

Artículo original

Comparación de la composición y de la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) obtenido mediante extracción con fluidos supercríticos y otras técnicas verdes

Comparison of the composition and antioxidant activity of the chamomile essential oil (*Matricaria chamomilla* L.) obtained by supercritical fluids extraction and other green techniques

✉ María Camila Melo-Guerrero*, ✉ Daniel Esteban Ortiz-Jurado,
✉ Andrés Mauricio Hurtado-Benavides

Programa de Ingeniería Agroindustrial, de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad de Nariño, en Pasto, Nariño, Colombia.

Resumen

Se comparó la composición química y la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) obtenido mediante extracción con fluidos supercríticos (*supercritical fluid extraction*, SFE) y otras técnicas de extracción verdes (arrastre con vapor, AV; hidrodestilación, HD; destilación por arrastre con vapor y extracción simultánea con solvente orgánico, DES, y maceración, MC). Se optimizó el proceso de extracción evaluando el efecto de la temperatura (T) (35-65 °C) y la presión (P) (90-210 bar) en el rendimiento de la extracción (% p/p) y se determinó que una temperatura de 65 °C y una presión de 210 bar eran las mejores condiciones de extracción (0,87 % p/p). La composición química se analizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y se establecieron los constituyentes con base en sus patrones de fragmentación y el índice de retención de Kovats. La actividad antioxidante se evaluó mediante el método ABTS. Los componentes principales fueron enindicioleter, β -farneseno y óxido de bisabolol A. Los resultados de los análisis de GC-MS indicaron que la composición y concentración del aceite esencial cambiaron al emplear diferentes métodos de extracción, por ejemplo, en los aceites extraídos por MC el componente mayoritario fue el enindicioleter, en tanto que en los extraídos por HD fue el β -farneseno y con DES fue el óxido de bisabolol A. El aceite obtenido por AV (27,56 μ mol de trolox/ml de aceite) presentó una mayor actividad antioxidante en comparación con los otros métodos de extracción, incluso comparado con el SFE (15,25 μ mol de trolox/ml de aceite).

Palabras clave: *Matricaria chamomilla* L.; Aceite esencial; Actividad antioxidante.

Abstract

The chemical composition and antioxidant activity of the chamomile essential oil (*Matricaria chamomilla* L.) obtained by supercritical fluids extraction (SFE) and other green techniques (steam stripping, AV; hydrodistillation, HD; steam-dragging distillation with simultaneous steam-extraction using an organic solvent, DES, and maceration (MC). We optimized the extraction process with supercritical fluids by checking the effect of temperature (35-65°C) and pressure (90-210 bar) on the extraction yield (% w/w) and we determined that the best extraction conditions (0.87% w / w) were at 65°C and 210 bar. We analyzed the chemical composition by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and identified the constituents based on their fragmentation patterns and Kovat's index. We evaluated the antioxidant activity using the ABTS method. The main components were en-yn-dicycloeter, β -farnesene, and bisabolol oxide A.

Citación: Melo-Guerrero MC, Ortiz-Jurado DE, Hurtado-Benavides AM. Comparación de la composición y de la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) obtenido mediante extracción con fluidos supercríticos y otras técnicas verdes. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(172):845-856, julio-septiembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.862>

Editor: Sonia Moreno

***Correspondencia:**

María Camila Melo Guerrero;
maria.camy28@hotmail.com

Recibido: 28 de junio de 2019

Aceptado: 24 de marzo de 2020

Publicado: 30 de septiembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

The results of the GC-MS analyses indicate that when using different extraction methods the composition and concentration of the essential oil changes, for example, the oils extracted by MC had en-yn-dicycloeter is their main component while for those extracted by HD it was β -farnesene, and by DES ii was bisabolol oxide A. The oil obtained by AV (27.56 μmol trolox/ml of oil) had a higher antioxidant activity compared to the other extraction methods, even when compared with SFE (15.25 μmol trolox/ml of oil).

Key words: *Matricaria chamomilla* L.; Essential oil; Antioxidant activity.

Introducción

Colombia es considerado un país privilegiado por su gran diversidad de ecosistemas y microclimas, lo que permite que su vegetación sea muy variada, rica en especies endémicas y de gran variedad genética. Algunas de dichas especies producen aceites esenciales cuyos principios activos resultan interesantes para la investigación y el desarrollo de productos naturales (Torrenegra, *et al.*, 2017).

Hoy existe la tendencia entre los consumidores a preferir alimentos libres de productos sintéticos (pesticidas, insecticidas, fungicidas, y fertilizantes, entre otros) y aditivos químicos (neutralizantes, conservantes, antioxidantes, colorantes y saborizantes), por lo que resulta primordial estudiar la actividad antioxidante de los aceites de plantas nativas para recomendar su potencial uso como aditivos naturales (Granados, *et al.*, 2012).

La manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) se usa como té y como remedio casero por su amplia gama de actividades farmacológicas, terapéuticas, antiespasmódicas, antivirales y antimicrobianas. Es una de las plantas aromáticas (poleo, tomillo, albahaca, mafafa) de mayor producción en Colombia y se la comercializa frecuentemente como una fuente de aceite para las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica (Bonilla, *et al.*, 2005).

