

## Los aceites esenciales de las plantas en la sostenibilidad medioambiental. Propuestas para la innovación educativa

Juan Antonio Llorens-Molina<sup>a</sup>, María Pilar Santamarina Siurana<sup>a</sup>, Mercedes Verdeguer Sancho<sup>a</sup>, Josefa Roselló Caselles<sup>a</sup>, Sandra Vacas González<sup>b</sup>, Vicente Castell Zeising<sup>a</sup>

<sup>a</sup> E.T.S. Ingeniería Agronómica y Medio Natural, Universitat Politècnica de València, Camí de Vera, s/n, 46022 València (España)

<sup>b</sup> Centro de Ecología Química Agrícola, Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universitat Politècnica de València, Camí de Vera, s/n, 46022 València (España)

---

### Resumen

*Dentro de la investigación en el ámbito agroalimentario, existe un creciente interés por la aplicación de productos naturales cuya actividad biológica: antibacteriana, antifúngica, herbicida, etc. como alternativa más adecuada desde una perspectiva medioambiental a los productos de síntesis química utilizados habitualmente. Ello ha de proyectarse desde el punto de vista docente en la introducción de actividades educativas que contribuyan a fomentar una mayor sensibilidad en torno a todos los valores relacionados con la sostenibilidad y el respeto al medio ambiente.*

*Entre los citados productos naturales ocupan un lugar destacado los aceites esenciales obtenidos de plantas aromáticas, tan características de nuestro entorno mediterráneo. Por otra parte, muchos aspectos de su obtención y de la experimentación de su actividad biológica son susceptibles de un tratamiento didáctico relativamente asequible, pudiendo constituir el eje de tareas educativas innovadoras.*

*En este trabajo se presentan algunas propuestas concretas relacionadas con la introducción al conocimiento de las plantas aromáticas y medicinales, la obtención y caracterización química de los aceites esenciales, así como dos ejemplos de su actividad biológica: antifúngica e inhibidora de la germinación.*

**Palabras clave:** Aceites esenciales, actividad biológica, sostenibilidad, medio ambiente

## **1. Introducción**

Desde el punto de vista de la investigación sobre productos naturales, los aceites esenciales obtenidos de plantas aromáticas, tan arraigadas en nuestro contexto cultural mediterráneo, ha suscitado una creciente atención en los últimos años. Además de sus aplicaciones tradicionales en el campo de la perfumería, como aditivos alimentarios y condimentos, *etc.*, muchos aspectos de su bioactividad se están investigando como consecuencia del progresivo interés en la sustitución de productos derivados de la síntesis química utilizados como insecticidas, fungicidas, herbicidas, *etc.*, por productos naturales, más adecuados desde una perspectiva ecológica (Tongnuanchan y Benjakul, 2014). Al mismo tiempo, la aproximación al ámbito educativo de todo lo relacionado con la sostenibilidad desde el punto de vista medioambiental puede considerarse actualmente una exigencia ineludible, como lo demuestra la progresiva incorporación a los currícula de las relaciones Ciencia-Técnica-Sociedad en la Educación Primaria y Secundaria (Tytler, 2012). Asimismo, el tratamiento de las competencias transversales en la Educación Superior también exige buscar modos de integrar dichas relaciones en la actividad docente (UPV, 2015). Desde esta perspectiva, cobra un sentido especialmente importante el conocimiento de las plantas aromáticas y medicinales (PAM), representativas de nuestra rica flora mediterránea como un patrimonio que debe conocerse y conservarse, siendo además especies cultivadas y de aprovechamiento desde tiempos ancestrales. Se plantean por ello dos niveles de aproximación a su conocimiento:

- a) Identificación de las principales especies de nuestro entorno en base a sus características morfológicas y/o aromáticas.
- b) Identificación de determinadas propiedades basadas en su composición química, que son la base de su actividad biológica y, consecuentemente, el fundamento de su posible utilización en el ámbito agroalimentario.

Para lograr estos objetivos mediante la introducción de innovaciones educativas, el estudio de los aceites esenciales reúne ciertas características que lo hacen particularmente adecuado. Tanto sus métodos de obtención como su caracterización química y el estudio de algunos aspectos de su bioactividad son susceptibles de un tratamiento experimental que puede adaptarse, en cuanto a metodología y recursos, a diferentes niveles educativos. Por otra parte, para incrementar su valor formativo, estas actividades pueden incorporar en su diseño aspectos básicos de la metodología científica, tales como la formulación de hipótesis o el control de variables.

