

## Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana

Jaime Usano-Aleman<sup>1</sup>. Jesús Palá-Paúl<sup>2</sup>. Silvia Díaz<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>INRES-Horticultural Science. Universidad de Bonn (Alemania). Auf dem Hügel 6, 53121, Bonn.

<sup>2</sup>Departamento de Biología Vegetal I. <sup>3</sup>Departamento de Microbiología III. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. c/ José Antonio Novais 12, 28040, Madrid.

[jusanoal@uni-bonn.de](mailto:jusanoal@uni-bonn.de) [quibey@bio.ucm.es](mailto:quibey@bio.ucm.es) [silviadi@bio.ucm.es](mailto:silviadi@bio.ucm.es)

**Resumen:** Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos volátiles, principalmente terpenoides, que forman parte del metabolismo secundario de las plantas. Su producción tiene diferentes funciones e utilidades para la planta. Pueden actuar como atrayente de polinizadores, repelente de fitófagos, poseen actividad alelopática, antibacteriana y pueden contribuir a mantener el nivel hídrico de la planta. Algunas de estas propiedades han hecho que numerosas especies se hayan utilizado desde tiempos inmemoriales como plantas medicinales o curativas. Este trabajo presenta los aspectos más relevantes sobre los aceites esenciales, su naturaleza química, producción y almacenaje, extracción y actividad antibacteriana. Tomando como punto de partida una de sus propiedades, la antibacteriana, se presenta un resumen con los métodos más empleados para evaluar esta acción por parte de los aceites esenciales. En las últimas décadas, la resistencia de los microorganismos a antibióticos y otros compuestos, abre nuevas vías a la búsqueda de alternativas de control antimicrobiano de origen natural y, dentro de ellos, los aceites esenciales tienen un gran potencial.

**Palabras clave:** aceites esenciales. Terpenoides. Hidrodestilación. Actividad antimicrobiana.

### INTRODUCCIÓN A LOS ACEITES ESENCIALES EN PLANTAS AROMÁTICAS Y MEDICINALES

El cultivo de plantas aromáticas y medicinales forma parte de los cultivos tradicionales de muchas partes de España. Así, cultivos como el espliego (*Lavandula* sp.) o las salvias (*Salvia* sp.), por citar algunos, han formado parte del paisaje de muchas zonas de la Península Ibérica (SANTANA *et al.*, 2012). La cantidad de estas especies que se produce y comercializa a nivel mundial tiene una estimación de crecimiento medio anual del 7%, siendo los mercados de la industria farmacéutica, los suplementos dietéticos y la cosmética natural con base de plantas, los que mayores rendimientos obtienen.

En el ámbito de la producción relacionada con las plantas aromáticas y medicinales, cuatro son los tipos de productos que se comercializan según sea el procesado, la preparación o la transformación:

- Material vegetal consumido en fresco.
- Material vegetal consumido seco, constituido por la planta entera o partes de la misma.
- Extractos. Constituidos mediante la aplicación de diferentes técnicas de extracción de los principios activos.
- [Aceites esenciales](#). Resultado de procesos de destilación.

Los aceites esenciales (AE) son mezclas complejas de compuestos más o menos volátiles provenientes del metabolismo secundario de las plantas. Todas las especies vegetales poseen la capacidad de producir compuestos de naturaleza volátil, sin embargo, en la mayoría de los casos, lo hacen únicamente en proporciones traza, excepto las consideradas como “plantas aromáticas”. Muchas de éstas especies se cultivan en mayor o menor escala porque producen esencias que tienen algún tipo de interés comercial. De hecho, más del 90% de la producción de aceites esenciales se utiliza como materia prima en la industria de la cosmética (perfumes y productos para la piel y el cabello), alimentaria (aromatizantes), farmacéutica (antimicrobianos principalmente) y herboristería (aromaterapia). Alrededor de 3000 especies de plantas pertenecientes a 10 familias botánicas se utilizan actualmente para la obtención de aceites esenciales. Sin embargo, solo 300 de estos aceites se comercializan en el mercado a nivel global, clasificándose éstos en 3 grupos de acuerdo a su volumen de producción. Uno de los cultivos más destacados debido a su gran demanda es el cultivo del lavandin (*Lavandula x intermedia*), siendo además, el más extendido en España dentro de los cultivos de plantas aromáticas.