En años recientes se han estudiado los extractos y aceites esenciales desde un punto de vista funcional. Sin embargo, esta funcionalidad está determinada por el método de extracción que se emplee, ya que ello influye en la proporción de los compuestos funcionales que tienen. Las técnicas de extracción se clasifican en convencionales o no convencionales: las convencionales requieren el uso de solventes asociados con el empleo de calor y agitación, así como tiempos prolongados de residencia, en tanto que las técnicas modernas o no convencionales, llamadas verdes o limpias, minimizan o eliminan el uso de solventes orgánicos, mejoran la calidad del extracto, acortan el tiempo de extracción y aumentan el rendimiento (Rodríguez, *et al.*, 2009).

El objetivo de este trabajo fue comparar la composición y la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) obtenido mediante extracción con fluidos supercríticos, destilación por arrastre con vapor, hidrodestilación, destilación por arrastre con vapor y extracción simultánea con solvente orgánico, y maceración; la composición se determinó por GC-MS y la actividad antioxidante con el método ABTS.

Materiales y métodos

Materia prima

La manzanilla (*M. chamomilla* L.) se obtuvo como muestra seca (hojas y flores) de la empresa Agrocomercial del Sur S.A.S. de la ciudad de Ipiales- Colombia.

Caracterización del material vegetal

Para caracterizar el material vegetal se hizo un análisis granulométrico y se midió el porcentaje de humedad. Se determinó el tamaño promedio de las partículas en una Tamizadora pinzuar (modelo PS-35, serie 1182) empleando un juego de tamices de mallas (10-100) ordenadas de mayor a menor; el porcentaje de humedad se determinó en una balanza gravimétrica Radwag® PMR-50/NH a una temperatura de 103°C.

Obtención de los extractos

Extracción con fluidos supercríticos (SFE). En la extracción se empleó el equipo SFE 500 de Waters® con celda de extracción de 500 mL, una bomba de alta presión, un separador y sistemas de control de presión, de temperatura y de flujo de CO₂; se usó dióxido de carbono como disolvente.

Los experimentos se realizaron empleando un rango de presiones de 90 a 210 bar y temperaturas de 35 a 65 °C. Las condiciones de extracción se establecieron teniendo en cuenta algunos estudios sobre la extracción de aceite esencial de manzanilla. Se utilizaron (10 bar y 20°C) como condiciones de separación. Se aplicó un diseño factorial de 3² con 4 puntos centrales (150 bar y 50 °C) de manera aleatoria para determinar la influencia de las condiciones de presión y temperatura supercríticas en el rendimiento (% p/p) y la composición y la actividad antioxidante utilizando una significación de p<0,05.

El rendimiento se calculó mediante la ecuación (1) y se expresó como porcentaje de aceite extraído.

$$\text{Rendimiento (\% p/p)} = \left(\frac{\text{Peso del aceite extraído}}{\text{peso de la muestra seca y molida}} \right) \times 100 \quad (1).$$

El proceso extractivo se llevó a cabo utilizando una carga de 140 g de manzanilla molida dispuestos en el recipiente de extracción. Se hizo pasar el CO₂ a través de un serpentín sumergido en líquido refrigerante (etilenglicol) a una temperatura de 2 °C para evitar su gasificación y mantenerlo líquido. Empleando una bomba de alta presión se bombeó el CO₂ en intervalos de 90 a 210 bares; la temperatura dentro del recipiente extractor se elevó de 35 a 65 °C. Una vez alcanzadas las condiciones de operación (presión y temperatura) en el extractor, se inició el proceso de extracción ajustando el flujo de CO₂ a 30 g/min durante 150 minutos (el CO₂ extrae el aceite de las flores secas de manzanilla). Por último, se despresurizó el equipo, el CO₂ en estado gaseoso circuló hasta el escape, el aceite extraído se recogió en el separador, se almacenó en un vial ámbar y se calculó el rendimiento del proceso de extracción en el aceite esencial.

Extracción por destilación por arrastre con vapor (AV). La extracción del aceite esencial por el método de arrastre con vapor se hizo siguiendo la metodología descrita por **Arango, et al.** (2012): se utilizó vapor saturado a presión atmosférica de 1 psig y densidad del lecho de 95,4 g.L⁻¹, la extracción se hizo con 7,25 kg de manzanilla seca con un tiempo de extracción aproximado de cuatro horas. El rendimiento se calculó a partir de la cantidad de aceite esencial obtenido por unidad másica de materia prima en términos porcentuales. El equipo utilizado fue la unidad de extracción por arrastre con vapor DINOX con capacidad de 80 L.

Extracción por maceración (MC). La maceración se hizo en un balón de vidrio de 2.000 mL en el que se dispusieron 500 g de manzanilla seca y 1.000 mL de etanol puro; el tiempo de extracción fue de 16 días, los extractos se concentraron en un rotaevaporador EYELA N-1100, con una base de agua a 60 °C y posteriormente se almacenaron en refrigeración y protegidos de la luz.

Hidrodestilación (HD). El procedimiento se hizo en un equipo de hidrodestilación con manta calefactora Thermoscientific y condensador tipo clewenger (Walter Velasco, Colombia). Se tomaron 100 g de manzanilla seca y se depositaron en un balón de vidrio de 2.000 mL junto con 1.500 mL de agua, y este se calentó hasta el punto de ebullición usando una malla térmica durante tres horas; posteriormente, se hizo una extracción líquido-líquido del extracto obtenido con diclorometano y se obtuvo una mezcla de aceite esencial y diclorometano, la cual se almacenó en refrigeración y protegida de la luz para su concentración y posterior análisis.