El objetivo de este trabajo es presentar un conjunto de propuestas, principalmente experimentales y basadas en metodologías activas, para la introducción de los aceites esenciales y su bioactividad en la docencia universitaria, teniendo presente su posible adaptación a otros niveles educativos. En primer lugar, se presenta una propuesta de

actividad para la familiarización con las plantas aromáticas y medicinales, incluyendo la taxonomía y la caracterización de los aspectos morfológicos que permitan la identificación de una especie (*per se* o por comparación con otras) a nivel de semilla, planta en desarrollo, hojas, flores e inflorescencias, etc., así como la identificación de aromas a los que dichas especies puedan asociarse.

Posteriormente, se propone una actividad consistente en la obtención de un extracto de aceite esencial con recursos experimentales fácilmente asequibles, que pueda analizarse cualitativamente mediante un método particularmente sencillo y rápido como es la cromatografía en capa fina.

A continuación, se presentarán dos ejemplos de tareas experimentales basadas en dos aspectos de la actividad biológica de los aceites esenciales que expresan muy claramente los objetivos de este trabajo: la actividad antifúngica y la inhibición de la germinación, aspectos ambos relacionados, respectivamente, con el desarrollo de productos fitosanitarios alternativos para el tratamiento post-cosecha en la industria agroalimentaria y con el desarrollo de herbicidas respetuosos con el medio ambiente.

Puede accederse a los protocolos experimentales de estas actividades a través del siguiente enlace: <https://poliformat.upv.es/x/ukFgu9>

## **2. Una propuesta para la familiarización con las plantas aromáticas y medicinales (PAM)**

Dentro del contexto de las plantas aromáticas y medicinales, el conocimiento de determinados aspectos morfológicos clave para diferenciar géneros/especies entre sí, puede basarse en caracteres de sencilla identificación, con especial mención a aspectos llamativos o curiosos, de tal forma que sea, hasta cierto punto, divertido su reconocimiento. Esta identificación puede relacionarse con un aspecto particularmente atractivo como es la detección y caracterización de aromas.

Todo ello se puede reforzar y complementar con información técnica y biológica basada en parámetros taxonómicos y etnobotánicos de las especies consideradas, así como con información sobre la etimología de algunos términos empleados que, en ciertos casos, ayudan a comprender la importancia de las PAM estudiadas.

Para el desarrollo de estos ensayos y prácticas es conveniente disponer de plantas mantenidas en una colección de PAM en parcelas experimentales, tales como las existentes en centros universitarios con fines académicos y de investigación hasta los huertos escolares existentes en muchos centros de Educación Primaria o Secundaria.

En este sentido, pueden plantearse tanto visitas a la citada parcela para realizar el reconocimiento de las características diferenciales *in situ*, como la recogida de material vegetal para realizar tales identificaciones en laboratorio, apoyándose eventualmente con imágenes proyectadas. De forma similar se procedería con los ensayos/prácticas de identificación de aromas. En este caso también es factible el concurso de aromas comerciales obtenidos para otros fines. Como aspecto curioso se puede introducir el estudio comparativo frente a productos comerciales que incluyan los aromas considerados (geles, velas, jabones, ambientadores). Para expresar más claramente algunos aspectos concretos de esta actividad, se propone a modo de ejemplo el estudio de una planta tan popular como el tomillo, concretamente el *Thymus vulgaris*, mediante un modelo de ficha que sería el producto elaborado por los estudiantes a partir de las tareas propuestas.

### **Ficha (modelo)**

Los tomillos son plantas perennes, de tallo leñoso, de escasa altura. Sus hojas son diminutas y poseen compuestos aromáticos. La composición química de los aceites esenciales de este género y de sus propiedades es objeto de numerosos estudios.

### **Taxonomía**

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Lamiales
Familia:	Lamiaceae
Subfamilia:	Nepetoideae
Tribu:	Mentheae
<b>Género:</b>	<b><i>Thymus</i> L.</b>

### **Aspectos etnobotánicos. Nombres comunes**

El género *Thymus* es muy conocido en su área de distribución y utilizado como condimento, planta medicinal o fuente de aceites esenciales. *Thymus vulgaris* L. es el tomillo más común y conocido y se emplea como condimento y como planta medicinal. Por ello, se conocen numerosos nombres comunes o populares.

