

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE MÉRIDA

TESIS

**“COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE
ACEITES ESENCIALES OBTENIDOS DE CINCO ESPECIES DE
PLANTAS CULTIVADAS EN YUCATÁN.”**

PARA OPTAR AL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

M. en C. DURCY VERENICE RUIZ CIAU

ASESOR:

DR. ENRIQUE SAURI DUCH

DR. LEOVIGILDO QUIJANO

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO.

23 DE FEBRERO DE 2017



DEPENDENCIA: DIV. DE EST. DE POSG. E INV.
No. DE OFICIO: X-081/2016

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Mérida, Yucatán a 07 de marzo de 2016

**C. DURCY VERENICE RUIZ CIAU
PASANTE DEL DOCTORADO EN CIENCIAS DE
LOS ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
P R E S E N T E.**

De acuerdo al fallo emitido por su asesor el **Dr. Enrique Sauri Duch**, y la comisión revisora integrada por el Dr. Miguel Rosado Vallado, el Dr. Luis Fernando Cuevas Glory, la Dra. Marcela Zamudio Maya, la Dra. María América Delgado Herrera, y el Dr. Víctor Manuel Toledo López, considerando que cubre los requisitos establecidos en el Reglamento de Titulación de los Institutos Tecnológicos le autorizamos la impresión de su trabajo profesional con la **TESIS**:

“Composición Química y Actividad Antioxidante de Aceites Esenciales Obtenidos de Cinco Especies de Plantas Cultivadas en Yucatán”

ATENTAMENTE
IN HOC SIGNO VINCES

M. C. MERLÁM H. SÁNCHEZ MONROY
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

C.p. Archivo
MHSM/fjaa.



**S. E. P.
INSTITUTO TECNOLÓGICO
DE MERIDA
DIVISION DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



ÍNDICE

Índice de Tablas	i
Índice de Figuras	iii
Resumen	vi
Capítulo I	
Introducción	1
Antecedentes	3
1.1. Aceites esenciales	3
1.2. Mercado, usos y aplicaciones	5
1.3. Composición química	9
1.4. Factores que pueden influir en la composición	12
1.5. Métodos de extracción	15
1.6. Identificación	23
1.7. Actividad biológica	27
1.7.1. Actividad antioxidante	28
1.7.2. Reacciones SET y reacciones HAT	35
1.7.3. DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	37
1.8. Toxicidad de los aceites esenciales	41
1.9. Condiciones geobotánicas del Estado de Yucatán	44
1.9.1. Clima	44
1.9.2. Los suelos	46
1.9.3. La vegetación	47
1.10. Familia Asteraceae o Compuesta	48
1.10.1. Teresita (<i>Montanoa speciosa</i>)	50
1.11. Familia Lamiaceae	51

1.11.1. Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	52
1.11.2. Poleo (<i>Mentha pulegium</i>)	53
1.11.3. Menta (<i>Mentha piperita</i>)	54
1.12. Familia Gramínea o Poaceae	55
1.12.1. Té limón (<i>Cymbopogon citratus</i>)	56
1.13. Importancia del estudio	57
1.14. Objetivos	59
1.14.1. Objetivo general	59
1.14.2. Objetivos específicos	59

Capítulo II

Materiales y Métodos

2.1. Estrategia general de trabajo	60
2.2. Material vegetal	62
2.2.1. Recolecta	62
2.2.2. Extracción	63
2.3. Características físicas	64
2.4. Composición química y cuantificación	65
2.4.1. Instrumentación y condiciones cromatográficas	65
2.4.2. Composición química	66
2.4.3. Análisis cuantitativo	67
2.5. Actividad antioxidante	67
2.5.1. Técnica de DPPH	67

Capítulo III

Resultados y discusiones

3.1. Características físicas	
3.1.1. Apariencia e índice de refracción	69

3.2.	Composición química	
3.2.1.	Índices de Kóvats experimentales	74
3.2.2.	Aceite esencial de <i>Montanoa speciosa</i> (teresita)	78
3.2.3.	Aceite esencial de <i>Cymbopogon citratus</i> (yerba limón, lemongrass)	87
3.2.4.	Aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero)	97
3.2.5.	Aceite esencial de <i>Mentha piperita</i> (menta)	108
3.2.6.	Aceite esencial de <i>Mentha pulegium</i> (Menta poleo, poleo)	118
3.3.	Actividad antioxidante	
3.3.1.	Ensayo de DPPH	129

Capítulo IV	
Conclusiones	136
Referencias	141

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág
Tabla 1.1 Principales aplicaciones de los aceites esenciales en el mercado.....	6
Tabla 1.2 Precios de aceites esenciales. Diciembre de 2007.....	8
Tabla 1.3 Composición de algunos aceites esenciales	9
Tabla 1.4 Constantes físicas de disolventes orgánicos utilizados en MAE.....	19
Tabla 1.5 Métodos de extracción a nivel laboratorio empleados para la obtención de aceites esenciales.....	20
Tabla 1.6 Rendimientos de algunos aceites esenciales obtenidos a nivel industrial.....	21
Tabla 2.1 Partes vegetales utilizadas para la obtención de aceites esenciales.....	61
Tabla 3.1 Características físicas de los aceites esenciales obtenidos en el estudio.....	70
Tabla 3.2 Características físicas del aceite esencial de <i>Montanoa speciosa</i>	71
Tabla 3.3 Índices de refracción del aceite esencial de <i>Montanoa speciosa</i>	72
Tabla 3.4 Índices de refracción de los aceites estudiados.....	72
Tabla 3.5 Serie de n-alcanos empleados para la determinación de Índices de Kóvats.....	74
Tabla 3.6 Estándares de terpenos e Índices de Kóvats.....	75

Tabla 3.7	Composición química del aceite esencial de <i>Montanoa speciosa</i> DC.....	80
Tabla 3.8	Distribución por grupos de los componentes identificados en los aceites esenciales de <i>Montanoa speciosa</i> DC.....	85
Tabla 3.9	Composición química de los aceites esenciales de <i>Cymbopogon citratus</i>	89
Tabla 3.10	Distribución por grupos de los componentes identificados en el aceite esencial de <i>Cymbopogon citratus</i>	95
Tabla 3.11	Composición química de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i>	99
Tabla 3.12	Distribución por grupos de los componentes identificados en el aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i>	105
Tabla 3.13	Composición química de las hojas de <i>Mentha piperita</i>	110
Tabla 3.14	Distribución por grupos de los componentes identificados en el aceite esencial de <i>Mentha piperita</i>	115
Tabla 3.15	Composición química del aceite esencial de las hojas de <i>Mentha pulegium</i>	120
Tabla 3.16	Distribución por grupos de los componentes identificados en el aceite esencial de <i>Mentha pulegium</i>	126
Tabla 3.17	Porcentajes de inhibición de DPPH de los aceites esenciales.....	130
Tabla 3.18	Capacidad antioxidante de los aceites esenciales cultivados en Yucatán.....	133

Tabla 3.19	Actividad antioxidante o porcentajes de inhibición de aceites esenciales.....	134
-------------------	---	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág	
Figura 1.1	Principales países importadores y exportadores de aceites esenciales.....	7
Figura 1.2	Ejemplos de algunos compuestos monoterpénicos.....	10
Figura 1.3	Ejemplos de compuestos sesquiterpénicos.....	11
Figura 1.4	Ejemplos de algunos compuestos de la serie aromática.....	11
Figura 1.5	Formación y metabolización celular de las ERO (Especies reactivas de oxígeno).....	29
Figura 1.6	Mapa de climas del Estado de Yucatán.....	45
Figura 1.7	<i>Montanoa speciosa</i> DC.....	50
Figura 1.8	<i>Rosmarinus officinalis</i>	52
Figura 1.9	<i>Mentha pulegium</i>	53
Figura 1.10	<i>Mentha piperita</i>	54
Figura 1.11	<i>Cymbopogon citratus</i>	56
Figura 2.1	Equipo de hidrodestilación.....	63
Figura 2.2	Diagrama de la extracción por hidrodestilación.....	64
Figura 2.3	Refractómetro de Abbe.....	64
Figura 3.1	Espectros de masas de estándares de monoterpenos.....	76
Figura 3.2	Espectros de masas de estándares de sesquiterpenos.....	77
Figura 3.3	Perfil cromatográfico del aceite esencial de las hojas de <i>Montanoa speciosa</i> DC.....	78

Figura 3.4	Perfil cromatográfico del aceite esencial de las flores de <i>Montanoa speciosa</i> DC.....	79
Figura 3.5	Compuestos mayoritarios de la serie sesquiterpénica encontrados en el aceite esencial.....	84
Figura 3.6	Compuestos de la serie monoterpénica identificados en el aceite esencial.....	84
Figura 3.7	Compuestos de la serie aromática encontrados en el aceite esencial.....	84
Figura 3.8	Perfil cromatográfico del aceite esencial de <i>Cymbopogon citratus</i> (AE-1) de la época de secas.....	87
Figura 3.9	Perfil cromatográfico del aceite esencial de <i>Cymbopogon citratus</i> (AE-2) de la época de lluvias.....	88
Figura 3.10	Principales compuestos mayoritarios encontrados en <i>C. citratus</i>	93
Figura 3.11	Perfil cromatográfico del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (AE-1) de la época de secas.....	97
Figura 3.12	Perfil cromatográfico del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (AE-2) de la época de lluvias.....	98
Figura 3.13	Principales compuestos mayoritarios encontrados en <i>R. officinalis</i>	103
Figura 3.14	Compuestos mayoritarios adicionales encontrados en el aceite esencial de <i>R. officinalis</i> de la época de secas.....	104
Figura 3.15	Compuestos mayoritarios adicionales encontrados en el aceite esencial de <i>R. officinalis</i> de la época de lluvias.....	104

Figura 3.16	Perfil cromatográfico del aceite esencial de <i>M. piperita</i> (AE-1) de la época de secas.....	108
Figura 3.17	Perfil cromatográfico del aceite esencial de <i>M. piperita</i> (AE-2) de la época de lluvias.....	109
Figura 3.18	Principales compuestos mayoritarios encontrados en <i>M. piperita</i> AE-1 (secas).....	114
Figura 3.19	Principales compuestos mayoritarios encontrados en <i>M. piperita</i> AE-2 (lluvias).....	114
Figura 3.20	Perfil cromatográfico del aceite esencial de <i>M. pulegium</i> (AE-1) en la época de secas.....	118
Figura 3.21	Perfil cromatográfico del aceite esencial de <i>M. pulegium</i> (AE-2) en la época de lluvias.....	119
Figura 3.22	Principales compuestos mayoritarios encontrados en AE-1 y AE-2 de <i>M. pulegium</i>	124
Figura 3.23	Principales compuestos mayoritarios encontrados en AE-1 de <i>Mentha pulegium</i>	125
Figura 3.24	Principales compuestos mayoritarios encontrados en AE-2 de <i>Mentha pulegium</i>	125
Figura 3.25	Porcentajes de captura de radicales de DPPH en los aceites evaluados.....	132

RESUMEN

Tradicionalmente, los compuestos sintéticos como butil hidroxil anisol (BHA) y butil hidroxitolueno (BHT), se han utilizado como antioxidantes en los productos a base de aceite. Sin embargo, se ha comprobado que algunos de estos compuestos son peligrosos para la salud, debido a que son carcinogénicos. Esto ha hecho que exista un creciente interés hacia la actividad antioxidante de los compuestos naturales, en donde las plantas aromáticas se han utilizado tradicionalmente en la medicina popular así como para extender la vida útil de los alimentos. De aquí que la extracción de sustancias naturales con actividad antioxidante, para reemplazar a los conservadores sintéticos de alimentos ha adquirido gran importancia.

Hasta hace poco, los aceites esenciales habían sido los más estudiados desde el punto de vista del sabor y fragancia química para su empleo para aditivos de alimentos, bebidas y otros alimentos. Actualmente, sin embargo, los aceites esenciales y sus componentes están ganando un creciente interés debido a su situación relativamente segura, su amplia aceptación por los consumidores y sus múltiples aplicaciones funcionales. Muchos autores han reportado actividad antimicrobiana, antioxidante, antifúngica y captadora de radicales por las especias y aceites esenciales y, en algunos casos, se ha comprobado una aplicación directa relacionada con la alimentación.

A pesar de que México cuenta con una inmensa biodiversidad, se han reportado pocos estudios acerca de las propiedades biológicas de los aceites esenciales de plantas que crecen en este país. Los objetivos del presente estudio son determinar la composición química de los aceites esenciales cultivados en Yucatán, la actividad captadora de radicales libres y los usos potenciales de los aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación.

Cinco aceites esenciales de las partes aéreas de *Cymbopogon citratus* (Poaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae), *Mentha piperita* (Lamiaceae), *Mentha pulegium* (Lamiaceae) y *Montanoa speciosa* (Asteraceae), fueron obtenidos por hidrodestilación, y fueron caracterizados por medio de CG-EM y su uso potencial evaluado mediante el análisis de su composición química. Asimismo, se determinó la propiedad captadora de radicales libres, mediante el ensayo con el radical de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH).

La caracterización por CG-EM de los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus*, *Mentha pulegium*, *Mentha piperita* y *Rosmarinus officinalis* reportó un alto porcentaje de compuestos monoterpénicos oxigenados. En tanto, que los aceites esenciales extraídos de *Montanoa speciosa*, mostraron un mayor porcentaje de compuestos sesquiterpénicos.

Los aceites esenciales analizados son similares en composición a lo reportado en otros países, con la excepción de *Mentha pulegium*, ya que no se encontró pulegona, piperitona, isomentona, piperitenona mentona, y neoisomentol, compuestos quimiomarcadores de esta planta.

Los aceites esenciales hidrodestilados obtenidos a partir de *Montanoa speciosa*, *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Cymbopogon citratus* y *Rosmarinus officinalis* cultivados en Yucatán, mostraron actividad captadora de radicales libres. Los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus*, mostraron la mayor actividad en el ensayo del radical DPPH.

El mayor efecto antioxidante se obtuvo con el aceite de *Cymbopogon citratus* AE-1, que presentó el doble de la actividad antioxidante de Trolox, similar a la quercetina y un poco menor que el ácido ascórbico (vitamina C), estos compuestos fueron empleados como referencias.

RESUME

Traditionally, chemically synthesized compounds, such as butylated hydroxy-anisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT), are used as antioxidants in oil products. However, some of these compounds have been troubled for their safety because is proved to be carcinogenic. Therefore, there is an increasing interest in the antioxidative activity of natural compounds. Aromatics plants have traditionally been used in folk medicine as well as to extend the shelf life of foods. The extraction of natural substances with antioxidant activity, to replace synthetic food preservatives has gained great importance.

Until recently, essential oils have been studied most from the viewpoint of their flavour and fragrance chemistry only for flavouring foods, drinks and other goods. Actually, however, essential oils and their components are gaining increasing interest because of their relatively safe status, their wide acceptance by consumers, and their exploitation for potential multi-purpose functional use. Many authors, in fact, have reported antimicrobial, antifungal, antioxidant and radical-scavenging properties by spices and essential oils and, in some cases, a direct food-related application has been tested.

Despite the fact that México has an immense biodiversity, few studies have been reported on the biological properties of essential oils from plants that grow in this country. The objectives of the study is to determine the chemical composition of essential oils grown in Yucatan, the free radical scavenging activity and the potential uses of essential oils obtained by hydrodistillation.

Five essential oils from aerial parts and different of, namely, *Cymbopogon citratus* (Poaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae), *Mentha piperita* (Lamiaceae), *Mentha pulegium* (Lamiaceae) and *Montanoa speciosa* (Asteraceae), were obtained by

hydrodistillation, and were characterized by mean of GC–MS and evaluated for their food functional ingredient related properties. Radical-scavenging properties were tested by mean of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay.

The characterization by GC-MS from essential oils of *Cymbopogon citratus*, *Mentha pulegium*, *Mentha piperita* and *Rosmarinus officinalis* detected in a higher percentage monoterpenes oxygenated compounds. The essential oils extracted from *Montanoa speciosa*, shows a higher percentage from sesquiterpenes compounds.

Essential oils analyzed are similar in composition to that reported in other countries, with the exception of *Mentha pulegium*, which was not found pulegone, piperitone, isomenthone, piperitenone menthone, and neoisomenthol, quimiomarkers compounds of this plant.

Essential oils hydrodistillated obtained from *Montanoa speciosa*, *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Cymbopogon citratus* and *Rosmarinus officinalis* grown in Yucatan, showed scavenging activity of free radicals. The essential oils of *Cymbopogon citratus*, showed the highest activity in the DPPH radical assay. The greatest antioxidant effect was obtained with the oil of *Cymbopogon citratus* AE-1, which was twice the antioxidant activity of trolox, similar to the activity of quercetin and slightly lower than ascorbic acid (vitamin C), those compounds were employed as references.

Capítulo I

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el interés de investigadores e industriales hacia el uso de productos de origen natural debido a su disponibilidad, menores efectos laterales o toxicidad así como una mejor biodegradabilidad en el medio ambiente, todo esto comparado con los antibióticos y preservativos disponibles en mercado actual.

Los aceites esenciales se encuentran dentro de este grupo de productos naturales que han atraído interés, ya que poseen como característica una amplia variedad de actividades biológicas, entre las que destacan diferentes aplicaciones como antibióticos, antioxidantes, agentes de protección de cultivos, entre otros.

Las características de crecimiento de las plantas dependen del tipo de suelo y factores climáticos ecológicos. Debido a esto, la composición y rendimiento de los aceites esenciales pueden variar, lo que modifica a su vez la actividad que puedan presentar. Los aceites esenciales están constituidos principalmente por una mezcla compleja de compuestos orgánicos; encontrándose en la literatura datos relacionados con la composición química, identificación y cuantificación de sus componentes; asimismo existen estudios que sugieren actividades antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes, entre otros, tanto para el aceite completo, como para sus constituyentes mayoritarios. La importancia del estudio de las propiedades de los aceites esenciales obtenidos de plantas medicinales es reconocida a nivel mundial y puede ayudar al descubrimiento de sustancias con uso potencial terapéutico, como preservativos para alimentos o como inhibidores de patógenos de enfermedades transmitidas por alimentos. El valor económico y la aplicabilidad industrial de las esencias están directamente relacionados con su

composición química, que determina todas las otras propiedades macroscópicas (físicoquímicas, olor, etc.) y las de la actividad biológica.

México, es un país con una enorme riqueza natural, situado en tercer lugar mundial en diversidad biológica, sólo detrás de Brasil y Colombia. La enorme riqueza de la flora Mexicana consiste en, al menos, 21 600 especies y a pesar de que no ha sido completamente explorada, se estima que estas especies se encuentran distribuidas en 166 familias de las cuales sobresalen por su mayoría las familias Asteraceae, Fabaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae y Solanaceae. Los aceites esenciales se encuentran ampliamente distribuidos en unas 60 familias de plantas que incluyen las Compuestas, Labiadas, Lauráceas, Mirtáceas, Pináceas, Rosáceas, Rutáceas, Umbelíferas, etc. Se conocen alrededor de 3000 tipos de aceites esenciales, pero sólo 300 tienen importancia comercial.

El establecimiento de la composición química de los aceites esenciales y de sus propiedades biológicas, es una tarea importante, ya que a partir de los resultados, se puede evaluar el potencial económico de la producción del aceite esencial de las plantas a estudiar, pudiendo ser fuentes alternativas de desarrollo económico para pequeños y medianos agricultores, ya que en México, pese a su diversidad florística, la industria de los aceites está muy poco desarrollada. De Romero (*Rosmarinus officinalis*), Menta (*Mentha piperita*), Té limón (*Cymbopogon citratus*), Poleo (*Mentha pulegium*) y Teresita (*Montanoa speciosa*), se obtienen aceites esenciales. Estas plantas han podido ser cultivadas en Yucatán, en donde los factores climáticos y de cultivo son aspectos importantes a tener en cuenta para poder determinar el potencial de estos aceites esenciales al compararlos con los obtenidos de su lugar de origen, los cuales ya tienen aplicación práctica como aromatizantes, agentes de sabor, y/o principios activos en preparados farmacológicos, cosméticos, perfumes y aditivos en alimentos, entre otros.

ANTECEDENTES

1.1. ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales se encuentran ampliamente distribuidos en plantas que incluyen las Compuestas, Labiadas, Lauráceas, Mirtáceas, Pináceas, Rosáceas, Rutáceas, Umbelíferas, etc (Bruneton, 2003). Se les pueden encontrar en diferentes partes de una misma planta: en las hojas (ajenjo, albahaca, eucalipto, hierbabuena, mejorana, menta, pachulí, romero, salvia, etc.), en las raíces (angélica, cúrcuma, jengibre, sándalo, sasafrás, valeriana, vetiver, etc.), en el pericarpio de fruto (cítricos como limón, mandarina, naranja, etc.), en las semillas (anís, cardamomo, hinojo, comino, etc.), en el tallo (canela, etc.), en las flores (lavanda, manzanilla, piretro, tomillo, rosa, etc.) y en los frutos (nuez moscada, perejil, pimienta, etc.) (Evans *et al.*, 2004).

Están constituidos por una mezcla muy compleja de compuestos, cuyas características principales son su volatilidad y origen vegetal; son solubles principalmente en etanol, cloroformo, aceites fijos e insolubles en agua. Son los principales responsables de las fragancias florales y su composición y propiedades sensoriales varían aún en la misma planta (Geisner, 1980; Dudareva *et al.*, 2006)

La síntesis y acumulación de un aceite esencial, generalmente van asociadas a la presencia de estructuras histológicas especializadas, localizadas en determinados puntos de otros tejidos, frecuentemente situadas sobre o en la proximidad de la superficie de la planta (Bruneton, 2003; Evans *et al.*, 2004).

Estas formaciones son las siguientes (Bruneton, 2003; Evans *et al.*, 2004):

- Células con esencia (Lauráceas, Zingiberáceas).
- Pelos secretores estipitados (Pelargonium) o sesiles y con cabeza pluricelular (Labiadas).
- Bolsas (o cavidades) secretoras esquizógenas (Mirtáceas) o esquizolisígenas (Rutáceas, Burseráceas).
- Canales secretores (Terebináceas, Umbelíferas, Compuestas).

Los aceites esenciales se pueden clasificar según diferentes criterios: por su consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios.

De acuerdo a su consistencia los aceites esenciales se clasifican en esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas. Las esencias fluidas son líquidos volátiles a temperatura ambiente. Los bálsamos son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización, por ejemplo el bálsamo de copaiba, el bálsamo de Perú, Benjuí, bálsamo de Tolú, Estoraque, etc. Las oleorresinas tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, oleorresina de paprika, de pimienta negra, de clavel, etc.) (Bruneton, 2003; Bretmaier, 2006).

De acuerdo a su origen los aceites esenciales se clasifican como naturales, artificiales y sintéticos. Los naturales se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas o químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosas. Los artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencial con uno o varios de sus componentes, por ejemplo, la mezcla de esencia de rosa, geranio y jazmín enriquecida con linalol, o la esencia de anís enriquecida con anetol. Los aceites esenciales sintéticos como su nombre lo indica, son los producidos por la combinación de sus componentes los cuales, la mayoría de las veces son producidos síntesis química. Estos son

más económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes (esencia de vainilla, limón, frutilla, etc.) (Bruneton, 2003; Bretmaier, 2006).

Desde el punto de vista químico y a pesar de su composición compleja los aceites esenciales se pueden clasificar de acuerdo a los componentes mayoritarios. Según esto, los aceites esenciales ricos en monoterpenos se denominan aceites esenciales monoterpénicos (por ejemplo: hierbabuena, albahaca, salvia, etc.). Los ricos en sesquiterpenos son los aceites esenciales sesquiterpénicos (por ejemplo: copaiba, pino, junípero, etc.). Los ricos en fenilpropanoides son los aceites esenciales fenilpropanoides (por ejemplo: clavo, canela, anís, etc.) (Bruneton, 2003; Bretmaier, 2006).

1.2. MERCADO, USOS Y APLICACIONES

Aunque no se conoce exactamente la función biológica de los aceites esenciales en el reino vegetal, se sabe que pueden tener acción protectora contra plantas parásitas y pueden estar implicados en interacciones planta-animal. Asimismo, juegan un papel importante en la donación de hidrógeno y reacciones de óxido-reducción como precursores de energía o afectando la transpiración u otros procesos fisiológicos (Longenau, 1989; Harborne, 1984; Bretmaier, 2006).

Se han analizado más de tres mil aceites esenciales, de los cuales aproximadamente trescientos aceites tienen un alto valor comercial y se utilizan ampliamente en diferentes ramas de la industria (alimentos, jabones, ambientadores, perfumes, cosméticos, licores, insecticidas, fármacos, etc.) (Tabla 1.1) (Gil *et al.*, 2005).

Tabla 1.1 Principales aplicaciones de los aceites esenciales en el mercado

1.	Adhesivos Pegamentos para porcelanas y cauchos
2.	Industria alimentaria animal Comidas preparadas y piensos
3.	Industria automovilística Limpiaparabrisas y ambientadores
4.	Repostería Condimentos, saborizantes y aromatizantes
5.	Chicles Saborizantes
6.	Condimentos Saborizantes, colorantes
7.	Dentríficos Saborizantes, colorantes
8.	Insecticidas Repelentes, aromatizantes
9.	Industria alimentaria Aromatizantes, saborizantes, bebidas, sopas, adobos.....
10.	Productos de limpieza Aromatizantes
11.	Pintura Disolventes, barnices
12.	Perfumería y cosmética Aromatizantes, colorantes
13.	Industria farmacéutica Principios activos, aromatizantes, saborizantes, colorantes
14.	Industria tabaquera Aromatizantes

(Gil *et al.*, 2005)

Los aceites esenciales tienen características sensoriales muy similares a la materia prima de donde provienen; pero con una potencia o intensidad hasta 100 veces mayor; por esta razón se usan en concentraciones que van de 0.01 a 0.1% para aromatizar diversos alimentos, bebidas, perfumes, etc. La característica de enmascarar aromas y sabores para darles uno más agradable los hace ideales

como aditivos en formulaciones farmacéuticas y de alimentos. Algunos aceites volátiles son poderosos antisépticos externos e internos, otros son sedativos, estimulantes del apetito; analgésicos, hemolíticos o antienzimáticos. Algunos son tóxicos para bacilos, germicidas, etc. (Rogers, 1994; Badui, 1993; Schery, 1972).

El valor comercial y el uso de un aceite esencial dependen básicamente de su composición química, la cual a su vez está condicionada por diversos factores de tipo botánico y agrícola. La composición final del aceite depende fuertemente del método de extracción (Gil *et al.*, 2005).

Según *United Nations Statistics Division* (UNContrade), las exportaciones mundiales de aceites esenciales y resinoideas para el 2006, fueron de US\$1,993 millones, siendo Estados Unidos el principal país exportador. Francia sigue teniendo el liderazgo dentro de los importadores, pues en este país se encuentran las más importantes casas de fragancias y perfumes cuya materia prima dependen de los aceites esenciales para su producción (Figura 1.1).

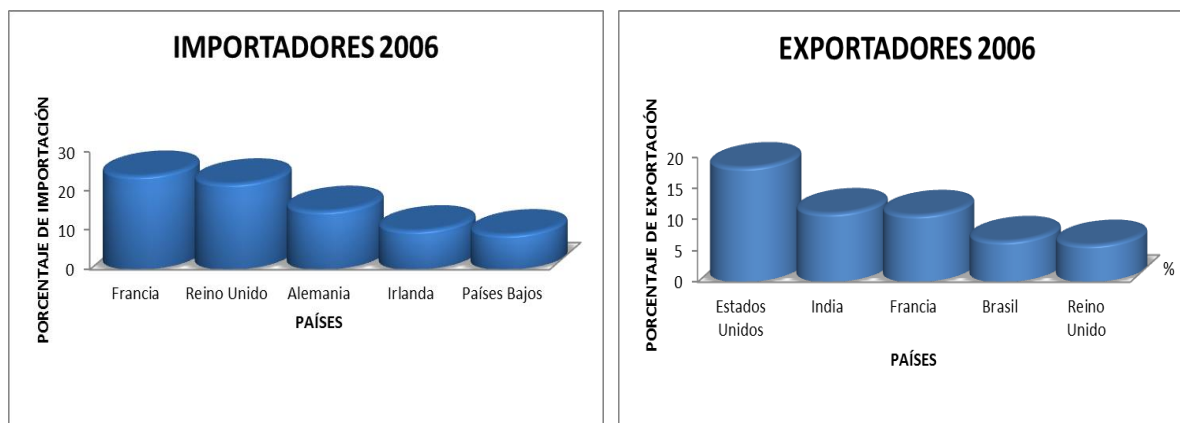


Figura 1.1 Principales países importadores y exportadores de aceites esenciales

En el caso de las importaciones de Europa provenientes de terceros países, los países en desarrollo representan un fuerte proveedor del bloque comercial, pues representa el 37% del total de las importaciones. Así, durante el 2002 la UE

importó un total de €423 millones y para finales de 2006 ascendió a €441 millones. (Tabla 1.2) (UNComtrade; Legiscomex.com, 2006).

Tabla 1.2 Precios de Aceites esenciales. Diciembre de 2007

Producto	Precio por €/kg
Clavo	20-25
Canela	14-18
Pimienta	29-36
Jengibre	30-35 (China)
Jengibre	90-120 (India)
Cardamomo	90-100 (Guatemala)
Naranja (dulce)	2-3
Naranja (agria)	45-50
Bergamota	70-90
Limón	20-25
Lima-limón	20-25
Lavanda	35-45
Lavandín	17-22
Menta	30-25
Mentol	15
Eucalipto	4-5
Geranio	60-70
Citronela	6-8
Lemongrass	7-10 (India)

(Market News Service, 2007)

La calidad del producto se determina por las características y consistencia del aceite y sus propiedades organolépticas (olor). Un requerimiento adicional es la consistencia de la calidad. El mercado es de productores a brokers (distribuidores), los cuales mezclan y rectifican los aceites de muchos productores y de regiones para enviar productos preformulados a los manufactureros. Las ventas a las casas de fragancias por parte de los productores pueden ocurrir, pero requieren de esfuerzos constantes. Un aspecto importante a considerar en la

comercialización es el nivel de pesticidas. La parte superior del mercado (casas de sabores y fragancias) cuenta con equipo de detección de residuos.

1.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Los aceites esenciales son muy complejos en su naturaleza química, están constituidos por compuestos orgánicos con diferentes grupos funcionales, estados de oxidación y grados de insaturación (Bruneton, 2003). La mayoría de ellos están compuestos principalmente de monoterpenos y sesquiterpenos, además de pequeñas cantidades de diterpenos y compuestos no volátiles; en raros casos aminas, cianuros, sulfuros, compuestos nitro y quinonas (Tabla 1.3). Se pueden agrupar en dos series, caracterizadas por sus orígenes biosintéticos distintos: la serie terpénica (monoterpenos y sesquiterpenos) y la serie (mucho menos frecuente) de los compuestos arénicos derivados del fenilpropano (Keville *et al.*, 1995; Rogers, 1994; Dudareva *et al.*, 2006).

Tabla 1.3 Composición de algunos aceites esenciales

Aceite esencial	Especie de la Planta	Composición química
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Pineno, canfeno, cineol, alcanfor, limoneno, borneol, cariofileno, etc.
Menta	<i>Mentha piperita</i>	Mentol, mentona, mentolfurano, pineno, limoneno, cariofileno, etc.
Limón	<i>Citrus limón</i>	Pineno, limoneno, citronelol, citral, geraniol, felandreno, etc.
Rosa	<i>Rosa centifolia</i>	Geraniol, citronelol (46-57%), eugenol, etc.
Jazmín	<i>Jasminun grandiflorum</i>	Alcohol bencílico, linalol, geraniol, farnesol, pineno, citral, etc.
Geranio	<i>Pelargonium sp.</i>	Geraniol, linalol, citronelol, citral, pineno, mentol, etc.

(Pengelly, 2004)

Serie terpénica

En el caso de los aceites esenciales, únicamente se encontrarán los terpenos más volátiles, es decir, aquellos cuyo peso molecular no sea demasiado elevado: como es el caso de los monoterpenos y sesquiterpenos. La diversidad de las estructuras, se explica por la gran reactividad de los carbocationes implicados en los procesos biosintéticos (Bruneton, 2003; Pengelly, 2004).

A. Monoterpenos

En general son tóxicos a insectos (actúan como insecticidas). Los piretroides se presentan en hojas y flores de los crisantemos y de muchas plantas de las Asteraceas (Compuestas). Estos compuestos se emplean como biopesticidas e insecticidas naturales. A veces estas plantas se cultivan alternando con otros cultivos en parcelas ecológicas. También son producidas a escala industrial por métodos biotecnológicos, a partir del cultivo *in vitro* de células o tejidos. Los principales constituyentes de esta serie son hidrocarburos acíclicos, monocíclicos, bicíclicos o policíclicos. Van acompañados de sus derivados oxigenados: alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres (Figura 1.2) (Bruneton, 2003; Pengelly, 2004).

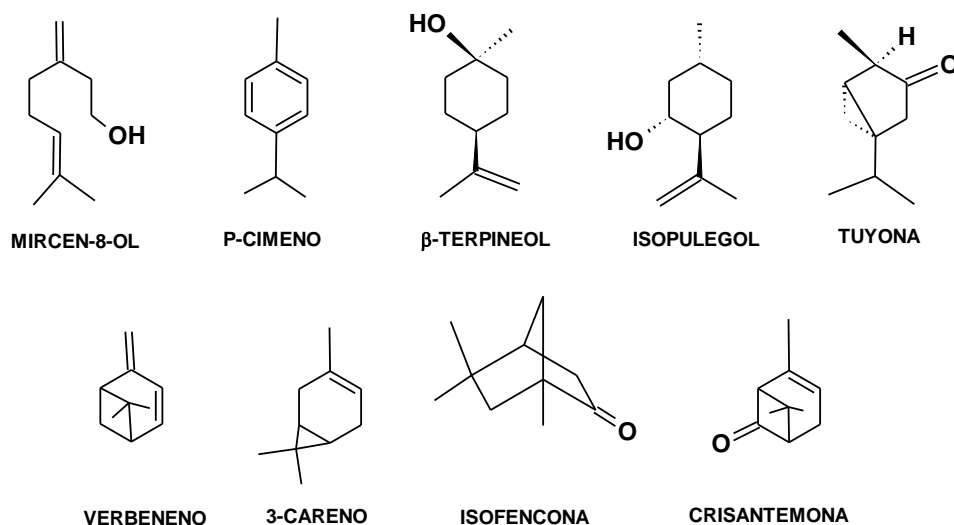


Figura 1.2. Ejemplos de algunos compuestos monoterpénicos

B. Sesquiterpenos

Están definidos como un grupo de compuestos de C₁₅, derivados del ensamble de tres unidades de isoprenoide; se encuentran principalmente en las plantas superiores, aunque también en invertebrados. Las estructuras de los sesquiterpenos presentan sistemas acíclicos, mono, bi, tri y tetracíclicos. Algunos tienen la función de feromonas y hormonas juveniles. Son generalmente tóxicos a herbívoros (insectos y mamíferos) (Figura 1.3) (Pengelly, 2004).

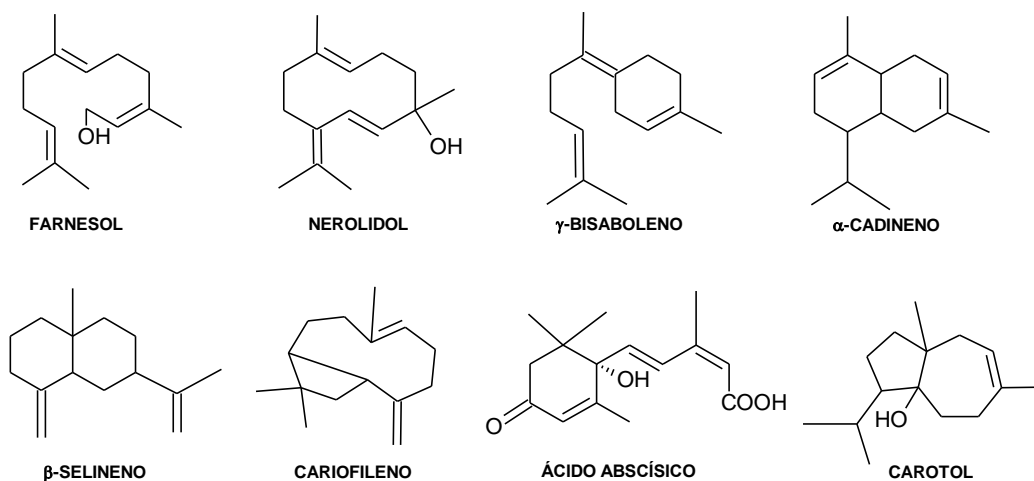


Figura 1.3 Ejemplos de compuestos sesquiterpénicos

Serie aromática

Estos compuestos contienen un anillo de benceno con un grupo propano (C₃) como cadena lateral. Biogenéticamente, estos arenos son productos del metabolismo del ácido sikímico (Figura 1.4). El precursor más común es el ácido cinámico. Este grupo incluye algunos aldehídos, fenoles y ésteres fenólicos (Pengelly, 2004; Bretmaier, 2006).

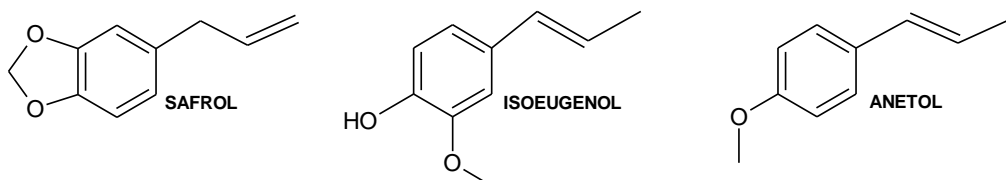


Figura 1.4 Ejemplo de algunos compuestos de la serie aromática

1.4. FACTORES QUE PUEDEN INFLUIR EN LA COMPOSICIÓN

Existen muchos factores que influyen sobre la composición y el rendimiento del aceite esencial de una planta, entre ellos figuran (Gil *et al.*, 2005):

- Condiciones geobotánicas del medio (clima, altitud, tipo de suelo, cantidad de lluvias, etc.).
- Método de cultivo (uso de fertilizantes, abono, pesticidas, otros químicos, etc.).
- Época de recolección y parte de la planta (raíz, tallo, hojas, semillas, etc.).
- Modo de manejo y almacenamiento del material vegetal (fresco, seco, fermentado, etc.).
- Método de obtención del aceite (destilación, maceración, prensado, extracción con disolventes, extracción con fluidos supercríticos, etc.).
- Edad de la planta y estado fenológico.