Destilación por arrastre con vapor y extracción simultánea con solvente orgánico (DES). Se pesaron aproximadamente 20 g de manzanilla seca y se agregaron al balón A con agua suficiente para tapar la muestra de material vegetal (140 mL); se agregaron 50 mL de diclorometano al balón B y se inició el calentamiento en ambos balones hasta alcanzar la temperatura de ebullición de cada solvente a lo largo de dos horas; como producto del

proceso de condensación se obtuvo una mezcla de aceite esencial y diclorometano. La mezcla se separó, se concentró en un rotaevaporador EYELA N-1100, se envasó en un recipiente ámbar protegido de la incidencia de la luz y se mantuvo en refrigeración.

Medición de la actividad antioxidante del aceite esencial por el método ABTS

La metodología aplicada fue la descrita por **Re, et al.** (1999), citados por **Jiménez & Villarreal** (2008). El radical ABTS•+ se generó tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,45 mM). La mezcla reaccionante permaneció a temperatura ambiente y en ausencia de luz durante 24 horas. El ABTS•+ preparado se diluyó con metanol hasta obtener un valor de absorbancia de 0,8 + 0,2 a una longitud de onda de 734 nm utilizando un espectrofotómetro Genesys™ UV-VIS 10S (Thermo Scientific, USA).

Se hizo una curva de calibración con distintas concentraciones de trolox (0,5 – 2,5 mmol), para lo cual se tomaron 2 mL de la solución ABTS•+ y se añadieron 20 µL de las distintas concentraciones de trolox para después agitar durante un minuto y medir la absorbancia al cabo de 6 minutos más a 734 nm. Cada muestra se midió por triplicado y se obtuvo la siguiente ecuación: $Y = -0,144X + 0,6655$ ($R^2 = 0,9946$). Los resultados se expresaron como actividad antioxidante equivalente en trolox (TEAC) en unidades de µmol de trolox por mL de aceite de manzanilla. El potencial antioxidante de la muestra se probó con la adición de 2 mL de la solución del radical ABTS•+ a 20 µL del aceite diluido en una mezcla de isopropanol y etanol de 80:20 y se leyó la absorbancia a 734 nm; la lectura se interpoló en la ecuación de la recta obtenida a partir del trolox. La funcionalidad del método se verificó con un patrón de ácido ascórbico de 1,5 mmol al cual se le aplicó el mismo procedimiento que a las muestras de aceite.

Análisis por cromatografía de gases

El análisis cromatográfico del aceite esencial de *M. chamomilla* se hizo en los laboratorios especializados de la Universidad de Nariño mediante cromatografía de gases acoplados a espectrometría de masas (GC-MS) utilizando un equipo Shimadzu QP2010S GC-MS y la metodología descrita por **Arango, et al.** (2012).

Para la determinación de los componentes químicos se utilizó una columna DB-5 de J&W Scientific con 30 m de largo, 0,25 mm de diámetro, espesor de película de 0,25 µm, un flujo de helio de 1 mL/min UAP como gas portador, y una temperatura del detector o la interfaz (GC-MS) de 300°C. La temperatura inicial de la columna fue de 40 °C, que luego se incrementó de 5 °C/min a 250 °C con una isoterma de separación durante 15 minutos. La energía de ionización fue de 70 eV.

Se inyectó 1,0 µL del aceite esencial en el GC-MS a una concentración del 10 % disuelto en diclorometano. Los componentes se determinaron comparando sus espectros de masas con los referenciados en las bases de datos Nist y Adams. La cuantificación de los componentes se calculó a partir de las cantidades relativas de áreas.

Diseño experimental y análisis estadístico

Las matrices del diseño de experimentos y el análisis estadístico de los datos se llevó a cabo con ayuda del programa estadístico Statgraphics Centurion XV® (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, USA). El análisis estadístico de los datos se hizo mediante el análisis de varianza con un nivel de confianza del 95 %, con lo cual se determinó la significación estadística de los factores sobre la variable de respuesta.

Para el análisis estadístico de la composición y de la actividad antioxidante de los aceites esenciales de manzanilla se usó un diseño experimental completamente al azar con cinco tratamientos correspondientes a las técnicas de extracción y tres repeticiones por método: extracción con fluidos supercríticos (SFE), arrastre con vapor (AV), hidrodestilación (HD), destilación y extracción simultánea (DES) y maceración (MC) y cuatro variables de respuesta que correspondieron a tres componentes mayoritarios encontrados en los perfiles cromatográficos: enindicioletoer, β-farneseno y óxido de bisabolol A, y al porcentaje de actividad antioxidante (µmol de trolox/mL de aceite).

Como referencia para la extracción con fluidos supercríticos se emplearon los valores del punto óptimo ($T=65$ °C y $P=210$ bar).

Resultados y discusión

Obtención de los extractos

Los extractos se obtuvieron a partir de manzanilla con una humedad de 4,83 % y un tamaño promedio de partícula de 0,54 mm.

Extracción con fluidos supercríticos (SFE)

Los resultados de rendimiento obtenido con CO₂-SC bajo condiciones de extracción se muestran en la **tabla 1** y la significación estadística de los factores (temperatura y presión) y sus interacciones en el rendimiento se determinaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) (**Tabla 2**).

El mayor rendimiento obtenido en la extracción con fluidos supercríticos fue de 0,87 % a 210 bar y 65 °C en un tiempo de extracción de 150 minutos; estas condiciones se consideraron como el punto óptimo en este estudio. **Rahimi, et al.** (2011) obtuvieron un rendimiento de 0,6 % de aceite esencial de manzanilla empleando la tecnología de fluidos supercríticos a una temperatura de 40 °C y una presión de 250 bar, es decir, inferior al obtenido en el presente estudio con condiciones de extracción similares.