Castellano: boja, bojas, estremoncello, estremoncillo, timoncillo, tomello, tomillo, tomillo ansero, tomillo blanco, tomillo borde, tomillo común, tomillo fino, tomillo limonero, tomillo negro, tomillo negrilla, tomillo royo, tomillo salsero, tomillo vulgar, tremoncillo, tumillo, ... Valenciano: farigola, timó, tomello.

Una información más detallada de los aspectos etnobotánicos es accesible, por ejemplo, en <https://www.tusplantasmedicinales.com/tomillo/>

### **Biogeografía y ecología**

El género *Thymus* está muy distribuido en el hemisferio norte, particularmente en la región mediterránea, y se ha introducido en otras regiones del hemisferio sur. En la Península Ibérica se encuentran 35 especies (24 de ellas endémicas), en Grecia 18 especies, en Turquía 36 especies, etc. Los tomillos están más extendidos en zonas con suelos secos y soleados. El tomillo común es abundante en la zona central y mediterránea de la Península Ibérica y en las islas Baleares. Prefiere suelos calizos, incluso hasta cierto punto arcillosos, pero evita los silíceos.

### **Etimología**

La palabra “*thymus* o *thymum*” (latín) procede de “*thymos* o *thymon*” (griego) y, a su vez, de “*thyon* o *thyos*” (gr) y significa ‘árbol o bosque oloroso, perfume’. La palabra “*thymos*” (gr) quiere decir ‘fuerza, coraje’. El término “*vulgaris*” es un epíteto latino que significa “vulgar, común”.

La mayoría de los nombres comunes en las lenguas románicas, y en algunas germánicas como, por ejemplo “Thymian” (alemán) o “thyme” (inglés), derivan de su forma latina.

### **Rasgos característicos**

El tomillo común es un pequeño arbusto, muy variable en su aspecto, de unos 10 a 40 cm de altura. Es leñoso en su base, las hojas son pequeñas (de 3 a 8 mm de longitud), dos por cada nudo y opuestas. Los bordes de las hojas están ligeramente enrollados hacia abajo, sobre todo en situaciones de calor o sequía. Son pilosas y de color verde oscuro/grisáceo. Las flores son pequeñas, desde blancas hasta rosadas casi púrpuras, agrupadas en el extremo final del tallo. Sus ‘semillas’ (frutos) son pequeñas y esféricas (aquenios).

### **Aspectos históricos y curiosidades**

Puede accederse a esta información, relativamente amplia, en: <https://poliformat.upv.es/x/6nQ5cu>

## **3. Obtención y caracterización química a microescala de aceites esenciales. Distinción entre los aceites esenciales de tomillos fenólicos y no fenólicos (*Thymus piperella* y *T. vulgaris* L., quimiotipo 1,8-cineol) mediante cromatografía en capa fina**

*T. piperella*, endemismo ibero levantino, y *T. vulgaris* son dos especies que comparten su habitat en amplias zonas del sur de la provincia de Valencia y norte de Alicante, en la Comunidad Valenciana. Aparte de sus evidentes diferencias morfológicas, sus aceites esenciales son representativos de dos amplios grupos de quimiotipos (Sell, 2015), referidos

a los aceites esenciales del género *Thymus*: los fenólicos, caracterizados por el predominio de los isómeros timol y carvacrol, y los no fenólicos (Thompson *et al.*, 2003). Entre estos últimos cabe destacar el quimiotipo de *T. vulgaris* que presenta como compuesto mayoritario el 1,8-cineol o eucaliptol, ampliamente extendido en la Península Ibérica.

Los **objetivos** de esta actividad experimental son, principalmente:

- Llevar a cabo la obtención de un extracto del aceite esencial, mediante una sencilla y rápida destilación por arrastre de vapor a microescala, realizada con material muy sencillo y accesible.
- Comparar la composición de los aceites esenciales de *Thymus piperella* y *Thymus vulgaris* en cuanto a la presencia de los dos compuestos más representativos: carvacrol y 1,8-cineol, utilizándolos como patrones.

Desde el punto de vista metodológico esta actividad se caracteriza por la obtención a microescala de un extracto de aceite esencial que puede analizarse posteriormente mediante cromatografía en capa fina. Los detalles del proceso experimental, basados en la metodología establecida por Wagner y Bladt (1996), pueden consultarse en el documento cuyo enlace se cita en la introducción.

