinseno	C ₁₅ H ₂₄	0,15	--
29	Sativeno	C ₁₅ H ₂₄	--	0,35
30	Eremofileno	C ₁₅ H ₂₄	0,63	--
31	α -Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	0,12	--
32	γ -Gurjuneno	C ₁₅ H ₂₄	0,33	0,38
33	C ₁₅ H ₂₄	C ₁₅ H ₂₄	--	0,64
34	Feniletil isovalerato	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	0,43	--
35	Elixeno	C ₁₅ H ₂₄	0,58	--
36	γ -Muuroleno	C ₁₅ H ₂₄	--	0,47
37	α -amorfenol	C ₁₅ H ₂₄	--	0,23
38	Cadineno	C ₁₅ H ₂₄	0,18	--
39	γ -Cadineno	C ₁₅ H ₂₄	0,33	0,34
40	δ -Cadineno	C ₁₅ H ₂₂	0,18	0,30
41	Dehidroaromadendreno	C ₁₅ H ₂₆ O	0,60	1,03
42	Epiglobulol	C ₁₅ H ₂₄	0,60	0,17
43	α -Fameseno	C ₁₅ H ₂₄	--	0,17
44	C ₁₅ H ₂₄ O		0,38	0,27
45	C ₁₅ H ₂₆ O	C ₁₅ H ₂₆ O	0,34	0,21
46	β -Eudesmol	C ₁₅ H ₂₆ O	0,20	0,56
47	3,3,7,11-tetrametil-triciclo [6.3.0.0(2,4)]Undec-8-eno	C ₁₅ H ₂₄ O	--	0,15
48	Spatulenol	C ₁₅ H ₂₆ O	--	0,26
49	Ledol	C ₁₅ H ₂₆ O	0,29	0,50
50	Bis(2-etilhexil) éster del ácido Hexanedioico	C ₁₅ H ₂₆ O	0,03	--
51	γ -Cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	--	0,06
52	α -Cadinol	C ₁₀ H ₁₈ O	--	0,03
53	Guaniol	C ₁₀ H ₁₈ O	--	0,20
54	Decahidro-1,1,3 α . trimetil-7-metilen-[1 α S-(1 α ,3 α ,7 β ,7 α)]-1H- ciclopropa(a)naftaleno	C ₂₆ H ₂₀ O ₁₀	--	0,02
55	4-metilen-1-metil-2(2-metil-1-propen-1yl)-1-vinil-cicloheptano	C ₁₅ H ₂₆	--	0,18
56	α -terpinoleno	C ₁₀ H ₁₆	--	0,06
Total			100	100

EMLS: Extracción por microondas libre de solventes; EMAU: Extracción por microondas libre de solventes asistida con ultrasonido.

Los componentes principales del AEE extraído por EMLS y EMAU son los monoterpenos oxigenados (eucaliptol 42,43%; 37,15%), hidrocarburos monoterpenos (α -pineno 11,1%; 11,2%) e hidrocarburos sesquiterpenos (aromadendreno 10,26%; 10,14%), al igual que el obtenido por González *et al.* (2016) y Natividad (2019). En base a los componentes mayoritarios, se identificó al quimiotipo eucaliptol/ α -pineno, al igual que en otras variedades de eucalipto reportados por Elaissi *et al.* (2011). Dentro de los terpenos encontrados para ambas extracciones, se encuentran los hidrocarburos monoterpenos (HM) como el D-limoneno, en un porcentaje de 5,36-5,08%, similar al resultado que

obtuvo Morsy (2015). La cantidad de limoneno era aproximadamente la mitad del α -pineno, diferente a lo reportado por Zrira *et al.* (2004) y en menor cantidad otros HM como α -felandreno, α -Terpinoleno e Isoledeno; al respecto se detectaron cantidades similares de p-cimeno, seguidas de menores cantidades de γ -terpineno para semejantes especies de *Eucalyptus parvula*. En *Eucalyptus cinerea*, se detectaron cantidades similares de α -pineno y limoneno, seguidas de menores cantidades de p-cimeno, β -mirceno y β -pineno (Zrira *et al.*, 2004 y Coppen, 2002). También se identificaron con la EMAU, los hidrocarburos sesquiterpénicos, donde se detectaron porcentajes muy bajos ($\leq 0,1\%$) de β -cariofileno,