Tabla 1. Rendimiento del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) mediante SFE

T (°C)	Presión (bar)	Rendimiento (%)
50	150	0,031
50	150	0,500
35	90	0,154
35	210	0,021
50	90	0,060
50	150	0,133
50	210	0,036
50	150	0,319
65	210	0,871
65	90	0,228
65	150	0,512
35	150	0,047
50	150	0,299

Tabla 2. Análisis de varianza para el rendimiento del aceite de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) obtenido por SFE

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	p
A:Temperatura	0,321554	1	0,321554	11,3	0,0121
B:Presión	0,039366	1	0,039366	1,38	0,2781
AA	0,0561111	1	0,056111	1,97	0,2031
AB	0,150544	1	0,150544	5,29	0,055
BB	0,0218601	1	0,021860	0,77	0,4099
Error total	0,199269	7	0,028467		
Total (corr.)	0,770726	12			

Gl: Grados de libertad; P: Valor-P

En el análisis de varianza (**Tabla 2**) se pudo observar que únicamente la temperatura (A) influyó significativamente en el rendimiento del aceite de manzanilla extraído ($p < 0,05$), en tanto que la presión (B) y las demás interacciones no tuvieron un efecto significativo en el intervalo de las condiciones estudiadas (**Figura 1**). La investigación realizada por **Kotnik, et al.** (2007) demostró que, efectivamente, el rendimiento de la extracción es directamente proporcional a la temperatura.

Extracción por arrastre con vapor

La extracción por arrastre con vapor se ajustó a la metodología descrita por **Arango, et al.** (2012). El rendimiento del aceite esencial de manzanilla extraído por arrastre con vapor fue de 0,046 % p/p, un valor bajo comparado con el obtenido por **Gawde, et al.** (2014) y **González** (2004), quienes utilizaron la misma técnica y obtuvieron rendimientos de 0,31 y 0,34 %, respetivamente.

Análisis del aceite esencial de manzanilla mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

El análisis por GC-MS permitió la identificación de 26 compuestos (**Tabla 3**) con base en un porcentaje relativo de área superior al uno por ciento; entre ellos se destacan los diciteloeteres, los sesquiterpenos y los sesquiterpenos oxigenados. Los componentes mayoritarios en el aceite esencial de manzanilla determinados en esta investigación fueron, en su orden, enindicicloeter, β -farneseno y óxido de bisabolol A. El análisis de varianza (ANOVA) de estos componentes mayoritarios se puede observar en la **tabla 4**; no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre los métodos de extracción evaluados para estos compuestos.

En el aceite extraído por maceración y con fluidos supercríticos se encontró mayoritariamente enindicicloeter (47,6 y 29,6 %, respectivamente) comparados con los otros métodos (**Figura 2 A**). Esto coincide con estudios como los de **Formisano, et al.** (2015), quienes extrajeron aceite esencial de manzanilla empleando el método de maceración y obtuvieron como componente mayoritario enindicicloeter, en tanto que **Rahimi, et al.** (2011) obtuvieron como compuesto mayoritario enindicicloeter al extraer aceite esencial de manzanilla por SFE.

El β -farneseno tuvo un mayor porcentaje relativo de área con los métodos de hidrodestilación y arrastre con vapor y fue el componente mayoritario (**Figura 2-B**), lo que se explica porque ambos métodos emplean principios muy similares. **Scalia, et al.** (1999) y **Tolouee, et al.** (2010) extrajeron aceite esencial de manzanilla por arrastre con vapor e hidrodestilación, respectivamente, y encontraron el β -farneseno como uno de sus compuestos mayoritarios; por otra parte, **Rahimi, et al.** (2011) reportaron un contenido mínimo de β -farneseno con la extracción con fluidos supercríticos. Todos estos valores son similares a los obtenidos en la presente investigación.

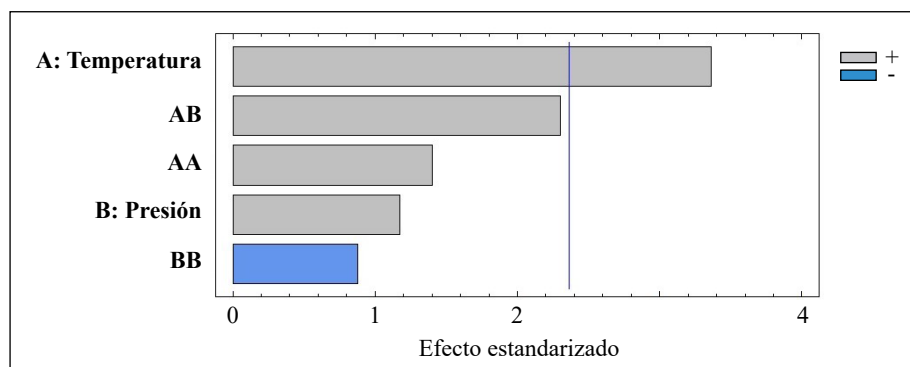


Figura 1. Diagrama de Pareto para el rendimiento de aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) obtenido por FSC

Tabla 3. Compuestos identificados en el aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) por GC-MS