De manera general, se considera que las características anteriormente citadas se derivan de 5 aspectos principales, los cuales son:

A) Origen botánico

Aunque resulte evidente, se debe subrayar, que la composición de un aceite esencial está en función de la especie productora. Desgraciadamente, en el mercado abundan productos, en los cuales la denominación botánica, incluso el origen geográfico, no se especifica con todo el rigor deseable. Por ejemplo, una esencia de tomillo puede provenir de *Thymus vulgaris* L., especie oficial con timol, o también de *T. capitatus* Hoff. y Link., con carvacrol, que es el tomillo de Creta (y también el orégano de España), o también de *T. satureioides* Casson y Bal., tomillo de Marruecos con borneol, de *T. zygis* L., tomillo de España con timol, etc. (Bruneton, 2004; Gil *et al.*, 2005; Pengelly, 2004).

B) Quimiotipo

El quimiotipo tiene importancia porque una misma especie de planta aromática puede producir aceites esenciales muy diferentes según el lugar de crecimiento, terreno, clima, etc. El romero y el tomillo, entre otros tienen esta particularidad. En el tomillo de los carrascales del Sur de Francia (*T. vulgaris*), especie vegetal botánicamente homogénea y cariológicamente estable, se puede distinguir siete quimiotipos: con timol, carvacrol, geraniol, linalol, α -terpineol, 4-*trans*-tuyanol y 8-*cis*-mircenol; en España se encuentra además un quimiotipo con eucaliptol. El mismo fenómeno se observa en otras especies del género (Bruneton, 2004; Gil *et al.*, 2005; Pengelly, 2004).

C. Ciclo vegetativo

Para una especie dada, la proporción de los diferentes constituyentes del aceite esencial, puede variar de manera importante a lo largo de su desarrollo. Así, en la menta, el neomentol y la mentona que predominan al comienzo del periodo de floración, disminuyen posteriormente. El catabolismo de estos derivados da lugar a la acumulación de mentol y de un compuesto no volátil, el glucósido de neomentilo. Se ha observado variaciones de composición en el transcurso del nictámero. Por estos motivos, se comprende fácilmente que es necesario elegir razonadamente la fecha de recolección (Bruneton, 2004; Gil *et al.*, 2005; Pengelly, 2004).

D. Factores de entorno

Las condiciones climáticas y la naturaleza del suelo, influyen directamente en la producción de aceite esencial. Lo mismo ocurre con las prácticas de cultivo: densidad de plantación, intensidad y modalidades de riego, utilización de abonos, etc. (Bruneton, 2004; Gil *et al.*, 2005; Pengelly, 2004).

E. Procedimiento de obtención

La composición del producto comercial, puede ser diferente de la mezcla contenida en los órganos secretores del vegetal y el producto obtenido por hidrodestilación, raramente será idéntico al que resulte de la extracción con disolventes volátiles; esto depende de la labilidad y la reactividad, de las moléculas constituyentes de estas mezclas naturales que fácilmente se isomerizan, racemizan, recombinan, oxidan. Por ejemplo: el cariofileno presente en el aceite esencial (hidrodestilado) de clavo, no se encuentra en la concreta obtenida por extracción (Bruneton, 2004; Gil *et al.*, 2005; Pengelly, 2004).

Mentha piperita, planta aromática de la cual se obtienen aceites esenciales para comercialización, ha sido estudiada para determinar los factores que afectan la calidad y composición de su aceite esencial. Se ha encontrado que existen cuatro variedades de menta (*Japanese mint*, *Spear mint*, *Bergamot mint* y *Pepper mint*), y a su vez, cada una de ellas presenta diferentes quimiotipos (Dhananjay, 2010). Por ejemplo, de la variedad japonesa existen 6 quimiotipos, cuyo contenido de mentol va de 70% hasta 84%. Se han realizado estudios donde se analizó el potencial de la industria de los aceites esenciales de menta, y se encontró que dependiendo de la variedad y por consiguiente del contenido de un determinado compuesto el precio de dicho aceite esencial varía en el mercado (Gobierno de Chihuahua, 2003).

Rosmarinus officinalis es otro aceite esencial en el que se evaluaron factores que afectan la calidad y contenido, los investigadores determinaron que existen variaciones en la composición (tanto en perfil como en porcentaje) con respecto a la localización y fuente de población y fenología (Guazzi *et al.*, 2001; Porte *et al.*, 2000; Ouhada, 2000; Boutekedjiret *et al.*, 1999). Monetti *et al.*, 1998, reportaron que el suelo de granito es mejor para el rendimiento y calidad del aceite que el suelo calcáreo. Otro estudio realizado determinó que el empleo de biofertilizantes y fertilizantes inorgánicos incrementan el cultivo de la planta así como el

rendimiento del aceite (Peter, 2004) y que la aplicación de hierro incrementa la concentración de verbenona en el aceite esencial (Moretti *et al.*, 1998). También que la influencia del genotipo de la planta, edad de la hoja y otras condiciones de cultivo afectan la calidad del aceite, especialmente a los principios antioxidantes (Hidalgo *et al.*, 1998). Boutekedjiret *et al.*, 1999, reportaron una variación en rendimiento y calidad dependiente de la fenología; ya que para un mejor rendimiento, el período de floración es el ideal para recolectar las plantas. En un estudio realizado por Boutekedjiret *et al.*, 1997, se determinó que el aceite esencial obtenido de las hojas y flores es de mejor calidad que el aceite obtenido de la destilación de la planta completa; asimismo, se compararon los métodos de extracción para evaluar el términos de rendimiento y perfil de calidad, encontrando que la destilación con vapor de agua fue el más adecuado para la obtención de aceites esenciales.

1.5. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

Los aceites esenciales pueden ser obtenidos por hidrodestilación, destilación con vapor, extracción con disolventes volátiles, “*enfleurage*”, hidrodifusión o extracción por CO₂; adicionalmente está la expresión del pericarpio o prensado en frío. También se ha desarrollado y reportado en los últimos años, la irradiación por microondas (o proceso asistido por microondas, MAP por sus siglas en inglés) (Bruneton, 2003; Lahlou, 2004).

Algunos de los métodos anteriormente mencionados:

Arrastre con vapor de agua. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias fluidas, especialmente las utilizadas en perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada. Puede haber tres variantes según la textura y la

fragilidad de la materia prima a tratar (Bruneton, 2003; Rogers, 1984; Vankar, 2004):

- a) La primera posibilidad consiste en sumergir directamente el material vegetal a tratar (intacto o groseramente pulverizado), en agua que se somete a ebullición. Los principios volátiles son arrastrados y después de condensar el destilado, se separan por decantación.
- b) Los productos que pueden alterarse, por una ebullición prolongada, se sumergen en agua, seguidamente, los compuestos volátiles son arrastrados por el vapor producido por un generador, separado e inyectado directamente en el medio.
- c) El tercer caso es aquel en el que la muestra está directamente sometida a la acción de una corriente de vapor, sin maceración previa. El agua saturada de aceite esencial, que se recupera en el destilado, se reenvía al destilador (en el primer caso); al final de la operación puede ser utilizada o reextraída con un disolvente volátiles.

En la **expresión**, el material vegetal (pericarpio) es exprimido mecánicamente para liberar el aceite de las cavidades secretoras y posteriormente es recolectado y filtrado. Este método es utilizado para el caso de las esencias de cítricos. Existen distintas variantes en la aplicación de este principio (Bruneton, 2003; Rogers, 1984; Vankar, 2004):

- a) Rallado de las pieles en corriente de agua, separación de la fase acuosa y del aceite esencial por centrifugación.
- b) Aplastamiento de los frutos enteros entre dos cilindros metálicos, eliminación de los desechos sólidos, separación por centrifugación de los zumos de frutos y de los aceites esenciales. Se recupera una nueva porción de aceite esencial, por arrastre con vapor de agua de los materiales sólidos residuales, pero este es de peor calidad.
- c) Presión directa de los frutos partidos privados de su zumo.

En el método de **extracción con disolventes volátiles**, la muestra seca y molida se pone en contacto con disolventes tales como alcohol, cloroformo, etc. Estos disolventes solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. La selección del disolvente pretende que sea capaz de disolver rápidamente todos los principios y la menor cantidad de materia inerte, que tenga un punto de ebullición bajo y uniforme que permita eliminarlo rápidamente, pero evitando pérdidas por evaporación, químicamente inerte, para no reaccionar con los componentes de los aceites, no inflamable y barato. Se utiliza a escala de laboratorio pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los disolventes, porque se obtienen esencias impurificadas con otras sustancias y además por el riesgo de explosión e incendio característico de muchos disolventes orgánicos volátiles (Bruneton, 2003; Vankar, 2004; Cseke *et al.*, 2006).

En el método de **enflorado o enfleurage**, el material vegetal (generalmente flores) es puesto en contacto con una grasa. La esencia es solubilizada en la grasa que actúa como vehículo extractor. Se obtiene inicialmente una mezcla (concreto) de aceite esencial y grasa la cual es separada posteriormente por otros medios fisicoquímicos. En general se recurre a la adición de alcohol caliente a la mezcla y su posterior enfriamiento para separar la grasa (insoluble) y el extracto aromático (absoluto). Esta técnica es empleada para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.), pero su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa (Bruneton, 2003).

El método de **extracción con fluidos supercríticos** es uno de los desarrollos más recientes. El material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un fluido en estado supercrítico (por ejemplo CO₂), las esencias son así solubilizadas y arrastradas y el fluido supercrítico, que actúa como disolvente extractor, se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y

temperatura ambiente, y finalmente se obtiene una esencia cuyo grado de pureza depende de las condiciones de extracción. Presenta varias ventajas como rendimiento alto, es ecológicamente compatible, el disolvente se elimina rápidamente e inclusive se puede reciclar, y las bajas temperaturas utilizadas para la extracción no cambian químicamente los componentes de la esencia, sin embargo, el equipo requerido es relativamente costoso, ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción también resistentes a altas presiones (Bruneton, 2003; Cseke *et al.*, 2006).

En el método de **destilación y extracción simultánea** (Lickens-Nickerson) se produce la separación y concentración de los componentes volátiles de muestras termosensibles por destilación y extracción simultánea mediante disolventes orgánicos. Mediante este método, se favorece la extracción en fase vapor y se minimizan las pérdidas de compuestos muy volátiles. Se puede trabajar a presión reducida, para obtener altos valores de recuperación sin recurrir a fuertes calentamientos de la muestra, así como a presión atmosférica (Blanch *et al.*, 1992).

La **extracción asistida por microondas** (**MAE**) se utilizó por primera vez en 1986 por Ganzler *et al.*, para la extracción de grasas y antinutrientes de alimentos y pesticidas de suelos. En 1993, Pare patentó un proceso llamado **proceso asistido por microondas** (**MAP** por sus siglas en inglés) para la extracción de aceites esenciales de materiales biológicos. Esta técnica se extendió posteriormente a aplicaciones analíticas y de gran escala. Su alta eficiencia es su mejor ventaja comparado con métodos tradicionales como el soxhlet. Se puede lograr el mismo recuperado en un tiempo más corto (20-30 minutos) y con menor cantidad de disolvente (30 mL) (Tabla 1.4). Dado que la **MAE** es algo exhaustiva, normalmente los extractos contienen especies interferentes que requieren un pretratamiento (Cseke *et al.*, 2006; Kou *et al.*, 2003).

Tabla 1.4 Constantes físicas de disolventes orgánicos utilizados en MAE

Disolvente	P. eb. (°C)	Presión de vapor (kPa)	ϵ'	Momento dipolar (debye)	Tan δ (x 10⁴)
Diclorometano	40	58.2	8.93	1.14	-
Acetona	56	24.6	20.7	2.69	-
Metanol	65	16.7	32.7	2.87	6400
Hexano	69	16.0	1.88	<0.1	-
Acetato de etilo	77	9.74	6.02	1.88	-
Agua	100	101.4	78.3	1.87	1570

Los puntos de ebullición se determinaron a 101.4 kPa, el vapor de presión se determinó a 25°C, la constante dieléctrica se determinó a 20°C y el momento dipolar a 25°C. (Cseke *et al.*, 2006)

En general, para describir la composición de los metabolitos secundarios volátiles y semivolátiles de plantas, es necesario combinar varias técnicas de aislamiento. Así, los métodos de arrastre con vapor y destilación-extracción simultánea con disolventes recuperan con mayor eficiencia monoterpenos y sus derivados oxigenados. El método de extracción de Likens y Nickerson separa y concentra los componentes volátiles de muestras termosensibles por destilación y extracción simultánea mediante disolventes orgánicos; favorece la extracción en fase vapor y minimiza las pérdidas de compuestos muy volátiles, además de que permite utilizar indistintamente disolventes orgánicos de mayor o menor densidad que el agua (Gil *et al.*, 2005; Jalal *et al.*, 2009).

En la Tabla 1.5 se muestran algunos ejemplos de diversos estudios realizados para la extracción de los aceites esenciales a nivel laboratorio, así como los métodos empleados para tal fin (Bottia *et al.*, 2007; Martínez *et al.*, 2007; Rehman *et al.*, 2008; Gómez *et al.*, 2001; Benkaci-Al *et al.*, 2006; Cañizares *et al.*, 2007; Phutolhawong *et al.*, 2007; Williams *et al.*, 2004; Kosar *et al.*, 2005; Bendahou *et al.*, 2008; Münevver *et al.*, 2004; Gören *et al.*, 2004; Bassole *et al.*, 2005; Ávila *et al.*, 2006).

Tabla 1.5 Métodos de extracción a nivel laboratorio empleados para la obtención de aceites esenciales

Año y autores de estudio	Aceite esencial	Método de extracción		
2007. Bottia <i>et al.</i>	Piperaceae	Destilación simultánea	-	Extracción
2007. Martínez <i>et al.</i>	yerbamate	Destilación simultánea	-	Extracción
2008. Rehman <i>et al.</i>	<i>Camellia sinensis</i>	Destilación simultánea	-	Extracción
2006. Benkaci-Al <i>et al.</i>	<i>Nigella sativa</i> L.	Extracción microondas	asistida	con
2001. Gómez <i>et al.</i>	Aceites esenciales	Extracción microondas vs destilación.	Asistida	con
2007. Cañizares <i>et al.</i>	Vainilla	Extracción microondas vs extracción ultrasonido.	asistida (focalizado) soxhlet	por vs
2007. Phutolhawong <i>et al.</i>	<i>Cinnamomum iners</i> Reinw. ex BI	Extracción microondas vs hidrodestilación.	asistida	por
2004. Williams <i>et al.</i>	<i>Capsicum</i>	Extracción microondas vs Extracción con reflujo.	asistida (focalizado)	por vs
2005. Kosar <i>et al.</i>	Metabolitos volátiles secundarios.	Extracción microondas vs hidrodestilación.	asistida	por
2008. Bendahou <i>et al.</i>	<i>Origanum glandulosum</i> Desf	Hidrodestilación vs Extracción asistida por microondas.	vs	Extracción
2004. Münevver <i>et al.</i>	<i>Origanum acutidens</i>	Hidrodestilación vs extracción soxhlet.	vs	extracción
2004. Gören <i>et al.</i>	<i>Satureja thymbra</i>	Hidrodestilación.		
2005. Bassole <i>et al.</i>	<i>Lippia chevalieri</i> y <i>Ocimum canum</i>	Hidrodestilación		
2006. Ávila <i>et al.</i>	<i>Diplostephium tolimense</i> cuatrec (Asteraceae)	Maceración vs extracción soxhlet.	vs	extracción

A nivel industrial se utilizan principalmente hidrodestilación o arrastre con vapor de agua y los aceites se separan por densidad y no es necesario el empleo de disolventes. Una alternativa que se menciona en la mayoría de los reportes, es la utilización de trampas tipo Clevenger, el cual es adoptado como método de extracción ya que no utiliza disolvente, lo que genera diversas ventajas. En la Tabla 1.6 se puede observar a nivel industrial el método de extracción utilizado y los rendimientos obtenidos en aceites esenciales (Gobierno de Guatemala, 2009).

Tabla 1.6 Rendimientos de algunos aceites esenciales obtenidos a nivel industrial

MÉTODO EXTRACCIÓN	RENDIMIENTO	PLANTA
Arrastre de vapor El vapor atraviesa la muestra, extrae y arrastra el aceite esencial. Tiempo de extracción 3 ó 4 horas. Separación aceite-agua: por densidad	Menores al 1%	Orégano fresco: 0.2 %
		Orégano seco: 1 - 2.5%
		Romero fresco: 0.6 %
		Romero seco: 0. 88%
		Albahaca fresca: 0.6%
		Albahaca seca: 1.11 %
		Menta seca: 1 – 2.5%
Menta fresca: 0.2 -0.5 %		
		Manzanilla flores secas: 0.4%

(Gobierno de Guatemala, 2009).

Mendivelso *et al.*, (2007) realizaron un estudio donde analizaron la influencia del método de extracción y el tiempo de crecimiento de la planta sobre el rendimiento y la composición de los metabolitos volátiles de la especie *Pelargonium graveolens* (Geraniaceae). Encontraron que las fracciones volátiles obtenidas por los diferentes métodos de extracción (hidrodestilación asistida por microondas y destilación-extracción simultánea) eran ricas es citronelol, además de que se encontraban presentes geraniol, citral, acetato de geranilo y otros compuestos de gran interés en la industria perfumística y cosmética. Además, la composición química relativa de los aceites obtenidos por los métodos anteriores fue similar en las dos etapas de crecimiento evaluadas. Se encontró que la extracción-

destilación simultánea fue el método más efectivo para aislar monoterpenos oxigenados.

En el mismo año, Richter y Schellenberg, compararon diferentes métodos de extracción con relación a la transformación que sufren los compuestos originales, particularmente por el tiempo de exposición. Los aceites analizados fueron *Origanum majorana* L., *Carum carvi* L., *Salvia officinalis* L., *Thymus vulgaris* L. Los resultados mostraron que la microextracción en fase sólida es el método más adecuado para realizar un rápido monitoreo de la composición aromática. Mientras que la hidrodestilación se emplearía para la determinación del contenido de aceite esencial y preparación de extractos.

En el 2008, Liang *et al.*, realizaron la extracción por hidrodestilación del aceite esencial de las flores de siete poblaciones de *Salvia miltiorrhiza* Bge., con un rendimiento de 0.2%. Se identificaron un total de 82 compuestos en todas las muestras. Los componentes fueron principalmente monoterpenos, sesquiterpenos, ácidos grasos y alcanos. El análisis por cromatografía de gases-detector de ionización de flama y cromatografía de gases-espectrometría de masas mostró que los componentes predominantes del aceite esencial fueron β -cariofileno, óxido de β -cariofileno, α -cariofileno, cadineno y ácido hexadecanoico.

En el 2008, Leitao *et al.*, realizaron el análisis de la composición química del aceite esencial extraídos de las hojas y flores de *Lippia lacunosa* y *Lippia rotundifolia* (Verbenaceae) por cromatografía de gases-detector de ionización de flama y cromatografía de gases-espectrometría de masas. Los componentes mayoritarios de flores y hojas de *L. lacunosa* fueron mirceno (14.7% y 11.9%), mircenona (45.2% y 64.2%), Z-ocimenona (5.7% y 5.2%) y E-ocimenona (14.7% y 4.1%), respectivamente, mientras que para *L. rotundifolia* fueron α -pipeno (8.7% y 1.8%), mirceno (5.1% y 3.6%), limoneno (26.0% y 7.9%), cis-pinocanfeno (4.5% y 3.1%) y mirtenal (22.3% y 16.7%), respectivamente. El aceite esencial de *L. lacunosa*

exhibió un fuerte y agradable aroma a mango, el cual fue relacionado con la presencia de mirceno y mircenona. Los resultados obtenidos relacionados con la marcada diferencia en composición química pueden constituir una valiosa herramienta para la clasificación botánica.

1.6. IDENTIFICACIÓN

En la primera mitad de este siglo, la identificación de los componentes de aromas era un trabajo muy difícil, debido a que no se contaba con la resolución y precisión necesaria para analizarlos. Los avances en el análisis por medio de instrumentos electrónicos modernos han puesto al descubierto la complejidad cualitativa y cuantitativa de los aceites esenciales. Así, algunos pueden estar compuestos hasta por un 99% de un mismo componente orgánico, mientras que otros pueden contener más de 150 componentes. La espectrometría de masas, la resonancia magnética nuclear, la espectrofotometría infrarroja y ultravioleta, la cromatografía en capa delgada y en particular la cromatografía de gases han contribuido considerablemente al análisis de los componentes minoritarios en estos productos (Dudareva, 2006; Rogers, 1984; Primo, 1990).

La cromatografía de gas-líquido acoplada a la espectrometría de masas (CG-EM) es aceptada generalmente, como un método a escoger para separar e identificar los componentes volátiles de los aceites esenciales. Y debido al gran poder de resolución que esta técnica tiene, es posible analizar mezclas complejas, que contienen más de 100 componentes, pudiendo utilizarse para la identificación de éstos, las bases de datos que se han desarrollado, las que contienen miles de espectros de compuestos; teniendo su principal aplicación en el estudio de la variación química intraespecífica y pudiendo utilizarse en el control de calidad de los aceites volátiles (Lahlou, 2004; Kameoka, 1986; Corticchiato *et al.*, 1992).

Las técnicas espectrométricas son las más apropiadas para la identificación de componentes, sin embargo, precisan del aislamiento de éstos. Por este motivo, se emplean en combinación con una técnica de fraccionamiento como la cromatografía de gases para el estudio de mezclas químicas, como es el caso de los aceites esenciales. El funcionamiento de la espectrometría de masas se basa en la capacidad de ionización que presenta una molécula orgánica en estado de vapor al ser bombardeada por un haz de electrones de energía aproximada de unos 70 eV. La molécula absorbe parte de esa energía utilizándola para desprenderse de un electrón, transformándose así en un ión molecular con carga positiva y un electrón desapareado. La energía adicional del haz de electrones de bombardeo puede disiparse en la ruptura de enlaces del ión molecular, produciéndose nuevos fragmentos de iones positivos de menor masa y de radicales neutros. El conjunto de máximos espectrosales que corresponden a cada uno de los iones fragmentados de la molécula original da lugar al espectro de masas, a través del cual se obtiene información de la fórmula molecular verdadera, ya que determina de manera exacta su masa atómica (Davis, 1997).

La utilización conjunta de la cromatografía de gases y espectrometría de masas permite aunar las notables cualidades de separación de la primera, con las propiedades analíticas de la segunda.

Adicionalmente, se desarrollaron varios métodos en los que se usa los índices de retención relativos para reproducir la identificación de compuestos en cromatografía de gases. Generalmente, los valores de retención son expresados en relación a estándares o compuestos no presentes en el material (McNair *et al.*, 1998). En general, los índices denotan el comportamiento de retención de los compuestos de interés de acuerdo a una escala uniforme, determinada por una serie de sustancias estándar estrechamente relacionadas (Aromdee, 2012).

El índice de retención de Kovats (propuesto en 1958), usa una serie homóloga de *n*-parafinas como estándares contra las mediciones de los volúmenes de retención ajustado de los solutos de interés. La elección de las *n*-parafinas se basa no solo en su relativa disponibilidad sino también en su baja polaridad y que están libres de puentes de hidrógeno (McNair *et al.*, 1998).

El índice de retención de Kovats (I), asigna un valor de 100 veces el número de carbonos para cada una de las *n*-parafinas. Entonces, el hexano tiene un valor de 600, el heptano 700 en todas las fases líquidas. Cuando una serie homóloga de hidrocarburos es cromatografiada, las fuerzas intermoleculares son relativamente constantes y la separación es controlada principalmente por diferencias en la presión de vapor (como reflejo de sus puntos de ebullición). El cromatograma producido muestra una relación logarítmica entre el número de carbonos y los tiempos de retención ajustados, reflejando la tendencia de los puntos de ebullición entre los miembros de una serie homóloga (McNair *et al.*, 1998).

La fórmula propuesta por Kóvats en 1958, se caracteriza por realizarse en un sistema bajo condiciones isotérmicas de elución y empleando *n*-parafinas con número impar de átomos de carbono (McNair *et al.*, 1998; Zellner *et al.*, 2008):

$$I = 100 \left[Z + \left(\frac{\log X_s - \log X_z}{\log X_{z+1} - \log X_z} \right) \right]$$

En donde *z* y *z* +1 son *n*-alcanos con *z* y *z*+1 números de átomos de carbono, respectivamente y *s* se refiere al soluto o analito.

Van den Dool y Kratz en 1963, propusieron una generalización en el sistema de índices de retención, para temperaturas lineales programadas en cromatografía de gases, ya que cuando se aplica una temperatura programada la serie de *n*-parafinas eluye de modo lineal (McNair *et al.*, 1998; Hérent, 2007; Zellner *et al.*,

2008), lo que da lugar a la siguiente ecuación, que se conoce como índice de retención lineal (LRI, por sus siglas en inglés) (Aromdee, 2012):

$$LRI = 100 \left[n + \left(\frac{t - t_n}{t_{n+1} - t_n} \right) \right]$$

En donde:

t = tiempo de retención del compuesto o analito.

n = número de carbonos del alcano precedente.

n+1 = número de carbonos del alcano subsecuente.

Sin embargo, cuando la serie de n-parafinas empleados como referencias contiene únicamente átomos de carbono par o impar se aplica la siguiente fórmula (Zellner *et al.*, 2008):

$$I_x^s = 100N + 100n \left(\frac{t_{R,x} - t_{R,N}}{t_{R,(N+n)} - t_{R,N}} \right)$$

Donde:

X= compuesto problema

t_{Rx} = tiempo de retención del compuesto problema

t_{RN} = tiempo de retención del alcano normal eluido antes que X

t_{R(N+n)} = tiempo de retención del alcano normal eluido después de X

N = número de átomos de carbono del alcano normal eluido antes que X

n = diferencia de número de átomos de carbono de los alcanos normales eluidos antes y después que X

N + n = número de átomos de carbono del alcano normal eluido después de X.

Lesueur *et al.* (2008), realizaron el análisis de la composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial aislado de las partes aéreas de *Acronychia pedunculata* (L) Miq. El análisis realizado por GC (índices de retención), GC-EM y

RMN-¹³C condujo a la identificación de 34 compuestos, siendo un total de 92.8% del aceite. Los constituyentes mayoritarios fueron α -pineno (57.4%) y (E) cariofileno (13.6%) además de una actividad significativa contra *Salmonella enterica* y *Staphylococcus epidermidis*.

1.7. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

En años recientes, se ha observado un resurgimiento de los productos naturales tradicionales tanto en medicina como en la preservación de alimentos y cosméticos. La evidencia anecdótica y el uso tradicional de plantas como medicinales proporcionan las bases para indicar cuáles aceites esenciales y extractos de plantas pueden ser utilizados para condiciones médicas específicas. Históricamente, muchos aceites y extractos de plantas han sido utilizados como antisépticos tópicos o han sido reportados por tener actividades antimicrobianas (Kalemba y Kunicka, 2003.; Hammer *et al.*, 1999).

Debido a esto, los aceites esenciales de plantas pueden ofrecer un gran potencial; lo que ha llevado a un estudio amplio y sistemático de la composición y actividad antimicrobiana, en donde las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales y sus constituyentes han sido ampliamente revisados. Los aceites esenciales son utilizados en la industria de los perfumes, cosméticos, farmacéutica, agrícola y alimentaria. Además de que se sabe que poseen una amplia gama de actividades biológicas, incluyendo propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales, antitoxigénicas, antiparasitarias e insecticidas (Hammer *et al.*, 1999; Chemat *et al.*, 2007; Wallace, 2004).

1.7.1. Actividad antioxidante

Los radicales libres son moléculas parcialmente reducidas que poseen un electrón adicional en estado desapareado o impar en el orbital externo. Esta configuración electrónica confiere a estas moléculas inestabilidad y fácil reacción con lípidos, proteínas y ácidos nucleicos de su entorno provocando un gran daño en ellas y en las membranas celulares (Vaquero *et al.*, 2005; Criado *et al.*, 2009).

Como la mayoría de los radicales de interés biológico derivan del oxígeno o del nitrógeno, a estos se les conoce habitualmente como ERO o ERN. Las principales ERO son el anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$) y sus derivados el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. La vida en un entorno rico en oxígeno (el elemento más abundante de nuestro planeta) ha supuesto la adaptación de los organismos a la convivencia con esta molécula y con sus derivados, las especies reactivas de oxígeno (ERO), los cuales se han integrado de manera imprescindible en la señalización intracelular (Vaquero *et al.*, 2005; Criado *et al.*, 2009).

La oxidación también puede afectar a los alimentos, donde es una de las principales causas de deterioro químico, resultando en rancidez y/o deterioro de la calidad nutricional, color, sabor, textura y seguridad de los alimentos. Se ha estimado que la mitad de los cultivos frutales y vegetales se pierden debido a reacciones deteriorativas postcosecha (Antolovich *et al.*, 2002).

Las ERO presentes en el organismo son mayoritariamente de procedencia endógena, aunque también pueden ser generadas en respuesta a estímulos externos como la luz ultravioleta, la radiación ionizante, fármacos o agentes tóxicos (Figura 1.5). Como consecuencia del metabolismo celular normal, los organismos aeróbicos están sujetos a la constante producción de pequeñas y controladas cantidades de ERO. Sin embargo, en determinadas circunstancias, como el estrés metabólico, la mitocondria puede convertirse en fuente incontrolada

de ERO, hecho que se ha asociado al envejecimiento y al desarrollo de diversas afecciones como son el cáncer, la diabetes mellitus, las enfermedades pulmonares, neurodegenerativas, cardiovasculares, etc. (Vaquero *et al.*, 2005; Criado *et al.*, 2009).

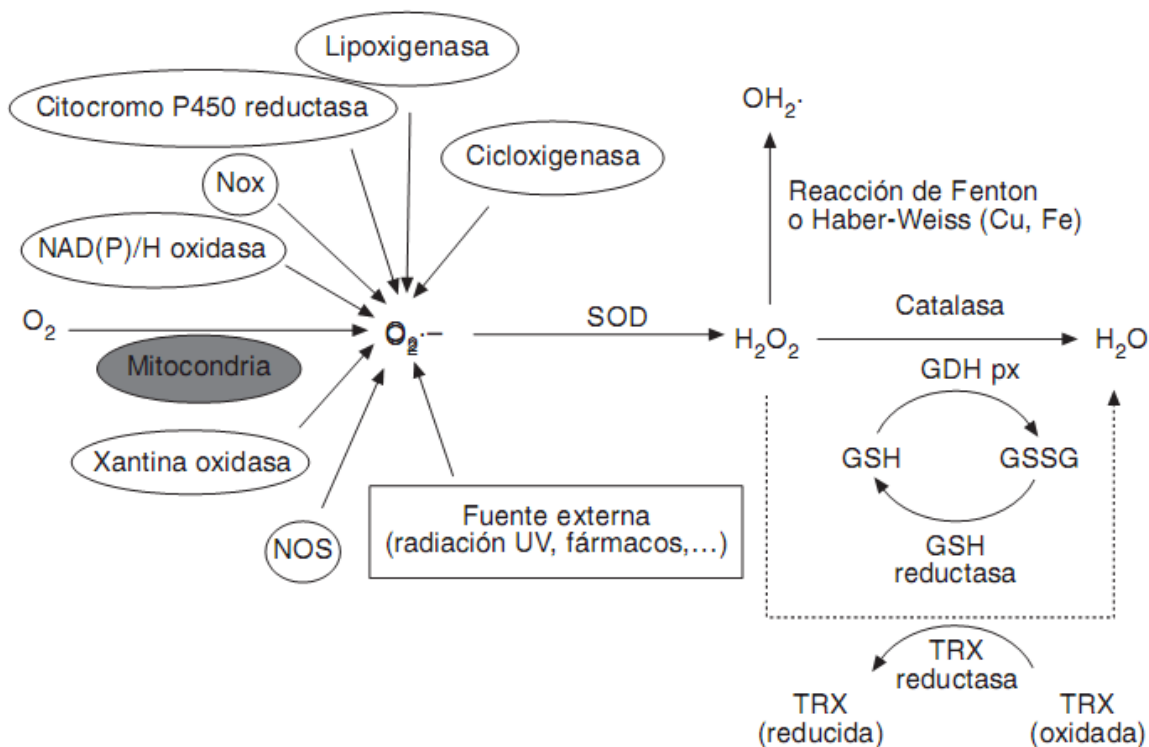


Figura 1.5 Formación y metabolización celular de las ERO (especies reactivas de oxígeno)

En el organismo existen antioxidantes endógenos que evitan las reacciones en cadena que generan los radicales libres. Se pueden clasificar en las siguientes categorías (Aruoma, 1999):

- Sistemas enzimáticos capaces de inhibir a los ROS. Superóxido dismutasa (SOD), que elimina el anión superóxido mediante su conversión a peróxido de hidrógeno. Las células humanas poseen una enzima SOD en la mitocondria con manganeso en su centro activo, y una enzima SOD con zinc y cobre en su centro activo, presente en mayor cantidad en el citosol.

- Enzimas capaces de descomponer ciertos intermediarios de la oxidación no radicálicos:
 - Catalasas presentes en los peroxisomas, que transforman el peróxido de hidrógeno en H₂O y O₂.
 - Glutation peroxidasa (GSHPX), que requiere selenio en su centro activo y que elimina el peróxido de hidrógeno y otros hidroperóxidos, transformando el glutatión reducido o GSH en glutatión oxidado o GSSG.
 - Glutation reductasa, que regenera el GSH desde el GSSG, con NADPH como fuente de poder reductor.
- Sistemas no enzimáticos, como ciertas moléculas capaces de quelar metales – transferrina, lactoferrina, hemopoxina, ceruloplasmina, etc.

Para mantener el control oxidativo celular, el organismo cuenta con un complejo sistema antioxidante basado en el engranaje funcional de compuestos enzimáticos y no enzimáticos. Esta estructura se compone de elementos hidrofílicos (Vitamina C) lipofílicos (ubiquinol, vitamina E) y tioles (GSH, tioredoxina, ácido lipoico) cuya interacción es esencial para mantener el equilibrio redox del complejo. Este concepto de red descubre la importancia de diseñar tratamientos basados en una interacción de antioxidantes más que en suplementos aislados (Antolovich *et al.*, 2002).

Es también importante incidir en la naturaleza lipofílica o hidrofílica de las moléculas antioxidantes, lo cual determina su distribución bien en las membranas o bien en la fracción hidrosoluble celular, donde están destinadas a mantener el equilibrio redox (Antolovich *et al.*, 2002).

Un antioxidante puede ser definido como cualquier sustancia que puede estar presente a bajas concentraciones, comparado con las de las sustancias oxidables,

retardando o inhibiendo significativamente la oxidación del sustrato (Antolovich *et al.*, 2002; Fennema, 1996).

El antioxidante al reaccionar con el radical libre le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil, con escasos o nulos efectos tóxicos y que en algunos casos como la vitamina E, pueden regenerarse a su forma primitiva por acción de los otros antioxidantes (Barbosa *et al.*, 2008).

Tienen diferentes mecanismos de acción; unos impiden la formación de los radicales libres y/o especies reactivas (sistema de prevención), otros inhiben la acción de los radicales libres (sistema barredor) y otros favorecen la reparación y la reconstitución de las estructuras biológicas dañadas (sistema de reparación) (Barbosa *et al.*, 2008).

Cada antioxidante posee una afinidad hacia un radical libre o hacia varios, puede actuar en los diferentes procesos de la secuencia oxidativa y tener más de un mecanismo de acción (Barbosa *et al.*, 2008).

Los antioxidantes se clasifican en endógenos, fabricados por la propia célula y exógenos, que ingresan en el organismo a través de la dieta o de suplementos con formulaciones antioxidantes.

Numerosos trabajos han demostrado la existencia de una correlación entre el consumo de una dieta rica en alimentos de origen vegetal con un menor riesgo de desarrollar ciertas enfermedades, como enfermedades cardiovasculares, procesos degenerativos relacionados con la edad como el Alzheimer, procesos inflamatorios, ciertos tipos de cáncer, etc. (Halliwell, 1997; De la Fuente, 2002; Stanner, 2004).

Entre otros compuestos bioactivos, los alimentos vegetales son ricos en antioxidantes, que incluyen distintos grupos de compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos pueden actuar como antioxidantes primarios, reaccionando directamente con los radicales libres (en cuyo caso suelen dar lugar a un nuevo radical, menos reactivo que el radical libre original), o como antioxidantes secundarios, potenciando otros sistemas antioxidantes, como ciertas enzimas (Halliwell, 1997; De la Fuente, 2002; Stanner, 2004).

El creciente interés por los posibles efectos beneficiosos de los antioxidantes ha hecho que se desarrollen una gran capacidad de métodos para determinar la capacidad antioxidante de extractos de alimentos. Se han planteado una serie de condiciones que debería reunir un procedimiento estandarizado de medición de capacidad antioxidante *in vitro* (Frankel *et al.*, 2000; Prior *et al.*, 2005; Fernández *et al.*, 2006; Halliwell, 2002; Matsukawa *et al.*, 1997):

- Evaluar reacciones de transferencia de electrones y de átomo de hidrógeno.
- Especificar el sustrato de oxidación.
- Medir reacciones químicas que de hecho ocurran en reacciones potenciales, es decir, asegurar que el sustrato y el modo de inducir la oxidación son relevantes como fuentes de daño oxidativo.
- Ser sencillo.
- Tener un mecanismo y un punto final definido.
- Poseer una instrumentación más o menos disponible.
- Tener una buena reproducibilidad entre días.
- Ser adaptable para medir antioxidante hidrofílicos y lipofílicos.
- Usar distintas fuentes de radicales.
- Ser adaptable para análisis rutinarios a gran escala.