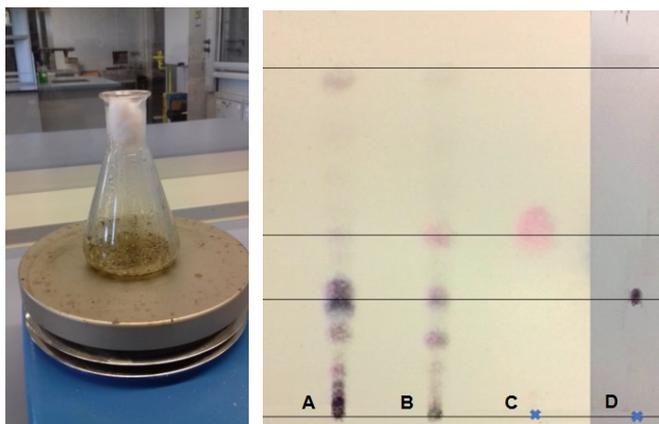


Fig. 1 La hidrodestilación a microescala se lleva a cabo mediante la ebullición de agua con la planta, interceptando los vapores con algodón que es posteriormente sometido a extracción con el disolvente apropiado.

Fig. 2 A (aceite esencial de *Thymus vulgaris*), B (aceite esencial de *Thymus piperella*), C (patrón de carvacrol), D (patrón de 1,8-cineol). Comparando el desarrollo de los extractos con los patrones de carvacrol y 1,8-cineol puede verificarse cómo cada uno de los extractos se caracteriza por la presencia de uno de los citados compuestos. La caracterización de las manchas viene dada, tanto por su color tras el revelado, como, sobre todo, por el valor de  $R_f$  (cociente entre la distancia recorrida por la mancha y la alcanzada por el eluyente, desde la línea base).

#### 4. Ensayos de inhibición de la germinación in vitro en placas Petri

La inhibición de la germinación en semillas puede observarse mediante la aplicación de aceite esencial sobre discos de papel de filtro humedecidos e introducidos en cajas Petri, sobre los que se disponen las semillas. Su número dependerá del tamaño y vigor de las mismas. Así, por ejemplo, para especies con semillas muy grandes, como las del género *Avena*, se deben utilizar 5, para especies de tamaño medio y bastante vigor como las del género *Echinochloa* y otras monocotiledóneas es recomendable colocar 5 o 10, y para especies de tamaño pequeño como las del género *Amaranthus* y *Portulaca* se pueden emplear 20). En un contexto universitario, las semillas empleadas corresponderán a especies consideradas como "malas hierbas", dado que el objetivo de la actividad sería mostrar la potencialidad de los aceites esenciales como herbicidas alternativos (Tworkoski, 2002).

Una vez preparadas las placas se cerrarán con parafilm y se incubarán en cámara de germinación, si tenemos disponibilidad, o a temperatura ambiente, en caso de no disponer de ella. En algunas especies se pueden observar los efectos a los 3 días, en otras a los 5-7 días. Del mismo modo que en el resto de actividades experimentales, puede accederse a una descripción más detallada del material y los métodos empleados en el documento *web* ya citado.



Fig.3 Inhibición de la germinación de semillas de *Portulaca oleracea* por aceite esencial de *Eucalyptus camaldulensis* (1  $\mu$ L/mL). Izquierda: experimento control. Derecha: semillas al cabo de 14 días de tratamiento

Una versión de esta actividad adaptada al contexto escolar (Educación Secundaria) puede llevarse a cabo empleando semillas más familiares y fáciles de conseguir tales como trigo, lentejas o soja. Para realizar estos ensayos se coloca en el fondo de un vasito de plástico previamente agujereado en la parte inferior para que haya algo de ventilación, algodón en rama humedecido, sobre el que se depositan las semillas. El vasito se cubre con la tapa de

plástico y por la parte inferior colgaremos una torunda de algodón impregnada con aceite esencial, que podemos sujetar por medio de un alfiler. Al cabo de cuatro o cinco días pueden observarse las diferencias en la germinación entre las semillas tratadas y no tratadas (experimento control).