ID	%A					IRL							
						Teorico		Fuente		EXPERIMENTAL			
	HD	DES	AV	MC	SFE			HD	DES	AV	MC	SFE	
Limoneno	-	-	3,8	-	-	1036	Hognadottir A. 2003	-	-	1035	-	-	
Tetradecano	2,2	-	-	-	-	1399	Adams RP. 1995	1400	-	-	-	-	
Anetol	-	-	7,8	-	-	-	-	-	-	1308	-	-	
p-Cimeno	-	1,25	-	-	10,07	1033	Hognadottir A. 2003	-	1330	-	-	1332	
Eucaliptol	3,71	-	-	-	-	1039	Hognadottir A. 2003	1036	-	-	-	-	
β-Farneseno	37,62	1,52	30,2	6,1	7,6	1458	Adams RP. 1995	1465	1464	1468	1381	1465	
1,2 epoxido de limoneno	2,2	-	-	-	-	-	-	1484	-	-	-	-	
Germacreno-D	1,6	-	2,1	-	-	1480	Hognadottir A. 2003	1510	-	1511	-	-	
α-farneseno	2,72	-	-	-	-	1508	Adams RP. 1995	1517	-	1414	-	-	
espatulenol	3,37	1,5	2,9	-	-	1575	Tellez MR. 1999	1621	1621	1621	-	-	
Óxido de bisabolol	5,26	5,2	4,4	1,7	1,24	-	-	1691	1691	1691	1690	1691	
7-metoxi-coumarina	-	-	-	4,4	1,4	-	-	-	-	-	1788	1789	
α-bisabolol	3,62	-	3,4	-	-	1701	Baranauskiene R. 2003	1717	-	1717	-	-	
N.I.	-	1,2	-	-	-	-	-	-	1701	-	-	-	
Óxido de bisabolona	8,85	2,8	7,4	-	1,32	-	-	1722	1722	1723	-	1723	
Óxido de bisabolol A	23,04	47,1	22	24,15	18,79	-	-	1795	1798	1796	1794	1796	
en-in-dicicloeter	10,34	9,7	15,93	47,6	36,13	-	-	1930	1932	1937	1931	1935	
en-in-dicicloeter isómero	3,8	27,7	-	11,24	7,66	-	-	1940	1947	-	1940	1943	
ácido linoleico metil ester	-	2,1	-	-	-	-	-	-	2110	-	-	-	
ácido palmítico metil ester	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2001	-	
Fitol	-	-	-	1,6	-	-	-	-	-	-	2133	-	
pentatriacontano	-	-	-	-	6,8	-	-	-	-	-	-	2138	
Linoleato de etilo	-	-	-	2,2	-	-	-	-	-	-	2174	-	
Docosano	-	-	-	-	4,16	-	-	-	-	-	-	2307	
Octacosano	-	-	-	-	16,445	-	-	-	-	-	-	2509	
Nonacosano	-	-	-	-	6,03	-	-	-	-	-	-	2712	

*HD: hidrodestilación; DES: destilación por arrastre con vapor y extracción simultánea con solvente orgánico; AV: extracción por destilación por arrastre con vapor; MC: extracción por maceración; SFE: extracción con fluidos supercríticos. * % A: porcentaje relativo de área; * IRL: índice de retención lineal

En los estudios de **Cano (2002)**, **Gawde, et al. (2014)** y **Scalia, et al. (1999)**, se reportaron altos contenidos de óxido de bisabolol A en el aceite esencial de manzanilla obtenido por arrastre con vapor, lo que difiere de los valores obtenidos en la presente investigación (**Figura 2-C**) y se explica por el efecto de diferentes factores ambientales sobre el contenido de compuestos de las plantas medicinales: la intensidad de la luz y el fotoperiodo, que varían de región en región, la época de recolección y la edad de las plantas que afectan la composición del aceite esencial.

Evaluación de la actividad antioxidante

La mayor actividad antioxidante obtenida por el método ABTS se observó en el aceite de manzanilla extraído por arrastre con vapor (27,56 μmol de trolox/mL de aceite) (**Tabla 5**), el cual, además, era de color azul. **Formisano, et al. (2015)** aseguran que el color azul

Tabla 4. Valor de p en los análisis de varianza para el enindicioeter, el β-farneseno y el óxido de bisabolol A en el aceite esencial de manzanilla

Componente	Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	p
Enindicioeter	Entre grupos	3200,93	4	800,231	156,85	0,000
	Dentro de los grupos	51,0191	10	5,10191		
	Total (corr.)	3251,94	14			
β-farneseno	Entre grupos	3059,25	4	772,312	380,11	0,000
	Dentro de los grupos	20,3182	10	2,03182		
	Total (corr.)	3109,57	14			
Óxido de bisabolol A	Entre grupos	1711,84	4	427,959	83,6	0,000
	Dentro de los grupos	51,1906	10	5,11906		
	Total (corr.)	1763,03	14			