Los AE son sintetizados, almacenados y liberados al ambiente por una gran variedad de estructuras epidérmicas, cuya morfología es característica de cada grupo taxonómico. Sin embargo, la mayoría de las especies almacenan los compuestos volátiles sintetizados en estructuras especializadas denominadas, en general, [tricomas glandulares](#) (Fig. 1).

Estas estructuras están presentes en familias como *Lamiaceae*, *Asteraceae* o *Solanaceae*, entre otras. Los tricomas glandulares varían morfológicamente entre las distintas familias, aunque por lo general existen dos tipos de estructuras básicas. Las estructuras más sencillas son los denominados coléteres o pelos glandulares y las más complejas son los tricomas glandulares. En este último caso, la morfología varía con las especies e incluso dentro de una misma hoja puede haber varios tipos distintos de glándulas. El número y tipo de estas glándulas condicionan también la producción de AE. Éste se acumula bajo la cutícula de estas estructuras celulares y se vierte cuando ésta se rompe en respuesta a un daño en los tejidos.

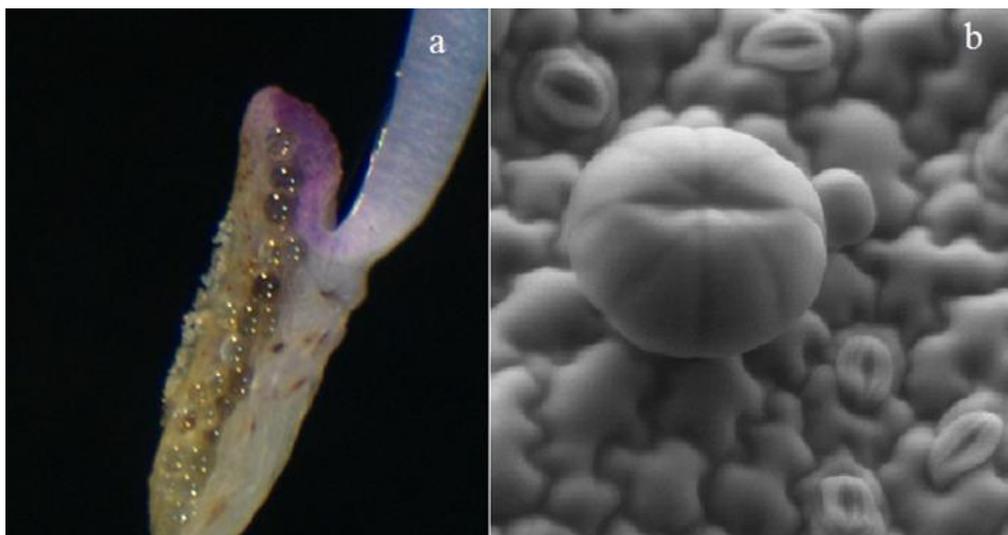
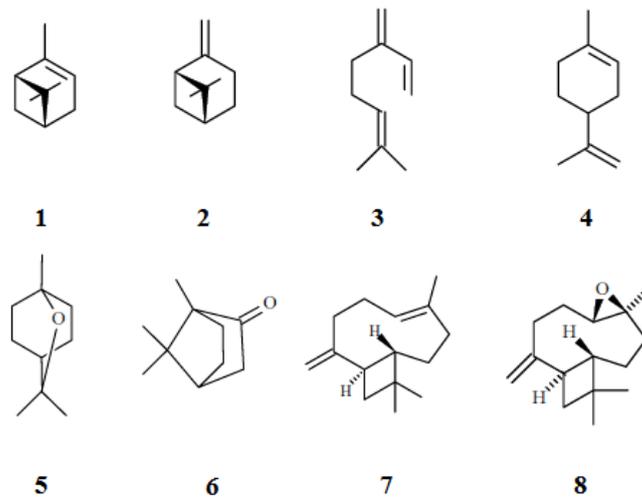


Figura 1. Tricomas glandulares de plantas aromáticas. (a) Anteras de *Salvia lavandulifolia* (microscopio óptico). (b) Envés de hojas de *Lavandula angustifolia* (microscopio electrónico).