Sin embargo, la realidad es que no existe ningún método en la actualidad que reúna tales características y es difícil que llegue a ser posible evaluar la capacidad

antioxidante de una muestra por un solo método, en vez de por la combinación de varios, como se hace en la actualidad. Esto se debe a varias razones; en primer lugar, los antioxidantes pueden ejercer su acción mediante mecanismos muy diversos (pueden suprimir la generación de los primeros radicales que inician el daño oxidativo, capturar radicales libres, quelar metales, formar complejos, reducir algunos compuestos, inducir la actividad de sistemas biológicos antioxidantes...) y en un mismo alimento puede haber mezclas de diferentes antioxidantes con distintos mecanismos de acción y entre los que, además, se pueden establecer reacciones sinérgicas, por lo que serán necesarios distintos análisis para poder considerar las posibles mecanismos de acción de todos los antioxidantes presentes en un alimento (Mantle *et al.*, 1998; Yu *et al.*, 1999; Frankel *et al.*, 2000; Karadog *et al.*, 2009).

Por otro lado, además del mecanismo de reacción, existen otros factores que también deben considerarse al determinar la capacidad antioxidante de muestras tan complejas como son los extractos de alimentos, tales como las propiedades coloidales del sustrato, el estado de oxidación y la localización del antioxidante en las distintas fases, la composición del sistema, el tipo de sustrato oxidable, el modo de provocar la oxidación, la naturaleza heterogénea y heterofásica del sistema, las interacciones con otros componentes, etc. (Mantle *et al.*, 1998; Yu *et al.*, 1999; Frankel *et al.*, 2000). Por ejemplo, en lo que se refiere a las emulsiones, los antioxidantes lipofílicos son mejores para las emulsiones o/w, porque se sitúan entre el agua y el aceite, protegiendo el aceite, mientras que los hidrofílicos se disuelven en la fase acuosa. A su vez, los antioxidantes hidrofílicos son mejores para medios aceitosos, porque se sitúan entre el medio y el aire, protegiendo al aceite, mientras que los lipofílicos se disuelven en el medio. Esto se conoce como paradoja polar de Porter (Frankel *et al.*, 2000). Así mismo, se debe tener en cuenta que muchos compuestos que previenen la oxidación lipídica no lo hacen con la de proteínas o ADN, o incluso la potencian, como ocurre con el BHA, que oxida el ADN, aunque no a las concentraciones que se pueden ingerir

habitualmente (Aruoma, 1999). Así mismo, la vitamina E impide la oxidación inducida por iones metálicos o por peroxinitrito, pero no la inducida por hipoclorito ni la oxidación lipídica inducida por lipooxigenasa (Niki, 2002).

Por todas estas razones, un gran número de autores han planteado la necesidad de combinar más de un método de medida en la determinación de la capacidad antioxidante *in vitro* (Frankel *et al.*, 2000; Sanchez-Moreno, 2002; Aruoma, 1999; Prior *et al.*, 2005). En cualquier caso, todos los ensayos *in vitro* sobre capacidad antioxidante de extractos de alimentos, deben completarse con ensayos *in vivo*, así como con estudios sobre el posible efecto prooxidante de estos compuestos a dosis elevadas (Frankel *et al.*, 2000), ya que en estos compuestos existe un delicado equilibrio entre actividad antioxidante y prooxidante.

Finalmente, habrá que considerar si los compuestos responsables de esta capacidad antioxidante son o no biodisponibles en el tracto gastrointestinal y, por tanto, podrán ejercer de hecho ese efecto beneficiosos que potencialmente poseen, así como el grado de retención de ese compuesto en los tejidos. Esta biodisponibilidad vendrá determinada, entre otros factores, por la naturaleza química de estos compuestos, sus efectos dentro de la matriz alimentaria, la combinación de alimentos en la dieta y el estado general de salud (Aruoma, 1999; Fernández *et al.*, 2006; Halliwell, 2002).

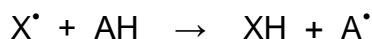
Otro aspecto a considerar en la determinación de capacidad antioxidante *in vitro* es que, debido a las múltiples modificaciones hechas en cada uno de los métodos existentes, muchas veces la comparación entre resultados, aun correspondiendo al mismo método de medida, se deben efectuar con precaución, ya que pueden haber existido cambios en la manipulación, en la temperatura del ensayo, en la variedad de la muestra o sus condiciones de procesado, en el modo de combinar las muestras con los reactivos (por ejemplo, tiempo de exposición de los compuestos activos a los reactivos, etc.), en la metodología empleada en la

extracción (tamaño de partícula, ciclos de extracción, modo de agitación de la muestra, relación muestra:solvente, etc.) (Bompadre *et al.*, 2004; Mukhopadhyay *et al.*, 2006) Así mismo, el hecho de que en el sistema a analizar haya una alta o una baja actividad de agua es también importante, ya que este factor afecta a la migración de compuestos, puede producir fenómenos de cristalización, coalescencia, complejación, colapsos de estructuras, etc. (Mukhopadhyay *et al.*, 2006) Además, se debe tener en cuenta el hecho de que, en la literatura, los resultados para un mismo método se expresan de múltiples formas, lo que dificulta su comparación (Villaño *et al.*, 2005).

1.7.2. Reacciones SET y reacciones HAT

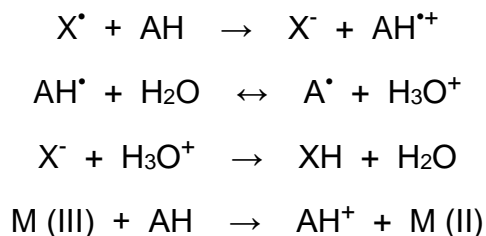
Aunque existen una gran cantidad de mecanismos por los que los antioxidantes alimentarios pueden ejercer su acción, entre aquellos compuestos que reaccionan directamente con los radicales libres, deteniendo el proceso en cadena de oxidación lipídica (chain-breaking), esta reacción se puede llevar a cabo por dos posibles vías: reacciones de transferencia de un átomo de Hidrógeno (*Hydrogen Atom Transfer*, HAT) o de transferencia de un electrón (*Single Electron Transfer*, SET) (Prior *et al.*, 2005), aspectos que se deben tener en cuenta al seleccionar varios métodos de medida de capacidad antioxidante, por lo que, a continuación, se explicará brevemente en qué consiste cada uno de estos dos mecanismos.

En las reacciones HAT, la reacción sería de este tipo, siendo X el radical libre y AH el antioxidante:



El nuevo radical formado es mucho más estable que el inicial.

Por el contrario, en las reacciones SET el antioxidante transfiere un electrón para reducir un compuesto, incluyendo metales, carbonilos y radicales y serían reacciones de este tipo, siendo de nuevo X el radical libre y AH el antioxidante:



En principio, estas reacciones dependen mucho más del disolvente que las HAT; sin embargo, se ha visto que el disolvente puede ejercer una influencia clara en el ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) y el ABTS (catión del ácido 2,2' azino bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)), a pesar de ser métodos HAT (Fernández-Pachón *et al.*, 2004; Villaño *et al.*, 2005). Estas reacciones son también dependientes del pH. Son métodos muy sensibles al ácido ascórbico y al ácido úrico, que juegan un papel importante en el mantenimiento del status redox del plasma. Algunos elementos traza y contaminantes (sobre todo metales) pueden interferir con estos métodos, resultando en una alta variabilidad y una baja reproducibilidad y consistencia de los resultados.

Las reacciones HAT vienen determinadas por la entalpía de disociación, de manera que un compuesto que la tuviera baja facilitaría la abstracción del átomo de Hidrógeno. Así mismo, se ha observado que ciertos aspectos estructurales, como la presencia de un grupo hidroxilo en posición orto o la posible formación de enlaces intermoleculares entre distintos sustituyentes, pueden contribuir a reducir la entalpía de disociación, facilitando la formación de un radical estable. Por el contrario, las reacciones SET dependen del potencial de ionización (Siquet *et al.*, 2006).

La mayor parte de los métodos de medida de la actividad antioxidante miden solamente compuestos solubles en agua debido a las naturalezas hidrofílicas de las especies reactivas y de los sustratos oxidables que se emplean. Algunos

ensayos se pueden adaptar para medir antioxidantes lipofílicos: ORAC, ABTS, TRAP (*Total Reactive Antioxidant Potential*) (Fernández *et al.*, 2006).

Hay métodos [TRAP; ABTS, FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)] que cuantifican la actividad antioxidante, el porcentaje de inhibición a un tiempo fijo, con la premisa de que distintos antioxidantes pueden tener un mismo porcentaje a un tiempo dado pero distinto a otro tiempo determinado. Otros métodos miden la extensión del tiempo de inhibición a un porcentaje de inhibición fijo (Fernández *et al.*, 2006; Halliwell, 2002).

1.7.3. DPPH (radical 2,2difeníl-1-picrilhidrazilo)

En este método se sitúa el DPPH•, un radical orgánico, en presencia del antioxidante y se ve en qué grado es capturado, lo que produce un descenso de la absorbancia a 515 nm (Brand-Williams *et al.*, 1995).

El mecanismo de reacción de este método no está aún totalmente claro. Se pensaba que era un mecanismo simultáneamente SET y HAT; sin embargo, un trabajo ha sugerido que el mecanismo fundamental es SET, y que la reacción de tipo HAT tendría una escasa contribución, dado que se produce lentamente en disolventes que son fuertes aceptadores de Hidrógeno, como el metanol o el etanol (Foti *et al.*, 2004; Langseth, 1995).

Este método fue modificado por Sanchez-Moreno *et al.* (1998), que introdujeron parámetros cinéticos: la EC₅₀, que es la cantidad de antioxidante necesaria para reducir en un 50% la cantidad inicial de radical; el t_{EC50}, que es el tiempo necesario que necesita esa concentración para reducir en un 50% la cantidad inicial de radical y la eficiencia antirradicálica (AE)= 1/(EC₅₀* t_{EC50}), que tiene en cuenta los dos factores. Cuanto mayor sea AE, el antioxidante ejercerá su acción con menos concentración y en menos tiempo, lo que interesa en sistemas biológicos. Sin

embargo, cuando los antioxidantes se usan como aditivos alimentarios, el objetivo puede ser que mantengan su acción durante un tiempo prolongado, por lo que habría que considerar independientemente los dos factores.

Así mismo, Torres *et al.* (2002), añadieron dos nuevos parámetros: multiplicando la EC_{50} (expresada en mol compuesto/mol DPPH) por dos, se obtiene la estequiometría de la reacción entre patrones y el radical. El inverso de este valor representa los moles de radical reducidos por mol de antioxidante y da una idea de los átomos de hidrógeno que intervienen en la reacción.

No obstante, se debe señalar que el DPPH• es un radical orgánico nitrogenado y estable, que no tiene nada que ver con los radicales peroxilo altamente reactivos implicados en reacciones *in vivo* (Wu, 2004) Por otro lado, la absorbancia a 515 nm puede interferir con la de otros compuestos, como los carotenoides, con lo que se subestimaría el DPPH• remanente y, por tanto, la capacidad antioxidante de la muestra (Prior *et al.*, 2005). Así mismo, al ser una longitud de onda cerca de la franja visible, la capacidad antioxidante de la muestra se puede subestimar debido a la interferencia de otros compuestos de la muestra que también absorben (Choi *et al.*, 2000; Arnao, 2000; Fernández *et al.*, 2006; Halliwell, 2002).

Finalmente, otro inconveniente de este método es que puede haber un impedimento estérico en las moléculas con mayor peso molecular (Prior *et al.*, 2005; Karadog *et al.*, 2009).

En el 2007, Wei y Shibamoto examinaron trece aceites esenciales por tres diferentes sistemas para determinar la actividad antioxidante. Los resultados obtenidos demostraron varios grados de acciones antioxidantes en los aceites esenciales, basados en la actividad de captura de radicales y la inhibición del ciclo de oxidación lipídica. Para algunos aceites, se demostró el comportamiento anti y pro oxidante, los cuales dependían de las condiciones del sistema ensayado y de

las concentraciones a las cuales los aceites esenciales fueron probados. Para el aceite de rosa y de semilla de perejil los resultados obtenidos mostraron acciones antioxidantes en los tres ensayos lipofílicos similares al α -tocoferol y sugieren posibles beneficios médicos derivados de su uso como es la prevención del daño oxidativo en la piel y subsecuente enfermedad progresiva.

Hui *et al.* en el 2010, estudiaron la capacidad antioxidante con el sistema de ácido linoleico y la capacidad antibacteriana por medio de inhibición del crecimiento bacteriano, así como la composición química del aceite esencial de lavanda. Los resultados mostraron como componente mayoritario al butirato de 1,5-dimetil-1-vinil-4-hexenil (43.73%), seguido de 3,7-dimetil-1,3,7-octatrieno (25.10%), eucaliptol (7.32%) y canfor (3.79%). El aceite esencial de lavanda mostró una fuerte actividad antioxidante contra la peroxidación lipídica en el sistema de ácido linoleico y buena actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus ascoformans*, *Proteus vulgaris* y *Escherichia coli*.

En 2010, Ali *et al.*, realizaron un análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas y de las actividades *in vitro* de la actividad antioxidante y antitumoral del aceite esencial extraído de las flores de *Nerium oleander*. Por el análisis de cromatografía de gases-espectrometría de masas se identificaron 64 compuestos que representó el 94.69% de la composición total del aceite. La actividad antioxidante se realizó por tres métodos: ensayo de DPPH, ensayo de blanqueamiento de β -caroteno/ácido linoleico y el ensayo del poder reductor de fierro, obteniéndose resultados similares a los de los antioxidantes sintéticos (Trolox y BHT). El aceite esencial mostró un incremento de la actividad antitumoral con el incremento de la concentración del aceite por lo que se evaluó la toxicidad en un modelo animal, y los resultados mostraron que no había efectos adversos a las concentraciones empleadas en el estudio.

En el 2008, Lopes *et al.*, realizaron un monitoreo de la composición química, actividad antimicrobiana y antioxidante de las partes aéreas del aceite esencial de siete especies del género *Artemisia*. En el análisis por CG-EM se identificaron un total de 110 compuestos (71-98.8% de la composición total). Se encontró un alto contenido de 1,8-cineol y canfor en *A. cana*, *A. frigida*, *A. longifolia* y *A. ludoviciana*. Este último también se caracterizó por el alto contenido de sesquiterpenos oxigenados con esqueleto semejante a 5-eteniltetrahydro-5-metil-2-furanilo, de los cuales la davanona fue el principal componente identificado. *A. absinthium* se caracterizó por el alto contenido de mirceno, trans tujona y acetato de trans sabinilo. *A. biennis* tuvo como componentes mayoritarios (Z) β -ocimeno, (E) β farneseno y los acetilenos (Z) y (E) –en- in-dicloéteres. *A. dracunculus* se caracterizó por tener fenilpropanoides como el metil chavicol y metil eugenol. Los aceites esenciales de *Artemisia* tuvieron efectos inhibitorios sobre las bacterias (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermis*), los hongos (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*), los dermatofitos (*Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis* y *Microsporum gypseum*), *Fonsecaea pedrosoi* y *Aspergillus niger*. En las pruebas de actividad antioxidante (modelo β -caroteno/linoleato) y de captura de radicales libres (DPPH) las actividades mostradas por los aceites fueron poco prometedoras.

Asfaha *et al.*, en el 2008, analizaron a los componentes del aceite esencial de las hojas de *Salvia nilotica* y *Salvia schimperi* por CG y CG-EM. Los resultados en los análisis indicaron que los componentes de los dos aceites son cualitativamente similares y cuantitativamente diferentes. Se identificaron 27 componentes correspondientes a un área de 84.73% del total en el aceite de *Salvia nilotica* siendo los componentes mayoritarios el germacreno D (28.48%), guaiol (13.99%) y trans-cariofileno (12.96%). En el aceite esencial de *S. schimperi* se encontraron 42 componentes con un área de 88.3% del total de picos, los componentes mayoritarios fueron linalol (44.35%) y α -terpineol (9,27%). A ambos aceites se les realizaron pruebas de actividad antimicrobiana *in vitro* con la técnica de difusión en

disco, contra un amplio rango de patógenos médicamente importantes. Los resultados mostraron que los aceites poseían actividad significativa contra la mayoría de las cepas analizadas. La concentración mínima inhibitoria osciló entre 25 a 100 $\mu\text{g/mL}$ contra las bacterias y de 1000 a 1500 $\mu\text{g/mL}$ para hongos. Adicionalmente, los aceites esenciales de ambas plantas demostraron un gran potencial de captura de radicales libres en la prueba de DPPH, lo que confirmó sus usos en la medicina tradicional de Etiopía.

1.8. TOXICIDAD DE LOS ACEITES ESENCIALES

Para la industria farmacéutica las plantas medicinales son una fuente de nuevas moléculas con efectos farmacológicos, que son utilizables directamente y que permiten obtener productos farmacéuticos con menores efectos secundarios y satisfacer nuevos hábitos del consumidor, que se orienta en forma creciente al uso de productos naturales (Gobierno de Chile, 2003). Desde el punto de vista cualitativo, los aceites esenciales requieren calidad aromática, para ser utilizados en perfumería, calidad de consumo, para ser utilizados en productos para la salud y alimentación y calidad para usos industriales (Svoboda *et al.*, 2006). Los productos cosméticos, aromatizantes de alimentos, farmacéuticos, medicinales y para aromaterapias, requieren de esencias de alta calidad y sin compuestos contaminantes, de modo que no tengan efectos adversos a la salud. Adicionalmente a las impurezas que pudiera tener el aceite esencial, algunos de sus componentes pueden tener efectos negativos a la salud, es por eso que este aspecto del conocimiento de los aceites esenciales, es muy importante, debido al desarrollo de ciertas prácticas como la aromaterapia. La connotación producto natural destinada a las esencias y el hecho de que muchas son expedidas al público, fuera del factor farmacéutico llevan a una utilización a veces abusiva y a una automedicación peligrosa (Bruneton, 2003; Svoboda *et al.*, 2006).

Los datos de que se dispone sobre la toxicidad crónica de las esencias, son muy fragmentarios, no se han estudiado sus posibles efectos secundarios, ni tampoco se ha demostrado la ausencia de efectos cancerígenos o teratógenos, es evidente que el empleo de estas sustancias, presenta cierto número de riesgos, y que estos medicamentos no disponen de los criterios que cabe esperar de un medicamento moderno (Bruneton, 2003).

Se han realizado pruebas de toxicidad sobre algunos de los componentes mayoritarios de algunos aceites esenciales, de los que se han encontrado los siguientes resultados (Pergelly, 2004; Bruneton, 2003):

Los aceites esenciales con las cetonas monoterpénicas tuyona (tanaceno, *Tanacetum vulgare* L.; tuya, *Thuja occidentalis* L.; ajenjo, *Artemisia absinthium* L.; ciertas variedades de *Salvia officinalis* L.) o con (-) pinocanfona (hisopo, *Hyssopus officinalis* L.): son psicoanalépticos que ingeridos a dosis demasiado elevadas, desencadenan crisis epileptiformes y tetaniformes, transtornos psíquicos y sensoriales. Se ha demostrado en animales, que a dosis bajas pero repetidas, desencadenan de la misma forma contracciones mioclónicas.

También presenta toxicidad el mentol, en donde 2 gramos del mismo pueden ser mortales para un adulto; en un niño, gotas nasales de mentol, puede inducir espasmo de la glotis con consiguiente riesgo de asfixia refleja. Son igualmente tóxicos, el cis-anetol (convulsiones), la esencia de sabina (hemorragias uterinas), la esencia de enebro (hematurias), entre otros.

Si bien la aplicación alimentaria y terapéutica de los aceites esenciales es cada vez más amplia, no hay que omitir que existen aceites cuyo uso inadecuado puede resultar tóxico para el organismo. Al igual que sucede con la actividad antimicrobiana, la toxicidad de los aceites esenciales puede variar en función de su quimiotipo (especie, factores ecológicos y condiciones ambientales). Esto hace

que cada especie de planta presente un perfil que puede expresar de forma diferente estos factores. El conocimiento de los métodos de prueba de los aceites esenciales y sus constituyentes es indispensable para descubrir el espectro de acción de estos productos naturales, sus modos de acción y sus aplicaciones terapéuticas. Más aún, si los aceites esenciales son una mezcla heterogénea de sustancias sencillas, las actividades biológicas son debidas principalmente a estos componentes en un complejo sistema de actividades sinergistas y antagonistas (Svoboda *et al.*, 2006; Lahlou, 2004).

Compadre *et al.* (1987), realizaron un estudio relacionado con los constituyentes de los aceites volátiles de *Montanoa tomentosa* (Asteraceae) y *Lippia graveolens* (Verbenaceae), plantas utilizadas por la medicina tradicional mexicana como abortivas. En el análisis por CG-EM reportan la identificación de compuestos de tipo terpénico, siendo los más abundantes, el acetato de borneol y *p*-cimeno, respectivamente. Asimismo, plantearon la posible correlación entre la alta concentración de monoterpenos y el efecto abortivo.

En 1997, Regnault plantea la idea de la utilización de los aceites esenciales para el control de plagas de insectos, como una clase de productos ecológicos para disminuir los efectos secundarios producidos por compuestos o derivados sintéticos.

Viera de Sousa *et al.*, en el 2008, realizaron el estudio del aceite esencial obtenido por hidrodestilación de las hojas de *Eremanthus erythropappus* en etapa joven y madura. El análisis por CG-EM, encontró como componentes mayoritarios al β -pineno (24.19% y 22.30%), β -cariofileno (22.33% y 23.52%), β -mirceno (9.95% y 10.11%) y germacreno D (10.01% y 8.80%), respectivamente. En las pruebas de difusión en agar para la determinación de la actividad antimicrobiana, los aceites fueron más activos contra *S. aureus* y *C. albicans* y sólo el aceite esencial de las hojas maduras inhibió el crecimiento de *Salmonella spp.* Al mismo tiempo se

determinó la toxicidad utilizando el modelo de *Artemia salina*, mostrando ambos aceites toxicidad a LC₅₀ 9.59 µg/mL (hojas jóvenes) y 9.25 µg/mL (hojas maduras), con lo que se concluyó que las pequeñas variaciones en la composición química pueden causar cambios en la actividad biológica.

1.9. CONDICIONES GEOBOTÁNICAS DEL ESTADO DE YUCATÁN

1.9.1. Clima

Yucatán tiene una extensión territorial de 39 612 kilómetros cuadrados. Presenta altas temperaturas en todo su territorio, debido a diversos factores, entre ellos: la escasa altitud, que va del nivel del mar en el norte a 210 m en el Cordón Puc al sursuroeste; el relieve plano o escasamente ondulado y la ubicación al sur del Trópico de Cáncer. La temperatura junto con las diferentes cantidades de precipitación total anual que se producen en el estado, han propiciado el predominio de clima *cálido*, seguido del *semiseco* muy cálido y cálido y en menor proporción, del *seco* muy cálido y cálido (INEGI, 2010).

Cerca de 85% del territorio estatal muestra clima cálido subhúmedo en lluvias de verano; éste abarca todo lo ancho de Yucatán desde el noroeste de Maxcanú hasta el noreste de Tizimín y se extiende hacia la parte sur, siendo la temperatura media anual de 24° a 28°C, y la precipitación total anual comprende de 700 a más de 1 500 mm (Figura 1.7) (INEGI, 2010).

El clima semiseco muy cálido y cálido se distribuye en una franja más o menos paralela a la línea de costa, que va del oriente de Río Lagartos a Dzilam de Bravo, Hunucmá y Celestún; cubre alrededor de 13% de la entidad, su temperatura media anual varía por lo general entre 24° y 26°C, aunque en algunas partes es mayor a

26°C, y la precipitación total anual va de menos de 600 a 800 mm (Figura 1.6) (INEGI, 2010).

En la zona costera que comprende del este de Telchac Puerto al oeste de Progreso y abarca aproximadamente el 2% de Yucatán, está ubicada la zona de clima seco muy cálido y cálido; en ella, la temperatura media anual varía de 24° a 26°C y la precipitación total anual es menor de 600 mm (Figura 1.7) (INEGI, 2010).

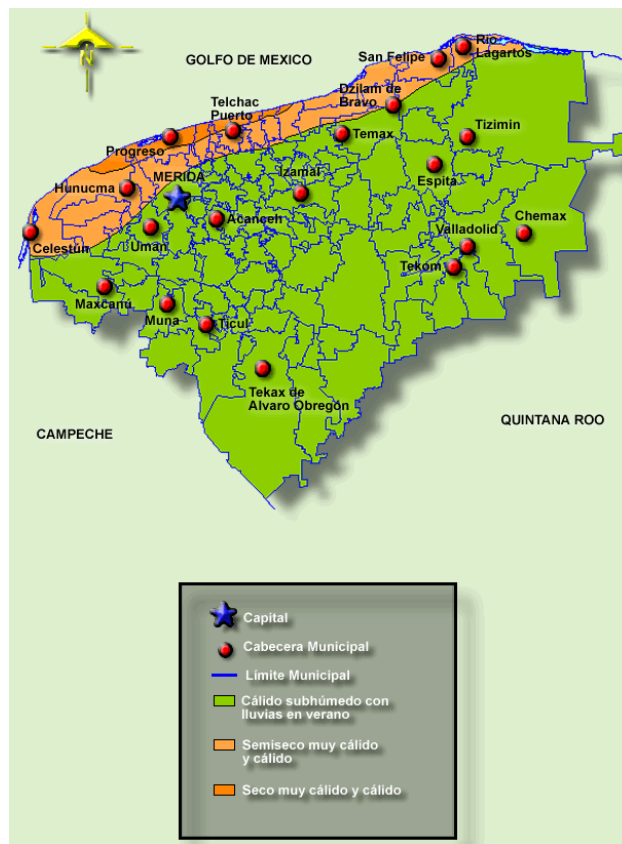


Figura 1.6 Mapa de climas del estado de Yucatán (INEGI 2010)

En Yucatán se presentan dos estaciones bien claras durante el año: una temporada de lluvias que va de mayo o junio a octubre o noviembre y otra de sequía, que inicia en noviembre o diciembre y se prolonga hasta abril o mayo. La cantidad de lluvia que cae varía. Aunque es en el norte donde llueve menos que en el sur. La distribución de las lluvias durante el crecimiento de los cultivos tiene

una influencia fuerte sobre la rapidez del establecimiento de los cultivos, pero tiene mayor efecto en la fase de floración. Es importante resaltar aquí que la lluvia disminuye e incluso puede llegar a parar durante algunas semanas, durante julio y agosto, en lo que se conoce como la canícula. A pesar que no se presentan lluvias fuertes de octubre a enero, la poca cantidad que cae tiene enorme significado en la producción de los diferentes cultivos, en lo particular sobre las leguminosas (Dzib *et al.*, 2008).

1.9.2. Los suelos

Yucatán se distingue por sus terrenos con poco suelo o tierra y una gran cantidad de piedras y lajas, en casi toda su extensión; esto porque los suelos son muy jóvenes geológicamente; son de los suelos más recientes de la república mexicana. Alrededor del 90% de los suelos de Yucatán son pedregosos, esto explica en parte la dificultad de la mecanización de la agricultura. Existe un complejo sistema de denominación local de los suelos: kankab, box- lu'um, ts'ekel, cho'chol, chac -lu'um, chi'ch -lu'um, yax -hom, akalché, kakab, pus- lu'um y ek -lu'um, entre los principales. Esta denominación local guarda cierta relación con la nomenclatura FAO-UNESCO de clasificación de los suelos. Estos términos mayas generalmente explican algunas propiedades de los suelos y se utilizan como indicadores de la calidad: color, cantidad de materia orgánica (por ejemplo los suelos negros contienen mucha materia orgánica), presencia o ausencia de rocas, presencia de óxido (los suelos rojos en general tienen óxidos de hierro), drenaje lo cual pueden indicar el movimiento del agua como la capacidad de retener el agua ó de perderse rápidamente, mismo que puede facilitar ó hacer difícil que el suelo pueda liberar los alimentos para la planta, etc. Se conocen alrededor de quince diferentes tipos de suelos en Yucatán; los más importantes para el desarrollo de la agricultura son: el kankab, el tsekkel, el yax-hom y el akalché; otros tipos de suelos también son utilizados, pero no frecuentemente; aunque hay predominancia de

algún tipo en especial es común que se presenten asociados otros tipos más. Los que se encuentran en mayor abundancia son el kankab y el tsekil; el yax-hom y el akalché existen en áreas restringidas en el sur de Yucatán (Chan, 2008; Dzib *et al.*, 2008).

1.9.3. La vegetación

Yucatán se extiende enteramente entre los trópicos, y estas regiones generalmente presentan una vegetación rica y altamente variada, sin embargo, Yucatán tiene una flora uniforme y de un escaso número de especies debido a las condiciones geológicas y climáticas. La región está constituida por llanuras de caliza muy poco elevadas sobre el nivel del mar; no existen montañas, ni siquiera cerros elevados. Más raro aún, es el hecho de que prácticamente no existe agua en la superficie. Las corrientes que contribuyen a variar la vegetación, faltan por completo. La porosa caliza, base del suelo de Yucatán, permite que rápidamente las aguas superficiales y las de las lluvias se filtren bajo la superficie. El resultado es que aún durante la estación de lluvias la región continúa relativamente seca. La flora es uniformemente xerófita. Existen hábitats húmedos únicamente cerca de los cenotes y de algunas escasas aguadas, lo cual sucede menos frecuentemente (Enciclopedia Yucatanense, 1977).

Hasta ahora se conocen en Yucatán cerca de 1,300 especies de plantas mayores que representan unas 130 familias y 675 géneros. Este es el número que es de esperarse al norte del límite mexicano en la zona templada de Norteamérica, en un área de 200 km². Parece, pues, que las condiciones climáticas han producido en Yucatán una flora más bien templada que tropical en lo que respecta a su riqueza. Las familias de vegetales mayores son las de las Leguminosas, Compuestas, Euforbiáceas y Gramíneas. Un quince por ciento de las especies yucatanenses son endémicas en la Península, número sorprendentemente grande y mayor, probablemente, que el de cualquier otro estado mexicano. La familia

Lamiaceae es cosmopolita, ya que está prácticamente presente en cualquier tipo de ecosistema y, por tanto, es uno de los grupos vegetales más ampliamente adaptados a diferentes ambientes (Enciclopedia Yucatanense, 1977), además de que tiene una gran importancia desde el punto de vista económico, ya que es una de las principales familias de donde se obtienen aceites esenciales.

En la Península de Yucatán se estima que existen 79 géneros y 142 especies de la familia Asteraceae, siendo una de las cinco más diversas en el área (Tapia, 2010), de la familia de las Gramíneas se estima que existen 62 géneros y 168 especies (Ortiz *et al.*, 2010); en tanto que para la familia Lamiaceae se estima que existen 12 géneros y 24 especies (Herbario CICY, 2010).

1.10. FAMILIA ASTERACEAE O COMPUESTA

La familia Asteraceae pertenece al orden Asterales, subclase Asteridae. Entre sus miembros se encuentran hierbas, arbustos, árboles pequeños o de talla mediana y rara vez, verdaderos árboles. Pertenecen a esta familia 1100 géneros y entre 20000 y 30000 especies. Su distribución es cosmopolita, pero están mejor representadas en las regiones templadas y subtropicales que no están densamente forestadas (Villaseñor, 1998; Funk *et al.*, 2005).

La familia *Compositae*, como también es conocida, comparte características morfológicas generales con otros grupos de plantas, sin embargo debe su nombre a la particularidad de su inflorescencia. Ésta es denominada cabezuela o capítulo y aparenta ser una gran flor, pero es un conjunto de flores pequeñas que se agrupan en una base o receptáculo envuelto y protegido por una serie de brácteas que en su conjunto se denominan involucre. Las flores pueden ser liguladas (en forma de lengua) o tubulares, asimismo pueden ser unisexuales o hermafroditas y sus envolturas florales se encuentran modificadas. Los frutos son secos con una semilla y se conocen como aquenios. La presencia de tricomas glandulares y no

glandulares es común en especies de la familia Asteraceae. Los tricomas glandulares son estructuras que acumulan una amplia diversidad de compuestos orgánicos volátiles asociados a una gran diversidad biológica (Lozoya, 2003; Judd *et al.*, 2007; Robles *et al.*, 2006).

Las Compuestas tienen un incalculable interés económico indirecto para el hombre. La impresionante cantidad de especies de esta familia contribuye a la diversidad y, por consiguiente, a la estabilidad y el mantenimiento de la productividad de todo el mundo (Heinrich, 1998).

México es rico en biodiversidad; existen entre 314-387 géneros con 2000 - 3000 especies reconocidas como pertenecientes a la familia Asteraceae en México, por lo que se estima que ésta es la familia más grande de la flora mexicana. Muchas especies han sido empleadas en medicina tradicional, tanto por la población indígena como por la población mestiza de México, por lo que han sido motivo de numerosos estudios relacionados con el uso medicinal que se les da a de estas plantas en varias regiones de México (Heinrich, 1998).

Entre las principales clases de compuestos químicos reportados en la familia Asteraceae se encuentran sesquiterpenos, principalmente lactonas sesquiterpénicas, diterpenos, triterpenos, alcaloides pirrolizidínicos, poliacetilenos, aceites esenciales, flavonoides, coumarinas, entre otros; los cuales a su vez presentan una amplia variedad de actividades biológicas relacionadas con la estructura química. Las propiedades antimicrobianas y antioxidantes son las más estudiadas, seguida de las propiedades antiinflamatorias (Yu *et al.*, 2005; Jahodar *et al.*, 1999).

1.10.1. Teresita (*Montanoa speciosa*)

La mayoría de las Asteraceae son hierbas o pequeños arbustos, mientras que los árboles del género *Montanoa* se consideran plantas generalmente inusuales y son muy vistosos durante la temporada de florecimiento (Heinrich, 1998).

El género *Montanoa*, pertenece a la subfamilia Asteroideae, tribu Heliantheae, incluye 30 especies, 25 de las cuales son arbustos o enredaderas. Las cinco restantes son árboles de aproximadamente treinta metros de altura, los cuales crecen en México, Guatemala, Costa Rica, Venezuela y Colombia, en ambientes de selva pluvial, en alturas superiores a las de los medios donde se encuentran los arbustos y enredaderas (Enriquez *et al.*, 2008).

De diferentes especies de este género se han aislado un gran número de compuestos como lactonas sesquiterpénicas, diterpenos, triterpenos, flavonoides y aceites esenciales; además de que se han realizado diversos estudios de actividad biológica para estudiar las propiedades oxi-tóxicas, afrodisíacas, antiinflamatoria, antimicrobiana, entre otros (Lozoya, 2003).

Montanoa speciosa DC, es un arbusto de casi un metro de altura, se encuentra localizada en la península de Yucatán y por conocimiento popular local es considerada como una planta narcótica (Figura 1.7).



Figura 1.7 *Montanoa speciosa* DC

En la literatura científica existen pocos reportes sobre esta especie y éstos se encuentran enfocados al aislamiento y elucidación estructural por métodos espectroscópicos y espectrométricos de metabolitos secundarios de tipo terpénico. De esta especie se aislaron lactonas sesquiterpénicas del tipo de las eudesmanólicas que se identificaron como encelina, 5 α -epoxialantolactona, hidroxibis-dihidroencelina y 3-hidroxiencelina, y un diterpeno de tipo eudesmano, el ácido 1,2-dehidro-3-oxo-cóstico; Al mismo tiempo, se han realizado estudios de algunas de las propiedades de estos compuestos como las actividades antifúngicas y antibacterianas (Cantrell *et al.*, 1999; Trejo *et al.*, 1996; Sabanero *et al.*, 1995; Quijano *et al.*, 1991).

1.11. FAMILIA LAMIACEAE

Las lamiáceas (Lamiaceae), también llamadas labiadas, son una familia que comprende unos 224 géneros y alrededor de 5,600 especies, perteneciente al Orden Lamiales. Entre sus representantes destacan la menta, el orégano, el tomillo y el romero (Kuklinski, 2003).

Son hierbas perennes, algunos subarbustos y raramente árboles o trepadoras, que contienen aceites esenciales en todas las partes de la planta. Las flores (generalmente de color violáceo), tienen 5 pétalos fusionados en forma de boca con un labio superior, generalmente bilobulado y más corto, y uno inferior, trilobulado, los 5 sépalos también están unidos. Las flores son bisexuales y surgen en ramilletes terminales de 5 ó 6 (a veces más o menos) florecillas cada uno. Los tallos son generalmente cuadrangulares con hojas aovadas, opuestas y decusadas (Kuklinski, 2003).

1.11.1. Romero (*Rosmarinus officinalis*)

Pertenece a la familia de las Labiadas. Es conocido en México como romero, en Francia como romarin, en Inglaterra como Rosemary, etc. Su hábitat son las regiones secas y cálidas del sur de Europa, sobre todo la zona mediterránea (Kuklinski, 2003).

Es un arbusto leñoso con hojas lineales, puntiagudas y coráceas. Las hojas tienen la epidermis inferior recubierta de pelos tectores pluricelulares y ramificados, por lo que se aprecia una fina pelusa plateada en el envés. Ambas epidermis de la hoja poseen pelos secretores que hacen que toda la planta desprenda un agradable aroma alcanforado. Las inflorescencias azul o lila claro se agrupan en pequeños racimos en las axilas o en los extremos de las ramas (Figura 1.8) (López, 2008).