Gl: Grados de libertad; P: Valor-P

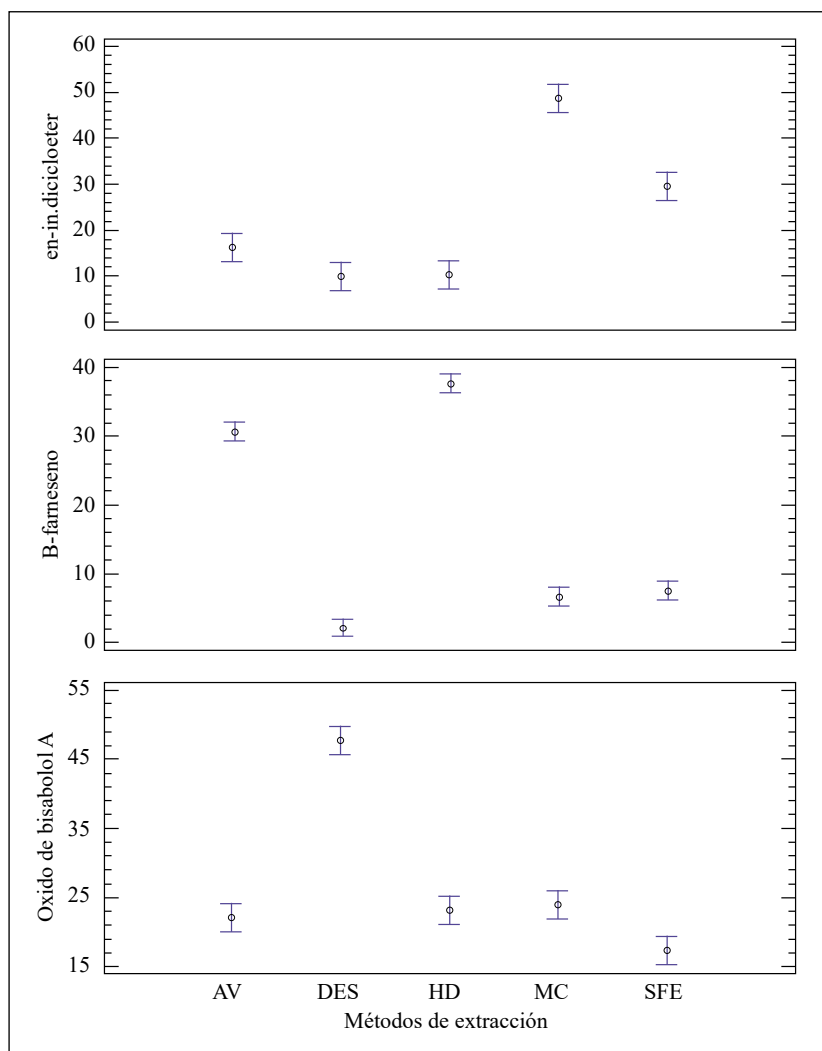


Figura 2. Gráficas de medias y 95 % de Tukey HSD para: **A.** Eni-dicioeter, **B.** B-farneseno y **C.** óxido de bisabolol A presentes en el aceite esencial de manzanilla extraído por AV, DES, HD, MC, SFE

en el aceite se debe a la presencia de chamazuleno, un compuesto de elevada actividad antioxidante, ya que inhibe la peroxidación de lípidos. Dicho compuesto no se destacó en este caso, pero podría estar presente con una mayor concentración en el aceite esencial obtenido por arrastre con vapor que en el extraído por los otros métodos.

Hubo diferencias estadísticamente significativas de la actividad antioxidante entre los diferentes métodos de extracción utilizados, lo que se observó en el análisis de varianza (ANOVA), en el cual el valor de p fue $\leq 0,05$ (Tabla 6). Se hizo, además, una gráfica de medias y se empleó la diferencia significativa honesta (HSD) de Tukey con un intervalo de confianza del 95 % (Figura 3) para verificar que los métodos eran diferentes entre sí y que con el arrastre con vapor se obtenía la mayor actividad antioxidante.

Tabla 5. Actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla extraído con SFE, AV, HD, MC, y DES analizados por ABTS•+

Métodos	Promedio	TEAC
		μmol de trolox/mL de aceite
SFE	0,466	15,25
MC	0,356	23,62
HD	0,485	13,81
DES	0,413	19,24
AV	0,304	27,56

Tabla 6. Valor de p en el análisis de varianza para la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	p
Entre grupos	457,172	4	114,293	50,76	0,0000
Dentro de los grupos	22,516	10	2,2516		
Total (Corr.)	479,688	14			

Gl: Grados de libertad; P: Valor-P

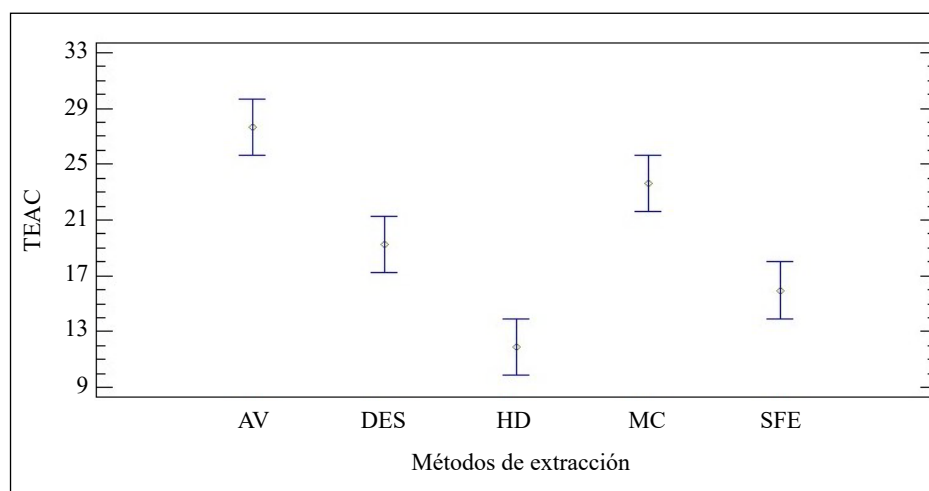


Figura 3. Gráfica de medias y 95 % del Tukey HSD para la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla extraído por AV, DES, HD, MC, SFE

La actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla fue de: 27,56 μmol de trolox/mL con el arrastre con vapor, de 23,62 con la maceración, de 19,24 con la destilación y extracción simultánea, de 15,25 con extracción con fluidos supercríticos y de 13,81 con hidrodestilación. Estos valores son mayores que los reportados por **Formisano, et al.**, (2015) y **Kolodziejczyk, et al.** (2015), quienes obtuvieron 8,45 y 12,00 μmol de trolox/mL de aceite esencial de manzanilla, respectivamente.