cadineno, α -panasinseno, dehidroaromadendreno, α -farneseno, β -eudesmol, spatulenol, α -cadinol, γ -cadinol y cantidades ligeramente mayores ($\leq 0,6\%$) de β -gurjuneno, γ -gurjuneno, eremofileno, epiglobulol, L-4-terpineol, isoleveno, que difieren a lo mencionado por Zrira *et al.* (2004).

En el AEE se obtuvo menos componentes por EMLS, esto puede deberse a que los compuestos orgánicos con bajo momento dipolar contenidos en el AEE tienen una baja interacción con microondas, en consecuencia, se extraen con mayor dificultad (Farhat *et al.*, 2017) o incluso pueden estar sujetos a cambios en su configuración incluyendo terpenos menores Ieri *et al.* (2019). Por otro lado, el método de extracción por microondas produjo menos compuestos con baja polaridad, no siendo suficiente para aislar a los monoterpenos y sesquiterpenos oxigenados (Petigny *et al.*, 2014); que podría estar relacionado a la degradación térmica de los compuestos lábiles durante la aplicación de calor del microondas por tiempos prolongados (Filly *et al.*, 2014; Morsy, 2015 y Tran *et al.*, 2020).

Por el contrario, con la EMAU existe un mayor número de compuestos o analitos (17) debido a que hay una mayor liberación del material soluble en el medio circundante, ya que las burbujas de cavitación producidas por el ultrasonido rompen los tricomas que se encuentran en la superficie de la hoja (Petigny *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2018 y Hu *et al.*, 2019). Al respecto, Morsy (2015) y Seidi *et al.* (2016) indican que la ventaja del pretratamiento ultrasónico aumenta la extracción de compuestos monoterpenos oxigenados, lo que permite una extracción efectiva en un tiempo considerablemente más corto con una mejor calidad, cuando existe un nivel bajo de degradación térmica (Kowalski *et al.*, 2015) haciendo este producto muy valioso para aplicarlo en cosméticos, medicinas y alimentos como un conservante natural.

Por otro lado, se evidencia que el componente eucaliptol disminuyó de 42,43 (EMLS) a 37,15

(EMAU). En general, en la EMAU se observa la reducción de monoterpenos, monoterpenos oxigenados, diterpenos y sesquiterpenos. Al respecto, Petigny *et al.* (2014) refiere que el ultrasonido podría tener efecto en algunos terpenos, los cuales estarían sujetos a cambios de configuración en la posición de los dobles enlaces, causando reducción de los mismos. También, Wang *et al.* (2018) indica que el ultrasonido podría aumentar las degradaciones de los productos naturales que incluyen compuestos no volátiles como volátiles. Además, las modificaciones en la composición están relacionados con la facilidad de liberación de los aceites esenciales de las glándulas secretoras a transformaciones de compuestos químicos inestables durante el ultrasonido (Nora & Borges, 2017) y mejorando también el rendimiento de los componentes químicos (Ullah *et al.*, 2019).

