

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA OLEORESINA DEL AJO (*ALLIUM SATIVUM*)

Obtaining and characterization of oleoresin from garlic (*Allium sativum*)

RESUMEN

La oleoresina de ajo (*Allium sativum*), se obtuvo planteando metodologías de extracción resultantes de la combinación de 3 variables: solventes extractores, variedad de ajo y tipo de extracción. Se compararon los porcentajes de rendimiento en extracto en cada una de las posibles combinaciones, buscando la metodología de mayor rendimiento, cuyo extracto correspondiera a las características de oleoresina. A ésta se realizaron análisis de caracterización físico-química y microbiológica.

Los resultados muestran una inocuidad microbiológica adecuada, además de riqueza en importantes componentes bioactivos de ajo.

PALABRAS CLAVES: ajo, *Allium sativum*, extractos de ajo, oleorresinas, oleoresina de ajo,

ABSTRACT

The oleoresin from garlic (Allium sativum), was obtained by suggesting resulting extraction methodologies from the combination of 3 variables: extractor solvent, variety of garlic and extraction type. The yield percentages on extract in each one of the possible combinations were compared, looking for the methodology of more yield whose extract corresponded to the oleoresin characteristics. Featuring physical-chemical and microbiological analysis were carried on it. The results show an appropriate microbiological safety, besides wealth in important bioactive components of garlic.

KEYWORDS: *Allium sativum*, extracts from garlic, garlic, oleoresin, oleoresin from garlic.

1. INTRODUCCIÓN

En Colombia el comercio de oleorresinas no ha tenido una amplia explotación a pesar de contar con una gran y diversa gama de productos agrícolas, de los cuales se podría tener un mejor aprovechamiento extrayendo este tipo de derivados, pues es conocido que las oleorresinas presentan ventajas como: disminución en espacio de almacenamiento, mayor durabilidad del producto, son 100% naturales, libres de residuos de solventes y de pesticidas, de impurezas y materia extraña, exentos de bacterias y enzimas, con alta uniformidad en su composición y siendo la característica más importante el rendimiento económico, ya que dependiendo de la concentración de la oleorresina, puede sustituir hasta 100 Kg. de producto en polvo por 1 a 2 Kg. de oleorresina [1,2].

A diferencia de países industrializados como los europeos, norteamericanos y asiáticos [1], en nuestro país el comercio de las especias es poco tecnificado ya que

MELVIN A. DURÁN

Ingeniero Químico, M. Sc.
Profesor Asistente
Grupo Oleoquímica-UTP
Universidad Tecnológica de Pereira
melvin.duran@utp.edu.co

PAULA A. GONZALEZ P.

Estudiante de Tecnología Química
Grupo Oleoquímica-UTP
Universidad Tecnológica de Pereira
pgonzalez@utp.edu.co

LEONARDO CARDONA P.

Estudiante de Tecnología Química
Grupo Oleoquímica-UTP
Universidad Tecnológica de Pereira
leonardo2166@utp.edu.co

estas se consumen casi en su totalidad en forma molida o sin ningún tratamiento previo, como es el caso del ajo (*Allium sativum*), del cual, aunque exista producción nacional, se deben hacer grandes importaciones, para suplir la demanda interna, lo que implica la exigencia de una mayor vida útil, para que el producto llegue en buenas condiciones al consumidor. Tendiendo en cuenta estos antecedentes se observa la oportunidad de explorar e implementar métodos de extracción efectivos, que potencialicen el consumo y comercialización de productos vegetales procesados con valor agregado.

La oleorresina de ajo (*Allium sativum*) se obtiene por extracciones con solventes acuosos y contiene principalmente agua, azúcares, sustancias minerales, nitrogenadas y aceite esencial, en el cual se encuentran sustancias azufradas bioactivas como la alicina y otros alil-sulfuros responsables de las cualidades químicas del ajo, sus efectos salutariferos como: antioxidante, hipocolesterolemico, antibacteriano, antifungico, antivirico y antiparasitario [3,4].