Los principales constituyentes de los AE son los **terpenos** de bajo y medio peso molecular como los monoterpenos, los sesquiterpenos y, en menor medida, los diterpenos. Los monoterpenos son las moléculas más abundantes, llegando a representar hasta el 90% del aceite. La Figura 2 muestra las estructuras moleculares de algunos de los compuestos más comunes que forman parte de los AE. De entre ellos, los compuestos  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, mircenol, limoneno, 1,8-cineol y alcanfor se clasifican como monoterpenos, y los compuestos *trans*-cariofileno y óxido de cariofileno como sesquiterpenos. Estos terpenos se sintetizan a partir de las 5 unidades de carbono del isopentenil pirofosfato (IPP), también denominado isopreno, siendo éste el precursor de las series de monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), etc. La biosíntesis de estos terpenos cumple diversas funciones en el reino vegetal, especialmente como protección frente a infecciones, parásitos y otras situaciones de estrés, además de como antisépticos y atrayentes de insectos para la polinización. Además, los AE han demostrado un amplio rango de actividades biológicas y 31 de ellos tienen monografías específicas en la Farmacopea Europea (1991).

Los AE, al ser compuestos que provienen del metabolismo secundario, están sujetos a cambios en su producción en función de las necesidades de la planta. Éstos son el producto final de un complejo proceso biológico que se encuentra fuertemente condicionado por diversos factores que van a determinar tanto la cantidad como la calidad del mismo. Son muchos los factores que influyen en la composición de un aceite (quimiotipo), entre ellos, los más importantes serían la especie de origen, la parte de la planta que se ha utilizado para la extracción, las condiciones climáticas y de crecimiento (temperatura, fertilizantes, tierra de cultivo, etc.) así como el proceso de destilación o la forma de almacenamiento del aceite (USANO ALEMANY, 2012).



**Figura 2. Estructuras moleculares de algunos compuestos comunes de los AE.  $\alpha$ -pineno 1,  $\beta$ -pineno 2, mircene 3, limoneno 4, 1,8-cineol 5, alcanfor 6, *trans*-cariofileno 7, óxido de cariofileno 8.**

La acumulación de metabolitos secundarios es, generalmente, un mecanismo de defensa y juega un papel principal en la adaptación de las plantas a variaciones ambientales. Según esto, las situaciones de estrés normalmente favorecen la producción de estos compuestos. A pesar de que existen múltiples mecanismos bioquímicos implicados en el papel protector de los metabolitos secundarios, en muchos casos, las respuestas dependen de la especie, el estado fenológico de la planta, etc (Herrmann, 2010). Se encuentra ampliamente descrita la influencia en la composición química de los AE que tienen los parámetros ambientales como la temperatura o el nivel de precipitaciones. Sin embargo, el estudio de la cantidad de AE producidos ante situaciones de estrés hídrico, a menudo ha concluido con resultados contrapuestos. La cantidad de AE originado ante situaciones de estrés hídrico se puede mantener o incrementar, dependiendo de la especie o la magnitud del estrés. En general, bajo estrés hídrico moderado, las plantas acumulan carbono que está dirigido a la síntesis de compuestos de defensa como son los monoterpenos. En lo que se refiere a la fertilización nitrogenada, también existe la hipótesis basada en el balance del carbono que predice un incremento en el reparto de este elemento hacia los metabolitos secundarios, cuando la planta crece bajo deficiencias de nitrógeno, aunque existen ensayos que han demostrado que la fertilización nitrogenada no afecta ni a la cantidad, ni a la composición química del AE. A pesar de que en muchos estudios se ha demostrado la influencia que tienen los citados factores ambientales en la composición química de los AE, su control primario en relación al quimiotipo que expresan está mayoritariamente bajo control genético (Figueiredo *et al.*, 2008). Esto quiere decir que aunque las condiciones ambientales perfilan ciertos patrones químicos, éstos son característicos de cada planta o grupo de plantas. Este hecho es de gran importancia tanto a la hora de desarrollar labores de selección y mejora de cultivares que cumplan con normativas de calidad y requerimientos de mercado, como bajo la perspectiva de conservación de recursos fitogenéticos en las poblaciones naturales de especies endémicas de plantas aromáticas y medicinales.