De los compuestos valorizados por sus propiedades en el AEE se tiene al eucaliptol, aromadendreno y α -terpineol. La abundancia de 1,8-cineol o eucaliptol mostró una variabilidad entre 42 a 37%, el porcentaje es inferior a lo reportado por Ieri *et al.* (2019), considerando que esta variabilidad podría deberse a factores climáticos, geográficos y temporada de cosecha del eucalipto; no obstante, varios autores como Garneau *et al.* (2013); Godinho *et al.* (2014) y Hernández *et al.* (2018), refieren que el compuesto mayoritario en la familia de *Myrtaceae*, de *Eucalyptus globulus* es el eucaliptol. La importancia del eucaliptol es que tiene actividad biológica como antibacteriano, antifúngico, analgésico y otras propiedades antiinflamatorias (Ramezani *et al.*, 2002; Sartorelli *et al.*, 2007; Dehghani-Samani *et al.*, 2015; Dhakad *et al.*, 2017, Sharafati *et al.*, 2018; Ieri *et al.*, 2019). El aromadendreno se encontró en una proporción 10-10,5%; el cual es mayor a lo reportado por Kheder *et al.* (2020) con 3,97% para *Eucalyptus camaldulensis* e inferior a lo reportado por Mulyaningsih *et al.* (2010), quienes encontraron 31,17% en *Eucalyptus globulus*, y se ha comprobado que el aromadendreno contribuye de manera relevante a la actividad antimicrobiana. El α -terpineol (2-6%) es uno de los componentes del AEE, estos pueden

Rev. Investig. Altoandín. 2020; Vol 22 Nro 3 274--284

tener una aplicación terapéutica potencial para el tratamiento de enfermedades periodontales (Harkat-Madouri *et al.*, 2015). Otros analitos encontrados en menores proporciones son el viridiflorol, globulol, y el p-cimeno (1,2-2%, 3-4%, 0,15-0,5%), siendo semejantes con lo reportado por Elaissi *et al.* (2011), indicando que la sinergia de los compuestos serían los responsables de la actividad antibacteriana.

CONCLUSIÓN

El mayor contenido de humedad (90%) de las hojas de eucalipto y mayor potencia (600 watts) incrementó el rendimiento del aceite esencial de eucalipto en la extracción con microondas libre de solvente (EMLS). El pretratamiento con ultrasonido (EMAU) influyó significativamente en el rendimiento del AEE, extrayéndose 17 compuestos adicionales. El quimiotipo mayoritario encontrado fue el eucaliptol/ α -pineno. Finalmente, la utilización del ultrasonido como pretratamiento es un método innovador que puede ser utilizado a mayor escala y según los fines industriales, sustituyendo a los métodos convencionales.

Agradecimientos

A los integrantes del Círculo de Investigación de Aceites esenciales y Extractos (CIAEE) de la Facultad de Industrias Alimentarias por su participación y al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Agraria La Molina por otorgar el financiamiento parcial para el estudio dentro del marco de la convocatoria Proyectos de Investigación Junior-UNALM 2018 II.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bahmani, L., Aboonajmi, M., Arabhosseini, A., & Mirsaedghazi, H. (2018). Effects of ultrasound pre-treatment on quantity and quality of essential oil of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) leaves. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, *Rev. Investig. Altoandin.* 2020; Vol 22 Nro 3 274--284

8(June 2016), 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2017.10.002>

Bruneton, J. (1995). *Pharmacognosy, Phytochemistry. Medicinal Plants*. Lavoisier Publishing, Paris. 915 pp. <https://www.worldcat.org/title/pharmacognosy-phytochemistry-medicinal-plants/oclc/708701168>

CHAH (2016). *Australian plant census*. Council of Heads of Australasian Herbaria, Canberra. <https://biodiversity.org.au/nsl/services/apc>

Chun-Hui, M., Yang, L., Zu, Y. G., & Liu, T. T. (2012). Optimization of conditions of solvent-free microwave extraction and study on antioxidant capacity of essential oil from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. *Food Chemistry*, *134*(4), 2532–2539. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.080>

Coppen, J. 2002. *Eucalyptus: The Genus Eucalyptus*. 1st Edition. London. 464 pp. <https://www.taylorfrancis.com/books/e/9780429218897>

Cravotto, G., & Carnaroglio, D. (Eds.). (2017). *Microwave chemistry*. Berlin, Germany: De Gruyter. <https://doi.org/10.1515/9783110479935>

Dehghani-Samani, A., Madreseh-Ghahfarokhi, S., Dehghani-Samani, A., & Pirali-Kheirabadi, K. (2015). Acaricidal and repellent activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Mesostigmata). *Journal of HerbMed Pharmacology*, *4*(3), 81–84. http://herbmedpharmacol.com/Article/JHP_20150629150411