Torrenegra, et al. (2017) evaluaron la capacidad antioxidante (ABTS) del aceite esencial de manzanilla extraído por hidrodestilación y obtuvieron 59,07 μg /mL \pm 0,33. En este trabajo se obtuvieron 13,80 μmol de trolox/mL por hidrodestilación, diferencia que podría deberse a que Torrenegra, et al. obtuvieron bisabolol (85 % de abundancia relativa) como componente mayoritario, y este es habitual en muchos productos destinados al cuidado de la piel, puesto que presenta propiedades antiinflamatorias y antiradicales (Mckay & Blumberg, 2006).

Al comparar la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla con la de otros aceites esenciales, la del primero resultó mayor que la de especies como el estragón morado (3,68 μmol de trolox/g de extracto), el anís (5,6 μmol de trolox/g de extracto), la albahaca (5,1 μmol de trolox/g de extracto), el estragón (0,00023 μmol de trolox/g de extracto), el hinojo (0,00015 μmol de trolox/g de extracto) (**Muñoz, et al.**, 2009) y el cilantro (0,6585 μmol de trolox/g de extracto) (**Ceballos & Giraldo**, 2011). Sin embargo, **Muñoz, et al.** (2007) encontraron que la actividad antioxidante del orégano (2040 μmol de trolox/ g de extracto) y del tomillo (890 μmol de trolox/ g de extracto) eran superiores a las obtenidas en la presente investigación, y **Granados, et al.** (2015) y **Granados, et al.** (2012) reportaron valores superiores para el eucalipto (38,96 μmol de trolox/ g de extracto) y la muña (631,72 μmol de trolox/g de extracto).

Conclusiones

Se registraron diferencias estadísticamente significativas en la composición de las muestras de aceite esencial de manzanilla (*M. chamomilla* L.) dependiendo del método de extracción.

La extracción con fluidos supercríticos (SFE) ofrece considerables ventajas sobre el método tradicional de arrastre con vapor (AV). El aceite esencial de manzanilla se extrajo en menor tiempo utilizando CO₂ supercrítico y el rendimiento de extracción fue mayor (0,871 %).

El aceite esencial de *M. chamomilla* L. obtenido por el método de arrastre con vapor tuvo la mayor actividad antioxidante (27,556 μmol de trolox/mL de aceite), superior a los aceites obtenidos mediante otros métodos de extracción, incluso superior al aceite extraído por SFE, con el cual se obtuvieron, además de aceite, resinas y oleorresinas, extractos que favorecen el rendimiento, pero disminuyen la actividad antioxidante debido a la acción sinérgica de sus compuestos.

El aceite esencial de manzanilla (*M. chamomilla* L.) exhibe una actividad antioxidante superior a otras especies aromáticas como el estragón, el estragón morado, el anís, la albahaca, el hinojo y el cilantro.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad de Nariño, al grupo de Investigación en Tecnologías Emergentes en Agroindustria y al personal de los laboratorios especializados, por su apoyo y asesoría.

Contribución de los autores

AHB, asesoría en el diseño de experimentos, metodología, disponibilidad de los equipos, reactivos y realización del escrito; MCM y DEOrtiz, ejecución del proyecto y cumplimiento de los objetivos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