Como se ha citado, existe una normativa específica en cuanto a la calidad de los aceites esenciales que además hace referencia a directrices generales relacionada con la toma de muestras, utilización de perfiles cromatográficos o reglas generales para el envasado, acondicionamiento y almacenamiento para su comercialización. Varios AE de especies cultivadas en España tienen una normativa desarrollada a nivel nacional. Algunos ejemplos están recogidos y resumidos en la Tabla 1.

Aceite esencial (nombre común)	Especie vegetal	NORMATIVA
Orégano español o tomillo carrasqueño	<i>Thymbra capitata</i> (L.) Cav.	UNE 84304:2006
Mejorana de España	<i>Thymus mastichina</i> L.	UNE 84308:2008
Hinojo amargo	<i>Foeniculum vulgare</i> Miller ssp. <i>vulgare</i> Miller var. <i>amara</i>	UNE 84311:2002
Salvia española	<i>Salvia lavandulifolia</i> Vahl.	UNE 84310:2001

**Tabla 1. Normas UNE (normativa nacional) de calidad de los aceites esenciales comercializados de algunas especies de plantas aromáticas.**

### OBTENCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES. PROCESOS INDUSTRIALES Y A ESCALA DE LABORATORIO

La mayoría de los aceites esenciales se obtienen a partir de material vegetal sometido a diferentes tipos de destilación o bien por prensado en frío. La destilación por arrastre en corriente de vapor es la técnica más extendida a nivel industrial (Fig. 3). En este caso, la muestra de material vegetal se somete a una corriente de vapor de agua que arrastra a los componentes volátiles que son condensados y recogidos en un colector donde, por diferente densidad e inmiscibilidad con el agua, se separan el aceite esencial y el agua condensada. Esta destilación puede hacerse a presión atmosférica o con altas presiones. La aplicación de temperaturas más elevadas, cuando se destila con altas presiones, reduce sustancialmente el tiempo de destilación.



**Figura 3. Réplica de una destiladora industrial por arrastre en corriente de vapor y alimentación por biomasa. Centro de Investigación Agraria de Albaladejito (Cuenca).**



## ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES

La destacada variabilidad en la composición química que presentan los AE se encuentra asociada a una gran multifuncionalidad como consecuencia de la capacidad de éstos de interaccionar con receptores específicos de múltiples dianas biológicas. En este sentido, muchos AE destacan por ser eficientes insecticidas frente a una amplia gama de insectos, además de poseer actividad antimicrobiana y fitotóxica (Baser y Buchbauer, 2010). Como consecuencia de ello, a lo largo de la historia, los aceites esenciales han sido utilizados por parte de la medicina tradicional, debido a su capacidad antimicrobiana, en el tratamiento de enfermedades infecciosas desde mucho antes del conocimiento de la existencia de los microorganismos. Lavandas, cítricos, romeros, albahacas, eucaliptos o anises han sido usados con propósitos curativos en muchas partes del mundo. Un agente antimicrobiano es cualquier compuesto químico, natural o sintético, que mata o inhibe el crecimiento de microorganismos. Desde el descubrimiento de los antibióticos, todos estos remedios tradicionales han quedado en desuso. Sin embargo, en las últimas décadas, se ha observado una importante resistencia a los fármacos y plaguicidas existentes por parte de gran cantidad de microorganismos, siendo especialmente preocupante el caso de la resistencia a antibióticos en bacterias. La resistencia a los antimicrobianos supone la capacidad adquirida de un organismo para resistir los efectos de un agente quimioterapéutico al que es sensible habitualmente. Este problema tiende a incrementarse con el tiempo y el nivel de exposición al mismo, por ello, es necesario emplear los antimicrobianos de forma adecuada, lo que permitirá prolongar el tiempo de vida clínica de los mismos. No obstante, una de las soluciones a largo plazo para acabar con las resistencias se encuentra en nuestra capacidad para desarrollar nuevos antimicrobianos. Otra de las opciones que está en vías de desarrollo y explotación, es la búsqueda de alternativas de control antimicrobiano de origen natural y, dentro de ellos, los aceites esenciales tienen grandes potencialidades.