Dhakad, A. K., Pandey, V. V., Beg, S., Rawat, J. M., & Singh, A. (2018). Biological, medicinal and toxicological significance of *Eucalyptus* leaf essential oil: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *98*(3), 833–848. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8600>

Drinić, Z., Pljevljakušić, D., Živković, J., Bigović, D., & Šavikin, K. (2020). Microwave-assisted extraction of *O. vulgare* L. spp. *hirtum* essential oil: Comparison with conventional hydro-distillation. *Food and Bioproducts Processing*, *120*(2006), 158–165. <https://doi.org/10.1016/j>

[fbp.2020.01.011](https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.01.011)

- El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E. H. A., Casabianca, H., Mousadik, A. El, Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F. N. R., & Elaissari, A. (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483(1–2), 220–243. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>
- Elaissi, A., Salah, K. H., Mabrouk, S., Larbi, K. M., Chemli, R., & Harzallah-Skhiri, F. (2011). Antibacterial activity and chemical composition of 20 Eucalyptus species' essential oils. *Food Chemistry*, 129(4), 1427–1434. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.100>
- Farhat, A., Benmoussa, H., Bachoual, R., Nasfi, Z., Elfalleh, W., Romdhane, M., & Bouajila, J. (2017). Efficiency of the optimized microwave assisted extractions on the yield, chemical composition and biological activities of Tunisian Rosmarinus officinalis L. essential oil. *Food and Bioprocess Technology*, 105, 224–233. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.07.011>
- Filly, A., Fernandez, X., Minuti, M., Visinoni, F., Cravotto, G., & Chemat, F. (2014). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: From laboratory to pilot and industrial scale. *Food Chemistry*, 150, 193–198. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.139>
- Garneau, F. X., Collin, G. J., Jean, F. I., Gagnon, H., & Arze, J. B. L. (2013). Essential oils from Bolivia. XIII. Myrtaceae: Blepharocalyx salicifolius (Kunth.) O. Berg. *Journal of Essential Oil Research*, 25(3), 166–170. <https://doi.org/10.1080/10412905.2012.744702>
- Godinho, W. M., Farnezi, M. M., Pereira, I. M., Gregório, L. E., & Graef, C. F. F. (2014). Volatile constituents from leaves of Blepharocalyx salicifolius (Kunth) O. Berg (Myrtaceae). *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 13(3), 249–253. http://www.blacpma.usach.cl/index.php?option=com_content&view=article&id=116&Itemid=126
- González-Guñez, R., Silva-Aguayo, G., Urbina-Parra, A., & Gerding-González, M. (2016). Aceite esencial de Eucalyptus globulus Labill Y Eucalyptus nitens H. Deane & Maiden (MYRTACEAE) para el control de Sitophilus zeamais Motschulsky. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, ahead, 32(3), 204–216. <https://doi.org/10.4067/s0719-38902016005000005>
- Gupta, D., Shah, M., & shrivastav, P. (2013). Microwave-Assisted Extraction of Eucalyptus Citriodora Oil and Comparison with Conventional Hydro Distillation. *Middle East Journal of Scientific Research*, 16(5), 702–705. <https://doi.org/10.5829/idosi.mejsr.2013.16.05.11890>
- Harkat-Madouri, L., Asma, B., Madani, K., Bey-Ould Si Said, Z., Rigou, P., Grenier, D., Allalou, H., Remini, H., Adjaoud, A., & Boulekbache-Makhlouf, L. (2015). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of Eucalyptus globulus from Algeria. *Industrial Crops and Products*, 78, 148–153. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.015>
- Hernández, J. J., Ragone, M. I., Bonazzola, P., Bandoni, A. L., & Consolini, A. E. (2018). Antitussive, antispasmodic, bronchodilating and cardiac inotropic effects of the essential oil from Blepharocalyx salicifolius leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 210, 107–117. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.08.013>
- Ieri, F., Cecchi, L., Giannini, E., Clemente, C., & Romani, A. (2019). GC-MS and HS-SPME-GC×GC-TOFMS determination of the volatile composition of essential oils and hydrosols (By-products) from four Eucalyptus species cultivated in Tuscany. *Molecules*, 24(2), 1–15. <https://doi.org/10.3390/molecules24020226>
- Khalili, G., Mazloomifar, A., Larjani, K., Tehrani, M. S., & Azar, P. A. (2018). Solvent-free microwave extraction of essential oils from Thymus vulgaris L. and Melissa officinalis L. *Industrial Crops and Products*, 119(September Rev. Investig. Altoandín. 2020; Vol 22 Nro 3 274--284