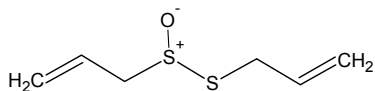


Figura 1. Molécula de alicina.

Por estas razones no solo se utiliza como condimentante en la industria alimenticia, sino también en la industria farmacéutica por sus importantes efectos salutíferos [5].

En este trabajo se busca plantear la mejor metodología de extracción de la oleorresina, teniendo como principal parámetro de selección el porcentaje de rendimiento en extracto, así como posteriores análisis para la comprobación de la viabilidad de su uso industrial.

2. SECCIÓN EXPERIMENTAL

2.1 MATERIAL VEGETAL

Las variedades de ajo (*Allium sativum*) seleccionadas fueron ajo blanco y ajo morado, por ser éstas las más comúnmente encontradas en esta región. Los ajos utilizados se obtuvieron del comercio normal de vegetales en Pereira (Risaralda), seleccionando frutos sanos, sin rastros de plagas, con buen tamaño, dureza y humedad aparente adecuadas.

2.2 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

Los dientes de ajo fueron desligados de la cabeza de ajo, y les fue retirada la serie de capas envolventes. Después de esto se procedió al pesaje de 25 g, los cuales fueron desinfectados, macerados y trasladados cuantitativamente al proceso de extracción.

Las extracciones se realizaron bajo tres variables:

-**Variedad de ajo:** blanco y morado.

-**Tipo de solvente:** etanol 75%, hexano, mezcla hexano:etanol (1:1). Los solventes fueron elegidos con el fin de probar el nivel de extracción de componentes del ajo a diferentes polaridades, siendo el menos polar el hexano, y con polaridad mayor el etanol al 75%.

-**Sistema de extracción:** soxhlet y en frío con agitación.

2.2.1 Extracción soxhlet

La muestra tratada fue envuelta en papel filtro (110mm de diámetro de poro), y dispuesta dentro del extractor de 100 mL de capacidad. El condensador utilizado fue de tipo bulbo y el matraz de 250 mL, se utilizó una manta eléctrica de calentamiento y agua corriente para el condensador.

2.2.2 Extracción en frío: la muestra preparada y el solvente fueron dispuestos dentro de un erlenmeyer de 250 mL. La boca de los erlenmeyers fue cubierta con

papel aluminio y se implementó agitación magnética a temperatura ambiente (aprox. 25° C).

Se realizaron todos los procesos de extracción por triplicado con un tiempo de dos horas cada uno, conjugando las dos variedades de ajo, los tres tipos de solventes y los dos montajes de extracción, obteniendo de esta manera 12 combinaciones posibles.

Los solventes de extracción fueron separados de los extractos y oleorresinas por medio de rotaevaporación. Con el peso de la cantidad de oleorresina extraída se calcularon los porcentajes de rendimiento promedio para cada combinación. Se seleccionó la oleorresina con mayor porcentaje de rendimiento a la que posteriormente se le realizaron los análisis de caracterización.

2.3 ANÁLISIS DE CARACTERIZACIÓN

2.3.1 Análisis físico-químicos:

-**Materia seca:** se utilizó el método gravimétrico por calor seco a 110°C, expresando los resultados como % de material seco[6].

-**Cenizas:** se utilizó el método gravimétrico por calcinación controlada en una mufla 550°C, expresando los resultados como % de material mineral [6].

-**Índice de refracción:** realizado según Norma ICONTEC 289.

-**Índice de acidez:** realizado según la Norma ICONTEC 218, reportando los resultados como % de ácido oleico.

-**Análisis GC-MS:** el análisis de volátiles se aplicó sobre una muestra obtenida al someter a extracción líquido-líquido con éter etílico, una fracción de la mezcla solvente-oleorresina sin rotaevaporar. Se realizó en un equipo GC-MS marca SHIMADZU modelo GCMS QP2010, con inyector Split, gas portador Helio, con temperaturas inicial y final del horno de la columna de 35°C y 280°C respectivamente, detector espectrómetro de masas, modo de ionización por impacto electrónico (70ev) y tiempo de análisis de 34 minutos.