Figura 1.8 *Rosmarinus officinalis*

En cuanto a su composición química, posee alrededor de 1-2% de esencia, formada principalmente por derivados de tipo terpénico principalmente hidrocarburos como el pineno, alcoholes como el borneol y sus ésteres o cetonas como el alcanfor (15-25%). Presenta también un 3% de ácido rosmarínico, el cual es un derivado fenólico, éster del ácido cafeico y el alcohol 2-hidroxidihidrocafeico, presenta propiedades antioxidantes. Se encuentra presente en todas las labiadas. Tiene flavonoides, destacando la apigenina y luteolina. Lactonas sesquiterpénicas

de carácter amargo como la picrosalvina, además de derivados triterpénicos, destacando el ácido ursólico (Arteche *et al.*, 1998; López, 2008).

Tiene infinidad de aplicaciones tanto en la medicina natural, como en la cocina, la perfumería y la cosmética. Su fuerte olor, que recuerda a las resinas de las coníferas, atrae a las abejas, y éstas producen la miel de romero la cual es muy apreciada (Kuklinski, 2003; López, 2008).

1.11.2. Poleo (*Mentha pulegium*)

También conocida como Menta-poleo, Poleo o Poleo menta. Es una hierba perenne, rizomatosa, de hasta 45 cm de altura. Su hábitat son las orillas de cursos de agua y en lugares húmedos. Se extiende por zonas húmedas a lo largo de todo el Mediterráneo y por Asia Occidental, sus flores pueden ser rosas, violetas y blancas. Sus erectos tallos cuadrangulares, muy ramificados, pueden llegar a medir entre 30 y 40 cm. Las hojas son lanceoladas y ligeramente dentadas, de color entre verde medio y oscuro y se disponen opuestas a lo largo de los tallos. Las diminutas flores nacen agrupadas en apretadas inflorescencias globosas (Figura 1.9) (Arteche *et al.*, 1998; Lawrence, 2006).



Figura 1.9 *Mentha pulegium*

Esta especie está considerada un buen carminativo (facilita la expulsión de los gases intestinales) y tónico estomacal, e incluso emenagoga (que provoca y

regulariza la menstruación), aunque no está aconsejada para personas que padezcan alguna afección del hígado (Arteche *et al.*, 1998; Lawrence, 2006).

Toda la planta contiene aceite esencial (0,5%-1%) a base de pulegona, una cetona no saturada. Contiene también mentona, limoneno y otras cetonas. El aceite esencial a dosis altas es neurotóxico y depresor cardiorespiratorio (Lawrence, 2006).

1.11.3. Menta (*Mentha piperita*)

Mentha piperita es un híbrido de *Mentha aquatica* y *Mentha viridis*. Es conocida como menta piperita, menta inglesa o menta, su hábitat son los terrenos umbríos y frescos de Europa y América del Sur. Procede de Asia Central y del Mediterráneo. Crece en todo tipo de climas, pero prefiere suelos algo húmedos y aunque puede estar al sol prefiere la semi-sombra (Arteche *et al.*, 1998; Lawrence, 2006).

Es una planta herbácea perenne de tallos violáceos y cuadrangulares. Las hojas son alternas y de bordes aserrados y tienen muchos pelos que son de dos tipos: pelos tectores uni o pluricelulares y pelos glandulosos con esencia. Las flores son de color rosa violáceo, forman espigas en los extremos del tallo (Figura 1.10) (Arteche *et al.*, 1998; Lawrence, 2006).



Figura 1.10 *Mentha piperita*

Se puede encontrar en su composición química alrededor de 1-4% de esencia, con más de cien componentes. El componente principal es el mentol (40-60%), seguido de mentona (10-20%), 1,8-cineol. También se encuentra alrededor de 12% de flavonoides (Arteche *et al.*, 1998; Lawrence, 2006; Kuklinski, 2003). Se emplea principalmente en problemas digestivos. Tiene efectos calmantes y antiespasmódicos.

1.12. FAMILIA GRAMÍNEA O POACEAE

Gramíneas, nombre común de una extensa familia de plantas con flor, la más importante del mundo desde los puntos de vista económico y ecológico. A esta familia también se la conoce con el nombre de Poáceas. Las gramíneas presentan una estructura vegetativa bastante uniforme, y tienen características distintivas de este grupo (Kuklinski, 2003; Koffi *et al.*, 2009).

Las hojas, que nacen en los nudos de los tallos, se disponen en dos filas y constan de dos partes: vaina y limbo. La vaina, una característica peculiar de las gramíneas, envuelve el peciolo y sujeta la zona situada justo por encima de cada uno de los nudos; esta zona necesita soporte, pues está formada por un tejido de crecimiento blando llamado meristemo. El tallo de las gramíneas no crece en longitud por el ápice, como en casi todas las demás plantas, sino en cada uno de los nudos (Conzatti, 1988).

Otra característica distintiva de las gramíneas es la lígula, una breve prolongación vellosa o membranosa que se inserta en el punto de unión de la vaina y el limbo foliares. La función de la lígula sigue siendo desconocida, pero quizá sirva para evitar que la humedad penetre en la zona comprendida entre el tallo y la vaina (Conzatti, 1988).

La familia de las gramíneas contiene unos 635 géneros y 9 000 especies, y es la cuarta más extensa después de Leguminosas, Orquidáceas y Compuestas; y sin duda la primera por su interés económico, ya que incluye a los cereales y a muchas plantas forrajeras. También desde el punto de vista de la vegetación son de principal importancia, ya que constituyen el componente principal de la flora en formaciones vegetales como son: la estepa, la sabana y la pradera, que cubren el 20% de la superficie terrestre (Akhila, 2009).

1.12.1. Té limón (*Cymbopogon citratus*)

Gramínea robusta de inflorescencia amplia, cultivada en parques y jardines por sus hojas aromáticas, conocida como té limón, Hierba de Limón, Limoncillo, Limonera, Zacate limón. El sinónimo de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf es *Andropogon citratus* DC, también *Cymbopogon nardus* subvar *citratus* DC (Figura 1.11) (Akhila, 2009).

El Té limón es una gramínea de uno a dos metros de altura con hojas de color verde oscuro, amontonadas cerca de la base, lampiñas, glaucas que tiene de 60 cm a 1 m de largo, sus hojas son alargadas como listones y despiden agradable aroma si se estrujan, las flores están agrupadas en espigas y se doblan como la hojas (Akhila, 2009; Arteché *et al.*, 1998).



Figura 1.11 *Cymbopogon citratus*

Cympogopon citratus probablemente es de la India, sin embargo, ahora está naturalizada y se encuentra en grandes extensiones de las Indias occidentales, comúnmente cultivada en zonas húmedas, de las regiones tropicales y subtropicales del mundo, especialmente en los lugares donde las precipitaciones anuales son de más de 2,500 mm (Akhila, 2009; Arteche *et al.*, 1998).

El té limón se utiliza para consumo humano, sobre todo en las zonas rurales como infusión en comunidades indígenas y segmentos de bajos ingresos. Entre las bondades del Té limón destacan sus propiedades medicinales. Aunque también puede utilizarse como plaguicida, en perfumería, alimento para el ganado y para aromatizar productos industriales (Akhila, 2009; Arteche *et al.*, 1998). Actualmente se cultiva comercialmente en China, Madagascar, Islas Comoro, Brasil, Argentina, Guatemala y Cuba, entre otros (Antolinez *et al.*, 2008).

1.13. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

El mercado internacional de las hierbas medicinales y aromáticas está en constante crecimiento. Es importante saber que el volumen del mercado mundial es muy variable según el aceite esencial que se considere. Desde miles de toneladas para un aceite esencial cítrico o las mentas, hasta unos pocos kilos para algún producto obtenido de flores exóticas.

En cuanto a las aplicaciones, la industria de fragancias y sabores es normalmente la principal demandante de estos productos. Son usados en cosmética, fragancias y productos de uso hogareño, o para la elaboración de sabores, salsas, bebidas y todo tipo de alimentos industrializados. Otros nichos comerciales requieren aceites esenciales, algunos de ellos muy específicos: aromaterapia, insumos

agroindustriales, elaboraciones de popurrís, fabricación de productos artesanales, la industria farmacéutica, etc.

Debido a la demanda mundial, se hace necesario conocer la calidad de los aceites esenciales, principalmente de *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Cymbopogon citratus*, *Rosmarinus officinalis* y *Montanoa speciosa*, plantas aromáticas que crecen en Yucatán, y que pueden ser cultivadas para su comercialización. El desconocimiento de la composición química y uso de los aceites esenciales, es una de las principales problemáticas que presentan los productores por lo que su mercado es muy reducido o no alcanzan todo el potencial del cultivo. Con este estudio se contribuirá al conocimiento de las propiedades físicas, químicas y farmacológicas de estas plantas, y dejará abierta la posibilidad de su mejor aprovechamiento a nivel industrial como fuente de materia prima para obtener productos de mayor valor agregado.

1.14. OBJETIVOS

1.14.1. GENERAL

- Evaluar la composición química y actividad antioxidante de los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus*, *Mentha piperita*, *Rosmarinus officinalis*, *Mentha pulegium* y *Montanoa speciosa*, plantas cultivadas en clima tropical.

1.14.2. PARTICULARES

- Determinar los componentes químicos y la proporción de éstos en el aceite esencial de *Cymbopogon citratus*, *Mentha piperita*, *Rosmarinus officinalis*, *Mentha pulegium* y *Montanoa speciosa*, mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.
- Determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de las cinco plantas cultivadas en Yucatán.
- Evaluar el efecto que tienen las condiciones climáticas del estado de Yucatán, y la parte de la planta de la que se extrae el aceite esencial sobre la calidad y composición de éstos.

Capítulo II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. ESTRATEGIA GENERAL DEL TRABAJO

Se trabajó con las plantas *Cymbopogon citratus* (té limón), *Mentha piperita* (menta), *Rosmarinus officinalis* (romero), *Mentha pulegium* (menta poleo) y *Montanoa speciosa* (teresita), las cuales se cultivaron en la ciudad de Mérida, Yucatán.

Factores como condiciones de cultivo, parte de la planta, métodos de extracción, entre otros, afectan la calidad y composición de los aceites esenciales y por ende sobre las propiedades farmacológicas, lo que repercute en la potencial importancia comercial de dichos productos.

Para evaluar el efecto que tienen las condiciones geobotánicas sobre la calidad y composición de los aceites esenciales, se obtuvieron aceites esenciales de plantas cosechadas durante los meses de febrero y junio (época se secas y lluvia, respectivamente) tal es el caso de las plantas de menta, menta poleo, romero y té limón. También se trabajó con diferentes partes vegetales de la misma planta (hojas y flores) como fue el caso de la teresita, ya que se ha reportado que la calidad del aceite esencial varía en función de la parte vegetal empleada.

Se obtuvieron los aceites esenciales mediante hidrodestilación de las partes de tejido vegetal (Tabla 2.1); empleando un equipo de hidrodestilación con trampa tipo Clevenger.

Tabla 2.1 Partes vegetales utilizadas para la obtención de aceites esenciales

Planta	Parte utilizada
<i>Montanoa tomentosa</i>	Hojas - Flores
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Hojas
<i>Mentha piperita</i>	Hojas
<i>Mentha pulegium</i>	Hojas
<i>Cymbopogon citratus</i>	Hojas

Para determinar el efecto que tienen las condiciones geobotánicas de Yucatán y la parte vegetal de donde se extrae el aceite esencial, sobre la calidad y composición de los aceites esenciales se analizaron algunas características físicas como olor, aspecto e índice de refracción junto con un perfil cromatográfico de cada uno de los aceites esenciales obtenidos mediante el análisis de parámetros cualitativos como los índices de retención, comparación de los patrones de fragmentación de la muestra con el de bases de datos y con algunos estándares de referencia; y el análisis de parámetros cuantitativos para determinar el contenido de cada uno de los componentes de los aceites esenciales. Asimismo, se ha reportado que la actividad biológica varía en función de la composición del aceite esencial, por lo que se determinó la actividad antioxidante mediante la prueba de DPPH, debido a que existen pocos reportes acerca de esta prueba en los aceites esenciales analizados. Finalmente, en base a lo obtenido anteriormente, se evaluó la calidad del aceite esencial obtenido en el laboratorio, con los que se encuentran reportados en la literatura y que tienen uso comercial.

2.2. MATERIAL VEGETAL

2.2.1. RECOLECTA

Té limón (*Cymbopogon citratus*), Menta (*Mentha piperita*), Romero (*Rosmarinus officinalis*) y Poleo (*Mentha pulegium*)

Se recolectaron 100 g de las hojas de las diferentes plantas, en zonas semi-urbanas de Mérida durante el mes de febrero (**AE-1**) y junio (**AE-2**) de 2010, correspondientes a la época de secas y lluvias respectivamente. Se seleccionaron las hojas que no presentaron daño estructural y/o parasitario. Se procedió a secar las hojas en un desecador para herbario, manteniéndose a una temperatura de aproximadamente 50°C y con aireación constante por aproximadamente 48 horas. Se redujo el tamaño de partícula de las hojas secas en un molino eléctrico, hasta tamaño de tamiz 10. Se obtuvo 70 g de material seco y molido y se almacenaron en recipientes cerrados, al abrigo de la luz y en refrigeración a 0°C hasta su uso.

Teresita (*Montanoa speciosa*)

Se recolectaron 1 700 g de hojas de *Montanoa speciosa* DC en una zona urbana de Mérida durante el mes de agosto de 2009, correspondiente a la época de lluvias. Se seleccionaron las hojas que no presentaron daño estructural y/o parasitario. Se procedió a secar las hojas en un desecador para herbario, manteniéndose a una temperatura de aproximadamente 50°C y con aireación constante por aproximadamente 48 horas. Se redujo el tamaño de partícula de las hojas secas en un molino eléctrico, hasta tamaño de tamiz 10. Se obtuvo 1 300 g de material seco y molido y se almacenaron en recipientes cerrados, al abrigo de la luz y en refrigeración hasta su uso.

Se recolectaron 350 g de flores de *M. speciosa* DC, durante el periodo de floración de la planta, a principios del mes de Noviembre de 2009. De las flores recolectadas se seleccionaron aquellas que no presentaron daño estructural y/o parasitario. Se procedió a secar las flores en un desecador para herbario,

manteniendo a una temperatura de aproximadamente 50°C y con aireación constante por aproximadamente 48 horas. Se redujo el tamaño de partícula de las flores secas en un molino eléctrico, hasta tamaño de tamiz 10. Se obtuvo 200 g de material seco y molido y se almacenaron en recipientes cerrados, al abrigo de la luz y en refrigeración hasta su uso.

2.2.2. EXTRACCIÓN

Para la obtención del aceite esencial, se empleó el método de hidrodestilación con trampa tipo Clevenger (Figura 2.1), empleando un tiempo de extracción de 4 horas a partir de la destilación. Se trabajó con 50 g de material vegetal seco y molido (Tepe, 2005, Melo *et al.*, 2007).



Figura 2.1 Equipo de hidrodestilación

El procedimiento empleado fue el siguiente: en un matraz de balón de fondo redondo se introdujo 50 g del material vegetal seco y molido y fue sumergido en un volumen de 500 mL de agua destilada. Posteriormente se colocó en una manta de calentamiento, siendo la duración de la hidrodestilación de 4 horas. El aceite esencial obtenido, se separó del agua por decantación y se secó con Na_2SO_4 anhidro. Se recuperó el aceite, empleando la mínima cantidad de éter etílico, se evaporó el disolvente con una corriente de nitrógeno (Figura 2.2), se guardaron los extractos secos (aceite esencial) en recipientes de color ámbar, al abrigo de la luz y en refrigeración hasta su análisis.

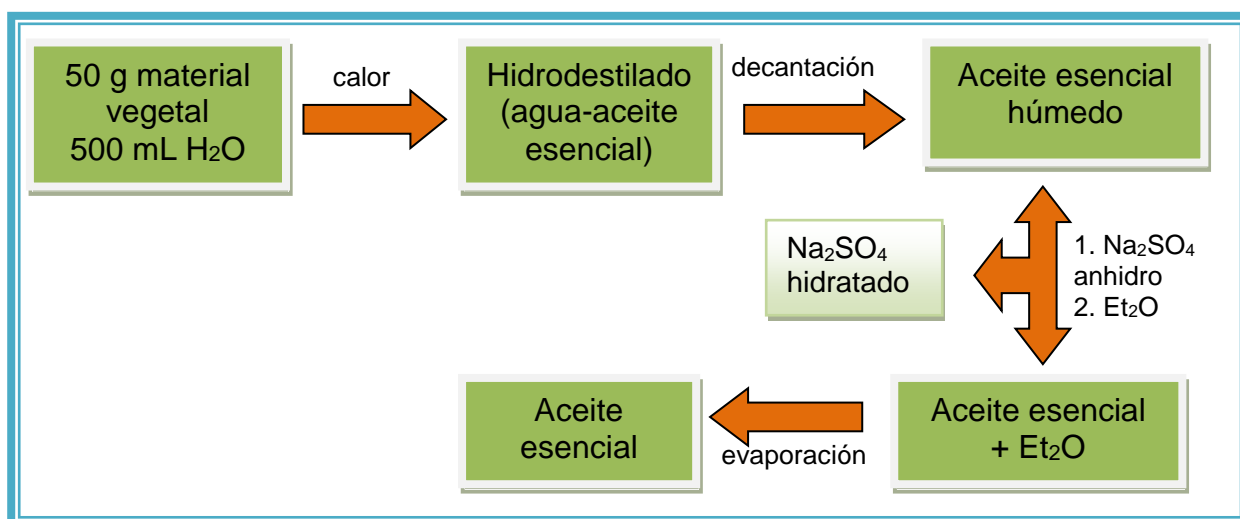


Figura 2.2 Diagrama de la extracción por hidrodestilación

2.3. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

Se realizó el análisis de índice de refracción en un refractómetro Abbe, marca NAR 1T (Figura 2.3), el cual cuenta con un termómetro digital (rango de medición del índice de refracción (n_D) 1.3000 a 1.7000). Se empleó agua destilada (n_D 1.3334) como referencia. Se colocaron tres gotas del aceite esencial sobre la celda, y se procedió a la lectura, ajustando los tornillos.



Figura 2.3 Refractómetro de Abbe

Se analizó de manera visual y olfativa, la apariencia, color y aroma de cada uno de los aceites esenciales analizados.

2.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CUANTIFICACIÓN

Se realizó el análisis de la composición química y determinación de la proporción de los componentes del aceite esencial completo mediante cromatografía de gases acoplada a un detector selectivo de masas, identificándose los compuestos por comparación de los espectros obtenidos con los de la bases de datos (NIST, 2007) así como con los índices de retención reportados en la literatura (Adams, 2007) con los obtenidos experimentalmente (Aromdee, 2012). Para determinar la proporción de los componentes se realizó un análisis de normalización de áreas empleando los integradores computarizados del equipo.

2.4.1. Instrumentación y condiciones cromatográficas

Se realizó en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 6890N (Palo Alto, USA) acoplado a un detector selectivo de masas 5973 Network con muestreador automático de la misma marca modelo G1513. La columna capilar empleada fue una HP-5MS (USA) de sílice fundida de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno con un espesor de película de 0.25 μm de fase estacionaria de 5%-difenil 95%-dimetil polisiloxano.

Las condiciones cromatográficas fueron: helio UAP como gas acarreador, temperatura del inyector 220°C, flujo constante de 1.0 mL/min. El horno se trabajó con un gradiente de temperaturas programada con una temperatura inicial de 60°C con incrementos de 3°C/min hasta una temperatura final de 246°C. El tiempo total de análisis fue de 62 min. El volumen de inyección fue de 1 μL , en modo Split con una relación 100:1, la temperatura de la cámara de ionización fue de 230°C y del cuadrupolo de 150°C. La temperatura de la línea de transferencia fue de 290°C. La energía de ionización de 70 eV, con un intervalo de adquisición de 41 a 300 unidades de masa atómica [uma] (Adams, 2007).

2.4.2. Composición química

A partir del análisis cromatográfico y mediante el software del equipo (Chemstation) se obtuvieron los tiempos de retención de cada uno de los compuestos.

La identificación de cada uno de los componentes presentes en el cromatograma se realizó con base en sus patrones de fragmentación y por comparación de los patrones de fragmentación presentes en la base de datos NIST 2007.

Para la determinación de los índices de retención se empleó como estándares los hidrocarburos: n-octano, n-decano, n-tetradecano, n-nonadecano y n-triacontano. Los cuales se analizaron bajo las mismas condiciones cromatográficas empleadas para los aceites esenciales. Se determinaron sus correspondientes tiempos de retención y posteriormente, mediante la aplicación de la siguiente fórmula se determinaron los índices de retención lineal, los cuales posteriormente se compararon con los reportados en la literatura por Adams en el 2007.

$$LRI = 100 \left[n + \left(\frac{t - t_n}{t_{n+1} - t_n} \right) \right]$$

En donde:

LRI = índice de retención lineal

t = tiempo de retención del compuesto o analito.

n = número de carbonos del alcano precedente.

n+1 = número de carbonos del alcano subsecuente.

Para corroborar los datos obtenidos en cuanto a patrones de fragmentación, tiempos de retención e índices de retención con la finalidad de verificar el funcionamiento adecuado del equipo, se analizaron una serie de estándares de terpenos: γ -terpineno (C₁₀H₁₆), geraniol (C₁₀H₁₈O), carvona (C₁₀H₁₄O), cubebeno

(C₁₅H₂₄) y nerolidol (C₁₅H₂₆O). Se obtuvieron sus respectivos espectros de masas, se compararon con los de la base de datos y se calcularon sus índices de retención.

2.4.3. Análisis cuantitativo

Para determinar la proporción de los componentes en el aceite esencial se empleó el método de normalización de áreas, obteniéndose por medio del integrador computarizado del equipo la integración del área de cada uno de los picos, teniendo en cuenta que el área del pico cromatográfico es directamente proporcional a la concentración del analito.

Este método mide el área bajo cada pico individual, posteriormente se suman las áreas de todos los picos obteniéndose el área total calculada. El resultado se expresa como porcentaje en volumen de los componentes individuales y se obtiene multiplicando el área calculada individual por 100 y luego dividiéndola entre el área total calculada. Este método se empleó para estimar la cantidad de cada uno de los componentes presentes en los aceites esenciales (Skoog *et al.*, 2001).

2.5. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

El ensayo DPPH es un método rápido y sencillo. Es ampliamente utilizado para evaluar la actividad antioxidante total, considerándose adecuado para medir la actividad antioxidante en alimentos y extractos vegetales.

2.5.1. Técnica de DPPH

Este método se basa en la medida de absorbancia del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) en metanol a una longitud de onda de 517 nm. Este análisis se realizó para determinar la capacidad antioxidante del aceite esencial, mediante la reducción del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), el cual presenta una coloración violeta y que absorbe una radiación a 517 nm, de tal manera que su

concentración se puede determinar por métodos espectrofotométricos (Matzukawa *et al.*, 1997).

Para este análisis se llevó a cabo una calibración del DPPH (0.02mg/mL) en metanol para cuantificar la actividad antioxidante del aceite esencial equivalente a: Quercetina (0.1 a 4 µg/mL), Trolox (0.01 a 0.7 mM) y vitamina C (.01 a 20 µg/mL). También se preparó un blanco (10 mL de metanol). Para aplicar la recta ([DPPH]=(a x Abs₅₁₇)+b) que determine la concentración del antioxidante. Se leyó la absorbancia de las disoluciones correspondientes a cada patrón (Quercetina, Trolox y Vitamina C) a una longitud de onda de 517nm. Las pruebas se realizaron por triplicado.

Se preparó una solución de cada aceite esencial en metanol para una concentración de 0.04 g/mL. A 0.75 mL de esta solución de aceite esencial se le agregó 1.5 mL de una disolución 0.02 mg/mL de DPPH, se dejó reaccionar 15 min en condiciones ambientales (30°C) y se leyó la absorbancia a 517nm. Los resultados se expresaron en actividad equivalente a los patrones utilizados en la curva de calibración (Quercetina, Trolox y Vitamina C) (Chen *et al.*, 2000). Las pruebas se realizaron por triplicado.

Se determinó el porcentaje de inhibición o reducción (%) de la concentración del radical DPPH debido a la presencia de cada aceite esencial, haciendo una comparación con una disolución blanco del radical DPPH en metanol disuelto a la misma concentración. Para calcular el porcentaje de inhibición de actividad antioxidante con respecto al blanco (Ac) que produjeron las muestras de prueba (As), se utilizó la siguiente fórmula (Yen *et al.*, 1994):

$$\% \text{ de inhibición} = \left(\frac{Ac - As}{Ac} \right) * 100$$

Capítulo III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

3.1.1. Apariencia e índice de refracción

Todos los aceites esenciales fueron obtenidos por hidrodestilación con una trampa tipo Clevenger, presentando diversas características en cuanto a su apariencia (color, olor), los cuales se condensan en las Tablas 3.1 y 3.2. Los aceites esenciales *Mentha pulegium*, *Mentha piperita*, *Cymbopogon citratus* y *Rosmarinus officinalis* fueron obtenidos en época de secas (**AE-1**) y época de lluvias (**AE-2**) con la finalidad de evaluar las características físicas y químicas que presentan dichos aceites esenciales bajo diferentes condiciones climáticas. El aceite esencial de *Montanoa speciosa* de hojas (**AE-H**) fue obtenido en época de lluvias ya que durante la época de floración (noviembre) y época de secas tiende a perder sus hojas, por lo que se obtuvo el aceite esencial de las flores (**AE-F**), para monitorear las características físicas y químicas de los aceites obtenidos de diferentes partes vegetales de una misma planta.

Las características físicas como color, olor y apariencia se obtuvieron a partir de apreciaciones personales, siendo similar a las descripciones de los reportes encontrados en la literatura (Heath, 1981; National Research council, 1972; Chemicals Codex, 2003; Kokate *et al.*, 2008).

Tabla 3.1 Características físicas de los aceites esenciales obtenidos en estudio

Aceite esencial	Apariencia		
	Teórico (Códex, 2003; Kokate <i>et al.</i> , 2008)	AE-1 (Apreciación personal)	AE-2 (Apreciación personal)
<i>Mentha pulegium</i>	Líquido claro de color amarillo verdoso. Olor mentolado.	Líquido claro de color amarillo pálido. Fuerte aroma cítrico.	Líquido claro de color amarillo pálido. Fuerte aroma cítrico.
<i>Mentha piperita</i>	Líquido claro incoloro a amarillo pálido. Fuerte aroma y penetrante a menta.	Líquido claro de amarillo pálido. Fuerte aroma a menta.	Líquido claro incoloro. Fuerte aroma a menta.
<i>Cymbopogon citratus</i>	Líquido fluido ligeramente amarillo a amarillo pálido. Fuerte aroma citral.	Líquido claro de color amarillo pálido, con aroma cítrico.	Líquido claro de color amarillo pálido, con aroma cítrico.
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Líquido claro incoloro a amarillo pálido. Olor herbal, alcanforado.	Líquido claro incoloro, de aroma alcanforado.	Líquido claro incoloro, de olor pungente alcanforado.

AE-1: Aceite esencial recolectado en época de secas

AE-2: Aceite esencial recolectado en época de lluvias

Tabla 3.2 Características físicas del aceite esencial de *Montanoa speciosa*

Aceite esencial	Apariencia		
	Teórico (Códex, 2003; Kokate <i>et al.</i> , 2008)	AE-H (Apreciación personal)	AE-F (Apreciación personal)
<i>Montanoa speciosa</i>	No hay reporte	Líquido claro de color amarillo pálido, con aroma maderado	Líquido claro de color amarillo pálido, con aroma maderado.

AE-H: Aceite esencial de hojas

AE-F: Aceite esencial de flores

La mayoría de los aceites esenciales analizados presentaron características de olor y apariencia similares a los reportados en la literatura (Heath, 1981; National Research council, 1972; Chemicals Codex, 2003; Kokate *et al.*, 2008), excepto *Mentha pulegium* (poleo) que presentó características organolépticas diferentes, como lo es su fuerte aroma cítrico.

A los mismos aceites esenciales se les determinó el índice de refracción con un refractómetro de Abbé, utilizando agua destilada como referencia ($n_D = 1.333$), los resultados se mencionan a continuación (Tablas 3.3 y 3.4). La temperatura es un parámetro de influencia en las mediciones del índice de refracción, ya que en la mayoría de los líquidos, éste disminuye 0.000045 al aumentar 1°C. A pesar de que los índices de refracción se obtuvieron a 30°C, el valor corregido no constituye un valor grande de variación comparado con el reportado.

Tabla 3.3 Índices de refracción del aceite esencial de *Montanoa speciosa*

Aceite esencial	Índice de refracción		
	Teórico (Códex, 2003; Kokate <i>et al.</i> , 2008) (20°C)	AE-H (30°C)	AE-F (30°C)
<i>Montanoa speciosa</i>	No hay reporte	1.491	1.502

AE-H: Aceite esencial de hojas

AE-F: Aceite esencial de flores

Tabla 3.4 Índices de refracción de los aceites estudiados

Aceite esencial	Índice de refracción		
	Teórico (Códex, 2003; Kokate <i>et al.</i> , 2008) (20°C)	AE-1 (30°C)	AE-2 (30°C)
<i>Mentha pulegium</i>	1.487-1.494 (Marruecos)	1.481	1.482
<i>Mentha piperita</i>	1.456-1.465 (China) 1.457-1.480 (India)	1.459	1.462
<i>Rosmarinus officinalis</i>	1.457-1.475 (Marruecos, India)	1.475	1.469
<i>Cymbopogon citratus</i>	1.485-1.493 (India)	1.488	1.483

AE-1: Aceite esencial recolectado en época de secas

AE-2: Aceite esencial recolectado en época de lluvias

Los índices de refracción de los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus*, *Mentha piperita* y *Rosmarinus officinalis* obtenidos en época de secas y lluvias (AE-1 y AE-2) respectivamente, se encuentran dentro de los parámetros reportados para los

mismos aceites comerciales cultivados en China, India y Marruecos; excepto el aceite de *Mentha pulegium* que están un poco por debajo del rango.

Mentha pulegium presenta variaciones en su apariencia y en su valor de índice de refracción en relación a lo reportado en la literatura, lo que podría inferir que también se deberían encontrar ligeras variaciones en su composición química (Heath, 1981; National Research council, 1972; Chemicals Codex, 2003; Kokate *et al.*, 2008; Akhila, 2009; Lawrence, 2006; López, 2008).

Al analizar los aceites esenciales de *Montanoa speciosa* obtenidos de la misma planta pero de diferente parte vegetal (AE-H y AE-F), se observó una ligera variación entre los índices de refracción de ambos aceites, lo que podría explicarse debido a diferencias en la composición química, ya sea por ausencia, incremento o decremento en algunos compuestos químicos, principalmente los mayoritarios (National Research council, 1972; Chemicals Codex, 2003; Kokate *et al.*, 2008).

No existen reportes en la literatura acerca del índice refracción de *Montanoa speciosa* tanto de hojas como de flores, aunque se ha encontrado reportes de *Montanoa tomentosa*, especie empleada como abortiva en las regiones del centro del país.

3.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA

3.2.1. Índices de Kóvats experimentales

Para determinar la composición química de los aceites esenciales, se realizó un análisis por medio de cromatografía de gases acoplado a un detector selectivo de masas (CG-EM), para ello, se empleó la metodología del análisis cromatográfico propuesto por Adams. Se obtuvieron los correspondientes cromatogramas y la identificación de los compuestos se realizó por comparación de los patrones de fragmentación obtenidos, con la base de datos del equipo CG-EM (NIST 2007) y por los reportados por Adams (2007).

Para poder correlacionar los datos obtenidos con los de la literatura, se analizó una serie de n-alcanos (n-octano, n-decano, n-tetradecano, n-nonadecano y n-triacontano) para determinar sus tiempos de retención y a partir de éstos calcular los índices de Kóvats de cada uno de los componentes de las muestras de aceites esenciales (Tabla 3.5).

Tabla 3.5 Serie de n-alcanos empleados para la determinación de los índices de Kóvats

HIDROCARBURO	TIEMPO DE RETENCIÓN (t_R) (MIN)
n-octano	2.479
n-decano	6.018
n-tetradecano	21.135
n-nonadecano	39.328
n-triacontano	56.884

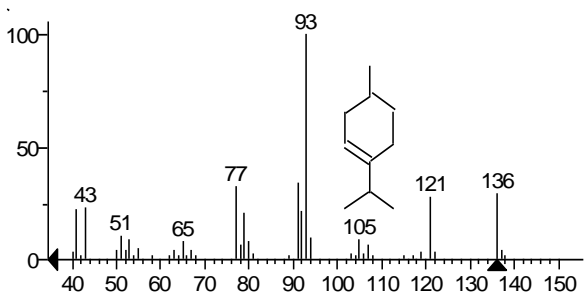
Al mismo tiempo, se analizaron cinco estándares de terpenos, correspondientes a un monoterpeno hidrocarbonado cíclico (γ -terpineno), monoterpeno oxigenado lineal (alcohol) (geraniol), monoterpeno oxigenado cíclico (cetona) (carvona), sesquiterpeno hidrocarbonado tricíclico (α -cubebeno) y sesquiterpeno oxigenado lineal (alcohol) (nerolidol), para comparar los patrones de fragmentación obtenidos con los reportados en la base de datos NIST 2007 (Figuras 3.1 – 3.2), se calcularon los índices de Kóvats de estos compuestos (Tabla 3.6) mediante la aplicación de la fórmula propuesta por Van den Dool y Kratz para calcular el índice de retención lineal (LRI) y así compararlos con los que se encuentran reportados en la literatura.

Tabla 3.6 Estándares de terpenos e Índices de Kóvats

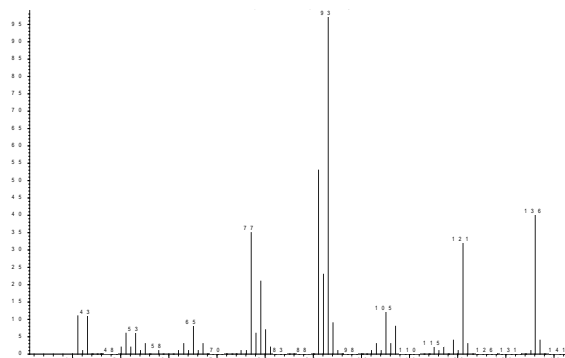
Terpeno	Tiempo de retención (min)	KI_{exp}	KI_{teórico}
γ -terpineno	7.920	1050	1054
Carvona	14.986	1238	1239
Geraniol	15,624	1254	1249
α -cubebeno	26,565	1349	1345
Nerolidol	27,772	1556	1561

Se presentan los espectros de masas de los estándares analizados (inciso b) (Figuras 3.1 – 3.2), comparando con los espectros de masas de la base de datos NIST 2007 (inciso a). Se puede apreciar que los patrones de fragmentación son similares en cuanto a los fragmentos de m/z, difiriendo en algunas ocasiones en la intensidad de algunos iones, lo que puede atribuirse al tipo de analizador empleado.