- 2017), 214–217. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.021>
- Kheder, D. A., Al-Habib, O. A. M., Gilardoni, G., & Vidari, G. (2020). Components of Volatile Fractions from Eucalyptus camaldulensis Leaves from Iraqi–Kurdistan and Their Potent Spasmolytic Effects. *Molecules*, 25(4). <https://doi.org/10.3390/molecules25040804>
- Kowalski, R., Kowalska, G., Jamroz, J., Nawrocka, A., & Metyk, D. (2015). Effect of the ultrasound-assisted preliminary maceration on the efficiency of the essential oil distillation from selected herbal raw materials. *Ultrasonics Sonochemistry*, 24, 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.12.008>
- Kringel, D. H., Antunes, M. D., Klein, B., Crizel, R. L., Wagner, R., de Oliveira, R. P., Dias, A., & Zavareze, E. (2017). Production, Characterization, and Stability of Orange or Eucalyptus Essential Oil/ β -Cyclodextrin Inclusion Complex. *Journal of Food Science*, 82(11), 2598–2605. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13923>
- Kusuma, H. S., Altway, A., & Mahfud, M. (2018). Solvent-free microwave extraction of essential oil from dried patchouli (*Pogostemon cablin* Benth) leaves. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 58, 343–348. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.09.047>
- Lucchesi, M. E., Chemat, F., & Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043(2), 323–327. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.05.083>
- Memarzadeh, S. M., Ghasemi Pirbalouti, A., & AdibNejad, M. (2015). Chemical composition and yield of essential oils from Bakhtiari savory (*Satureja bachtiarica* Bunge.) under different extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 76, 809–816. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.068>
- Mohammadhosseini, M., Akbarzadeh, A., & Flamini, G. (2017). Profiling of Compositions of Essential Oils and Volatiles of *Salvia limbata* Using Traditional and Advanced Techniques and Evaluation for Biological Activities of Their Extracts. *Chemistry & Biodiversity*, 14(5), e1600361. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600361>
- Moradi, S., Fazlali, A., & Hamedi, H. (2018). Microwave-assisted hydro-distillation of essential oil from rosemary: Comparison with traditional distillation. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 10(1), 22–28. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29296263/>
- Morsy, N. F. S. (2015). A short extraction time of high quality hydrodistilled cardamom (*Elettaria cardamomum* L. Maton) essential oil using ultrasound as a pretreatment. *Industrial Crops and Products*, 65, 287–292. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.12.012>
- Mossa, A. T. H., Abdelfattah, N. A. H., & Mohafrash, S. M. M. (2017). Nanoemulsion of camphor (*Eucalyptus globulus*) essential oil, formulation, characterization and insecticidal activity against wheat weevil, *Sitophilus granarius*. *Asian Journal of Crop Science*, 9(3), 50–62. <https://doi.org/10.3923/ajcs.2017.50.62>
- Mulyaningsih, S., Sporer, F., Zimmermann, S., Reichling, J., & Wink, M. (2010). Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1,8-cineole from the essential oil of eucalyptus globulus against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. *Phytomedicine*, 17(13), 1061–1066. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.06.018>
- Natividad, J. L. (2019). Diseño de una planta piloto agroindustrial para la producción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), no convencional, bajo la filosofía “Zero Waste” (Tesis de pregrado). Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, Huacho, Perú.
- Nora, F. M. D., & Borges, C. D. (2017). Ultrasound pretreatment as an alternative to improve essential oils extraction. *Ciência Rural*, 47(9), 1–9. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170173>
- Petigny, L., Périno, S., Minuti, M., Visinoni, F.,