2.3.2 Análisis microbiológicos:

Para todos los análisis se utilizó oleorresina recién extraída y se realizaron siembras de oleorresina pura y en diluciones hasta 10⁻⁴.

-**Determinación de Mesófilos aerobios viables:** se utilizó el método estándar de recuento en placa y siembra por profundidad. El medio de cultivo utilizado fue el Agar Nutritivo Standard Plate Count (APHA), se incubaron las cajas invertidas a 37°C, por 24 horas (incluyendo los controles del medio) [7].

-Determinación de Mohos y Levaduras: se realizó la preparación de placas con Agar Sabouraud y siembra por superficie. La incubación se cumplió a 25°C, por un tiempo de 8 días [7].

-Determinación de Coliformes totales:

Prueba presuntiva: para el análisis se utilizó el método del número más probable empleando el medio líquido fluorocult. La siembra se realizó en tubos de ensayo tapa rosca, en cuyo interior se dispuso una campana invertida. Los tubos se incubaron a 37°C por 24 horas, al final de las cuales se observó la acumulación o no de gas (CO₂) en el interior de la campana [7].

Prueba confirmativa: esta prueba se realizó, cuando los resultados de la prueba presuntiva dieron positivo, se tomó 0.1 mL del tubo contaminado, y se sembró por superficie sobre el agar Eosina Azul de Metileno (EMB), incubación de las cajas invertidas se llevó a cabo a 37°C por 24 horas [7].

-Determinación de Coliformes fecales: la presencia de E-coli se determinó observando los tubos de la prueba presuntiva de coliformes totales, a la luz UV. La presencia de fluorescencia azul indica que la bacteria está presente [7].

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 EXTRACCIÓN DE OLEORRESINA

En la tabla No. 1 se observan los resultados de las extracciones realizadas en soxhlet, mostrando el mayor rendimiento para el ajo morado con etanol al 75% como solvente extractor. Los porcentajes de la extracción en soxhlet para los dos tipos de ajo fueron muy cercanos, debido a que este tipo de extracción se utiliza generalmente para obtener componentes lipídicos, lo que indica que los dos ajos presentan similitudes en el contenido de esta clase de compuestos.

Solvente	rendimiento ajo blanco (%)	Desviación estándar ajo blanco	rendimiento ajo morado (%)	Desviación estándar ajo morado
Etanol 75%	13,6	0,152	14,4	0,0494
EtOH:Hexano	5,60	0,490	6,59	1,28
Hexano	2,88	0,405	2,86	0,0694

Tabla 1. Porcentajes de rendimiento en extracto obtenidos en extracción soxhlet.

En la tabla No. 2 se resumen los resultados de las extracciones realizadas en frío con agitación, observándose el mayor rendimiento para el ajo blanco y etanol al 75% como solvente extractor. Este sobresaliente

resultado refleja un contenido de sustancias con un amplio rango de polaridades.

Solvente	Rendimiento ajo blanco (%)	Desviación estándar ajo blanco	Rendimiento ajo morado (%)	Desviación estándar ajo morado
Etanol 75%	31,2	0,190	9,84	0,156
EtOH:Hexano	11,6	0,493	7,49	1,59
Hexano	2,10	0,179	2,81	0,196

Tabla 2. Porcentajes de rendimiento en extracto obtenidos en extracción en frío con agitación.

En los dos tipos de extracción se observa que el porcentaje de rendimiento es directamente proporcional al aumento de la polaridad del solvente, lo que implica también extractos con características diferentes. Con hexano se recuperó un extracto fluido translucido, con la mezcla hexano-etanol el extracto fue más viscoso y opaco, con el etanol al 75% se recuperó un extracto con viscosidad mayor a los anteriores y completamente opaco. Todos los extractos presentaron coloraciones amarillas y fuerte olor característico a ajo.