γ -terpineno

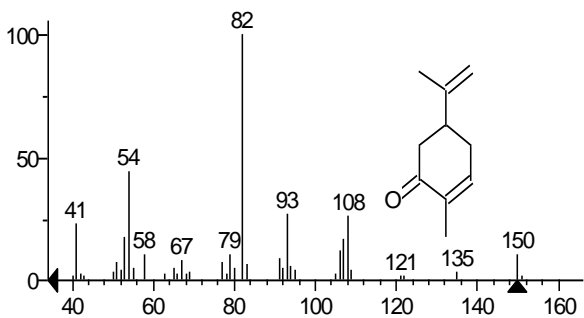


a) Espectro de masas de la base de datos NIST

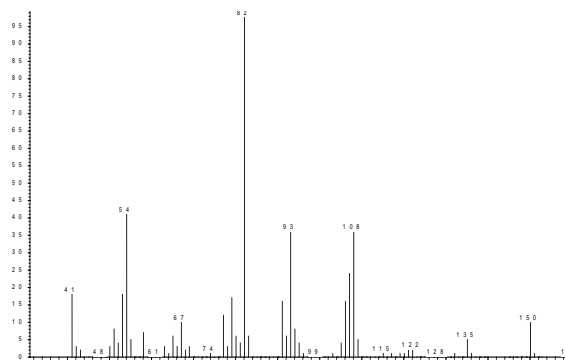


b) Espectro de masas del compuesto eluido a t_R 7.920 min

Carvona

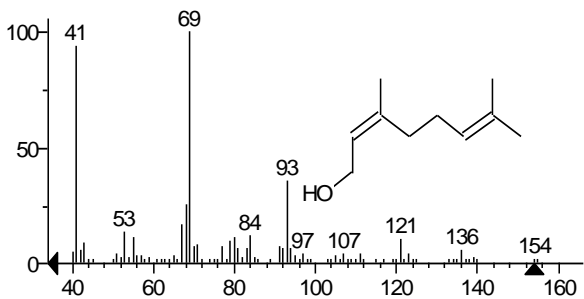


a) Espectro de masas de la base de datos NIST

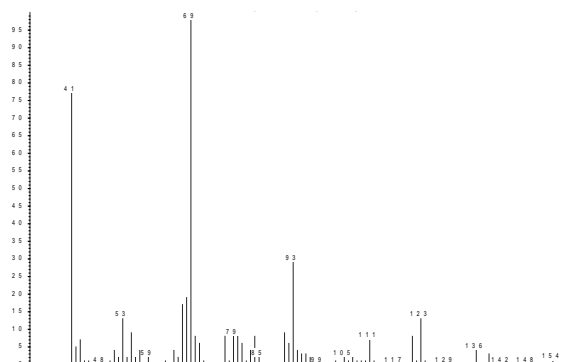


b) Espectro de masas del compuesto eluido a t_R 14.986 min

Geraniol



a) Espectro de masas de la base de datos NIST



b) Espectro de masas del compuesto eluido a t_R 15.624 min

Figura 3.1 Espectros de masas de estándares de monoterpenos

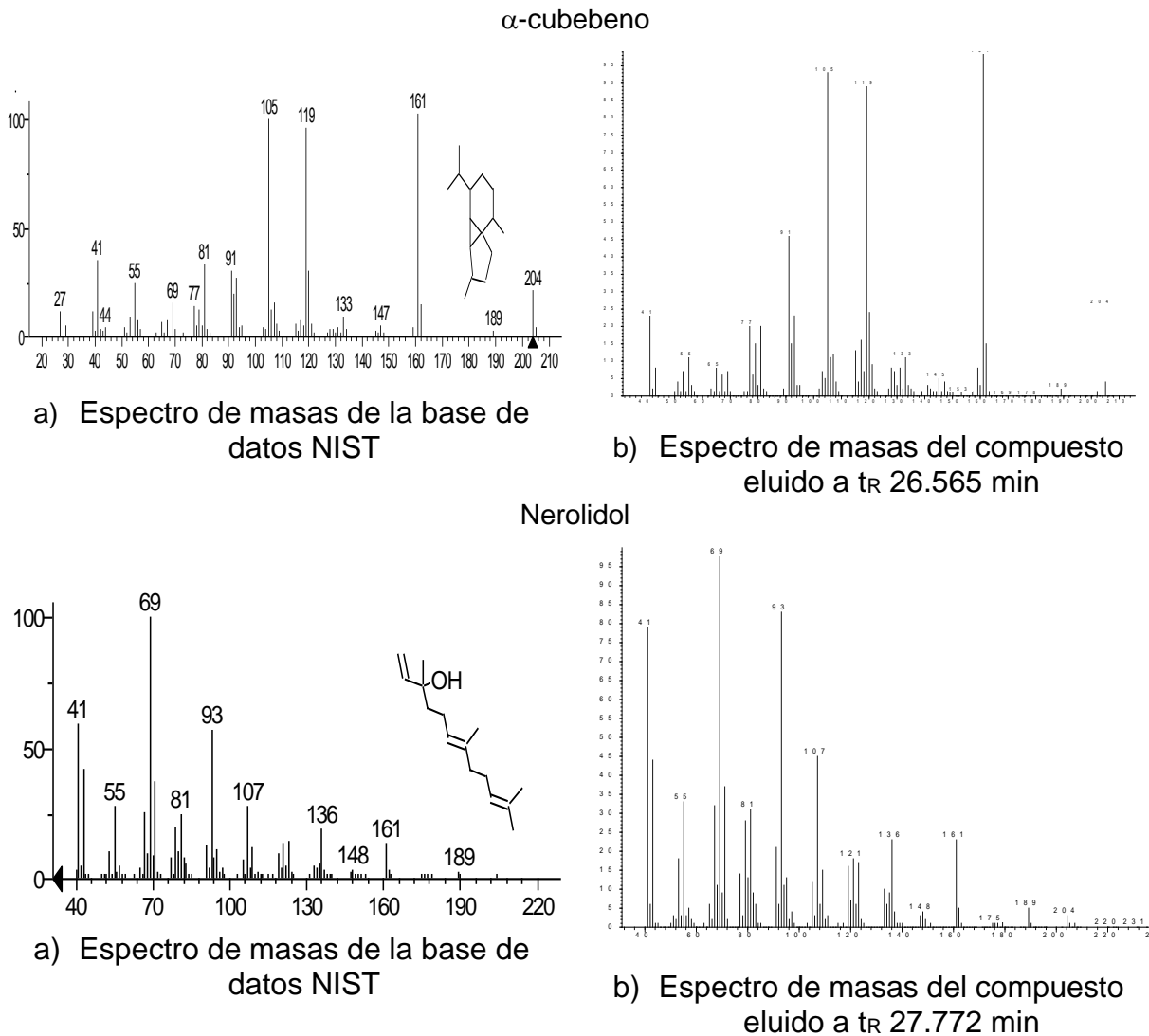


Figura 3.2 Espectros de masas de estándares de sesquiterpenos

Al realizarse el análisis de los resultados cromatográficos de la mezcla de hidrocarburos lineales y la mezcla de compuestos terpénicos de referencia, con los reportados en la literatura, se observó una ligera variación en los índices de Kóvats teóricos y experimentales, no obstante, fue posible realizar el análisis cualitativo de los aceites esenciales, de acuerdo a lo reportado por Adams en el 2007.

Los valores de índice de retención lineal y los espectros de masas obtenidos de los estándares terpénicos, permitió corroborar la información obtenida en las muestras de aceites esenciales de *Montanoa speciosa*, *Cymbopogon citratus*, *Rosmarinus officinalis*, *Mentha pulegium* y *Mentha piperita* analizadas; ya que se realizaron los análisis bajo las mismas condiciones cromatográficas.

3.2.2. Aceite esencial de *Montanoa speciosa* (teresita)

En la Figura 3.3 se observa el perfil cromatográfico del aceite esencial de las hojas de *Montanoa speciosa*, obtenido por hidrodestilación con trampa tipo Clevenger. El tiempo de análisis total fue de 62.50 minutos, no obstante, la mayoría de los compuestos aparecen a tiempos de retención menores de 40 minutos, y posterior a este tiempo no se aprecia señal. Asimismo, se puede observar que hay una mayor cantidad de picos cromatográficos en el intervalo de los tiempos de retención de 20 a 30 minutos.

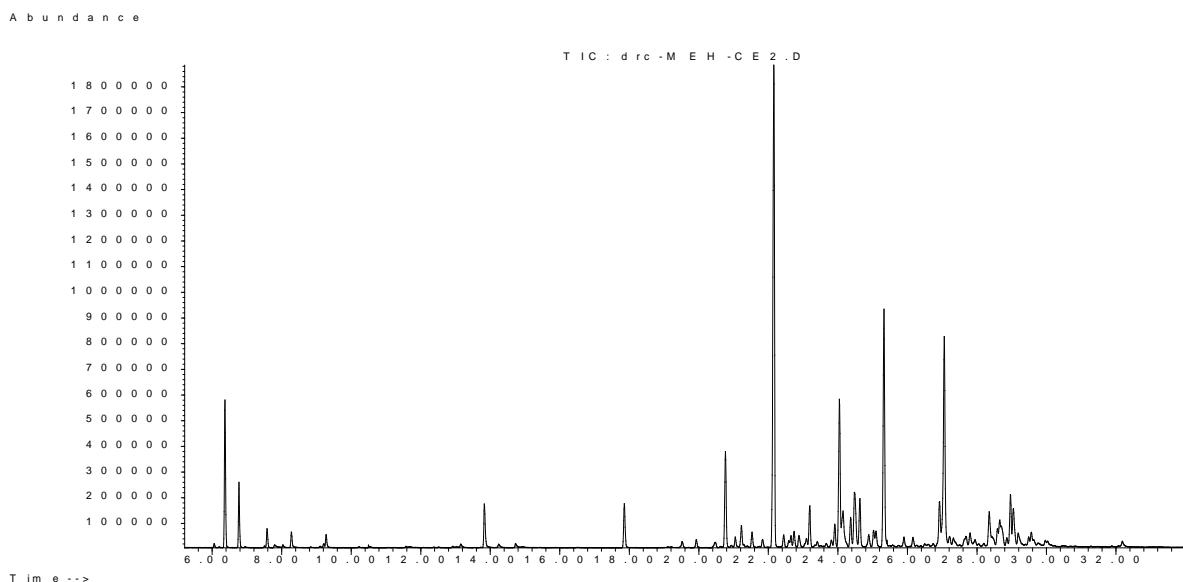


Figura 3.3 Perfil cromatográfico del aceite esencial de las hojas de *Montanoa speciosa* DC

En la Figura 3.4, se observa el perfil cromatográfico del aceite esencial de las flores de *Montanoa speciosa*, el cual es similar al aceite esencial de las hojas, aunque en este caso se puede observar una mayor cantidad de picos cromatográficos en el intervalo de los tiempos de retención de 20 a 30 minutos, en comparación con el aceite esencial de las hojas.

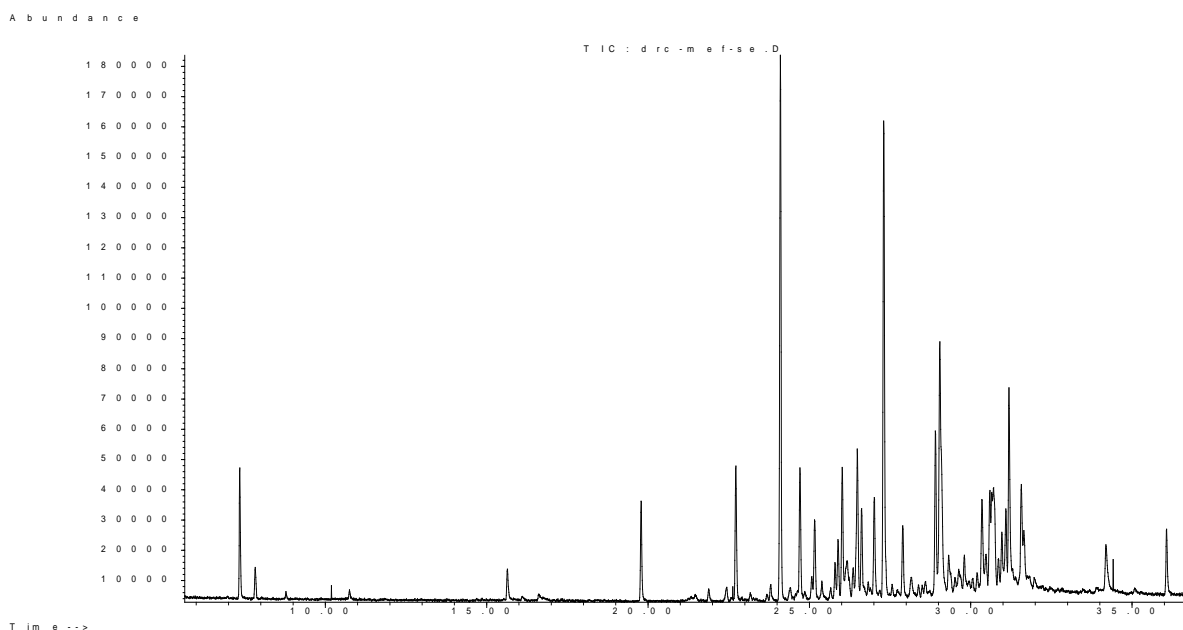


Figura 3.4 Perfil cromatográfico del aceite esencial de las flores de *Montanoa speciosa* DC

En el aceite esencial de las hojas de *Montanoa speciosa*, se cuantificaron 77 compuestos, siendo identificados, tanto por su patrón de fragmentación como con sus respectivos índices de Kóvats, 71 compuestos correspondiéndoles un 98.44% del área total (Tabla 3.7). En tanto que, en el aceite esencial de las flores de *Montanoa speciosa*, se cuantificaron 89 compuestos, siendo identificados, por los mismos parámetros anteriores, 79 compuestos correspondiéndoles un 97.69% del área total.

En la Tabla 3.7 se muestran los compuestos identificados tanto en el aceite esencial de hojas como de flores, junto con los índices de Kóvats calculados y el porcentaje de área de cada uno de los compuestos presentes en *Montanoa speciosa*.

Tabla 3.7 Composición química del aceite esencial de *Montanoa speciosa* DC

No.	COMPUESTO	KI _{exp}	HOJAS		FLORES	
			t _R	% Área	t _R	% Área
1	Triciclono	903	6.060	0.044	6.077	0.090
2	α -pineno	914	6.369	1.652	6.378	3.366
3	Canfeno	931	6.769	0.787	6.782	1.482
4	Sabineno	966	Nd	Nd	6.991	0.037
5	β -pineno	971	7.582	0.272	7.572	0.477
6	Octen-2-ol (3E)	977	7.801	0.223	7.795	0.202
7	NI (m/z, %): 109 (100), 79 (50), 124 (25), 152 (12)	994	8.036	0.057	8.032	0.074
8	<i>o</i> -cimeno	1022	Nd	Nd	9.031	0.053
9	Limoneno	1024	9.195	0.075	9.186	0.106
10	Eucaliptol	1024	9.276	0.317	9.272	0.388
11	<i>Cis</i> -sabineno hidrato	1057	8.142	0.056	8.141	0.049
12	Linalol	1086	9.198	0.003	9.197	0.038
13	α -tujona	1089	Nd	Nd	9.278	0.068
14	<i>Cis</i> -p-ment-2-en-1-ol	1124	Nd	Nd	10.624	0.037
15	<i>Trans</i> -pinocarveol	1132	10.880	0.207	10.879	0.128
16	Canfor	1151	13.830	1.709	13.833	1.565
17	Borneol	1165	14.235	0.211	14.231	0.203
18	4-terpineol	1178	14.173	0.202	14.184	0.230
19	α -terpineol	1184	Nd	Nd	14.750	0.012
20	Acetato de bornilo	1281	17.866	1.664	17.866	1.726
21	α -cubebeno	1349	19.527	0.315	19.526	0.300
22	α -ilangeno	1368	19.917	0.331	19.915	0.339

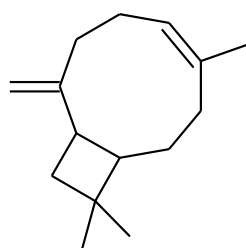
23	NI (m/z, %): 44 (100), 105 (60), 119 (55), 204 (30)	1373	Nd	Nd	20.324	0.040
24	Isoledeno	1376	20.466	0.075	20.470	0.061
25	α -copaeno	1378	20.775	3.858	20.770	3.571
26	β -cubebeno	1384	20.943	0.118	20.942	0.081
27	β -buorboneno	1386	21.048	0.455	21.038	0.315
28	β -elemeno	1392	21.133	0.163	21.144	0.128
29	β -isocomeno	1395	21.234	0.761	21.230	0.547
30	z-cariofileno	1397	21.307	0.204	21.310	0.098
31	α -cedreno	1414	21.857	0.267	21.856	0.242
32	β -cariofileno	1416	22.171	20.734	22.175	17.953
33	NI (m/z, %): 121 (100), 93 (65), 204 (12)	1427	22.584	0.304	22.583	0.319
34	Aromadendreno	1436	22.722	1.160	22.723	1.566
35	NI (m/z, %): 105 (100), 121 (90), 161 (85), 204 (20)	1444	22.884	0.479	22.885	0.394
36	Murola-3,5-dieno (cis)	1449	22.970	0.461	22.969	0.462
37	E- β -farneseno	1452	23.184	1.649	23.173	1.606
38	Aloaromadendreno	1460	23.412	0.331	23.409	0.360
39	Cadina 1(6,4) dieno (trans)	1471	23.671	0.167	23.669	0.193
40	γ -gurjuneno	1477	23.821	0.300	23.820	0.398
41	γ -muroleno	1480	23.929	0.976	23.929	1.029
42	Germacreno D	1485	24.058	6.941	24.047	5.849
43	Aristoloceno	1488	24.143	2.676	24.141	2.400
44	β -selineno	1496	24.374	1.245	24.373	1.080
45	δ -selineno	1499	24.480	3.665	24.478	3.534
46	β -guaiano	1507	24.632	2.023	24.629	1.884
47	α -farneseno	1513	24.879	0.088	24.873	0.138
48	Germacreno A	1515	25.037	0.537	25.041	0.460
49	BHT	1521	25.107	1.770	25.169	1.625
50	δ -cadineno	1532	25.325	9.883	25.324	9.278

51	α -cadineno	1540	25.415	0.166	25.416	0.181
52	α -calacoreno	1546	25.725	0.084	25.719	0.100
53	Selin-3,7(11)-dieno	1551	25.913	0.499	25.912	0.742
54	Elemol	1559	26.162	0.356	26.159	0.374
55	Germacreno B	1562	26.277	0.321	26.276	0.258
56	Nerolidol	1568	Nd	Nd	26.407	0.086
57	NI (m/z, %): 43 (100), 69 (50), 222 (10)	1573	26.503	0.119	26.506	0.137
58	Longipinanol	1573	26.603	0.172	26.613	0.200
59	Germacren D-4-ol	1581	26.743	0.179	26.761	0.164
60	Espatulanol	1587	26.924	2.024	26.919	2.281
61	Óxido de cariofileno	1590	27.075	9.480	27.085	8.675
62	Globulol	1598	27.215	0.772	27.214	0.623
63	Viridiflorol	1601	27.323	0.746	27.333	0.848
64	Carotol	1614	Nd	Nd	27.370	0.185
65	Guaiol	1612	27.510	0.304	27.509	0.385
66	Epóxido de humuleno 2	1614	27.681	0.495	27.689	0.431
67	Óxido de β -himachaleno	1617	27.804	0.603	27.806	0.605
68	NI (m/z, %): 185 (100), 200 (70), 157 (50)	1624	Nd	Nd	27.914	0.168
69	Dilapiol	1623	27.958	0.179	27.957	0.208
70	1-epi-cubenol	1625	28.064	0.414	28.067	0.440
71	α -acarenol	1634	29.208	0.205	29.208	0.267
72	Cadin-4-en-7-ol (cis)	1639	28.368	1.768	28.367	1.807
73	β -acarenol	1645	28.441	0.601	28.443	0.695
74	Epi- α -cadinol	1647	28.595	0.600	28.601	0.948
75	Cariofila-4(12),8(13)dien-5 α -ol	1650	28.669	1.172	28.668	1.288
76	Epóxido de aloaromadreno	1653	28.973	1.205	28.978	1.539
77	Epi- α -murolol	1658	29.058	2.484	29.059	2.236
78	Cubenol	1664	29.187	2.145	29.189	1.354
79	β -eudesmol	1670	Nd	Nd	29.490	0.622
80	α -eudesmol	1669	29.571	0.904	29.679	1.724

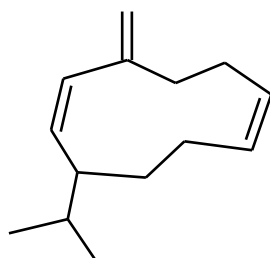
81	Calamenen-10-ol (trans)	1680	29.632	0.464	29.634	0.401
82	9-epi-14-hidroxi-E-cariofileno	1683	29.768	0.524	29.767	0.940
83	Cadaleno	1686	29.975	0.361	29.978	0.533
84	α -bergamotol (Z) trans	1688	30.046	0.337	30.039	0.416
85	Farnesol	1697	30.227	0.303	30.229	0.341
86	NI (m/z, %): 119 (100), 41 (70), 220 (25)	1705	30.183	0.343	30.182	0.313
87	NI (m/z, %): 91 (100), 107 (85), 220 (20)	1768	Nd	Nd	31.849	0.062
88	NI (m/z, %): 43 (100), 121 (40), 220 (10)	1776	32.194	0.282	32.190	0.550
89	NI (m/z, %): 43 (100), 58 (70), 250 (10)	1851	Nd	Nd	34.851	0.295

NI= No identificado. Nd= No se encuentra en el aceite esencial.

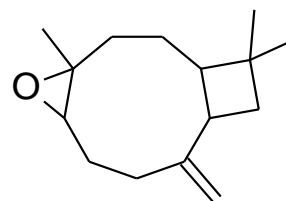
Se puede observar, que tanto en el aceite esencial de hojas y flores, los compuestos mayoritarios, respectivamente, son β -cariofileno (20.734%, 17.953%), δ -cadineno (9.883%, 9.278%), óxido de cariofileno (9.480%, 8.675%) y germacreno D (6.941%, 5.849%) todos ellos representantes de la familia sesquiterpénica, principalmente de la serie hidrocarbonada. De la familia monoterpénica, para los aceites esenciales de las hojas y flores, respectivamente, se tiene que los compuestos mayoritarios fueron α -pineno (1.652%, 3.366%) y acetato de bornilo (1.664% y 1.726%). Asimismo se encontró un pequeño porcentaje de compuestos pertenecientes a la serie aromática, para los aceites de hojas y flores, siendo el cadaleno (0.337%, 0.533%) el compuesto representativo (Figuras 3.5 – 3.7).



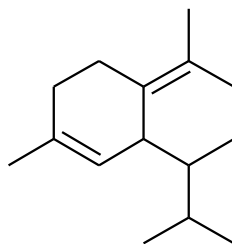
β -cariofileno



Germacreno D

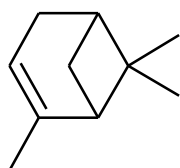


Óxido de cariofileno

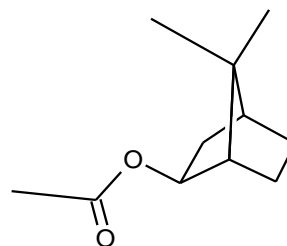


δ -cadineno

Figura 3.5 Compuestos mayoritarios de la serie sesquiterpénica encontrados en el aceite esencial de *Montanoa speciosa*

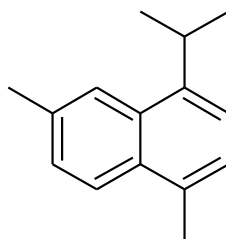


α -pineno



Acetato de bornilo

Figura 3.6 Compuestos de la serie monoterpénica identificados en el aceite esencial de *Montanoa speciosa*



Cadaleno

Figura 3.7 Compuestos de la serie aromática encontrados en el aceite esencial de

Montanoa speciosa

De los compuestos identificados, la mayor parte del aceite esencial de las hojas y flores de *Montanoa speciosa* DC, está representada por la fracción sesquiterpénica (85.330% y 81,619% respectivamente), seguida por la fracción monoterpénica (5,359% y 10.002%) así como compuestos alifáticos y compuestos derivados de la serie aromática (5.913% y 6.030%). No se pudieron identificar 3.424% de los compuestos para el aceite esencial de hojas, y para las flores el 2.252%. (Tabla 3.8).

Tabla 3.8 Distribución por grupos de los componentes identificados en los aceites esenciales de *Montanoa speciosa* DC.

CLASES DE COMPUESTOS	Hojas	Flores
	% de área	
Compuestos alifáticos/Serie aromática (V)	3.237	3.630
Monoterpenos hidrocarbonados (MH)	2.755	5.558
Monoterpenos oxigenados (MO)	2.604	4.444
Sesquiterpenos hidrocarbonados (SH)	59.954	54.411
Sesquiterpenos oxigenados (SO)	28.052	29.608
No identificados (NI)	3.424	2.352

En la literatura no existen reportes relacionados con la composición química de los aceites esenciales de *Montanoa speciosa* DC, sin embargo, se tienen reportes del estudio de los aceites esenciales de *Montanoa tomentosa*, planta utilizada por las poblaciones indígenas del centro del país como abortiva. Compadre *et al.*, (1987) realizaron el análisis por CG-EM de las hojas y encontraron que los compuestos mayoritarios fueron acetato de bornilo, β -cubebeno y β -cariofileno. En tanto que, Robles *et al.* (2006) realizaron el análisis de la composición química de las hojas y

flores de *Montanoa tomentosa* por SPME-CG-EM y encontraron en ambos casos, que más del 65% de los compuestos pertenecen a la serie monoterpénica, siendo los compuestos sabineno, α -pineno y α -tujeno, los mayoritarios; a diferencia de lo observado en *Montanoa speciosa* en este estudio.

Los resultados obtenidos indican que los aceites esenciales de hojas y flores de *Montanoa speciosa* DC obtenidos con hidrodestilación con trampa tipo Clevenger presentan contenido mayor del 85% de compuestos de tipo sesquiterpénico y de éstos, más del 54% corresponde a compuestos sesquiterpénicos hidrocarbonados, representados por β -cariofileno, δ -cadineno, óxido de cariofileno y germacreno D, en ambos casos. Sin embargo, se observan ligeras diferencias en la composición de los aceites esenciales, ya que el aceite esencial de hojas presenta una mayor proporción de compuestos sesquiterpénicos, en tanto que el aceite esencial obtenido de las flores presenta una mayor proporción de compuestos monoterpénicos y compuestos oxigenados.

Estos resultados son similares al estudio realizado en el aceite esencial obtenido de plantas del género *Phlomis* (Lamiaceae), los cuales presentaron un alto contenido de compuestos sesquiterpénicos, sobresaliendo β -cariofileno, germacreno D y óxido de cariofileno. En este mismo estudio, los resultados obtenidos en los ensayos antimicrobianos y de actividad antioxidante sugerían la utilización de estos aceites en la conservación de alimentos, debido a la presencia de compuestos sesquiterpénicos (Demirci *et al.*, 2008). Se encuentra reportado que los sesquiterpenos son compuestos que pueden presentar diversas actividades biológicas, como son alergénicas, antibióticas, alelopáticas, entre otras más (Seigler, 2002).

Es necesaria la realización de algunas pruebas de actividad antimicrobianas, sin embargo, de manera general, es posible inducir considerando la composición química, que el aceite esencial de *Montanoa speciosa*, puede emplearse para la conservación de alimentos, según datos aportados en 2010 por Rosas-Gallo *et al.*,

donde mencionan el mecanismo de acción de antimicrobianos naturales obtenidos a partir de plantas; citando por ejemplo, a los compuestos hidrofóbicos de los aceites esenciales, los cuales son capaces de entrar en el periplasma de las bacterias *Gram* negativas a través de las proteínas de la membrana externa.

3.2.3. Aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (Yerba limón, lemongrass)

Se analizaron dos aceites esenciales de *C. citratus* que tienen condiciones geobotánicas diferentes (AE-1 y AE-2, pertenecientes a época de secas y de lluvias respectivamente) y que fueron obtenidos por el mismo método de extracción bajo condiciones de trabajo similares.

El análisis del aceite esencial AE-1 (época de secas) obtenido de las hojas de *C. citratus*, por CG-EM, permitió la integración de 67 picos (Figura 3.8).

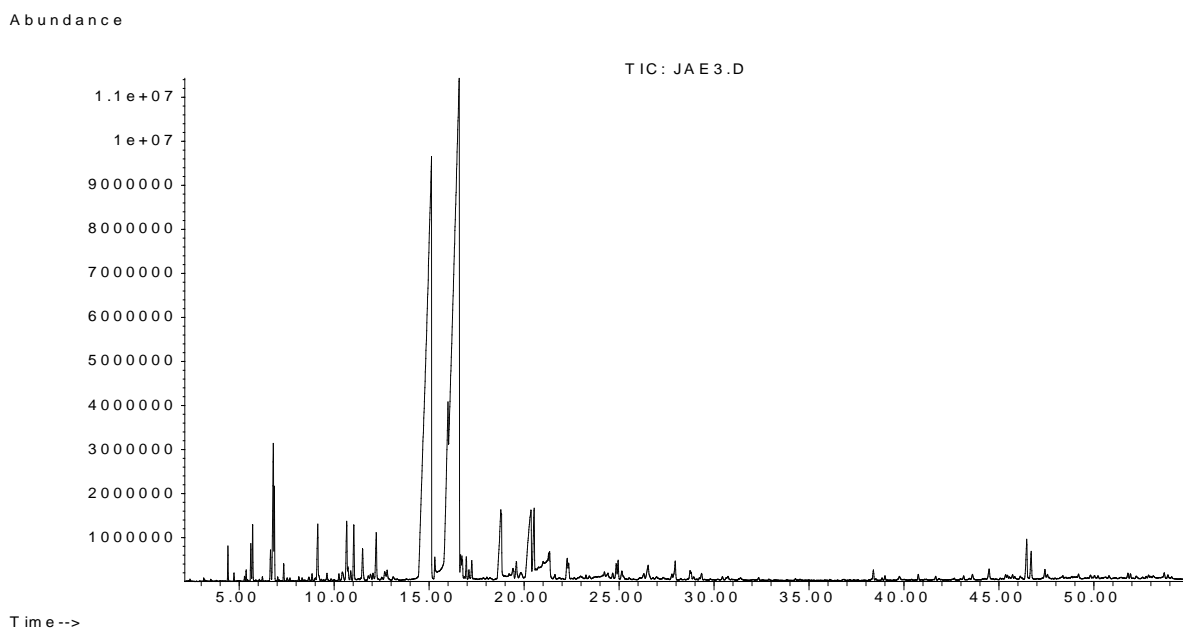


Figura 3.8 Perfil cromatográfico del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (AE-1) de la época de secas

Como se aprecia en la Figura 3.8, los compuestos aparecen en un intervalo de 50 minutos. Los picos cromatográficos que presentan una mayor área, se registran en un intervalo de tiempo de 13 a 18 minutos.

El análisis del aceite esencial AE-2 (época de lluvias) obtenido de las hojas de *C. citratus*, por CG-EM, permitió la integración de 47 picos (figura 3.9).

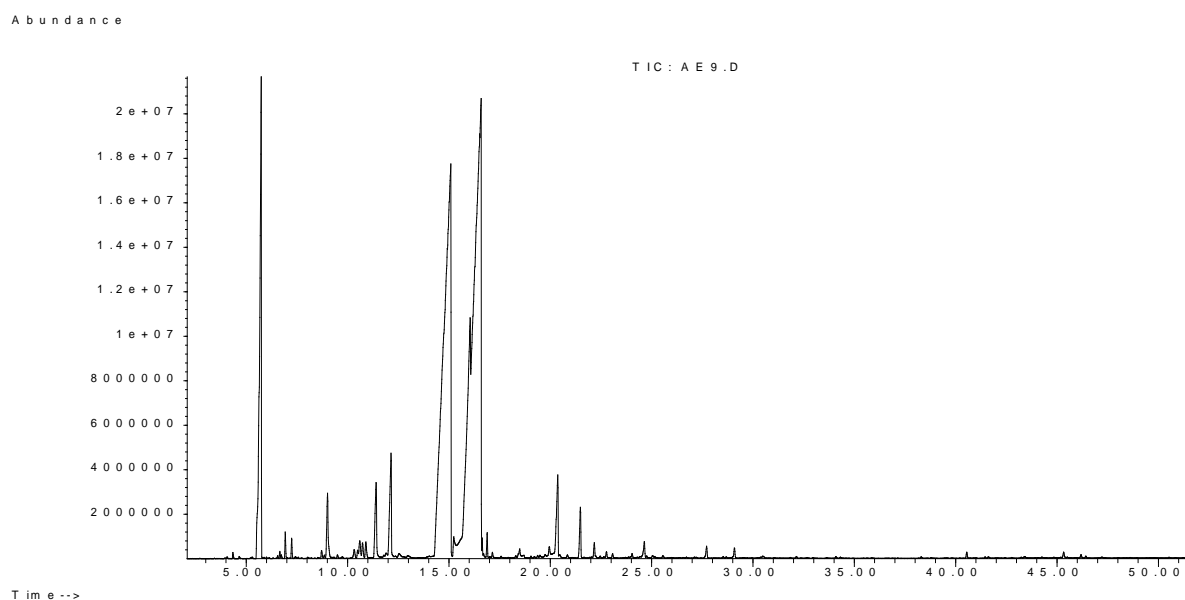


Figura 3.9 Perfil cromatográfico del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (AE-2) de la época de lluvias

Como se aprecia en la Figura 3.9, los compuestos aparecen en un intervalo de 50 minutos. Los picos cromatográficos que presentan una mayor área, se registran en un intervalo de tiempo de 13 a 18 minutos. El perfil cromatográfico del aceite esencial de la época de lluvias es relativamente diferente y menos complejo que el perfil del aceite de la época de secas.

El análisis de la composición química por comparación con la base de datos NIST 2007 con los espectros de masas de los compuestos de los aceites, así como el análisis de los índices de Kóvats y del porcentaje relativo calculados a partir del análisis de área de los picos cromatográficos, permitió la identificación y cuantificación relativa de los siguientes compuestos (Tabla 3.9).

Tabla 3.9 Composición química de los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus*

No	Compuesto	K _I _{exp}	AE-1		AE-2	
			t _R min	%área	t _R min	%área
1	α -pineno	909	4.417	0.231	4.347	0.057
2	Canfeno	931	4.730	0.062	Nd	Nd
3	4 (10) tujeno	960	5.287	0.034	Nd	Nd
4	β -pineno	966	5.368	0.082	Nd	Nd
5	6-metil-5-hepten-2-ona	980	5.623	0.322	5.700	0.300
6	β -mirceno	986	5.716	0.470	5.739	9.001
7	p-cimeno	1015	6.656	0.361	6.552	0.026
8	Limoneno	1019	6.795	1.731	6.656	0.063
9	Eucaliptol	1021	6.865	0.667	6.737	0.036
10	Cis- β -ocimeno	1024	Nd	Nd	6.934	0.229
11	Trans- β -ocimeno	1034	7.352	0.154	7.248	0.185
12	Dihidro mircenol	1075	8.837	0.075	8.721	0.101
13	p-cresol	1076	Nd	Nd	8.860	0.039
14	Linalol	1083	9.139	0.776	9.011	1.079
15	Óxido de α -pineno	1096	9.626	0.091	9.499	0.041
16	Óxido de cis limoneno	1111	10.253	0.069	Nd	Nd
17	Hidrato de cis pineno	1116	10.438	0.179	10.334	0.151
18	Canfor	1121	10.670	0.777	10.496	0.099
19	p-ment-3-en-8-ol	1124	10.728	0.155	10.601	0.302

20	Fotocitral a	1128	10.879	0.121	10.740	0.226
21	Mentona	1132	11.042	0.664	Nd	Nd
22	Citronelal	1132	Nd	Nd	10.902	0.249
23	Isoborneol	1145	11.506	0.476	11.414	1.420
24	Virideno	1155	11.912	0.105	11.796	0.044
25	Borneol	1158	12.051	0.109	11.912	0.099
26	1,3,4-Trimetil-3-ciclohexenil- 1-carboxaldehido	1163	12.225	0.684	12.144	2.038
27	Isomentol	1174	12.666	0.171	12.550	0.131
28	Estragol	1180	12.793	0.174	Nd	Nd
29	β -citral (Neral)	1241	15.126	30.788	15.079	33.091
30	Geraniol	1244	Nd	Nd	15.242	0.544
31	Piperitona	1246	15.311	0.417	Nd	Nd
32	α -citral (Geranial)	1274	16.396	45.106	16.278	45.639
33	Óxido de acetato de linalol	1281	Nd	Nd	16.645	0.130
34	Limonen-10-ol	1281	16.657	0.324	Nd	Nd
35	γ -Terpinen-7-al	1283	16.727	0.306	Nd	Nd
36	2-undecanona	1289	16.959	0.240	16.889	0.242
37	2-etil isomentona	1294	17.098	0.100	Nd	Nd
38	Formato de geranilo	1294	Nd	Nd	17.144	0.061
39	Carvacrol	1297	17.249	0.204	Nd	Nd
40	Acetato de terpinilo	1331	Nd	Nd	18.490	0.124
41	Nerolato de etilo	1339	18.780	2.034	Nd	Nd
42	Eugenol	1355	19.418	0.221	19.384	0.034
43	Acetato de nerilo	1359	19.604	0.268	19.500	0.054
44	Lavandulal	1365	19.836	0.166	19.755	0.078
45	Oxiranocarbaldehido-3- metil-3-(4-metil-3-pentenil)	1368	Nd	Nd	19.964	0.245
46	2,2,6-trimetil biciclo	1379	20.370	2.783	Nd	Nd

	[4.1.0]hept-1-il metanol					
47	Acetato de trans mirtanol	1382	20.532	1.215	20.370	1.738
48	Ácido geránico	1389	20.625	0.179	Nd	Nd
49	Ácido 3,7,11-trimetil-dodeca- 2,6,10-trienoico	1389	20.764	0.279	Nd	Nd
50	Longifoleno	1392	Nd	Nd	20.846	0.052
51	Ácido nerólico	1397	21.008	0.739	Nd	Nd
52	Ácido nérico	1405	21.286	0.955	Nd	Nd
53	4a-metil-trans-2-decalinona	1405	21.344	0.377	Nd	Nd
54	β -cariofileno	1408	Nd	Nd	21.484	0.712
55	4-hidroxi-3-pentil- ciclohexanona	1430	22.272	0.352	Nd	Nd
56	α -cis-bergamoteno	1430	22.354	0.198	22.180	0.215
57	α -humuleno	1444	Nd	Nd	22.771	0.074
58	β -farneseno	1452	Nd	Nd	23.073	0.053
59	γ -himachaleno	1480	Nd	Nd	24.036	0.080
60	2,5-octadecadiinoato de metilo	1485	24.233	0.125	Nd	Nd
61	(Z) isobutirato de 3,7-dimetil- 2-Octen-1-ol	1496	24.674	0.103	Nd	Nd
62	2-tridecanona	1499	24.860	0.222	24.639	0.289
63	Pentadecano	1504	24.953	0.233	Nd	Nd
64	β -bisaboleno	1507	Nd	Nd	25.046	0.049
65	NI (m/z, %): 85 (100), 41 (80), 59 (75)	1510	25.150	0.177	Nd	Nd
66	δ -cadineno	1521	Nd	Nd	25.556	0.047
67	Acetato de Z (13,14 epoxi) tetradec-11-en-1-ol	1543	26.310	0.140	Nd	Nd
68	Epóxido de italeceno	1548	26.531	0.368	Nd	Nd

69	Epóxido de himachaleno	1584	27.795	0.095	Nd	Nd
70	Óxido de cariofileno	1584	27.958	0.335	27.714	0.179
71	Hexadecano	1609	28.747	0.156	Nd	Nd
72	Acetato de 2,6,6-trimetil-2-ciclohexen-1-ilo	1612	28.805	0.080	Nd	Nd
73	10-epi- γ -eudesmol	1620	Nd	Nd	29.095	0.154
74	1-epi-cubenol	1625	29.350	0.103	Nd	Nd
75	Farnesol isómero a	1875	38.388	0.150	Nd	Nd
76	3,7,11,15-tetrametil-1,6,10,14 hexadecatetraen-3-ol	1988	40.755	0.078	40.546	0.075
77	Derivado de esterol	2169	43.609	0.104	Nd	Nd
78	Alcohol de cadena larga	2225	44.491	0.187	Nd	Nd
79	NI (m/z, %): 69 (100), 151 (45), 41 (40)	2331	Nd	Nd	46.185	0.046
80	NI (m/z, %): 69 (100), 151 (50), 41 (45)	2344	46.463	0.654	Nd	Nd
81	NI (m/z, %): 69 (100), 139 (50), 151 (45)	2363	46.695	0.425	Nd	Nd
82	NI (m/z, %): 69 (100), 41 (60), 93 (40)	2406	47.426	0.091	Nd	Nd
83	NI (m/z, %): 151 (100), 69 (90), 41 (50)	2681	51.800	0.068	Nd	Nd
84	NI (m/z, %): 69 (100), 151 (70), 41 (60)	2800	53.715	0.119	Nd	Nd

NI= No identificado Nd= No se encuentra en el aceite esencial

AE-1: Aceite esencial obtenido en la época de secas

AE-2: Aceite esencial obtenido en la época de lluvias

El aceite esencial de Lemongrass, como también es conocido, tiene un amplio uso en alimentos y bebidas, y está involucrado también en perfumería, productos de cuidado personal y en la manufactura de jabones. Este tipo de aceite esencial está caracterizado por presentar un alto contenido de citral (> 45%) y su calidad se determina generalmente por la cantidad de citral presente en el aceite. El citral es una mezcla de dos aldehídos monoterpénicos estereoisoméricos: geranial (citral α , trans citral) y neral (cis-citral, citral β), con predominancia del primero (Kumari *et al.*, 2009; Menut *et al.*, 2000) (Figura 3.10).