- Adams, RP.** (1995). Identificación de componentes de aceites esenciales por cromatografía de gases/espectrometría de masas. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL.
- Arango, O., Pantoja, D., Santacruz, L., Hurtado, A.** (2012). Actividad antioxidante del aceite esencial de orégano (*Lippia organoides* H. B. K) del Alto Patía. Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial. **10** (2): 79-86.
- Baranauskienė R., Venskutonis, RP, Demyttenaere, JCR.** (2003). Evaluación sensorial e instrumental del aroma de hierba gatera (*Nepeta cataria* L.). J. Agric. Food Chem. **51**: 3840-3848.
- Bonilla, R., Samanca, H., Perdomo, J.** (2008). Caracterización y evaluación de la cadena de plantas aromáticas, medicinales, condimentarias, aceites esenciales y afines en Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. p.2-81.
- Cano, T. M.** (2002). Obtención y caracterización de aceite esencial de 4 plantas medicinales cultivadas a diferentes niveles altitudinales de Guatemala.
- Ceballos, A. & Giraldo, G.** (2011). El cilantro (*Coriandrum sativum* L.) como fuente potencial de antioxidantes naturales. Vector. **6**: 85-93.
- Formisano, C., Delfino, S., Oliviero, F., Tenore, G. C., Rigano, D., Senatore, F.** (2015). Correlation among environmental factors, chemical composition and antioxidative properties of essential oil and extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) collected in Molise (South-central Italy). Industrial Crops and Products. **63**: 256-263.
- Fornari, T., Vicente, G., Vázquez, E., García-Risco, M. R., Reglero, G.** (2012). Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. Journal of Chromatography A. **1250**: 34-48.
- Garzón, L. P.** (2016). Conocimiento tradicional sobre las plantas medicinales de yarumo (*Cecropia sciadophylla*), carambolo (*Averrhoa carambola*) y uña de gato (*Uncaria tomentosa*) en el resguardo indígena de Macedonia, Amazonas. Luna Azul. **43** (43): 386-414.
- Gawde, A., Cantrell, C. L., Zheljzkov, V. D., Astatkie, T., Schlegel, V.** (2014). Steam distillation extraction kinetics regression models to predict essential oil yield, composition, and bioactivity of chamomile oil. Industrial Crops & Products. **58**: 61-67.
- González, A.** (2004). Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas (tesis de pregrado). Universidad Nacional de Colombia, Manizales, Colombia. p.2-87.
- Granados, C., Santafé, G., Acevedo, D.** (2015). Chemical composition and evaluation of antioxidant activity of leaf essential oil *Eucalyptus camaldulensis* from Norte de Santander (Colombia). Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica. **18** (1): 235-240.
- Granados, C., Yáñez, X., Santafé, G.** (2012). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis* de Norte de Santander. Bistua: Revista de La Facultad de Ciencias Básicas. **10** (1): 12-23.
- Högnadóttir, A. & Rouseff, RL.** (2003). Identificación de compuestos aromáticos activos en aceite de esencia de naranja mediante cromatografía de gases - olfatometría y cromatografía de gases - espectrometría de masas. J. Chromatogr. A. **998**: 201-211.
- Jiménez, J. & Villarreal, J.** (2008). Estudio Químico de Pigmentos Tipo Antocianina Presentes en el Fruto del Motilon (*Hyeronima macrocarpa*) (tesis de pregrado). Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. p.20-96.
- Kolodziejczyk, J., Bijak, M., Saluk, J., Ponczek, M. B., Zbikowska, H. M., Nowak, P., ... Pawlaczyk, I.** (2015). Radical scavenging and antioxidant effects of *Matricaria chamomilla* polyphenolic-polysaccharide conjugates. International Journal of Biological Macromolecules. **72**: 1152-1158.
- Kotnik, P., Skerget, M., Knez, Z.** (2007). Supercritical fluid extraction of chamomile flower heads: Comparison with conventional extraction, kinetics and scale-up. Journal of Supercritical Fluids. **43** (2): 192-198.
- Mckay, D. L. & Blumberg, J. B.** (2006). A Review of the Bioactivity and Potential Health Benefits of Chamomile Tea (*Matricaria recutita* L.). Phytotherapy Research. **20**: 519-530.
- Muñoz, A., Castañeda, M., Blanco, K., Cardenas, C., Reyes, J., Kouznetsov, V., Stashenko, E.** (2007). Composición y actividad antioxidante de especies aromáticas y medicinales con alto contenido de timol y carvacrol. Scientia et Technica. **8** (33): 125-128.
- Muñoz, A., Kouznetsov, V., Stashenko, E.** (2009). Composición y capacidad antioxidante in-vitro de aceites esenciales ricos en timol, carvacrol, trans-anetol o estragol. Salud UIS: Revista de La Universidad Industrial de Santa Fe. **41**: 287-294.
- Rahimi, E., Prado, J. M., Zahedi, G., Meireles, M. A. A.** (2011). Chamomile extraction with supercritical carbon dioxide: Mathematical modeling and optimization. The Journal of Super-

critical Fluids. **56** (1): 80-88.

- Rodríguez, C., Quirantes, R., Fernández, A., Segura, A.** (2015). Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves. *Industrial Crops and Products*. **66**: 246-254.
- Scalia, S., Giuffreda, L., Pallado, P.** (1999). Analytical and preparative supercritical fluid extraction of Chamomile flowers and its comparison with conventional methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **21** (3): 549-558.
- Soquetta, M. B., Terra, L. de M., Bastos, C. P.** (2018). Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. *CYTA - Journal of Food*. **16** (1): 400-412.
- Stashenko, E. E.** (2009). Aceites Esenciales. División de Publicaciones UIS. Bucaramanga, Colombia: Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales - CENIVAM. p.16-30.
- Téllez, M.R., Canel, C., Rimando, A.M., Duke, S.O.** (1999). Acumulación diferencial de isoprenoides en *Artemisia annua* L. sin glándulas. *Phytochem*. **52**: 1035-1040.
- Tolouee, M., Alinezhad, S., Saberi, R., Eslamifar, A., Zad, S. J., Jaimand, K., ... Razzaghi-Abyaneh, M.** (2010). Effect of *Matricaria chamomilla* L. flower essential oil on the growth and ultrastructure of *Aspergillus niger* van Tieghem. *International Journal of Food Microbiology*. **139** (3): 127-133.
- Torrenegra, M., Granados, C., Pájaro, N., Méndez, G., Tejada, C.** (2017). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* L. *Revista Cubana de Farmacia*. **51** (1): 1-14.
- Urbizu, L., Castillo, O., Martínez, G., Torres, J.** (2017). Natural variability of essential oil and antioxidants in the medicinal plant *Turnera diffusa*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. **10** (2): 121-125.
- Uden, A. Van, Abril, M., Duarte, E.** (2005). Curso teórico-práctico del cultivo de la sábila (*Aloe vera barbadensis*, Miller) y plantaciones alternativas (Lombricultura y plantas aromáticas y medicinales). Tolima, Colombia. *Biológicos Brabante*. p.1-125.