- Wajzman, J., & Chemat, F. (2014). Simultaneous microwave extraction and separation of volatile and non-volatile organic compounds of boldo leaves. from lab to industrial scale. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(5), 7183–7198. <https://doi.org/10.3390/ijms15057183>
- Petigny, L., Périno-Issartier, S., Wajzman, J., & Chemat, F. (2013). Batch and continuous ultrasound assisted extraction of boldo leaves (*Peumus boldus* Mol.). *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3), 5750–5764. <https://doi.org/10.3390/ijms14035750>
- Ramezani, H., Singh, H. P., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2002). Antifungal activity of the volatile oil of *Eucalyptus citriodora*. *Fitoterapia*, 73(3), 261–262. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00065-5](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00065-5)
- Sartorelli, P.; Marquioreto, A.D.; Amaral-Baroli, A.; Lima, M.E., & Moreno, P.R.; (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Eucalyptus*. *Phytother. Res.* 21(3): 231–233. <https://doi.org/10.1002/ptr.205>
- Seidi Damyeh, M., Niakousari, M., & Saharkhiz, M. J. (2016). Ultrasound pretreatment impact on *Prangos ferulacea* Lindl. and *Satureja macrosiphonia* Bornm. essential oil extraction and comparing their physicochemical and biological properties. *Industrial Crops and Products*, 87, 105–115. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.025>
- Sharafati Chaleshtori, F., Saholi, M., & Sharafati Chaleshtori, R. (2018). Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activity of *Bunium persicum*, *Eucalyptus globulus*, and Rose Water on Multidrug-Resistant *Listeria* Species. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 23, 1–7. <https://doi.org/10.1177/2515690X17751314>
- Tran, Q.T.; Vu Thi, T.L.; Do, T.L.; Pham Thi, H.M.; Hoang Thi, B.; Chu, Q.T.; Lai Phuong, P.T.; Do, H.N.; Hoang Than, H.T.; Ta Thi, T.T.; Luu, V.H.; Mai Duong, P.T.; Thu Phung, H.T. (2020). Optimization of microwave-assisted extraction process of *Callicarpa candicans* (Burm. f.) Hochr essential oil and its inhibitory properties against some bacteria and cancer cell lines. *Processes*, 8(2). <https://doi.org/10.3390/pr8020173>
- Ullah, H., Wilfred, C. D., & Shaharun, M. S. (2019). Comparative assessment of various extraction approaches for the isolation of essential oil from *Polygonum minus* using ionic liquids. *Journal of King Saud University - Science*, 31(2), 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.05.014>
- Van Wyk, B.-E., Wink, M., (2017), *Medicinal Plants of the World*, London, UK.
- Wang, Y., Li, R., Jiang, Z., Tan, J., Tang, S., Li, T., Liang, L., He, H., Liu, Y., Li, J., & Zhang, X. (2018). Green and solvent-free simultaneous ultrasonic-microwave assisted extraction of essential oil from white and black peppers. *Industrial Crops and Products*, 114(January), 164–172. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.002>
- Wilson, P., Ospina, J. D., Salvador, M., Orozco, S., & Bonilla, R. (2016). *Efecto del secado y la edad de las plantas en la composición de los aceites esenciales de Lippia alba (Mill.) N. E. Br. ex. 65*, 170–175. <https://doi.org/10.15446/acag.v65n2.47576>
- Zhu, J. J., Yang, J. J., Wu, G. J., & Jiang, J. G. (2020). Comparative antioxidant, anticancer and antimicrobial activities of essential oils from *Semen Platycladi* by different extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 146(January), 112206. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112206>
- Zrira, S., Bessiere, J. M., Menut, C., Elamrani, A., & Benjilali, B. (2004). Chemical composition of the essential oil of nine *Eucalyptus* species growing in Morocco. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(2), 172–175. <https://doi.org/10.1002/ffj.1289>