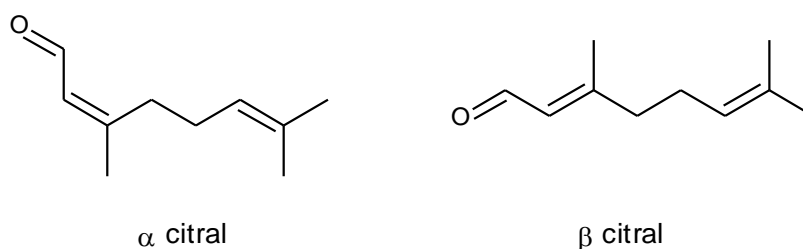


Figura 3.10 Principales compuestos mayoritarios encontrados en *C. citratus*

Para los aceites esenciales AE-1 (secas) y AE-2 (lluvias), los compuestos mayoritarios fueron los monoterpénos acíclicos oxigenados geranial y neral con 45.106% y 30.788%, respectivamente para el aceite esencial de la época de secas y 45.639% y 33.091%, respectivamente, para el aceite esencial de la época de lluvias. Por consiguiente, el contenido porcentual relativo de citral para la época de secas es de 75.895% y para la época de lluvias, es de 78.730%.

Los resultados del aceite esencial de la época de lluvias, son similares a los obtenidos en el aceite esencial de *C. citratus* cultivado en Togo, que presentó 45.2% de geranial y 32.4% de neral (Koffi *et al.*, 2009); en el aceite esencial comercial de té limón obtenido de Alemania se observó un contenido de neral y geranial de 33.9% y

45.7%, respectivamente (Baratta *et al.*, 1998). En cuanto a los resultados obtenidos de *C. citratus* cultivado en Yucatán, durante la época de secas, el contenido de geranial se encuentra dentro de los porcentajes reportados anteriormente, sin embargo, en cuanto al contenido del compuesto monoterpénico oxigenado neral estos porcentajes son similares a los reportados para el aceite esencial comercial de Pakistán que reportó un contenido de 32% de neral (Saleem *et al.*, 2002; Saleem *et al.*, 2003), y al aceite esencial cultivado en Nigeria que reportó un 26.5% de neral (Kasali *et al.*, 2001).

Dentro de los posibles usos del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* cultivado en el estado de Yucatán, se encuentra su aplicación en la industria de la perfumería, donde el contenido relativo de citral se emplea como estándar de calidad, considerándose buenos los valores de >75% (Gaydou, 1988; Antolinez *et al.*, 2008; Almeida *et al.*, 2008), y tanto el aceite esencial de la época de secas como el aceite esencial de la época de lluvias cumplen con este requisito, ya que ambos tienen más del 75% de contenido de citral, considerándose entonces un aceite esencial de buena calidad. Asimismo, según la farmacopea brasileña, los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus* deben contener al menos 60% de citral para poder emplearse con fines terapéuticos (Almeida *et al.*; 2008), lo que también hace posible la utilización del aceite esencial cultivado en Yucatán en este rubro.

Otros compuestos de mayor abundancia para el AE-1 (época de secas) fueron 2,2,6-trimetil biciclo [4.1.0] hept-1-il metanol con un 2.783% (monoterpeno oxigenado), limoneno (monoterpeno hidrocarbonado) con 1.731% y acetato de trans mirtanilo con 1.215% de área (monoterpeno oxigenado). En tanto que para AE-2 (época de lluvias) otros compuestos mayoritarios son β -mirceno con 9.001% (monoterpeno hidrocarbonado), 1,3,4-Trimetil-3-ciclohexenil-1-carboxaldehído con 2.038% (monoterpeno oxigenado), acetato de trans mirtanilo con 1.738% (monoterpeno oxigenado), isoborneol 1.420% (monoterpeno oxigenado) y linalol 1.079% (monoterpeno oxigenado).

Tabla 3.10 Distribución por grupos de los componentes identificados en el aceite esencial de *Cymbopogon citratus*

CLASE DE COMPUESTO	AE-1		AE-2	
	No Comp	% área	No Comp	% área
Serie aromática (ARO)	3	0.756	3	0.099
Monoterpenos hidrocarbonados (MH)	7	2.764	5	9.535
Monoterpenos oxigenados(MO)	25	85.515	21	87.474
Sesquiterpenos hidrocarbonados (SH)	1	0.198	8	1.282
Sesquiterpenos oxigenados (SO)	5	0.962	2	0.333
Otros	20	8.275	7	1.230
No identificados (NI)	6	1.534	1	0.046

AE-1: Aceite esencial obtenido en la época de secas

AE-2: Aceite esencial obtenido en la época de lluvias

Como puede observarse (Tabla 3.10), ambos aceites esenciales de yerba limón son ricos en compuestos oxigenados, principalmente del tipo monoterpénico, sobresaliendo con un 85.5-87.4% de área. En términos generales, la fracción monoterpénica es la más abundante, ya que suma alrededor de 88.2-97.0% de área. Aunque es el aceite esencial de la época de lluvias el que presenta una mayor proporción de esta clase de compuestos.

Koffi *et al.* (2009), encontraron que el aceite esencial de *C. citratus* de Togo, presentaba un alto contenido de neral y geranial (32.4 y 45.2% respectivamente), en donde la fracción monoterpénica oxigenada tenía una mayor predominancia con un

área de 86.4%. Un estudio realizado en 2010 en aceites esenciales de Colombia reportó la actividad contra plagas tropicales, en cuyo contenido encontraron geranial (34.4%), neral (28.4%) y geraniol (11.5%) (Olivero-Verbel *et al.*, 2010).

Un estudio realizado en los aceites esenciales de Zambia obtenidos por hidrodestilación, determinó que los compuestos mayoritarios eran geranial con 39%, neral con 29.4% y mirceno con 18% de área, predominando los compuestos monoterpénicos oxigenados, aunque se concluyó que en términos de utilización industrial el contenido de citral estaba por debajo del 75% requerido (Chisowa *et al.*, 1998). En el 2008, Almeida *et al.*, encontraron que el aceite esencial de 12 muestras brasileñas tenía como compuestos mayoritarios al neral y geranial, como componentes mayoritarios, con un porcentaje que variaba de 40.7% a 75.4%, la mayoría de estos aceites esenciales se encontraban por debajo del 75% de contenido de citral.

Neral, geranial, limoneno, citronelal, mirceno y geraniol, han sido identificados como marcadores en el aceite esencial de *C. citratus*. Los marcadores son compuestos o clases de compuestos químicos responsables de la actividad biológica que pueden ser utilizados como referencia para evaluación de control de calidad. (Schaneberg *et al.*, 2002). En los aceites esenciales cultivados en Yucatán no se encontró citronelal, situación similar reportada en el aceite esencial de Israel y Brasil (Lewinsohn *et al.*, 1998; Almeida *et al.*, 2008).

Otro marcador que se encuentra en ambos aceites esenciales, el β -mirceno, presenta una diferencia en cuanto al contenido relativo, ya que en el aceite esencial de la época de secas se encuentra alrededor de 0.47%, y en el aceite esencial de las épocas de lluvias está en un 9.001%. El contenido de mirceno debe estar entre 2-19% para evitar problemas de solubilidad del aceite en alcohol (Kasali *et al.*, 2001). Asimismo, el geraniol no se encuentra en AE-2 (lluvias) y en AE-1 (secas) está en un pequeño porcentaje.

Todas estas características, llevan a considerar que las condiciones geobotánicas de cultivo influyen en la composición química, ya que los dos aceites esenciales cultivados y recolectados en diferentes épocas del año, presentan diferencias en cuanto a su composición relativa, lo cual limita los usos y/o aplicaciones que pudieran darse al aceite esencial.

3.2.4. Aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero)

El análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas del aceite esencial AE-1 (época de secas), obtenido de las hojas de *R. officinalis* cultivado en Yucatán, permitió la integración de 64 picos cromatográficos (Figura 3.11).

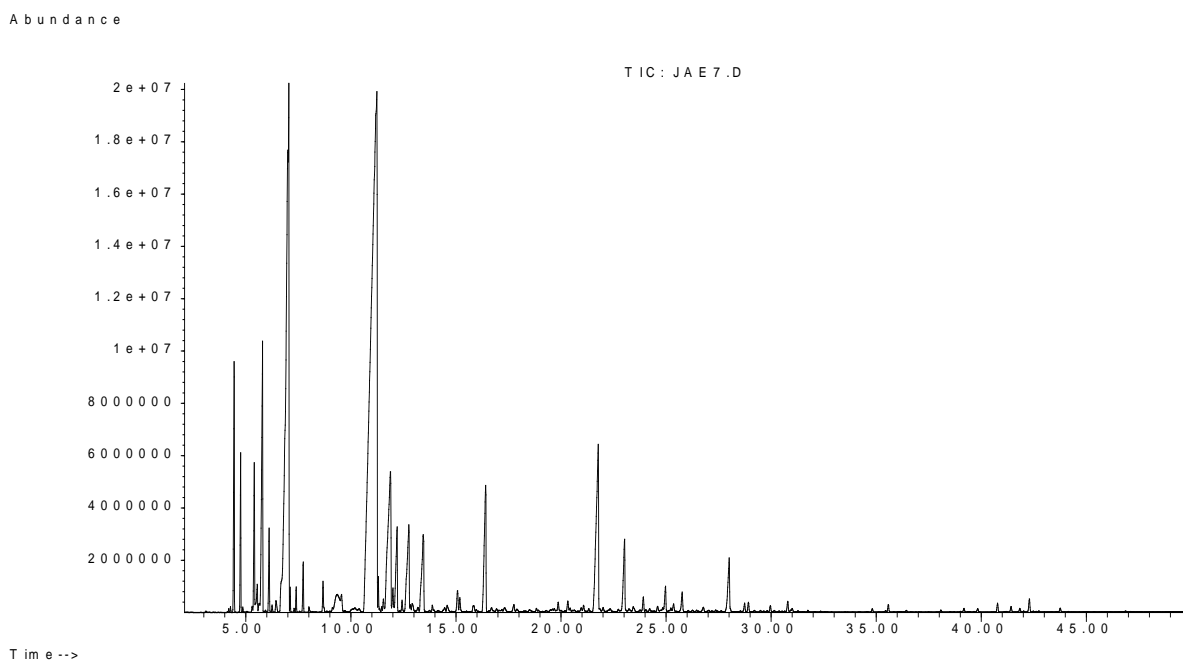


Figura 3.11 Perfil cromatográfico del aceite esencial de *R. officinalis* (AE-1) de la época de secas

Como se aprecia en la Figura 3.11, los compuestos aparecen en un intervalo de 50 minutos. Los picos cromatográficos mayoritarios, eluyen en un intervalo de tiempo de seis a ocho minutos y de 10 a 12 minutos.

Asimismo, en el análisis cromatográfico de AE-2 (época de lluvias) del aceite esencial de *R. officinalis*, se puede observar el siguiente perfil, en el cual se integraron un total de 65 picos cromatográficos (Figura 3.12).

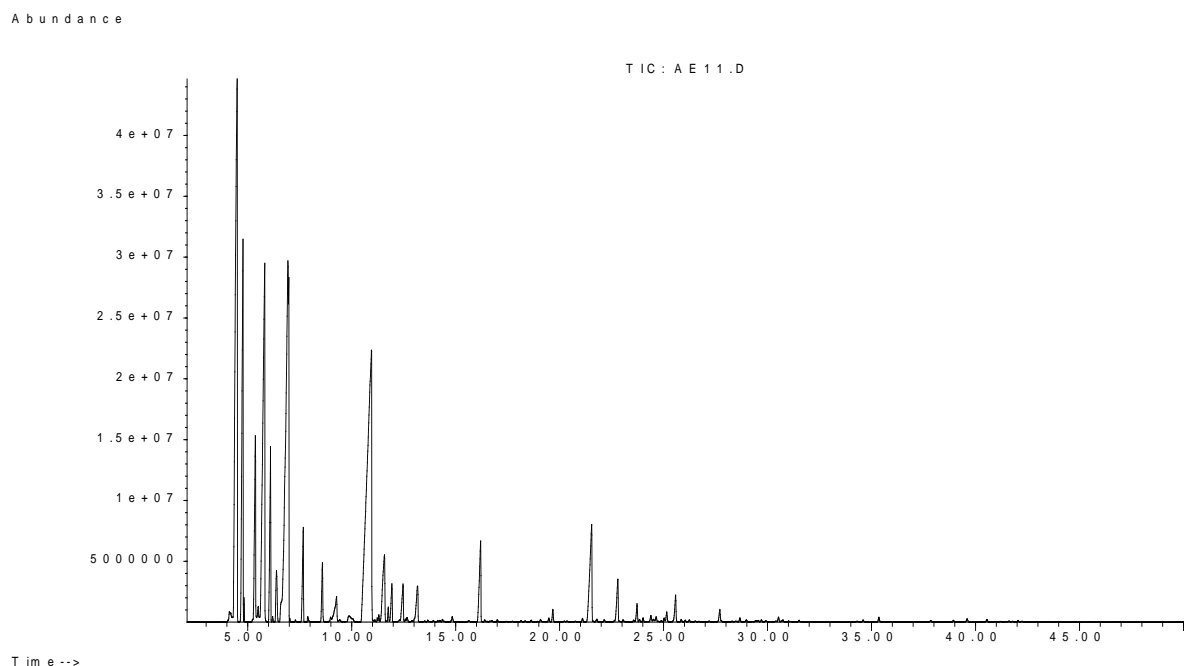


Figura 3.12 Perfil cromatográfico del aceite esencial de *R. officinalis* (AE-2) de la época de lluvias

Como se puede observar en la Figura 3.12, los compuestos aparecen en un intervalo de 45 minutos. Los picos cromatográficos mayoritarios, eluyen en un intervalo de tiempo de cuatro a siete minutos y de nueve a doce minutos.

Al comparar ambos cromatogramas (Figuras 3.11 y 3.12), se observan pequeñas diferencias en los perfiles de los compuestos mayoritarios, principalmente, en la región de cuatro a siete minutos donde la abundancia relativa para los compuestos que aparecen en este intervalo es mayor para el aceite esencial de la época de lluvias.

El análisis por espectrometría de masas, por comparación de los patrones de fragmentación obtenidos de los aceites con los espectros de masas de la base de datos NIST 2007; así como el análisis de los índices de Kóvats, permitió determinar la composición química de los aceites esenciales de *R. officinalis* cultivados en Yucatán bajo condiciones geobotánicas diferentes (Tabla 3.11).

Tabla 3.11 Composición química de las hojas de *Rosmarinus officinalis*

No	Compuesto	K _I _{exp}	AE-1		AE-2	
			t _R	%área	t _R	%área
1	Triciclono	897	Nd	Nd	4.156	0.430
2	α -tujeno	903	4.277	0.046	Nd	Nd
3	α - pineno	914	4.452	2.368	4.486	16.712
4	Canfeno	931	4.753	1.230	4.776	6.677
5	3Z-heptenol	937	4.858	0.039	4.834	0.166
6	Sabineno	960	5.310	0.062	Nd	Nd
7	β -pineno	966	5.403	1.466	5.368	3.446
8	1-octen-3-ol	974	5.554	0.441	5.507	0.323
9	3-octanona	983	5.647	0.138	Nd	Nd
10	Mirceno	989	5.797	3.910	5.809	11.225

11	α -felandreno	1003	6.111	0.802	6.099	2.704
12	δ -3-careno	1005	6.250	0.070	6.203	0.061
13	α -terpineno	1011	6.436	0.192	6.389	1.024
14	Eucaliptol	1025	7.039	19.897	6.946	18.301
15	cis- β -ocimeno	1026	7.108	0.172	7.027	0.029
16	Fenilacetaldehído	1034	7.306	0.036	Nd	Nd
17	Trans- β -ocimeno	1036	7.399	0.216	7.366	0.024
18	γ -terpineno	1044	7.735	0.486	7.677	1.550
19	Cis sabineno hidrato	1053	8.013	0.067	7.897	0.085
20	Terpinoleno	1069	8.675	0.349	8.594	0.939
21	Linalol	1085	9.359	0.947	9.133	0.961
22	Acetato de 3Z heptenilo	1093	9.557	0.308	Nd	Nd
23	Óxido de cis rosa	1103	Nd	Nd	9.893	0.294
24	Cis-p-ment-2-en-1-ol	1111	10.195	0.126	Nd	Nd
25	Canfor	1134	11.239	39.791	10.949	19.961
26	Isopulegol	1135	Nd	Nd	11.123	0.030
27	Mentona	1138	Nd	Nd	11.239	0.050
28	Neo-3-tujanol	1140	Nd	Nd	11.308	0.097
29	Isomentona	1140	11.308	0.290	Nd	Nd
30	Trans-3-pinanona	1143	11.471	0.051	Nd	Nd
31	Mentofurano	1146	11.552	0.168	Nd	Nd
32	Borneol	1151	11.889	5.471	11.575	2.346
33	Cis-3-pinanona	1155	12.005	0.329	11.761	0.204
34	Terpinen-4-ol	1160	12.202	1.566	11.935	0.717
35	p-cimen-8-ol	1167	Nd	Nd	12.306	0.048
36	Criptona	1170	12.434	0.148	Nd	Nd
37	α -terpineol	1173	12.759	2.339	12.469	0.890
38	Dihidro carveol	1178	12.840	0.074	12.585	0.037
39	Mirtenol	1175	Nd	Nd	12.666	0.091

40	Estragol	1183	12.921	0.174	Nd	Nd
41	Verbenona	1192	13.443	2.087	13.165	1.025
42	(2E,4E) Nonadienol	1209	13.884	0.116	Nd	Nd
43	Pulegona	1223	14.464	0.093	Nd	Nd
44	(3E) decen-2-ona	1220	Nd	Nd	14.371	0.031
45	Neral	1228	14.592	0.126	Nd	Nd
46	Piperitona	1233	Nd	Nd	14.847	0.105
47	Cis-mirtanol	1241	15.079	0.333	Nd	Nd
48	Acetato de linalilo	1244	15.184	0.187	Nd	Nd
49	Geranial	1260	15.845	0.130	Nd	Nd
50	Acetato de bornilo	1273	16.413	2.784	16.205	1.990
51	Timol	1275	Nd	Nd	16.402	0.027
52	Carvacrol	1287	16.692	0.107	17.005	0.036
53	3-pentenoato de 2-metil hexilo	1310	17.759	0.125	Nd	Nd
54	Eugenol	1347	Nd	Nd	19.082	0.040
55	α -ilangeno	1365	Nd	Nd	19.488	0.063
56	α -Copaeno	1365	19.871	0.158	19.685	0.205
57	Cinamato de metilo	1379	20.323	0.162	Nd	Nd
58	Tetradecano	1400	21.078	0.090	Nd	Nd
59	Metil eugenol	1400	Nd	Nd	21.101	0.060
60	β -cariofileno	1414	21.774	4.842	21.542	3.380
61	β -ilangeno	1419	Nd	Nd	21.797	0.057
62	β -copaeno	1427	Nd	Nd	22.157	0.037
63	α -cariofileno	1450	23.027	1.399	22.806	1.030
64	β -(E)-farneseno	1452	Nd	Nd	23.062	0.044
65	Cis murola-4-(14) 5-dieno	1463	23.444	0.099	Nd	Nd
66	Cis tujopsadieno	1466	Nd	Nd	23.572	0.035
67	Trans cadina-1 (6)-4-dieno	1471	Nd	Nd	23.723	0.326

68	γ -muroleno	1474	Nd	Nd	23.850	0.045
69	Amorfa-4,7 (11) dieno	1477	23.920	0.199	Nd	Nd
70	γ -himachaleno	1480	Nd	Nd	24.013	0.073
71	β -selineno	1493	24.593	0.086	24.396	0.136
72	δ -selineno	1493	Nd	Nd	24.523	0.051
73	α -selineno	1496	Nd	Nd	24.651	0.109
74	Pentadecano	1504	24.976	0.388	Nd	Nd
75	β -bisaboleno	1507	Nd	Nd	25.022	0.068
76	γ -cadineno	1515	25.359	0.135	25.150	0.187
77	δ -cadineno	1523	25.765	0.327	25.579	0.555
78	γ (E) bisaboleno	1529	Nd	Nd	25.858	0.041
79	α -calacoreno	1540	Nd	Nd	26.241	0.031
80	Araquidonato de metilo	1554	26.774	0.096	Nd	Nd
81	Óxido de cariofileno	1583	28.004	1.154	27.702	0.264
82	Hexadecano	1609	28.735	0.125	Nd	Nd
83	(Z) Sesquilandulol	1606	Nd	Nd	28.677	0.068
84	Óxido de β -himachaleno	1614	28.921	0.138	Nd	Nd
85	Epóxido de β -cedreno	1617	Nd	Nd	28.990	0.045
86	Epi- α -murolol	1638	29.965	0.087	29.710	0.037
87	Óxido de α -bisabolol B	1658	Nd	Nd	30.533	0.078
88	14-hidroxi (Z) cariofileno	1666	30.789	0.151	Nd	Nd
89	NI m/z (%): 69 (100), 41 (80), 234 (20)	1771	Nd	Nd	34.606	0.036
90	8 α -acetoxielemol	1793	35.580	0.105	35.360	0.083
91	Androsta-3,5-dien-7-ona	1919	Nd	Nd	39.606	0.063
92	Cembreno	1975	Nd	Nd	40.558	0.045
93	(E,E) 7,11,15-trimetil-3- metileno-hexadeca-1,6- 10,14-tetraeno	1994	40.778	0.127	Nd	Nd

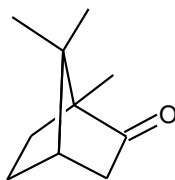
	Acetato de 2,6,10,14-					
94	hexadecatetraen-1-ol- 3,7,11,15-tetrametil 3b,4,5,6,7,7a,9,10,11,12-	2031	41.428	0.085	Nd	Nd
95	Decahidrobenzo[b] fluoranteno	2088	42.298	0.193	Nd	Nd

Ni= no identificado Nd= No se encuentra en el aceite esencial

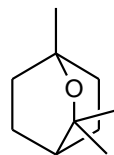
AE-1: Aceite esencial obtenido en la época de secas

AE-2: Aceite esencial obtenido en la época de lluvias

Los principales compuestos mayoritarios encontrados en los aceites esenciales obtenidos de *Rosmarinus officinalis* cultivado en Yucatán son los monoterpenos oxigenados cíclicos canfor y eucaliptol (Figura 3.13). Para el aceite esencial de la época de secas el contenido de canfor fue de 39.791% y para el aceite esencial de la época de lluvias fue de 19.961%, observándose casi el doble en el contenido de este compuesto en AE-1 (secas). En el caso del eucaliptol el contenido en ambos aceites fue similar, ya que para AE-1 (secas) fue de 19.897% y para AE-2 (lluvias) fue de 18.301%. Como se puede observar, tanto canfor como eucaliptol constituyen en los aceites esenciales alrededor de 38.2-59.6% del contenido total de compuestos.



Canfor



Eucalipto

Figura 3.13 Principales compuestos mayoritarios encontrados en *R. officinalis*

Para el aceite esencial de la época de secas, otros compuestos de mayor abundancia fueron los monoterpenos oxigenados borneol con 5.471%, acetato de

bornilo con 2.784%, α -terpineol con 2.339%, verbenona con 2.087%, terpinen-4-ol con 1.566% de área; los monoterpenos mirceno con 3.910%, α -pineno con 2.368%, β -pineno con 1.466% y canfeno con 1.230% de área; los sesquiterpenos hidrocarbonados β -cariofileno y α -cariofileno con 4.842% y 1.399%, respectivamente y el sesquiterpeno oxigenado óxido de cariofileno con 1.030% de área relativa (Figura 3.14).

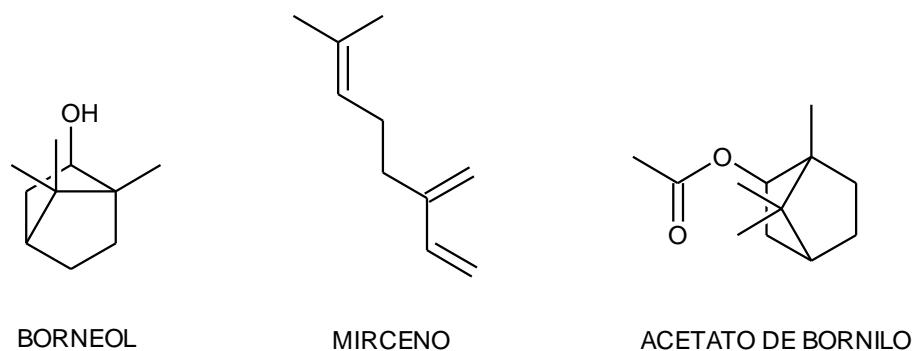


Figura 3.14 Compuestos mayoritarios adicionales encontrados en el aceite esencial de *R. officinalis* de la época de secas

Para el aceite esencial de la época de lluvias otros compuestos mayoritarios son α -pineno con 16.712% (monoterpeno hidrocarbonado), mirceno con 11.225% (monoterpeno hidrocarbonado), canfeno con 6.677% (monoterpeno hidrocarbonado), β -pineno con 3.446% (monoterpeno hidrocarbonado), borneol con 2.346% (monoterpeno oxigenado), entre otros compuestos (Figura 3.15).

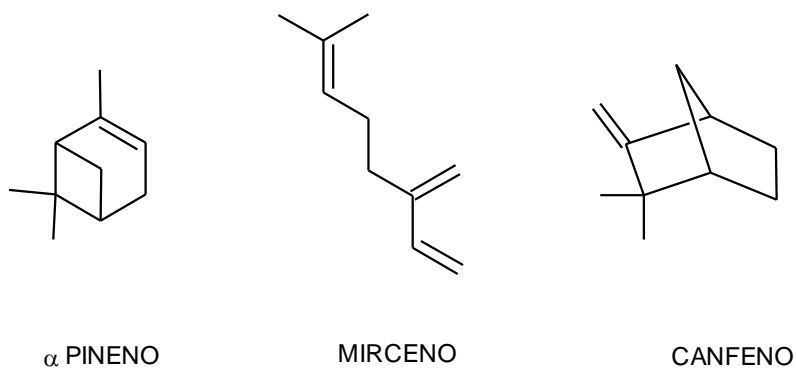


Figura 3.15 Compuestos mayoritarios adicionales encontrados en el aceite esencial de *R. officinalis* de la época de lluvias

Al comparar el contenido de AE-1 (secas) y AE-2 (lluvias), se pueden apreciar diferencias significativas en el grupo de compuestos mayoritarios. Como se puede observar (Tabla 3.11), se encuentra el doble de borneol en el aceite de la época de secas, sin embargo, el mirceno y β -pineno se encuentran en una tercera y décima parte, respectivamente. El mirceno se encuentra dentro de los límites reportados de 2 a 19% para evitar problemas de solubilidad del aceite esencial en alcohol (Kasali *et al.*, 2001).

Tabla 3.12 Distribución por grupos de los componentes identificados en el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*

CLASE DE COMPUESTO	AE-1		AE-2	
	No.Comp	% área	No.Comp	% área
Serie aromática (ARO)	4	0.672	6	0.242
Monoterpenos hidrocarbonados (MH)	13	11.369	12	44.821
Monoterpenos oxigenados (MO)	21	76.562	18	47.350
Sesquiterpenos hidrocarbonados (SH)	7	7.146	18	6.442
Sesquiterpenos oxigenados (SO)	4	1.530	4	0.519
Otros	15	2.796	6	0.590
No identificados (NI)	0	Nd	1	0.036

AE-1: Aceite esencial obtenido en la época de secas

AE-2: Aceite esencial obtenido en la época de lluvias

Como puede observarse (Tabla 3.12), el aceite esencial de romero es rico en compuestos oxigenados, principalmente del tipo monoterpénico, aunque existen diferencias en cuanto al contenido de éstos dependiendo de las condiciones geobotánicas de cultivo. Ya que para el aceite esencial de la época de secas el área de compuestos oxigenados suma un 76.562% y para el caso del aceite esencial de la época de lluvias la composición relativa para el mismo tipo de compuestos es de 47.350%. Asimismo, es posible apreciar una variación en el contenido de compuestos monoterpénicos hidrocarbonados, ya que para el caso de AE-2 (lluvias) el contenido relativo es muy similar al de monoterpenos oxigenados, ya que representa el 44.821% del área relativa, en tanto que para AE-1 (secas) es casi la séptima parte de la composición de los monoterpenos oxigenados. En términos generales, la fracción monoterpénica es la más abundante en ambos aceites, llegando a oscilar entre un 87.9 a 92.1% de área relativa.

Los quimiotipos se presentan cuando plantas del mismo género y especie producen diferentes moléculas aromáticas. Las moléculas específicas producidas por cada planta son determinadas por los genes y enzimas, los cuales se encuentran influenciados por el clima y las condiciones de suelo, altitud e iluminación. Hay tres tipos identificados de quimiotipos del romero: 1,8-cineol (eucaliptol), canfor y acetato de bornilo/verbenona (Stewart, 2005).

Atti-Santos *et al.* (2005), reportaron que el aceite esencial de Brasil contenía α -pineno (40.55-45.10%), 1,8-cineol (17.40-19.36%), canfeno (4.73-6.06%) y verbenona (2.24-3.10%), principalmente. Sugiriendo que el aceite esencial de Brasil podría considerarse como un quimiotipo de α -pineno.

Jamshidi *et al.* en el 2009, realizaron el estudio del aceite esencial de Romero obtenido por destilación, comparando con dos lugares de recolección en Irán. En ambos casos se encontró una alta proporción de 3-pineno (43.9-46.1%), 1,8-cineol (11.1%), canfeno (8.6-5.3%), canfor (2.0-5-3%) principalmente. Khorshidi *et al.*, en el

mismo año, determinaron que el método de secado, tiempo de extracción y el órgano vegetal del cual se realiza la extracción son factores importantes que afectan el contenido de aceite, los compuestos mayoritarios encontrados en este estudio fueron α -pineno, 1,8-cineol y canfor, en proporciones diferentes.

El análisis del aceite esencial comercial de Alemania reportó 46.6% de eucaliptol, 11.8% de α -pineno y 9.3% de limoneno (Baratta *et al.*, 1998). Una investigación realizada en 1999, realizada en aceites esenciales obtenidos de Uruguay y Brasil reportaron composiciones ligeramente diferentes, ya que para Uruguay los compuestos mayoritarios fueron α -pineno (32.2%), eucaliptol (14.7%) y para el caso del aceite esencial de Brasil fueron α -pineno (12.4%), eucaliptol (15.3%) y mirceno (22.7%). El estudio de aceites esenciales obtenidos en Túnez, reportaron 20-45% de eucaliptol, 8.5-30% de canfor y 3.73-25% de borneol (Zaouli *et al.*, 2005).

Topal *et al.* (2008), analizaron la composición química del aceite esencial de Turquía obtenido mediante dos técnicas diferentes de extracción y reportaron que la composición química varía en función de los métodos de extracción, ya que para la extracción por fluidos supercríticos reportaron eucaliptol (30.2%) y α -pineno (15.5%) y para el aceite esencial obtenido por hidrodestilación reportaron borneol (14.2%) y canfor (12.9%). En el 2010, estudios realizados en el aceite esencial comercial de Corea, reportaron 46% de eucaliptol y 9% de canfor (Yang *et al.*, 2010). Un estudio realizado en el mismo año, en aceites esenciales de España, reportó como componentes principales α -pineno (36.4%), canfor (15.6%) y eucaliptol (12%) (Viuda-Martos *et al.*, 2010).

Los aceites esenciales obtenidos de romero cultivado en Yucatán, podrían ser considerados como del quimiotipo de canfor, ya que en ambos casos, este resultó el compuesto mayoritario, resultados similares al de los aceites de España y Croacia. Los aceites esenciales de quimiotipo canfor son utilizados como estimulantes

generales, y pueden utilizarse conjuntamente con otros aceites esenciales (Stewart, 2005).

3.2.5. Aceite esencial de *Mentha piperita* (Menta)

El análisis del aceite esencial de la época de secas obtenido por hidrodestilación de las hojas de *M. piperita*, por CG-EM, permitió determinar la presencia de 76 picos cromatográficos (Figura 3.16).

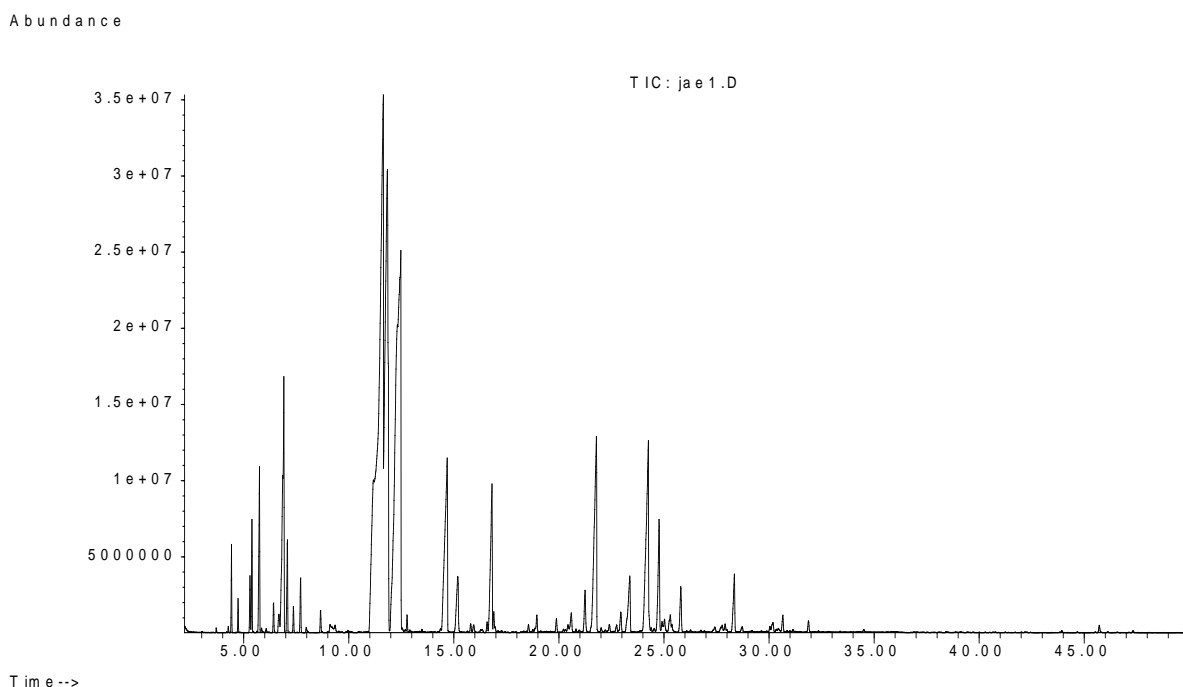


Figura 3.16 Perfil cromatográfico del aceite esencial de *M. piperita* (AE-1) de la época de secas

Como se aprecia en la Figura 3.16, los compuestos aparecen en un intervalo de 50 minutos. Los picos cromatográficos mayoritarios, eluyen principalmente en un intervalo de tiempo de 11 a 13 minutos.

El análisis del aceite esencial de la época de lluvias obtenido de las hojas de *M. piperita*, por CG-EM, permitió determinar la presencia de 57 picos cromatográficos (Figura 3.17).

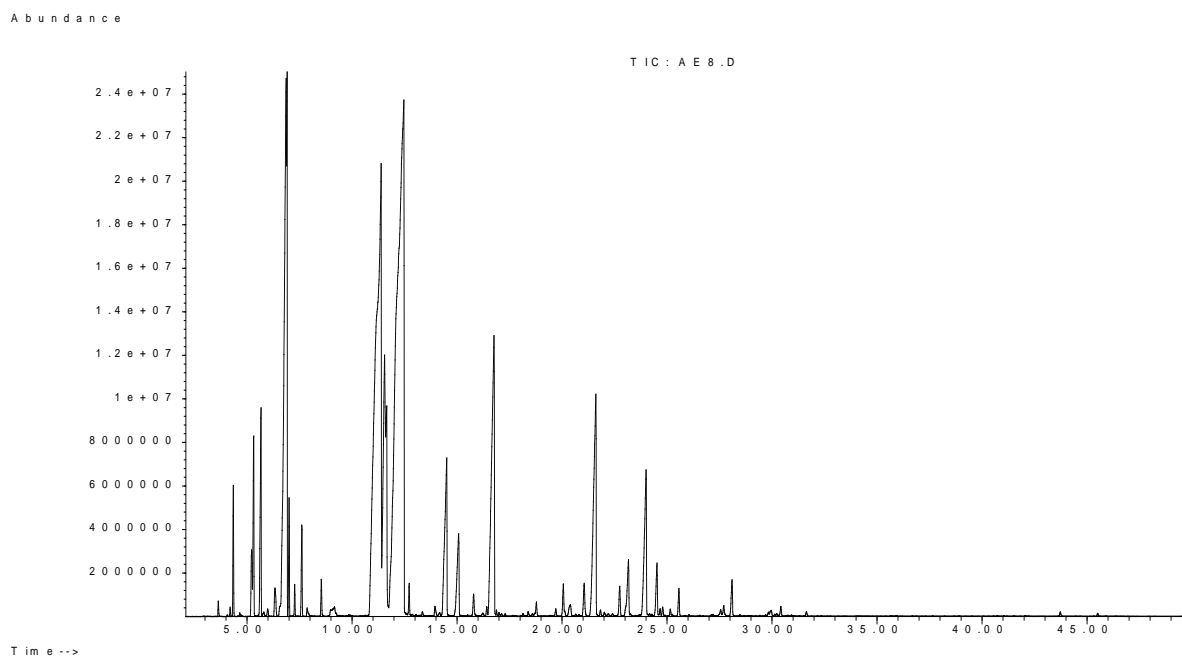


Figura 3.17 Perfil cromatográfico del aceite esencial de *M. piperita* (AE-2) de la época de lluvias

Como se aprecia en la Figura 3.17, los compuestos aparecen en un intervalo de 45 minutos. Los picos cromatográficos mayoritarios, eluyen principalmente en un intervalo de tiempo de 10 a 13 minutos.