Teniendo en cuenta los anteriores aspectos, la oleorresina seleccionada para los análisis de caracterización, fue la obtenida del ajo blanco, extracción en frío con agitación y etanol al 75% como solvente extractor, por presentar el mayor porcentaje de rendimiento a nivel general, el cual fue de 31.2 %, buenas características físicas (viscosidad, aroma) y precisión del método reflejado en la baja desviación estándar la cual fue de 0.1906.

3.2 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

En la tabla No. 3 se muestran los resultados de análisis de caracterización físico-químicos realizados a la oleorresina seleccionada. El índice de acidez ilustra el contenido de sustancias de carácter ácido como fosfolípidos, glucolípidos y ácidos sulfénicos. La materia seca indica que existe un importante contenido de sustancias no volátiles como minerales, carbohidratos, derivados azufrados y otras sustancias orgánicas. El porcentaje de cenizas indica extracción de minerales como fósforo, potasio, magnesio, zinc y sales características del ajo. El índice de refracción y grados Brix se tomaron como parámetros generales de identificación.

Análisis	Dato promedio	Desviación estándar
Índice de acidez (%m/m ácido oleico)	0,469	0,004
Materia seca (%m/m)	80,8	0,216
Cenizas (%m/m)	3,25	0,0217
Índice de refracción (nD24)	1,47	0.236*10 ⁻³
Brix (% sólidos solubles)	74.0	0.0433

Tabla No. 3: análisis físico-químicos

3.2.1 Análisis GC-MS

El análisis cromatográfico de los compuestos solubles en éter etílico, arrojó el cromatograma de gases en el cual se observa la presencia de 7 compuestos principales con picos bien definidos, siendo los picos mayoritarios el tercero ($t_r=14.678$) y cuarto ($t_r=14.984$). Los espectros de masas de cada sustancia fueron comparados automáticamente con la biblioteca de espectros de la base de datos del equipo y justificados los principales fragmentos. Los compuestos identificados de esta manera con sus respectivos porcentajes de coincidencia de las rutas son los siguientes: Disulfuro de dialilo (84%), Trimetil Tiourea (77%), 3-vinil-[4H]-1,2-Ditiina (91%), 2-vinil-[4H]-1,3-Ditiina (90%), Trisulfuro de dialilo (94%) y 4-metil-2,6-di-ter-butyl fenol (93%). El Tiopentanal no fue identificado por comparación con la base de datos, ya que el porcentaje de coincidencia de la ruta fue de apenas un 67%, por lo que la interpretación de su fragmentograma de masas se llevo a cabo comparándolo con sustancias anteriormente identificadas en estudios similares previos de la composición química de volátiles en el ajo [8]. Los tiempos de retención se especifican en la tabla No. 4.

Es de resaltar que la alicina, componente azufrado mas importante, no se detectó en el análisis de forma directa; sin embargo, se detectaron las sustancias: 3-vinil-[4H]-1,2-Ditiina, 2-vinil-[4H]-1,3-Ditiina en altas proporciones y otros compuestos azufrados, los cuales son el resultado de una rápida degradación de la alicina a las condiciones del GC.

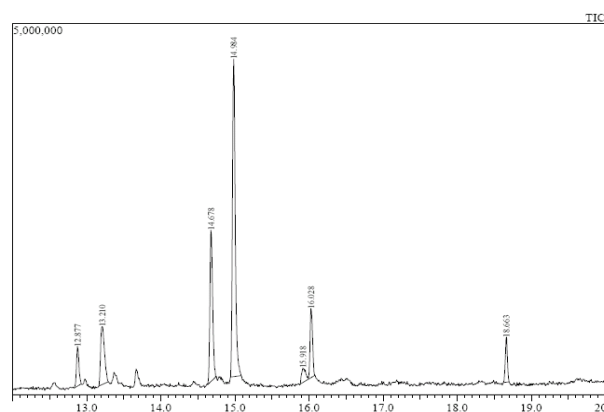


Figura No. 2 cromatograma de gases.