Los AE juegan un papel importante como agentes protectores de las plantas frente a bacterias, virus, hongos, insectos e incluso herbívoros, además de atraer a insectos a favor de la dispersión del polen o las semillas, o de repeler a los que tengan efectos indeseables (Bakkali *et al.*, 2008). A pesar de que las propiedades antimicrobianas de los AE han sido probadas, los mecanismos de acción son aún desconocidos. Hasta la fecha, la mayoría de los estudios se han realizado sobre microorganismos patógenos para el hombre, así como aquellos presentes en los alimentos, por su capacidad para alterar las condiciones organolépticas o de conservación, o por producir toxinas que provoquen intoxicaciones alimentarias graves.

Considerando la gran variedad de componentes de los AE, la capacidad antimicrobiana que poseen, muy probablemente se deba a la acción combinada de varios compuestos, más que atribuirse a uno sólo de ellos. Los componentes mayoritarios de los AE pueden constituir hasta un 85% del total, mientras que el resto se presentan en menores cantidades e incluso en proporción traza (<0.1%). Algunos estudios demuestran que los componentes en menor proporción tienen un papel

crítico en la actividad antimicrobiana posiblemente debido a un efecto sinérgico entre ellos, de forma que el AE tiene una mayor actividad, que la mezcla de sus principios activos mayoritarios por separado.

Se han llevado a cabo numerosas investigaciones con el objetivo principal de relacionar la composición química de los AE con su actividad biológica y su posible aplicación como productos naturales. Diversos estudios determinan que los aceites esenciales procedentes de clavo, canela, mostaza, orégano, romero y tomillo son los que más actividad antimicrobiana tienen (Deans y Ritchie, 1987). Los AE que poseen gran actividad antimicrobiana contienen un elevado porcentaje de compuestos de naturaleza fenólica como carvacrol (componente mayoritario del orégano), timol (del tomillo) y eugenol (del clavo). El eugenol y el aldehído cinámico (de la canela) actúan inhibiendo la producción de enzimas intracelulares como amilasas y proteasas.

En general, los AE son más activos frente a bacterias Gram positivas, posiblemente debido a que las bacterias Gram negativas poseen una membrana externa en las paredes celulares, de naturaleza lipofílica, que podría interactuar con ellos. Sin embargo, el carvacrol, eugenol y el timol, son capaces de desintegrar la membrana externa de las bacterias Gram negativas *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

Los mecanismos de acción de los terpenoides no están totalmente resueltos, aunque es probable que impliquen en la mayoría de los casos, interrupciones en las membranas por compuestos lipofílicos. De acuerdo con esto, Mendoza *et al.* (1997) describen que una disminución de la hidrofobicidad de ciertos diterpenos por la adición de grupos metilo hace disminuir drásticamente su actividad antimicrobiana. Precisamente, una importante característica de los AE es su hidrofobicidad. Los AE tienen la capacidad de hacer más permeables las membranas lipídicas citoplasmáticas, las membranas de la pared de las bacterias Gram negativas y en organismos eucariotas, las membranas de las mitocondrias (Burt, 2004). Los AE también podrían actuar sobre las proteínas embebidas en las membranas celulares interactuando con las partes hidrofóbicas de las mismas, lo que podría incluso afectar a enzimas como la ATPasa de membrana. La efectividad de algunos AE contra agentes infecciosos de las plantas ha sido constatada por Soyly *et al.* (2006), indicando que su acumulación en los tricomas glandulares puede tener efectos de profilaxis y protección frente a bacterias y hongos oportunistas infecciosos. Ciertos terpenoides son importantes en la resistencia a enfermedades causadas por bacterias y hongos.