Al comparar ambos cromatogramas, se encuentran ligeras diferencias en los perfiles, principalmente en el área e intensidad de los picos cromatográficos de los compuestos considerados como mayoritarios, así como los compuestos presentes en el intervalo de tiempo de cinco a ocho minutos.

El análisis por espectrometría de masas, por comparación de los patrones de fragmentación de los compuestos obtenidos con los de la base de datos del cromatógrafo (NIST 2007), así como el análisis de los índices de Kóvats de los compuestos presentes en los aceites esenciales por comparación con los de Adams (2009), permitió obtener los perfiles cromatográficos de los aceites esenciales de *Mentha piperita* cultivados en Yucatán en lugares y condiciones geobotánicas diferentes (Tabla 3.13).

Tabla 3.13 Composición química de las hojas de *Mentha piperita*

No	Compuesto	K _l _{exp}	AE-1		AE-2	
			t _R	%área	t _R	%área
1	Butanoato de propilo	869	3.697	0.024	3.639	0.118
2	α -tujeno	900	4.266	0.032	4.196	0.076
3	α -pineno	909	4.417	0.469	4.347	1.048
4	Canfeno	929	4.730	0.189	4.660	0.059
5	Sabineno	960	5.298	0.409	5.229	0.867
6	β -pineno	963	5.391	0.753	5.322	1.803
7	β -mirceno	986	5.751	1.415	5.670	2.432
8	3-octanol	992	5.855	0.036	5.809	0.075
9	α -felandreno	1003	6.076	0.032	5.983	0.096
10	δ -3-careno	1010	6.424	0.238	6.331	0.509
11	p-cimeno	1019	6.679	0.246	Nd	Nd
12	Limoneno	1023	6.911	0.071	6.865	15.115
13	Eucaliptol	1024	6.912	3.999	6.911	3.626
14	Cis- β -ocimeno	1029	7.085	0.765	7.004	1.028
15	Trans- β -ocimeno	1037	7.375	0.185	7.271	0.260
16	γ -terpineno	1045	7.712	0.434	7.619	0.909
17	2E octen-1-ol	1052	7.979	0.057	7.862	0.128
18	NI m/z (%): 121 (100), 93	1068	Nd	Nd	8.547	0.370

	(90), 136 (80)					
19	p-ment-3,8-dieno	1070	8.663	0.189	Nd	Nd
20	Linalol	1085	9.208	0.327	9.104	0.281
21	Mentona	1148	11.487	27.342	11.390	28.867
22	Mentofurano	1153	11.842	14.341	11.552	6.693
23	Neomentol	1161	12.318	10.083	11.656	2.532
24	Mentol	1179	12.469	9.813	12.724	0.282
25	α -terpineol	1191	12.782	0.140	13.350	0.052
26	Acetato de 2E octenol	1208	13.490	0.021	13.954	0.162
27	Cis-pulelgol	1228	14.383	0.177	14.174	0.065
28	Pulegona	1233	14.685	5.000	14.511	4.158
29	Piperitona	1248	15.195	1.701	15.079	1.941
30	Epóxido de trans piperitona	1251	15.358	0.019	Nd	Nd
31	Acetato de iso-3-tujanol	1265	Nd	Nd	15.798	0.334
32	α -citral	1265	15.810	0.094	Nd	Nd
33	2E-Decen-1-ol	1268	15.949	0.105	Nd	Nd
34	p-ment-1-en-7-al	1278	16.286	0.086	Nd	Nd
35	Acetato de isopulegilo	1278	16.367	0.037	Nd	Nd
36	2,5,5,8a tetrametil- 3,4,4a,6,8a hexahidro-2H cromeno	1284	16.587	0.106	16.425	0.114
37	Acetato de mentilo	1291	16.819	2.654	16.761	9.292
38	p-ment-1-en-9-ol	1295	16.901	0.209	Nd	Nd
39	Acetato de trans pinocarvilo	1296	16.970	0.042	16.889	0.049
40	Carvacrol	1297	Nd	Nd	17.005	0.031
41	Acetato de cis piperitol	1337	18.560	0.086	18.397	0.066
42	α -cubebeno	1346	18.769	0.032	Nd	Nd
43	Acetato de citronelilo	1348	18.954	0.232	18.780	0.222
44	α -copaeno	1373	19.882	0.146	19.708	0.092

45	β -burboneno	1382	20.219	0.033	20.068	0.498
46	β -isojasmona	1386	20.312	0.036	Nd	Nd
47	Acetato de geranilo	1389	20.439	0.109	Nd	Nd
48	β -longipineno	1393	20.590	0.293	20.404	0.300
49	Acetato de 9-decenilo	1400	20.822	0.034	Nd	Nd
50	Longifoleno	1404	21.252	0.580	21.054	0.555
51	β -Cariofileno	1415	21.785	4.775	21.611	6.735
52	β -ilangeno	1423	22.017	0.056	21.832	0.079
53	NI m/z (%): 43 (100), 110 (90), 204 (10)	1425	Nd	Nd	22.017	0.049
54	α -guaiano	1436	22.412	0.109	Nd	Nd
55	9 β -metil-2-decalona	1444	22.748	0.099	Nd	Nd
56	α -cariofileno	1446	22.957	0.284	22.748	0.439
57	Alloaromadendreno	1458	23.375	1.165	23.166	1.117
58	Germacreno D	1483	24.256	4.753	24.001	3.644
59	Murola-4(14) 5-dieno	1491	24.396	0.045	Nd	Nd
60	Cadina-1,4-dieno	1493	24.547	0.039	Nd	Nd
61	α -selineno	1497	24.767	1.680	24.523	0.852
62	α -muroleno	1500	24.906	0.151	24.674	0.089
63	Trans β -guaiano	1504	25.034	0.195	24.802	0.102
64	α -farneseno (E,E)	1515	25.312	0.305	Nd	Nd
65	γ -cadineno	1515	25.382	0.106	25.161	0.067
66	δ -cadineno	1525	25.811	0.625	25.567	0.375
67	Longipinanol	1573	27.424	0.106	Nd	Nd
68	Germacreno D-4-ol	1581	27.714	0.068	Nd	Nd
69	Espatuleno	1581	27.772	0.090	27.551	0.122
70	Óxido de cariofileno	1585	27.911	0.114	27.702	0.190
71	Guaiol	1596	28.352	0.898	28.097	0.565
72	Hexadecano	1609	28.723	0.091	Nd	Nd

73	Cubenol	1642	30.046	0.068	29.837	0.057
74	β -eudesmol	1646	30.197	0.176	29.965	0.132
75	α -cadinol	1653	30.348	0.036	Nd	Nd
76	Óxido de α -bisabolol B	1655	30.452	0.067	Nd	Nd
77	7-epi- α -eudesmol	1658	30.661	0.216	30.429	0.150
78	Epóxido de cadaleno	1675	31.148	0.024	Nd	Nd
79	8-Cedren-13-ol	1690	31.879	0.144	31.647	0.063
80	Benzoato de bencilo	1768	34.513	0.039	Nd	Nd
81	NI m/z (%): 163 (100), 276 (30), 205 (5)	2175	Nd	Nd	43.725	0.062
82	Fitol	2300	45.721	0.088	Nd	Nd

NI = no identificado Nd= no se encuentra en el aceite esencial

AE-1: Aceite esencial obtenido en la época de secas

AE-2: Aceite esencial obtenido en la época de lluvias

El compuesto mayoritario encontrado en los dos aceites esenciales obtenidos de *Mentha piperita* cultivado en el estado de Yucatán es el monoterpeno oxigenado mentona. En AE-1 (époc de secas) el contenido de mentona fue de 27.342% y para AE-2 (época de lluvias) fue 28.867% de área (Figura 3.18 – 3.19).

Para el aceite esencial de la época de secas, otros compuestos mayoritarios importantes fueron mentofurano con 14.351%, Neomentol con 10.083%, mentol con 9.813%, pulegona con 5.000%, todos ellos compuestos monoterpénicos oxigenados (Figura 3.18). Para el aceite esencial de la época de lluvias, fueron limoneno con 15.115% (monoterpeno hidrocarbonado), acetato de mentilo con 9.292% (monoterpeno oxigenado), mentofurano con 6.693% (monoterpeno oxigenado) y β -cariofileno con 6.735% (sesquiterpeno hidrocarbonado), entre otros compuestos (Figura 3.19).

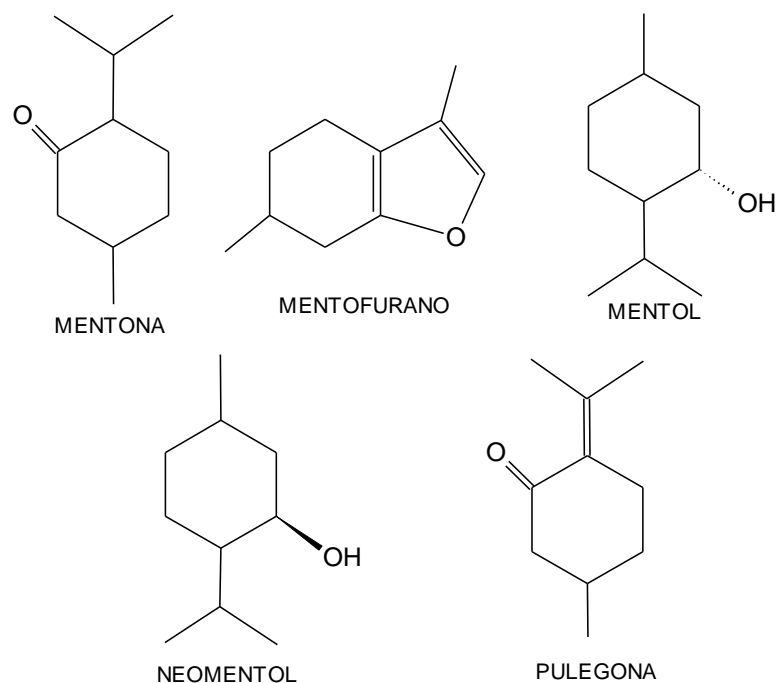


Figura 3.18 Principales compuestos mayoritarios encontrados en *M. piperita* AE-1 (secas)

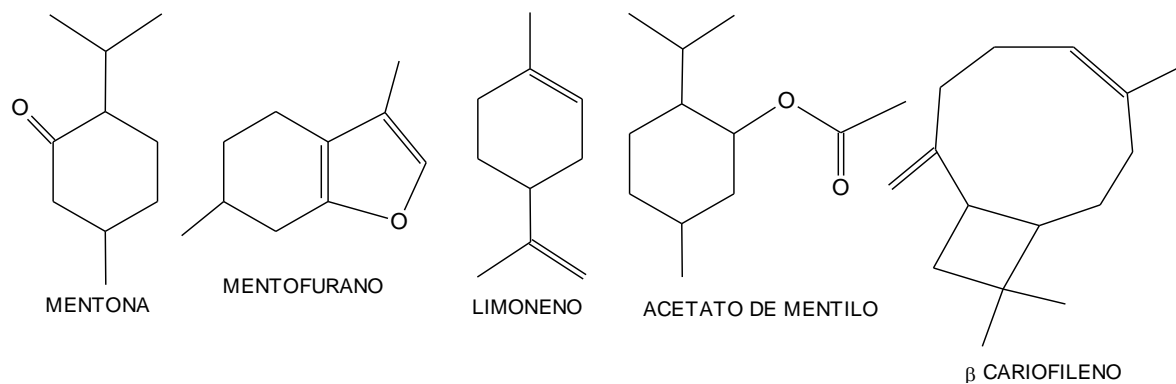


Figura 3.19 Principales compuestos mayoritarios encontrados en *M. piperita* AE-2 (lluvias)

Se puede percibir, que en el aceite esencial de menta de la época de secas predominan los compuestos oxigenados, en tanto que en el aceite esencial de la época de lluvias, es posible encontrar compuestos hidrocarbonados, sobresaliendo

particularmente el contenido de limoneno con un área de 15.115%, comparado con el 0.071% en el aceite esencial de la época de secas. El compuesto monoterpénico oxigenado mentol es otro compuesto que presenta diferencias significativas, ya que en AE-2 (lluvias) se encuentra en bajas concentraciones (0.282%) si se compara con el contenido presente en la época de secas (9.813%).

Como puede observarse (Tabla 3.14), el aceite esencial de menta contiene una elevada proporción de compuestos oxigenados, principalmente del tipo monoterpénico, sin embargo, la proporción varía, ya que para el aceite esencial de la época de secas se tiene un 76.085% y para la época de lluvias el área es de 58.397%. De acuerdo a la clases de compuestos, la fracción monoterpénica es la más abundante, ya que suma 81.2-82.6% de área para los aceites esenciales obtenidos de *Mentha piperita* cultivada en el estado de Yucatán.

Tabla 3.14 Distribución por grupos de los componentes identificados en el aceite esencial de *Mentha piperita*

CLASE DE COMPUESTO	AE-1		AE-2	
	No.Comp	% área	No.Comp	% área
Serie aromática (ARO)	4	0.515	1	0.162
Monoterpenos hidrocarbonados (MH)	13	5.181	12	24.202
Monoterpenos oxigenados (MO)	18	76.085	16	58.397
Sesquiterpenos hidrocarbonados (SH)	18	15.340	14	14.944
Sesquiterpenos oxigenados (SO)	12	2.007	7	1.279
Otros	11	0.905	4	0.529
No identificados (NI)	Nd	Nd	3	0.481

AE-1: Aceite esencial obtenido en la época de secas

AE-2: Aceite esencial obtenido en la época de lluvias

Asimismo, existe una diferencia notable en el contenido de compuestos de tipo monoterpeno hidrocarbonado, ya que a pesar de identificarse alrededor del mismo número de compuestos, el porcentaje de área de éstos, representa para el aceite esencial obtenido en época de secas casi la quinta parte del contenido presente en el aceite esencial obtenido en época de lluvias, también se puede apreciar que en época de secas el contenido de compuestos monoterpénicos oxigenados es mayor que el que se presenta en época de lluvias. Estos datos nos indican que las condiciones climáticas repercuten en la composición química de los aceites esenciales obtenidos de *Mentha piperita*.

Las principales ciudades productoras de menta son Estados Unidos, Japón y Gran Bretaña; debido a la importancia económica del mentol, por sus aplicaciones en productos de higiene oral, farmacéuticos, cosméticos, alimentarios, etc. Diversos investigadores, reportan como compuestos mayoritarios al mentol (alrededor de 30-50%), mentona, mentofurano y acetato de mentilo, en proporciones diferentes. (Soković et al., 2009; Scavroni et al., 2005; Sústriková y Salaman, 2004).

Existen diversos estudios relacionados con *Mentha piperita*, los cuales se realizan en plantas cultivadas en regiones de países determinados para evaluar la viabilidad comercial y otros estudios procedentes a valorar la calidad de los aceites esenciales comerciales.

Un estudio realizado en el aceite esencial de Eslovaquia, determinó que los compuestos mayoritarios fueron mentol, seguido de mentona, acetato de mentilo y mentofurano (Sústriková et al., 2004), resultados similares a lo reportado en el análisis del aceite comercial de Corea (Yang et al., 2010).

Scavroni et al., en el 2005, determinaron que en el aceite esencial cultivado en Brasil el compuesto mayoritario presente era mentol y los análisis que realizaron en

diferentes plantas recolectadas en diferentes áreas geográficas, les permitió concluir que los diferentes tipos de suelo influyen en el rendimiento pero no en la calidad del aceite. McKay y Blumberg en 2006, realizaron análisis en el aceite esencial de *Mentha piperita* y en sus resultados observaron que los componentes químicos de las hojas y aceites esenciales varían en la planta de acuerdo a la madurez, variedad, región específica y condición de procesamiento; siendo los compuestos mayoritarios mentol (33-60%), mentona (15-32%), isomentona (2-8%) y eucaliptol (5-13%), entre otros compuestos oxigenados.

Soković *et al.*, en el 2009, determinaron en el aceite esencial hidrodestilado de Rusia, mentol (37.4%), acetato de mentilo (17.4%) y mentona (12.7%) como los constituyentes principales, asimismo, el estudio realizado, les permitió concluir que la presencia de altas cantidades de acetato de mentilo disminuye la actividad antifúngica de *M. piperita*. En el mismo año, Aziz y Craker, reportaron que para el aceite esencial hidrodestilado de Egipto, el mentol (34.29%), acetato de isomentilo (30.47%) y mentona (15.61%) son los compuestos mayoritarios.

El aceite esencial de *Mentha piperita* cultivado en el estado de Yucatán, presenta una alta proporción de mentona (22.878%) seguida del mentol (19.898%). La mentona se encuentra como compuesto predominante en las hojas de la menta en las primeras etapas de maduración, siendo precursor del mentol y neomentol hacia la maduración y principios de floración de la planta (Turner *et al.*, 2004; Davis *et al.*, 2005). Estos datos indican que los aceites esenciales de *Mentha piperita* cultivados en Yucatán fueron obtenidos de plantas que se encontraban en etapas intermedias de maduración.

3.2.6. Aceite esencial de *Mentha pulegium* (Menta poleo, poleo)

El análisis del aceite esencial obtenido de las hojas de *M. pulegium* en época de secas, por cromatografía de gases, acoplada a espectrometría de masas, permitió determinar la presencia de 70 picos cromatográficos (Figura 3.20).

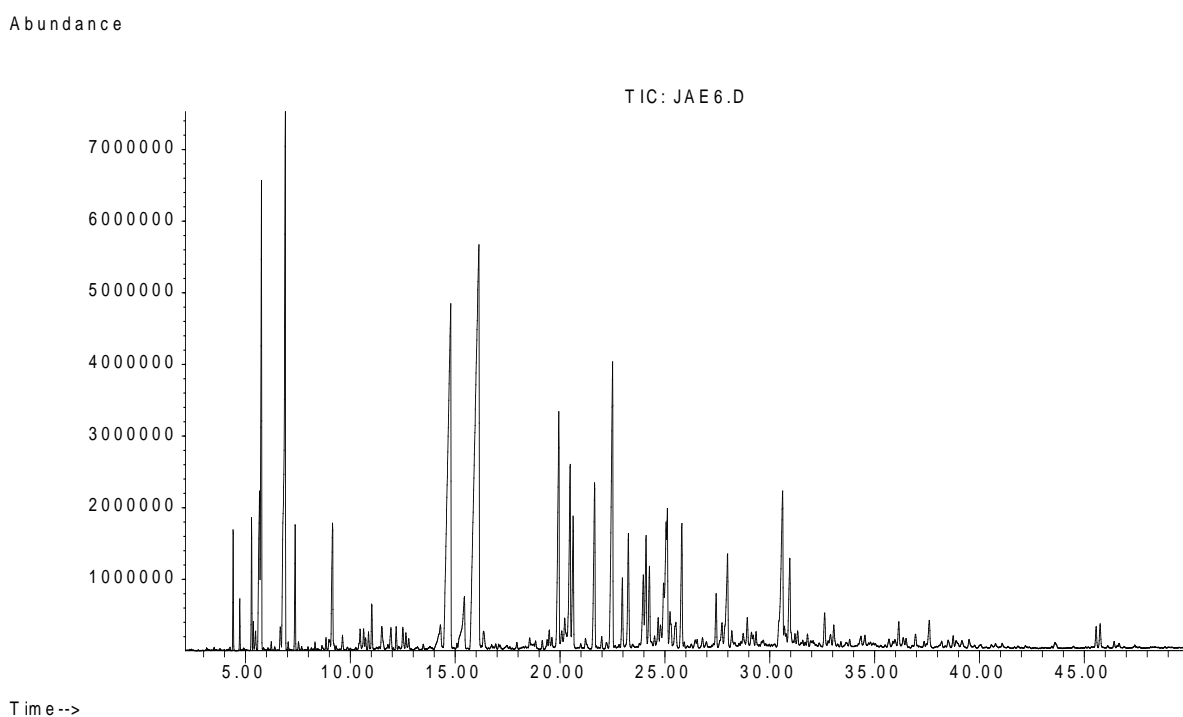


Figura 3.20 Perfil cromatográfico del aceite esencial de *M. pulegium* (AE-1) en la época de secas

Como se aprecia en la figura 3.20, los compuestos aparecen en un intervalo de 45 minutos. Los picos cromatográficos mayoritarios, eluyen principalmente en un intervalo de tiempo de seis a ocho minutos y de 15 a 17 minutos.

El análisis del aceite esencial obtenido por hidrodestilación de las hojas de *M. pulegium* en la época de lluvias, por cromatografía de gases, acoplada a

espectrometría de masas, permitió determinar la presencia de 79 picos cromatográficos (Figura 3.21).

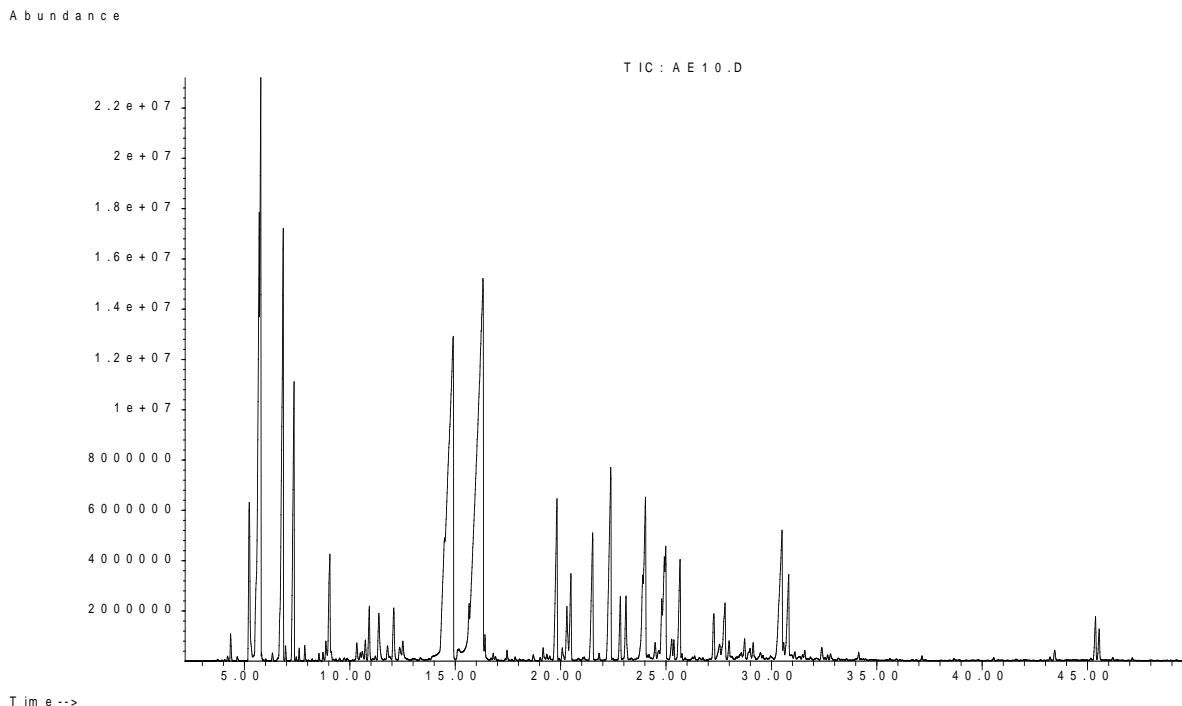


Figura 3.21 Perfil cromatográfico del aceite esencial de *M. pulegium* (AE-2) en la época de lluvias

Como se aprecia en la Figura 3.21, los compuestos aparecen en un intervalo de 50 minutos. Los picos cromatográficos mayoritarios, eluyen principalmente en un intervalo de tiempo de cinco a ocho minutos y de 13 a 17 minutos.

Al comparar ambos cromatogramas se puede observar pequeñas diferencias en los perfiles cromatográficos, principalmente alrededor de los tiempos de retención de cinco a 10 minutos, en donde la abundancia relativa de algunos compuestos disminuyen en el aceite esencial de la época de lluvias.

El posterior análisis por espectrometría de masas, por comparación de los patrones de fragmentación de los compuestos obtenidos del aceite esencial con los de la base de datos del equipo (NIST 2007), así como el análisis de los índices de Kóvats, permitió el siguiente determinar la composición química del poleo cultivado en Yucatán bajo diferentes de cultivo geobotánico (Tabla 3.15).

Tabla 3.15 Composición química del aceite esencial de las hojas de *Mentha pulegium*

No	Compuesto	Kl _{exp}	AE-1		AE-2	
			t _R	%área	t _R	%área
1	α -tujeno	897	Nd	Nd	4.208	0.038
2	α -pineno	909	4.417	0.754	4.347	0.226
3	Canfeno	928	4.730	0.322	4.660	0.037
4	Tuja-2,4(10) dieno	960	Nd	Nd	5.229	1.995
5	Verbeneno	960	5.299	0.904	Nd	Nd
6	Sabineno	963	5.380	0.190	5.304	6.610
7	3Z octen-2-ol	971	5.484	0.191	Nd	Nd
8	3,5-dimetil-4-heptanona	980	5.670	2.127	5.530	0.351
9	β -pineno	989	5.763	4.259	5.774	5.215
10	α -terpineno	1016	Nd	Nd	6.331	0.066
11	<i>p</i> -cimeno	1019	6.668	0.260	Nd	Nd
12	Eucaliptol	1023	6.900	7.729	6.830	6.176
13	Cis- β -ocimeno	1024	Nd	Nd	6.957	0.098
14	Trans- β -ocimeno	1037	7.375	1.050	7.352	3.223
15	γ -terpineno	1043	Nd	Nd	7.596	0.074
16	Cis sabineno hidrato	1049	Nd	Nd	7.862	0.110
17	<i>p</i> -ment-3,8-dieno	1068	Nd	Nd	8.535	0.055

18	Canfenilona	1074	8.849	0.118	8.733	0.071
19	o-guiacol	1078	Nd	Nd	8.872	0.194
20	Linalol	1082	9.150	1.673	9.046	1.376
21	Óxido de α -pineno	1097	9.626	0.154	Nd	Nd
22	Menta-2,8-dien-1-ol	1119	10.473	0.273	10.334	0.196
23	Trans pinocarveol	1123	10.636	0.244	10.508	0.078
24	NI m/z (%): 69 (100), 41 (90), 109 (71)	1124	Nd	Nd	10.601	0.117
25	Canfor	1129	10.868	0.157	10.740	0.204
26	Citronelal	1132	Nd	Nd	10.925	0.545
27	Mentona	1135	11.030	0.453	Nd	Nd
28	Isoborneol	1147	11.506	0.398	11.378	0.677
29	Trans β -terpineol	1158	11.935	0.312	11.796	0.185
30	Mentol	1167	12.190	0.230	12.086	0.671
31	Terpinen-4-ol	1170	Nd	Nd	12.364	0.207
32	Isomentol	1176	12.504	0.268	Nd	Nd
33	Tuj-3-en-10-al	1177	12.654	0.149	12.515	0.292
34	Nerol	1224	14.302	0.800	Nd	Nd
35	β -citral (Neral)	1239	14.778	12.109	14.893	17.072
36	Geraniol	1254	15.439	1.588	15.421	1.513
37	α -citral (Geranial)	1275	16.123	18.018	16.320	21.369
38	Acetato de bornilo	1278	16.355	0.373	Nd	Nd
39	Limonen-10-ol	1281	Nd	Nd	16.413	0.222
40	Azuleno	1292	Nd	Nd	16.808	0.044
41	p-Vinilguayacol	1308	Nd	Nd	17.457	0.106
42	α -cubebeno	1343	Nd	Nd	18.710	0.065
43	Eugenol	1347	Nd	Nd	19.175	0.149
44	NI m/z (%): 105 (100), 161 (80), 204 (75)	1355	19.488	0.241	19.349	0.074

45	Acetato de nerilo	1358	Nd	Nd	19.488	0.068
46	Ciclosativeno	1367	19.941	3.685	19.824	2.432
47	Isoledeno	1374	20.080	0.314	Nd	Nd
48	α -copaeno	1375	20.231	0.621	20.080	0.156
49	Acetato de geranilo	1381	20.486	2.895	20.300	0.694
50	β -cubebeno	1386	20.625	1.760	20.486	1.036
51	β -cariofileno	1412	21.646	2.508	21.518	1.861
52	β -copaeno	1422	21.994	0.172	21.831	0.083
53	α -guaiano	1436	22.505	5.116	22.377	3.417
54	α -cariofileno	1448	22.980	0.871	22.841	0.693
55	Alo-aromadendreno	1456	23.259	1.603	23.108	0.797
56	γ -muroleno	1478	23.978	1.174	24.024	3.687
57	Germacreno D	1482	24.106	1.566	Nd	Nd
58	Aristolocheno	1485	24.268	1.244	Nd	Nd
59	β -selineno	1485	Nd	Nd	24.198	0.099
60	δ -selineno	1493	Nd	Nd	24.488	0.235
61	Cadina-1,4-dieno	1496	Nd	Nd	24.662	0.153
62	α -selineno	1499	24.686	0.450	Nd	Nd
63	β -himachaleno	1502	24.790	0.362	Nd	Nd
64	α -muroleno	1503	24.941	0.932	24.802	0.686
65	Trans β -guaiano	1507	25.115	3.388	24.959	2.383
66	β -bisaboleno	1513	25.254	0.674	Nd	Nd
67	Cubebol	1513	Nd	Nd	25.277	0.269
68	Isobutanoato de geranilo	1515	Nd	Nd	25.382	0.181
69	Endo bourbonanol	1521	25.521	0.555	Nd	Nd
70	δ -cadineno	1526	25.811	1.706	25.672	1.398
71	Z nerolidol	1526	Nd	Nd	25.765	0.050
72	E nerolidol	1568	Nd	Nd	27.273	0.636
73	Longipinanol	1573	27.447	0.751	Nd	Nd

74	Germacreno D 4-ol	1578	27.726	0.481	27.540	0.341
75	Óxido de cariofileno	1587	27.993	1.874	27.795	1.035
76	Globulol	1592	28.201	0.196	27.992	0.319
77	Ledol	1603	Nd	Nd	28.503	0.053
78	5-epi-7-epi- α -eudesmol	1603	Nd	Nd	28.572	0.092
79	Hexadecano	1609	28.735	0.236	Nd	Nd
80	Óxido de β -himachaleno	1611	28.932	0.409	28.735	0.273
81	Epi cedrol	1619	29.130	0.212	28.990	0.243
82	Espatulanol	1623	29.350	0.200	29.141	0.227
83	10-epi- γ -eudesmol	1631	Nd	Nd	29.489	0.162
84	Agerocromeno	1658	Nd	Nd	30.580	0.169
85	Selin-11-en-4 α -ol	1660	30.615	3.627	30.498	3.229
86	(E) Bisabol-11-ol	1664	30.707	0.277	Nd	Nd
87	β -atlantona	1668	30.963	1.588	30.823	1.411
88	Guaia-3,10(14)-dien-11-ol	1678	31.334	0.221	31.113	0.118
89	Óxido de α -bisabolona A	1686	Nd	Nd	31.485	0.064
90	Bergamotol (Z- α -trans)	1691	31.798	0.147	31.589	0.107
91	Cis tujopsenal	1710	Nd	Nd	32.390	0.172
92	Farnesol (2E, 6Z)	1716	32.622	0.496	Nd	Nd
93	Farnesol (2Z, 6E)	1724	32.900	0.207	32.668	0.053
94	Longifolol	1727	33.063	0.320	32.807	0.078
95	β -Z-Curcumen-12-ol	1757	Nd	Nd	34.141	0.080
96	Eudesm-7(11)-en-4 α , 6 α -diol	1812	36.160	0.332	Nd	Nd
97	Acetato de eudesm-7(11)-en-4-ol	1834	36.949	0.211	Nd	Nd
98	Acetato de farnesilo (2E, 6E)	1840	Nd	Nd	37.146	0.042
99	Platambin	1845	37.367	0.509	Nd	Nd
100	Farnesil acetona (5E, 9Z)	1884	38.748	0.360	Nd	Nd

101	NI m/z (%): 105 (100), 83 (90), 203 (30)	2156	Nd	Nd	43.446	0.128
102	2,4-dihexil-7,7-dimetil-1,3,5-cicloheptatrieno	2281	Nd	Nd	45.384	0.508
103	Fitol	2300	45.756	0.322	45.558	0.346

NI = No identificado

Nd= No se encuentra en el aceite esencial

AE-1: Aceite esencial obtenido en la época de secas

AE-2: Aceite esencial obtenido en la época de lluvias

Los compuestos mayoritarios encontrados en los dos aceites esenciales obtenidos de *Mentha pulegium* cultivados en Yucatán son los monoterpenos oxigenados acíclicos neral y geranial (Figura 3.22). Para el aceite esencial de la época de secas el contenido de geranial (α citral) fue de 18.018% y para el aceite esencial de la época de lluvias fue de 21.369%, observándose un contenido un poco mayor de este compuesto en AE-2. En el caso del neral (β citral), para la época de secas tuvo una abundancia relativa de 12.109% y para la época de lluvias fue de 17.072%, de nueva cuenta, se aprecia un mayor contenido de este compuesto en AE-2. Estos dos compuestos (geranial y neral) constituyen en los aceites esenciales de *Mentha pulegium* obtenidos de plantas cultivadas en Yucatán, alrededor de la tercera parte de la composición, con un de 30.1 a 38.4% del área.

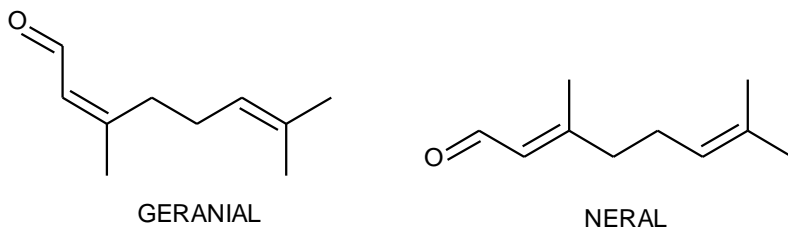


Figura 3.22 Principales compuestos mayoritarios encontrados en AE-1 y AE-2 de *M. pulegium*

Para el aceite esencial de la época de secas, otros compuestos de mayor abundancia fueron el monoterpeno oxigenado eucaliptol con 7.729% de área, el monoterpeno hidrocarbonado β -pineno con 4.259% y los sesquiterpenos hidrocarbonados α guaieno con 5.116% y ciclosativeno con 3.685% de área (Figura 3.23).

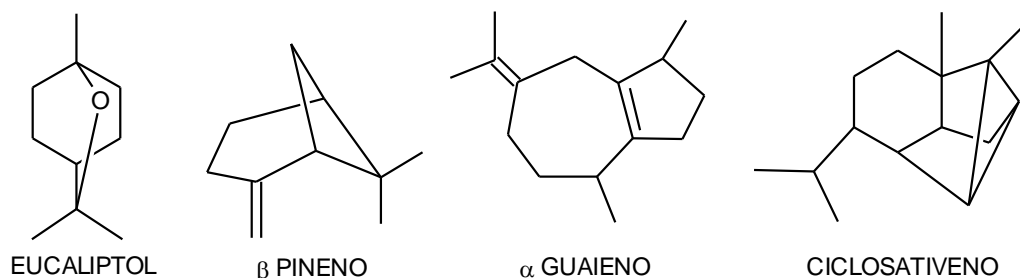


Figura 3.23 Principales compuestos mayoritarios encontrados en AE-1 de *Mentha pulegium*

Para el aceite esencial de la época de lluvias, otros compuestos de mayor contenido fueron el monoterpeno oxigenado eucaliptol con 6.176%, los monoterpenos hidrocarbonados sabineno con 6.610% de área, β pineno con 5.215% y el sesquiterpeno hidrocarbonado α guaieno con 3.417% de área (Figura 3.24).

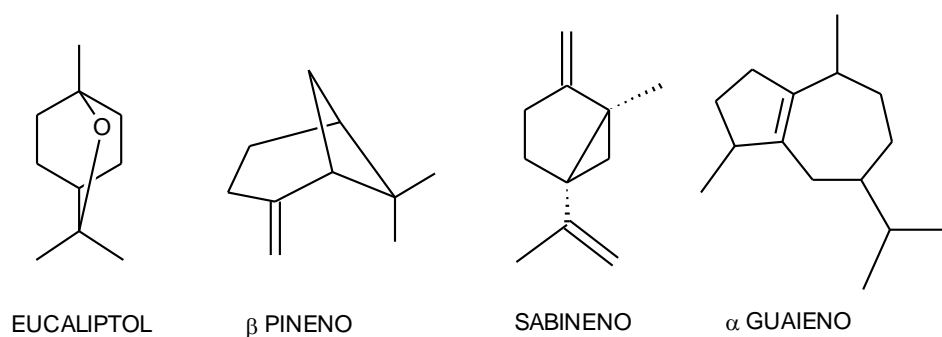


Figura 3.24 Principales compuestos mayoritarios encontrados en AE-2 de *Mentha pulegium*

Como puede observarse (Tabla 3.16), el aceite esencial de poleo contiene una elevada proporción de compuestos oxigenados, principalmente del tipo monoterpénico, para ambos aceites esenciales, en donde la proporción varía muy poco, ya que para el aceite esencial de la época de secas se tiene un 47.023% y para el aceite esencial de la época de lluvias el área es de 51.836%.