Compuesto	Pico	tr	Área	%
Disulfuro de dialilo	1	12.88	1223021	4.95
Trimetil Tiourea	2	13.21	2871109	11.61
3-vinil-[4H]-1,2-Ditiina	3	14.68	2871109	21.19
2-vinil-[4H]-1,3-Ditiina	4	14.98	11337822	45.86
Tiopentanal	5	15.92	735053	2.97
Trisulfuro de dialilo	6	16.03	2150657	8.70
4-metil-2,6-di-ter-butylfenol	7	18.66	1167049	4.72
			Σ 24722777	Σ 100

Tabla No. 4. Características de los picos cromatográficos.

3.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

La tabla No. 5 muestra los resultados de los recuentos microbiológicos, los cuales indican que la oleoresina es apta para el consumo, por presentar inocuidad frente a un amplio grupo de microorganismos calificados en la industria alimentaria como contaminantes que inutilizan los alimentos, especialmente el grupo de los coliformes.

Análisis	Recuento UFC/g	Recuento NMP
Mesófilos aerobios viables	0	
Mohos y levaduras	0	
Coliformes totales-prueba presuntiva		<3
Coliformes fecales		<3

Tabla No. 5. Recuentos microbiológicos

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El extracto analizado muestra la presencia, entre otros, de importantes compuestos azufrados como los alil-sulfuros y las ditiinas, compuestos responsables de la mayoría de las propiedades salutíferas y organolépticas del ajo. Como es de suponer, la oleorresina contiene en forma concentrada las sustancias de verdadero interés del ajo, por lo que una pequeña fracción reemplaza ampliamente una cantidad proporcionalmente mayor de dientes de ajo sin procesar, su extracción es razonablemente económica, la relación costo-beneficio hace viable su obtención con fines industriales.

Se recomienda realizar estudios de este tipo a los demás extractos obtenidos con los diferentes solventes, para posibles mejoras haciendo mezclas complementarias entre estos, en el caso de encontrarse diferencias en su composición química.

5. BIBLIOGRAFÍA

[1] SLESSOR, P.; ROBBINS, S.; Conviene ser prudentes al comercializar aceites esenciales y oleorresinas de especias. En: Forum de comercio internacional. Suiza: Centro de comercio Internacional UNCTAD/GATT, 6. Vol. 22 No. 3. Julio-Septiembre de 1986. Pág. 26-27, 31-32.

[2] ALEXANDER, A. Oleorresinas. Farm Direct Foods Latinamerica S.A. de C.V.; Última modificación 14 de diciembre, 2004. Consulta 5 de octubre, 2006. Disponible en Website: <http://www.fdfila.com/prod09.htm>

[3] AREVALO C., H. A. Oleorresinas Componentes de las especias. En: Alimentaria: Revista de tecnología e higiene de los alimentos. Vol. 6 No. 25. Bogotá, Colombia. Año 1990. Pág. 26-30

[4] ZUDAIRE, M.; YOLDI, G.; Ajo. Consumer.es EROSKI. Última fecha de modificación marzo 6 /2006. Consulta 5 de octubre/2006. Disponible en Website: <http://verduras.consumer.es/documentos/hortalizas/ajo/imprimir.php>

[5] GARCIA G., L. J.; SANCHEZ M., F. J.; Revisión: Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). ALAN. [online]. set. 2000, vol.50, no.3 [citado 21 Septiembre 2006], p.219-229. Disponible en la World Wide Web: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222000000300002&lng=es&nrm=iso. ISSN 0004-0622.

[6] PEARSON, D.; Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 1976. Cap 2.

[7] Manual de medios de Cultivo. Merck & Co. 1994.

[8] KIMBARIS, A.C.; SIATIS, A.G.; DAFERERA, D.J.; TARANTILIS, P.A.; PAPPAS, C.S.; POLISSIOU, M.G.; Comparison of distillation and ultrasound-assited extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium Sativum*). Ultrasonics Sonochemistry, 13, 2006, p 54-60