### **Métodos para evaluar la capacidad antibacteriana de los aceites esenciales**

Son muchos los estudios realizados para evidenciar el efecto inhibitorio de los AE sobre distintas especies de bacterias patógenas. En muchas ocasiones, los resultados son comparados con los producidos por antibióticos de uso general, sin embargo, es importante tener en cuenta la diferente solubilidad y dispersión de los antibióticos y los AE en el medio de crecimiento bacteriano. Los métodos más empleados son: la técnica de difusión de discos en agar y los de dilución (en líquido y sólido). La técnica

de difusión de discos en agar es generalmente utilizada como un método cualitativo, mientras que los métodos de dilución nos permiten conocer datos cuantitativos.

- **La técnica de difusión de discos en agar:** es uno de los más empleados debido a su sencillez y rapidez en la lectura de los resultados. Está basada en la metodología empleada por BAUER *et al.* (1966). En este método, el AE es depositado sobre un disco en papel whatman en la superficie de un medio de cultivo en donde se ha inoculado un microorganismo mediante una siembra en césped. De esta manera, se formará por difusión un gradiente de concentración del producto alrededor del disco y la sensibilidad del microorganismo estará indicada por la zona de inhibición del crecimiento bacteriano (Fig. 5). El diámetro obtenido dependerá no sólo de la sensibilidad del microorganismo y la carga del disco, sino también del espesor de la capa de agar, pH, composición del medio de cultivo, temperatura, capacidad de difusión del AE en el medio, atmósfera de incubación, velocidad de duplicación bacteriana, tamaño del inóculo, y fase de crecimiento del microorganismo en estudio. Para la evaluación de los extractos obtenidos de las plantas se emplean gran variedad de métodos, entre ellos, el Agar Mueller Hinton, Agar Triptona de Soja, Agar nutritivo, Agar Infusión Cerebro Corazón, etc.

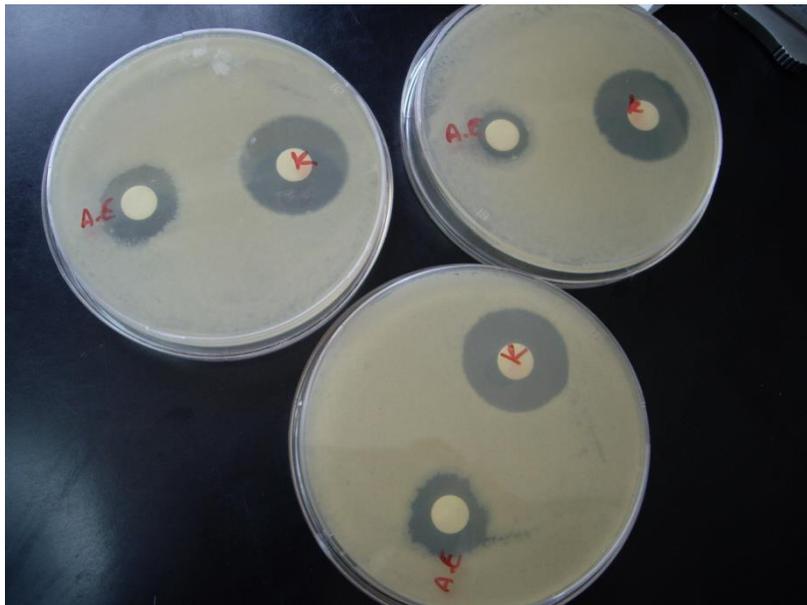


Figura 5. Halos de inhibición creados por el AE de *Salvia lavandulifolia* frente al crecimiento de *Serratia marcescens* mediante la técnica de difusión de discos en agar. En este caso, como control positivo se utilizó Kanamicina 2mg/ml.

- **El método de dilución en agar:** en el que el AE se incorpora en el medio de cultivo. El AE se añade cuando el agar está aún líquido, y los resultados se expresan como **Concentraciones mínimas inhibitorias** (CMI). La CMI es la concentración mínima de una sustancia necesaria para impedir el crecimiento microbiano.