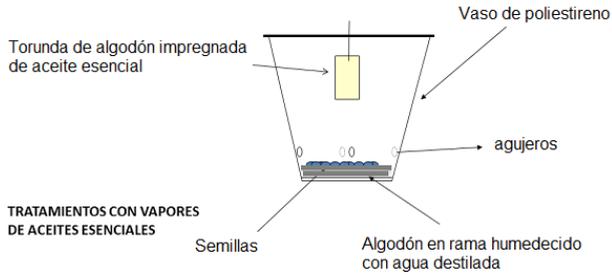


Fig. 4 Montaje experimental para observar la influencia de los vapores de aceites esenciales en la germinación de semillas

#### Prueba en blanco



Trigo

lentejas

soja verde

#### Tratamiento con aceite esencial de alcaravea (*Carum carvi* L)

Compuestos principales: carvona y limoneno



Trigo

lentejas

soja verde

Fig. 5 Comparación entre la prueba en blanco y el resultado de aplicar vapores de aceite esencial de alcaravea (*Carum carvi* L.) al cabo de seis días

## 5. Ensayos *in vitro* de la actividad antifúngica de los aceites esenciales de *Thymus piperella* y *T. vulgaris* frente a *Botryotinia fuckeliana*

*Botryotinia fuckeliana* es un patógeno vegetal que infecta a innumerables especies de plantas (polífago), causando la enfermedad conocida como moho gris. Esta especie es más conocida por el anamorfo, *Botrytis cinerea* Pers. El género *Botrytis* cuenta con más de 20 especies, dentro de las cuales se encuentran *B. tulipae*, *B. squamosa* y *B. fabae*, que afectan al tulipán, cebolla y haba respectivamente. *B. cinerea* es un hongo que puede comportarse como patógeno de plantas y también como saprófito (Cardinale y Berg, 2016). Ocasiona grandes pérdidas en uva, tanto en el campo como después de la cosecha, así como en otros frutos como frambuesas, arándanos, moras y fresas. También causa el deterioro de manzanas, peras, tomates, frutas de hueso y kiwis (Pitt y Hocking, 2009).

En algunos países, especialmente en Francia y Alemania, se producen vinos botritizados muy apreciados por los consumidores, que se elaboran a partir de uvas infectadas por este hongo.

Las colonias tienen un crecimiento micelial abundante, algodonoso y de color grisáceo, mientras que el crecimiento esclerocial es lento, con esclerocios de color negro distribuidos irregularmente en el medio (Figura 6).

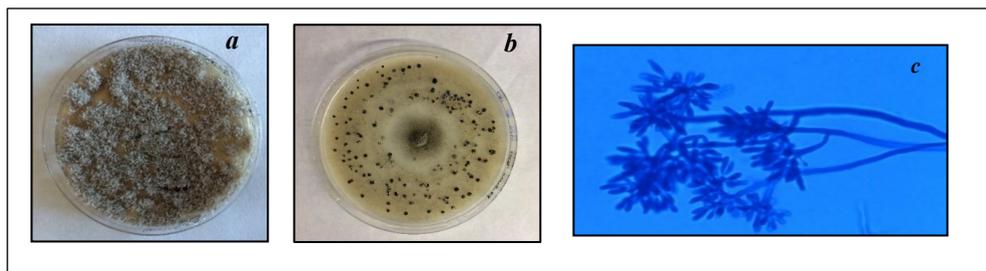


Fig. 6 *Botryotinia fuckeliana*. a y b: En medio PDA sin y con formación de esclerocios; c: Conidioforos y conidios

Los aceites esenciales de *T. piperella* y *T. vulgaris* se mezclaron y homogeneizaron en el medio de cultivo PDA/Tween 20 a la concentración de 300  $\mu\text{g/mL}$ . Una vez repartido el medio con aceite en placas Petri, se sembraron en ellas discos de *B. fuckeliana* en el centro de las mismas. Las placas Petri control contenían únicamente PDA/Tween. El crecimiento micelar se midió a los 7 días y se calculó la Inhibición del Crecimiento Miceliar (MGI). Del mismo modo que en los experimentos anteriores, puede accederse al protocolo experimental detallado a través del enlace citado en la introducción.

Tabla 1: Diámetro medio de la colonia de *B. fuckeliana* (BF) crecida en PDA-Control, PDA-*T. piperella* (300 µg/mL) y PDA-*T. vulgaris* (300 µg/mL). Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Miceliar (MGI)

HONGO	Diámetro medio de la colonia (mm)			MGI (%)	
	PDA-Control	PDA- <i>T. piperella</i>	PDA- <i>T. vulgaris</i>	<i>T. piperella</i>	<i>T. vulgaris</i>
BF	80,8	0	69,2	100	14,4

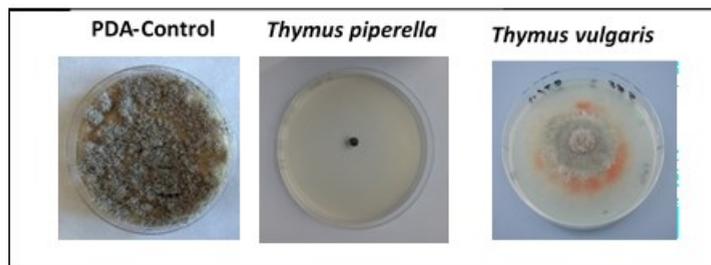


Fig. 7: Crecimiento de *B. fuckeliana*, a los 7 días de incubación, en PDA-control, PDA-*T. piperella* (300 µg/mL) y PDA-*T. vulgaris* (300 µg/mL)

Los resultados obtenidos (Tabla 1 y Figura 7) muestran que, de los dos aceites esenciales ensayados, *T. piperella* y *T.vulgaris*, sólo el *T. piperella* tiene efecto antifúngico sobre *B. fuckeliana*, con un cien por cien de inhibición. Este aceite tiene como compuesto mayoritario el carvacrol, siendo este, por tanto, el responsable del poder antifúngico del mismo (Ruiz-Navajas *et al.*, 2015).

## 6. A modo de conclusión. Perspectivas de trabajo

A través de las propuestas formuladas en este trabajo se ha pretendido dar respuesta a las inquietudes planteadas en su introducción. Nuestro sistema educativo, en sus diferentes niveles, puede brindar amplias oportunidades para la inclusión de este tipo de actividades si nos situamos en un contexto de innovación educativa. Así, estas tareas son particularmente adecuadas para el aprendizaje basado en problemas o en proyectos (Guisasola y Garmendia, 2014) y, por otra parte, tanto por su enfoque medioambiental como por los recursos experimentales empleados, pueden ser particularmente adecuadas para el desarrollo de determinadas competencias transversales.

Como perspectivas de futuro abiertas por este trabajo cabría citar, además de la incorporación de este tipo de tareas a la docencia ordinaria en prácticas, seminarios, etc., la posibilidad de diseñar y organizar talleres específicos, actividades de formación de profesorado, cursos de verano, etc. Un ejemplo de este tipo de intervención, relacionada

con los aceites esenciales viene descrita en: <https://www.campuscientificos.es/proyecto/la-quimica-fuente-inagotable-de-soluciones-para-la-salud-y-el-bienestar>

Desde un punto de vista más relacionado con la percepción social de la ciencia, no puede olvidarse la formación científica en contextos no formales, en los que la alfabetización científica juega un papel esencial. En este sentido, cualquier iniciativa basada en el conocimiento y la aplicación de los productos naturales es claramente convergente con las inquietudes de nuestra sociedad en cuanto al respeto al medio ambiente y el establecimiento de una economía sostenible.

## Referencias

- Cardinale, M., & Berg, G. (2016). Ecology and function of grape-associated microorganisms with a special focus on biocontrol of *Botrytis cinerea*. In S. Compant & F. Mathieu (Ed); Biocontrol of Major Grapevine Diseases: Leading Research, Chapter pp. 52-63
- Guisasola, G., & Garmendia, M. (2014). Aprendizaje basado en problemas, proyectos y casos: diseño e implementación de experiencias en la universidad. Servicio Editorial de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitateko Argitalpen Zerbitzua
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). Fungi and food spoilage. New York: Springer
- Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Barber, X., Sendra, E., Pérez-Álvarez, J.A., & Fernández-López, J. (2015). Effect of chitosan edible films added with *Thymus moroderi* and *Thymus piperella* essential oil on shelf-life of cooked cured ham. Journal Food Science Technology, 52 (10), 6493–6501 DOI 10.1007/s13197-015-1733-3
- Sell, C. (2015). Chemistry of Essential Oils. In: Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. Eds. Handbook of essential oils: science, technology, and applications. CRC press
- Thompson, J. D., Chalchat, J. C., Michet, A., Linhart, Y. B., & Ehlers, B. (2003). Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. Journal of Chemical Ecology, 29(4), 859-880
- Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. Journal of Food Science, 79(7), R1231-R1249
- Tworowski, T. (2002). Herbicide effects of essential oils. Weed Science, 50(4), 425-431
- Tytler, R. (2012). Socio-scientific issues, sustainability and science education. Research in Science Education, 42(1), 155-163
- Wagner, H., & Bladt, S. (1996). Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Springer Science & Business Media