- **El método en medio de cultivo líquido:** se basa en la capacidad o no de crecimiento del microorganismo en un medio líquido al que se le ha incorporado AE. Se preparan diferentes diluciones seriadas en caldo nutritivo utilizando emulsionantes. Esta metodología supone gran manipulación del material y el empleo de disolventes que permitan la solubilidad del AE en el medio líquido. Habitualmente se utiliza el medio Caldo Triptona de Soja (TSB).

### **Empleo de los aceites esenciales en la industria alimentaria**

El empleo de los aceites esenciales en alimentación se recomienda en combinación con otros aditivos naturales como los acidificantes, ya que se pudo demostrar que existe un efecto de tipo sinérgico en cuanto a su mecanismo de acción. Al ser sustancias volátiles, los aceites esenciales se deben estabilizar y proteger para asegurar su conservación durante el almacenamiento. Éstos son susceptibles a los efectos de la luz, el oxígeno, la humedad y temperaturas elevadas. Para ello, se utilizan diversas técnicas de microencapsulación, como su inclusión en matrices de ciclodextrinas (oligosacáridos cíclicos).

Aunque son productos vegetales que no tienen valor nutritivo, ni minerales o vitaminas, el uso de los aceites esenciales en la industria alimentaria ha sido muy bien aceptado debido a sus propiedades aromatizantes además de conservantes, así como, otros efectos beneficiosos como propiedades antioxidantes y antimutagénicas.

En cuanto a la posible toxicidad de los aceites esenciales, si bien su aplicación alimentaria y terapéutica está cada vez más extendida, no hay que omitir que existen aceites esenciales cuyo uso inadecuado puede resultar tóxico y esta toxicidad puede variar con el quimiotipo de procedencia. Ingeridos por vía oral, los aceites esenciales de eucalipto, clavo, canela, y nuez moscada pueden ocasionar cuadros de depresión generalizada en el Sistema Nervioso Central. Además, se han descrito efectos narcóticos y estupefacientes para el comino, cilantro, eucalipto, nuez moscada, tomillo.

### **BIBLIOGRAFÍA**

Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D. y Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils. A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46:446-475.

Baser, K. H. C. y Buchbauer, G. 2010. *Handbook of Essential Oils. Science, Technology and Application*. Taylor & Francis Group., New York. ISBN: 978-1-4200-6315-8

Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; Sherris, J.C. y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility by standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4):493-496.

- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94:223-253.
- Deans, S. G. y Ritchie, G. 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 5:165-180.
- Farmacopea Europea. 1991. Ministerio de Sanidad y Consumo. ISBN: 978-8-4767-0085-3.
- Figueiredo, A. C.; Barroso, J. G.; Pedro, L. G. y Scheffer, J. J. C., 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23:213-226.
- Herrmann, A. 2010. *The chemistry and biology of volatiles*. John Wiley & Sons Ltd. West Sussex, United Kingdom. ISBN: 978-0-470-7778-7.
- Mendoza, L.; Wilknes, M. y Urzua, A. 1997. Antimicrobial study of the resinous exudates and of diterpenoids and flavonoids isolated from some Chilean *Pseudognaphalium* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 58:85-88.
- Real Farmacopea Española. 2005. Ministerio de Sanidad y Consumo. Boletín Oficial del Estado (BOE). ISBN: 978-8-4340-1585-2.
- Santana, O.; Cabrera R.; Giménez, C.; González-Coloma, A.; Sánchez-Vioque, R.; de los Mozos-Pascual, M.; Rodríguez-Conde, M. F.; Laserna-Ruiz, I.; Usano-Aleman, J. y Herraiz, D. 2012. Perfil químico y biológico de aceites esenciales de plantas aromáticas de interés agro-industrial en Castilla-La Mancha (España). *Gasas y aceites*, 63 (2):214-222.
- Soylu, E. M.; Soyly, S. y Kurt, S. 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathology*, 161:119-128.
- Usano Aleman, J. 2012. Estudio del efecto de los factores ambientales y agronómicos sobre la producción de los aceites esenciales de *Salvia lavandulifolia* VAHL. Universidad Complutense de Madrid. Tesis doctoral. ISBN: 978-84-695-6366-3.

Recibido: 5 de mayo 2013.

Aceptado: 15 de diciembre 2014