Tabla 3.16 Distribución por grupos de los componentes identificados en el aceite esencial de *Mentha pulegium*

CLASE DE COMPUESTOS	AE-1		AE-2	
	No.Comp.	% área	No.Comp.	% área
Serie aromática (ARO)	1	0.260	5	0.662
Monoterpenos hidrocarbonados (MH)	6	7.479	11	17.637
Monoterpenos oxigenados (MO)	17	47.023	19	51.846
Sesquiterpenos hidrocarbonados (SH)	18	28.073	17	19.255
Sesquiterpenos oxigenados (SO)	17	11.893	21	9.012
Otros	10	4.961	5	1.318
No identificado (NI)	11	0.314	2	0.245

AE-1: Aceite esencial obtenido en la época de secas

AE-2: Aceite esencial obtenido en la época de lluvias

Asimismo, se puede observar que el siguiente grupo de compuestos con mayor abundancia son los sesquiterpenos hidrocarbonados, en donde para AE-1 (secas) representa el 28.073%, y para AE-2 (lluvias) representa el 19.255% del área relativa. También existe una diferencia notable en el contenido de compuestos de tipo monoterpeno hidrocarbonado, ya que en el porcentaje de área, para la época de

secas la proporción de éstos es menor de la mitad del contenido presente en el aceite esencial de la época de lluvias. Sin embargo, AE-1 (secas) tiene una proporción un poco mayor de compuestos sesquiterpénicos oxigenados que AE-2 (lluvias).

Agrelo *et al.* (2002), reportaron que el aceite esencial de Poleo de Argentina tenía un alto contenido de cetonas monoterpénicas (85%), un bajo contenido de hidrocarburos terpénicos (no mayor del 2% del total de la esencia); y un contenido de sesquiterpenos y alcoholes sesquiterpénicos también bajo, destacando cariofileno y humuleno; resultados similares fueron encontrados por Lorenzo *et al.*, en el mismo año, en el aceite esencial de Uruguay, donde pulegona (73.4%), isomentona (12.9%), mentona (3.6%) e isopulegona (1.4%) fueron los compuestos mayoritarios. Un estudio posterior realizado en 2004, reportó un contenido elevado de pulegona (85%) (Agrelo *et al.*, 2004).

Aghel *et al.* (2004), reportaron en el aceite esencial hidrodestilado de Irán un contenido de pulegona del 38%, resultando inferior a los reportados anteriormente para el aceite proveniente del mismo país.

Diaz *et al.*, en 2007, realizaron la extracción-destilación simultánea en aceite esencial de *Mentha pulegium*, reportando un contenido de pulegona de 41-42%. Marzouk *et al.*, en el 2008; encontraron que el aceite esencial de Túnez obtenido por hidrodestilación tenía un alto contenido de hidrocarburos monoterpénicos oxigenados y que la composición cualitativa cambia dependiendo de su origen geográfico. Un año después, del aceite esencial hidrodestilado proveniente de Egipto, se reportó un contenido elevado de pulegona (88%) seguido de isomentona (6%) (Aziz *et al.*, 2009). En el 2010, Derwich *et al.*, realizaron un estudio sobre el aceite esencial hidrodestilado de Marruecos, reportando piperitona (35.5%), piperitenona (21.18%), α -terpineol (10.89%) y pulegona (6.45%) como los componentes principales.

Diversos autores reportan la existencia de tres quimiotipos de *Mentha pulegium*, los predominantes en pulegona, piperitona/piperitenona e isomentona/neoisomentol (Miller *et al.*, 1997; Stoyanova *et al.*, 2005; Beghidja *et al.*, 2007). La mayoría de los aceites esenciales reportados se encuentran dentro de estos tres quimiotipos, sin embargo, el aceite esencial hidrodestilado de poleo cultivado en el estado de Yucatán, no pertenece a ninguno de estos tres grupos, debido a que los compuestos principales resultaron ser neral y geranial (mejor conocidos como citral) y no se encontró presencia de pulegona, piperitona, piperitenona, isomentona e isoneomentol, tanto en los aceites esenciales de la época de secas como en la de lluvias.

Los aceites esenciales de Poleo que son ricos en pulegona, esto es, que presentan alrededor de 30 a 92% de este compuesto, han sido reportados como carcinogénicos, debido al grupo isopropilideno de la pulegona (Agrelo *et al.*, 2004; Lawrence, 2006), esto nos permite considerar que los aceites esenciales de *Mentha pulegium* cultivados en Yucatán podrían ser utilizados para consumo humano, aunque habría que realizar otros estudios de actividad biológica para garantizar su utilización.

3.3. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

3.3.1. Ensayo de DPPH

La actividad antioxidante de los extractos de plantas es de particular interés debido a la actividad fisiológica beneficiosa en células humanas y el potencial que tienen para reemplazar antioxidantes sintéticos usados en alimentos comestibles (Stef *et al.*, 2009).

Las actividades antioxidantes de los aceites esenciales de plantas aromáticas, son principalmente atribuidas a los compuestos activos presentes en ellos. Esto puede ser debido al alto porcentaje de los constituyentes principales, pero también a la presencia de otros constituyentes en pequeñas cantidades o al sinergismo entre ellos (Ebrahimzadeh *et al.*, 2010; Viuda-Martos *et al.*, 2010).

En este estudio, las actividades antioxidantes de los aceites esenciales de cinco plantas pertenecientes a tres familias diferentes y bajo condiciones de cultivo geobotánico distinto, se compararon con Vitamina C, Trolox y Quercetina como compuestos de referencia antioxidante y fueron determinados por el método de ensayo de captura del radical DPPH. En el ensayo, el radical cromógeno púrpura es reducido por compuestos reductores/antioxidantes presentes en el aceite esencial disuelto en metanol a la correspondiente hidrazina de color amarillo pálido. La actividad antioxidante fue evaluada por colorimetría a $\lambda = 517$ nm.

Se cuantificó el porcentaje de inhibición en DPPH de los aceites esenciales de *Montanoa speciosa* (hojas y flores), *Mentha pulegium*, *Mentha piperita*, *Cymbopogon citratus* y *Rosmarinus officinalis* con la finalidad de comparar su actividad antioxidante con los aceites esenciales de las mismas plantas cultivadas en diferentes partes del mundo. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 3.17.

Tabla 3.17 Porcentajes de inhibición de DPPH de los aceites esenciales

ACEITE ESENCIAL	% RSC ^a	DE	CV
<i>Montanoa speciosa</i> (hojas)	65.4	0.17998	0.28%
<i>Montanoa speciosa</i> (flores)	61.4	0.05865	0.10%
<i>Rosmarinus officinalis</i> AE-1	11.8	1.23047	10.44%
<i>Rosmarinus officinalis</i> AE-2	49.9	0.85925	1.72%
<i>Mentha piperita</i> AE-1	29.4	0.84976	2.89%
<i>Mentha piperita</i> AE-2	21.2	0.89912	4.24%
<i>Cymbopogon citratus</i> AE-1	90.1	3.75180	4.17%
<i>Cymbopogon citratus</i> AE-2	81.3	3.11044	3.83%
<i>Mentha pulegium</i> AE-1	46.1	5.96631	12.93%
<i>Mentha pulegium</i> AE-2	18.3	3.32688	18.19%

a: Promedio de las tres réplicas. %RSC: Porcentaje de captura de radicales libres.

DE: Desviación estándar. CV: Coeficiente de variación.

AE-1: Aceite esencial obtenido en época de secas.

AE-2: Aceite esencial obtenido en época de lluvias.

Analizando la Tabla 3.17, se puede observar que los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus* tuvieron el porcentaje más alto de captura de radicales DPPH (90.1 y 81.3%). *Montanoa speciosa* presentó actividad intermedia de captura de radicales tanto para el aceite esencial de hojas como de flores (65.4 y 61.4, respectivamente). Los aceites esenciales de *Mentha piperita* presentaron valores pequeños (29.4 y 21.2%).

Los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* y *Mentha pulegium* presentaron variaciones en sus porcentajes de captura de radicales libres bajo condiciones climáticas diferentes. Para el caso del aceite esencial de romero señalado como AE-1 de la época de secas se tuvo 11.8% RSC y para AE-2 de la época de lluvias 49.9% de captura de radicales. Para el aceite esencial de poleo se tuvo para la

época de secas una actividad de 46.1% de captura de radicales y para el aceite esencial de poleo de la época de lluvias se obtuvo 18.3% RSC, siendo la actividad para este grupo de aceites esenciales de moderada a baja.

La Figura 3.25 muestra la actividad de inhibición del radical DPPH, frente a los tres antioxidantes de referencia empleados. El mayor efecto se obtuvo con el aceite de *Cymbopogon citratus* de la época de secas (AE-1) (90.1%), que fue el doble de la actividad del trolox, similar a la actividad de la quercetina y ligeramente menor si se compara con el ácido ascórbico (vitamina C). El siguiente aceite que presentó un alto valor de inhibición de radicales libres, fue el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* de la época de lluvias (AE-2) (81.3%), que fue el doble de la actividad del trolox, y ligeramente menor si se compara con el ácido ascórbico (vitamina C) y la quercetina. Los aceites esenciales de *Montanoa speciosa* hojas y flores (65.4% y 61.4%, respectivamente) mostraron una actividad ligeramente mayor que el antioxidante trolox, pero menores a los valores obtenidos para los otros dos antioxidantes de referencia, resultados similares se observaron para el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* de la época de lluvias (AE-2) y *Mentha pulegium* de la época de secas (AE-1).

Los aceites esenciales que presentaron menor actividad comparado con los tres antioxidantes de referencia empleados en el estudio, fueron *Mentha piperita* de la época de secas y lluvias, *Rosmarinus officinalis* de la época de secas y *Mentha pulegium* de la época de lluvias.

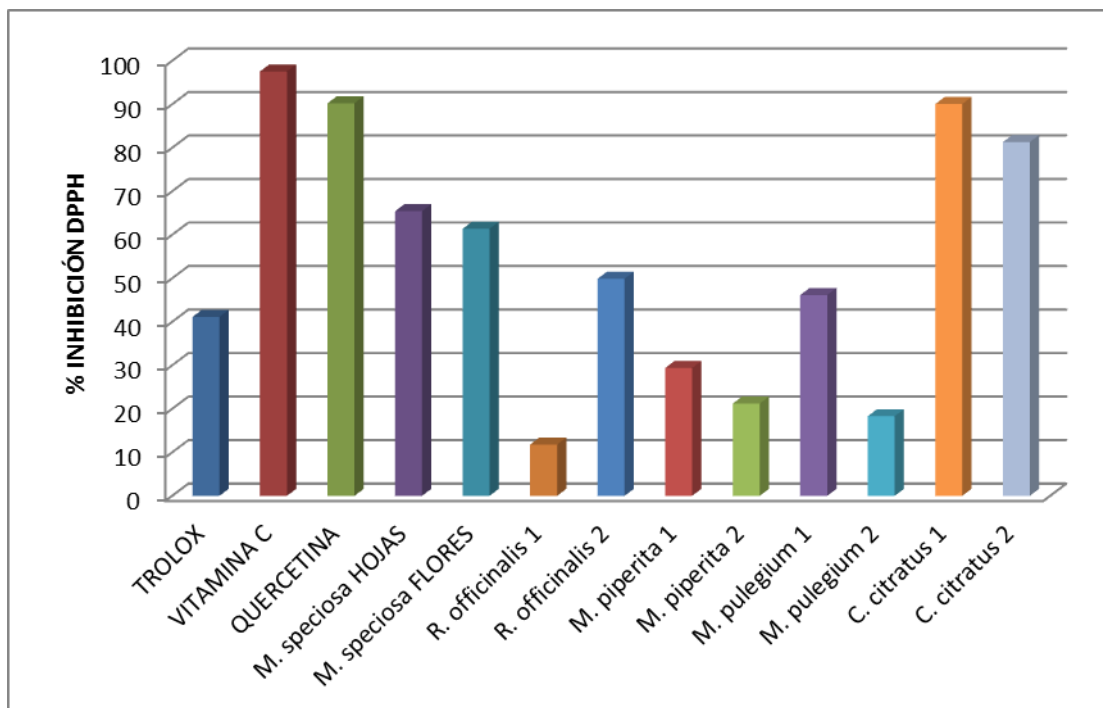


Figura 3.25. Porcentajes de captura de radicales DPPH en los aceites esenciales evaluados. Los aceites se probaron a una concentración de 40 ppm, Trolox a 50 ppm, Vitamina C a 20 ppm y Quercetina a 4 ppm.

En la Tabla 3.18, se muestran los resultados de la capacidad antioxidante de los aceites esenciales, expresados en términos de equivalentes de antioxidante/g de aceite esencial. El rango varía de 4.109 a 88.135 mM de trolox/g de aceite esencial siendo la mayor capacidad antioxidante para *Cymbopogon citratus* (yerba limón) de la época de secas. Para el otro antioxidante se referencia, el rango varía de 0.406 a 32.416 $\mu\text{g/mL}$ de Quercetina/g de aceite esencial, donde la mayor capacidad antioxidante la presentó *Montanoa speciosa* hojas (teresita) y para el antioxidante ácido ascórbico el rango fluctuó de 55.475 a 215.871 $\mu\text{g/mL}$ de Vitamina C/g de aceite esencial, siendo *Cymbopogon citratus* (yerba limón) de la época de secas, el aceite que presentó la mayor capacidad antioxidante.

Tabla 3.18 Capacidad antioxidante de los aceites esenciales cultivados en Yucatán

ACEITE ESENCIAL	Trolox (mM)	Quercetina (µg/mL)	Vitamina C (µg/mL)
<i>Montanoa speciosa</i> (hojas)	72.852	32.416	147.829
<i>Montanoa speciosa</i> (flores)	68.430	29.009	131.579
<i>Rosmarinus officinalis</i> AE-1	4.109	Nd	Nd
<i>Rosmarinus officinalis</i> AE-2	45.987	15.788	69.504
<i>Mentha piperita</i> AE-1	23.464	Nd	Nd
<i>Mentha piperita</i> AE-2	14.658	Nd	Nd
<i>Cymbopogon citratus</i> AE-1	88.135	0.465	215.871
<i>Cymbopogon citratus</i> AE-2	80.440	0.406	187.599
<i>Mentha pulegium</i> AE-1	42.002	12.810	55.475
<i>Mentha pulegium</i> AE-2	10.961	Nd	Nd

Expresado en términos de equivalentes de antioxidante/gramo de aceite esencial

Nd= No se pudo determinar ya que se encontraba por debajo del rango de la curva de calibración.

AE-1: Aceite esencial obtenido en época de secas.

AE-2: Aceite esencial obtenido en época de lluvias.

En la Tabla 3.19, se encuentran algunos de los estudios realizados por investigadores de diferentes partes del mundo, relacionados con los aceites esenciales analizados. Existen diferentes reportes relacionados con la actividad antioxidante, en los cuales se emplean diversas pruebas para medir las propiedades antioxidantes de los aceites esenciales, empleándose igualmente diferentes antioxidantes de referencia, no existiendo un criterio para expresar la capacidad antioxidante de un aceite esencial. Los estudios presentados en la Tabla 24 corresponden a la prueba de actividad antioxidante medidas con el radical sintético DPPH.

Tabla 3.19 Actividad antioxidante o porcentaje de inhibición de aceites esenciales

ACEITE ESENCIAL	LUGAR	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE O % RSC
<i>R. officinalis</i>	Comercial Corea	34.1±4.53% RSC al 5% (Yang <i>et al.</i> , 2010)
	Hidrodestilado España	47.54% RSC a 5 g/L (Viuda-Martos <i>et al.</i> , 2010)
	Comercial Italia	65% RSC (Sacchetti <i>et al.</i> , 2005)
	Hidrodestilado Turquía	89.5% RSC (Topal <i>et al.</i> , 2008)
	Fluidos supercríticos Turquía	91.7% RSC (Topal <i>et al.</i> , 2008)
<i>M. piperita</i>	Comercial Corea	57.9±1.34% RSC al 5% (Yang <i>et al.</i> , 2010)
	Percolado Irán	IC ₅₀ 129±4.5 µg/mL (Ebrahimzadeh <i>et al.</i> , 2010)
	Percolación España	80 % RSC a 400 µg/mL (López <i>et al.</i> , 2007)
	Hidrodestilado Chile	65% RSC a 50 µg/mL (Cheel <i>et al.</i> , 2005)
<i>C. citratus</i>	Comercial Ecuador	60% RSC (Sacchetti <i>et al.</i> , 2005)
<i>M. pulegium</i>	Hidrodestilado Turquía	20.11±1.16 mM de Trolox/g de aceite (Serteser <i>et al.</i> , 2009)
	Percolación España	95% RSC a 400 µg/mL (López <i>et al.</i> , 2007)

Algunos autores sugieren que la actividad antioxidante en los aceites esenciales se debe a la presencia de compuestos monoterpénicos oxigenados, particularmente con los que presentan grupos funcionales de aldehídos y cetonas y que los compuestos sesquiterpénicos tienen poco o ningún potencial de actividad antioxidante (Topal *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2010; Sacchetti *et al.*, 2005).

Se encontró que los aceites esenciales de las cinco especies de plantas analizadas mostraron diferentes grados de capacidad antioxidante. Asimismo, se puede observar en la Tabla 3.19 que no existe un criterio estandarizado para el reporte de la actividad antioxidante o el porcentaje de captura de radicales, lo que no permite comparar correctamente la actividad de los aceites esenciales obtenidos con los aceites comerciales u obtenidos en otras partes del mundo. Sin embargo, de manera general se puede decir que el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* tanto de la época de secas y lluvias presenta valores mayores de porcentaje de captura de radicales al del aceite comercial de Ecuador; *Mentha pulegium* presenta valores similares si se compara con el aceite hidrodestilado de Turquía, en relación a la capacidad antioxidante frente a Trolox; en tanto que *Rosmarinus officinalis* presenta valores menores al reportado si se compara con el aceite hidrodestilado de Turquía con relación al porcentaje de captura de radicales. La diferencia en la actividad de captura del radical DPPH entre las cinco especies de plantas de las cuales se obtuvieron aceites esenciales, puede ser atribuida a la composición química de cada aceite esencial y a las diferentes condiciones geobotánicas de cultivo así como de los métodos de extracción. No existen reportes en la literatura de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Montanoa speciosa*, siendo este el primer reporte del potencial antioxidante de la planta.

Capítulo IV

CONCLUSIONES

- Se determinaron las características físicas de olor, apariencia, así como el índice de refracción de los aceites esenciales de cinco especies de plantas que se cultivan en Yucatán.
- Se compararon los índices de refracción de los aceites esenciales de *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Cymbopogon citratus* y *Rosmarinus officinalis* cultivados en Yucatán, con los valores reportados en la literatura para los aceites esenciales comerciales de las mismas plantas; encontrándose que las características organolépticas e índices de refracción de *Mentha pulegium*, fueron diferentes a los reportados en la literatura.
- Se presentan por primera ocasión las características organolépticas e índices de refracción de los aceites esenciales de hojas y flores de *Montanoa speciosa*, una planta de la familia de las Compuestas cultivada en el estado de Yucatán.
- Se determinó la composición química mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas; encontrándose que en los aceites esenciales extraídos por hidrodestilación de las hojas de *Cymbopogon citratus*, *Mentha pulegium*, *Mentha piperita* y *Rosmarinus officinalis*, los compuestos mayoritarios encontrados eran del tipo monoterpénico; siendo los compuestos de mayor predominancia los compuestos oxigenados.

- Los compuestos mayoritarios identificados en el aceite esencial obtenido de las hojas de *Mentha pulegium* tanto en la época de secas como de lluvias fueron α -citral (18.010% (secas) y 21.369% (lluvias)) y β -citral (12.109% (secas) y 17.072% (lluvias)).
- No se encontró en los aceites esenciales de *Mentha pulegium* cultivados en Yucatán tanto de la época de secas como de la época de lluvias, los compuestos químicos pulegona, piperitona, piperitenona, isomentona, y neoisomentol, compuestos considerados como quimiomarcadores de la planta; lo que indica que las condiciones de clima y área geográfica influyen en la composición química.
- El compuesto mayoritario predominante identificado en el aceite esencial obtenido de las hojas de *Mentha piperita* cultivado en Yucatán en época de secas y lluvias, fue mentona (27.342% AE-1 y 28.867% AE-2).
- El alto contenido de mentona seguido de mentol, sugiere que el aceite esencial de *Mentha piperita* cultivado en el estado de Yucatán, fue obtenido en etapas intermedias de maduración, siendo ideal la cosecha en tiempo posterior para elevar el contenido de mentol, compuesto que tiene mayor importancia económica. Asimismo, la variación en la proporción de los componentes químicos indica que las características de la época de recolección tanto en época de secas y lluvias influyen en la composición.
- Los compuestos mayoritarios identificados en el aceite esencial hidrodestilado de *Cymbopogon citratus* obtenido de la época de secas y de lluvias fueron α y β citral (45.106% AE-1 y 45.639% AE-2 y 30.788% AE-1 y 33.091% AE-2, respectivamente), con un contenido de citral mayor al 75%. Este aceite

esencial puede ser utilizado con fines terapéuticos y en perfumería debido al contenido de citral superior al 75%, según reportes de la literatura.

- En los aceites esenciales hidrodestilados de *Cymbopogon citratus* cultivados en Yucatán se encontraron los compuestos neral, geranial, limoneno, mirceno y geraniol, todos ellos marcadores quimiotaxonómicos. Sin embargo, no se encontró citronelal, otro quimiomarcador. Mirceno, marcador quimiotaxonómico de la especie, fue encontrado en diferentes proporciones en los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus*, 0.47% para la época de secas y 9.001% para época de lluvias. La variación en la proporción de los componentes químicos indica que las características de la época de recolección tanto en época de secas y lluvias influyen en la composición.
- Los compuestos mayoritarios identificados en el aceite esencial obtenido en época de secas y lluvias de las hojas de *Rosmarinus officinalis* cultivados en Yucatán fueron los compuestos monoterpénicos oxigenados cíclicos canfor (39.791% AE-1 y 19.961% AE-2) y eucaliptol (19.897% AE-1 y 18.301% AE-2).
- El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* de la época de secas presenta una elevada proporción de compuestos monoterpénicos oxigenados, comparado con el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* de la época de lluvias que presenta una elevada proporción de compuestos monoterpénicos hidrocarbonados. La variación en la proporción de los componentes químicos indica que las características de la época de recolección tanto en época de secas y lluvias influyen en la composición.
- El aceite esencial hidrodestilado de *Rosmarinus officinalis* cultivado en Yucatán, se puede considerar como del quimiotipo de canfor por el elevado contenido de este compuesto.

- La composición cualitativa y proporción de los compuestos mayoritarios de los aceites esenciales de *Montanoa speciosa* (hojas y flores), se reportan por primera vez. Estos aceites esenciales presentan una proporción de compuestos sesquiterpénicos hidrocarbonados superior al 50%. Los compuestos mayoritarios identificados en el aceite esencial hidrodestilado obtenido de las hojas (H) y flores (F) de *Montanoa speciosa* fueron β -cariofileno (20.734% H y 17.953% F), δ -cadineno (9.883% H y 9.278% F) y óxido de cariofileno (9.480% H y 8.675% F).
- La elevada proporción de compuestos sesquiterpénicos en el aceite esencial de *Montanoa speciosa*, sugiere el empleo de este aceite para la conservación de alimentos.
- Los aceites esenciales hidrodestilados obtenidos de *Montanoa speciosa*, *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Cymbopogon citratus* y *Rosmarinus officinalis*, cultivados en Yucatán, presentaron actividad captadora de radicales libres DPPH.
- Los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus* y *Mentha piperita* de la época de secas y de lluvias, presentaron la mayor actividad en el ensayo del radical DPPH.
- Los aceites esenciales de *Montanoa speciosa* flores y hojas, presentaron actividad intermedia en el ensayo del radical DPPH, en donde las hojas presentaron 65.4170% de captura de radicales libres y las flores 61.3616% de captura de radicales libres.
- El mayor efecto antioxidante se obtuvo con el aceite de *Cymbopogon citratus* de la época de secas, seguida del aceite obtenido en época de lluvias, que fue

el doble de la actividad del antioxidante de referencia trolox, similar a la actividad de la quercetina y ligeramente menor al ácido ascórbico (vitamina C).

- Los aceites esenciales de *Montanoa speciosa* hojas y flores *Rosmarinus officinalis* de la época de lluvias y *Mentha pulegium* de la época de secas demostraron una actividad ligeramente mayor que el antioxidante trolox, pero menores a los valores obtenidos para los otros dos antioxidantes de referencia quercetina y vitamina C.
- En la literatura no hay criterio definido para la evaluación de la actividad antioxidante en los aceites esenciales; por lo que los resultados obtenidos en los aceites esenciales obtenidos de plantas cultivadas en Yucatán, se encuentran expresados dentro de los rangos reportados en las diferentes investigaciones.
- Se presenta por primera vez la actividad antioxidante evaluada por medio del ensayo del radical DPPH para los aceites esenciales hidrodestilados de *Montanoa speciosa*, *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Cymbopogon citratus* y *Rosmarinus officinalis*, obtenidos de plantas cultivadas en Yucatán.

REFERENCIAS

- Adams, R. P. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry*, 4th edition; Allured publishing corporation: Illinois, **2007**; pp 4-51.
- Aghel, N.; Yamini, Y.; Hadjiakhoondi, A.; Pourmortazavi, S. M. Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L essential oil. *Talanta* **2004**, *62*, 407-411.
- Agrelo, N. A.; Ricciardi, G. A.; Torres, A. M.; Ricciardi, A. I.; Contenido en pulegona de la infusión de *Mentha pulegium* L. Comunicaciones científicas y tecnológicas. [En línea]. **2004**, E-060.
- Agrelo, N. A.; Ricciardi, G. A.; Torres, A. M.; Ricciardi, A. I.; Aceite esencial de *Mentha pulegium* L. Comunicaciones científicas y tecnológicas. [En línea]. **2002**, E-020.
- Akhila, A. *Essential Oil – Bearing Grasses: The Genus Cymbopogon. Medicinal and Aromatic Plants. Industrial Profile*; CRC Press: India, **2009**.
- Ali, H. F. M.; El-Ella, F. M. A.; Nasir, N. F. Screening of chemical analysis, antioxidant, antimicrobial and antitumor activities of essential oil of oleander (*Nerium oleander*) flower. *International Journal of Biological Chemistry* **2010**, *4*, 4, 190-202.
- Almeida, B. L.; Alves, P. U.; Martinazzo, A. P.; Álvares M. C.; Teixeira, R. R.; De Castro, M. E. Evaluation of the chemical composition of Brazilian commercial *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf samples. *Molecules* **2008**, *13*, 1864-1874.
- Antolinez, J. C.; Colmenares, N.; Usubillagas, A.; Darghan, E.; Linares, S. Evaluación de variables agronómicas en el cultivo de Limonaria (*Cymbopogon citratus* stapf) para la producción de aceite esencial. *Interciencia* **2008**; *33*, 9, 693-699.
- Antolovich, M.; Prenzler, P. D.; Patsalides, E.; McDonald, S.; Robards, K. Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst* **2002**, *127*, 183-198.
- Arnao M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science and*

Technology **2000**, 11, 419-421.

- Aruoma O. L. Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia and Pacific Journal of Clinical Nutrition* **1999**, 8, 1, 53-63
- Arteche, A.; Vanaclocha, B.; Güenechea, J. I. *Fitoterapia. Vademécum de prescripción. Plantas medicinales*. Tercera edición, Masson: Barcelona, **1998**.
- Asfaha, H.; Asres, K.; Mazumder, A.; Bucar, F. Leaf essential oils of *Salvia nilotica* and *Salvia schimperi*: their antimicrobial and antioxidant activities. *Ethiopian Pharmaceutical Journal* **2008**, 26, 1, 49-54. *Scifinder*, Ethiopian Pharmaceutical Association (consultado Octubre 2008).
- Atti-Santos, A. C.; Rossato, M.; Fernandes P. G.; Duarte R. L.; Ciro R. J.; Pansera, M.; Agostini, L.; Atti S. L.; Moyna, P. Physico-chemical Evaluation of *Rosmarinus officinalis* L. essential oils. *Brazilian archives of biology and technology. An international Journal* **2005**, 48, 6, 1035-1039.
- Ávila, L.; Baquero, E.; Viña, A.; Murillo, E. Actividad antibacteriana de *Diplostephium tolimense* Cuatrec (Asteraceae) frente a *Staphylococcus aureus*. *Vitae* **2006**, 13, 1, 55-60.
- Aziz, E., Craker, L. Essential oil constituents of peppermint, pennyroyal and apple mint grown in a desert agrosystem. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* **2009**, 15, 361-367.
- Badui, D. S. *Química de los Alimentos*, 3ª edición; Editorial Alhambra mexicana: México, D. F., 1993, pp 446-447.
- Baratta, M. T.; Dorman, H. J.; Deans, S. G.; Figueiredo, A. C.; Barroso, J. G.; Ruberto G. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal* **1998**, 13, 235-244.
- Barbosa, L.; Demuner, A.; Dumont, A.; Fonseca, V.; Ismail, F. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Química Nova* **2007**, 30, 8, 1959-1965.
- Bassole, I. H. N.; Nebie, R.; Savadogo, A.; Ouattara, C. T.; Barro, N.; Traore, S. A. Composition and antimicrobial activities of the leaf and flower essential oils of *Lippia*

chevalieri and *Ocimum canum* from Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology* **2005**, 4, 10, 1156-1160.

- Beghidja, N.; Bauslimani, N.; Benayache, F.; Benayache, S.; Chalchat, J. C. Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the East of Algeria. *Chemistry of Natural Compounds* **2007**, 43, 4, 481-483.
- Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J.-M., Bernardini, A.-F., and Costa, J. Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry* **2008**, 106, 1, 132-139.
- Benkaci-Al, F.; Baaliouamer, A.; Meklati, B, Y. Kinetic study of microwave extraction of essential oil of *Nigella sativa* L. seeds. *Chromatographia* **2006**, 64, 227-231.
- Blanch, M. G. P.; Herraiz, C. M.; Reglero, R. G.; Tabera, G. J. ES. Patente 2, 043, 551, 1992.
- Bompadre, S.; Leone, L.; Politi, A.; Battino, M. Improved FIA-ABTS method for antioxidant capacity determination in different biological samples. *Free Radical Research* **2004**, 38, 8, 831-38
- Bottia, S. E.; Díaz, F. O.; Mendivelso, D. L.; Martínez, J. R.; Stashenko, E. E. Comparación de la composición química de los metabolitos secundarios volátiles de cuatro plantas de la familia Piperaceae obtenidos por destilación-extracción simultánea. *Scientia et Técnica* **2007**, 33, 193-195.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* **1995**, 28, 25-30; Scifinder; American Chemical Society (consultado febrero 2010).
- Breitmaier, E. *Terpenes: Flavors, Fragrances, Pharmacia, Pheromones*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Germany, **2006**.
- Bruneton, J. *Elementos de fitoquímica y farmacognosia*, 1ª ed.; Editorial Acribia S.A.: Zaragoza, España, **2003**; pp 230-290.

-
- Cañizares, M. P.; Valdez, C.; Longares, A. Aplicación de energías de microondas o ultrasonido para la obtención de extractos de vainilla. *Bebidas Mexicanas* **2007**, *16*, 2, 11-18.
 - Cantrell, C. L.; Abate, L.; Fronczek, F. R.; Franzblau, S. G.; Quijano, L.; Fischer, N. H. Antimycobacterial eudesmanolides from *Inula helenium* and *Rudbeckia subtomentosa*. *Planta Medica* **1999**, *65*, 4, 351-355
 - Chan Araujo, E. Cuantificación de capsaicinoides en frutos de chile habanero (*Capsicum chinense* J.) cultivados en cuatro tipos de suelo del estado de Yucatán. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Yucatán; Mérida, México, Marzo **2008**.
 - Cheel, J.; Theoduloz, C.; Rodríguez, J.; Schmeda, S.; Hirschmann G. Free radical scavengers and antioxidants from lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, *53*, 7, 2511-2517.
 - Chemat, F.; Vian, F. M.; Dangles, O. Essential oils as antioxidants. *International Journal of Essential Oil Therapeutics* **2007**, *1*, 1, 4-15.
 - Chen, C.; Yu, R.; Owuor, E. D.; Kong, A. N. Activation of antioxidant-response element (ARE), mitogen-activated protein kinases (MAPKs) and caspases by major green tea polyphenol components during cell survival and death. *Archives of Pharmacal Research* **2000**, *23*, 605-612.
 - Chisowa, E.; Hall, D.; Farman, D. Volatile constituents of the essential oils of *Cymbopogon citratus* Stapf grown in Zambia. *Flavour and Fragrance Journal* **1998**, *13*, 29-30.
 - Choi, H. S.; Song, H. S.; Ukeda, H.; Sawamura, N. Radical scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, *48*, 4156-4161.
 - Compadre, C.; Hussain, R.; León, I.; Enríquez, R. Volatile constituents of *Montanoa tomentosa* and *Lippia graveolens*. *Planta Medica* **1987**, *53*, 5, 495-496
 - Conzatti, C. Flora Taxonómica Mexicana. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: México, D. F., **1988**; Volumen I.

-
- Corticchiato, M.; Casanova, J. Analysis of Complex Mixtures by ^{13}C Carbon-NMR. Application to essential oils. *Analisis* **1992**, 20, 1, M51-M58.
 - Criado, D. C.; Moya, M. M. *Vitaminas y Antioxidantes*. Actualizaciones El médico, Sanidad y ediciones S.L: Madrid, **2009**; pp 5-29.
 - Cseke, L. J.; Setzer, W. S.; Vogler, B.; Kirakosyan, A.; Kaufman, P. B. Traditional, analytical and preparative Separations of Natural Products. En *Natural Products from Plants*, Cseke, L. J.; Kirakosyan, A.; Kaufman, P. B.; Warber, S. L; Duke, J. A.; Brielmann, H. L.; Taylor & Francis Eds. CRC Press: USA, **2006**.
 - Davis, E. M.; Ringer, K. L.; McConkey, M. E.; Croteau, R. Monoterpene metabolism. Cloning, expression and characterization of menthone reductases from peppermint. *Plant physiology* **2005**, 137, 873-881.
 - Davis, R.; Frearson, M. *Mass Spectrometry. Analytical chemistry by open learning*, First edition; Wiley & sons: Great Britain, **1987**.
 - De la Fuente M. Effects of antioxidants on immune system aging. *European Journal of Clinical Nutrition* **2002**, 56, 3, S5-S8.
 - Demirci, F.; Guven, K.; Demirci, B.; Dadandi, M. Y.; Baser, K. H. C. Antibacterial activity of two *Phlomis* essential oils against food pathogens. *Food Control* **2008**, 19, 1159-1164.
 - Derwich, E.; Benziane, Z.; Boukir, A. GC/MS analysis and antibacterial activity of the essential oils of *Mentha pulegium* grown in Morocco. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* **2010**, 6, 3, 191-198.
 - Díaz, M. M.; Castillo, N.; Castro, V. L.; González, V. M.; Pérez, C. S. Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium* L) plants. *Flavour and Fragrance Journal* **2007**, 22, 114-118.
 - Dudareva, N.; Negre, F.; Nagegowda, D. A.; Orlova, I. Plant volatiles: Recent advances and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Science* **2006**, 25, 417-440.

-
- Dzib, A. L.; Castillo, C. J.; López, P. A.; Macossay, V. M. El maíz y la milpa actual. Universidad Autónoma de Chapingo. *Biblioteca electrónica Centro Regional Universitario de la Península de Yucatán*, pp 1-14.
 - Ebrahimzadeh, M. A.; Nabavi, S. F.; Nabavi, S. M.; Eslami, B. Antioxidant and antihemolytic activities of *Mentha piperita*. *Pharmacology* [En línea] **2010**, *1*, 744-752.
 - Evans, W. C.; Saunders, W. B. *Trease and Evans Pharmacognosy*, 16th edition; Saunders Elsevier Publisher: New York, **2009**.
 - Fennema, O. R. *Food Chemistry*, Third Edition; Edited by Marcel Dekker Inc. University of Wisconsin Madison: New York, USA, **1996**.
 - Fernández, P. M.; Villaño, D.; Troncoso, A. M.; García, P. M. Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del vino y valoración de sus efectos *in vivo*. *Publicación Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición* **2006**, *56*, 2.
 - Fernández-Pachón, M. S.; Villaño, D.; García-Parrilla, M. C.; Troncoso, A. M. Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *513*, 113-118.
 - Foti, M. C.; Dasquino, C; Geraci, C. Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH radical in alcohol solutions. *Journal of Organic Chemistry* **2004**, *69*, 2309-2314.
 - Frankel, E. N.; Meyer, A. S. Review: The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2000**, *80*, 1925-1941.
 - Funk, V. A.; Bayer, R. J.; Keeley, S.; Chan, R.; Watson, L.; Gemeinholzer, B.; Schilling, E.; Panero, J. L.; Baldwin, B. G.; García-Jacas, N.; Susanna, A.; Jansen, R. K. Everywhere but Antarctica. Using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. *Biologiske Skrifter* **2005**, *55*, 343-374; Scifinder; American Chemical Society (consultado junio 2008).

-
- Gaydou, E.; Randriamiharisoa, E.; Bianchi, J.; Llinas, J. Multidimensional data analysis of essential oils. Application to Ylang-Ylang grades classification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1988**, *36*, 574-579.
 - Gesner, C. *Introducción a la bioquímica de los alimentos*, 2a edición; Editorial el Manual Moderno S. A.: México, D. F., 1980; pp 219-226.
 - Gil, P. E.; Sáenz, V. A. *Evaluación a escala de planta piloto del proceso industrial para la obtención de aceite esencial de cardamomo, bajo la filosofía "cero emisiones"*. Grupo de Investigaciones Procesos Ambientales y Biotecnológicos (GIPAB): Colombia, **2005**; pp 35-38.
 - Gobierno de Chile. Fundación para la innovación agraria. Boletín de Plantas Medicinales y Aromáticas. **2003**, *8*. <http://www.fia.cl/difus/boletin/bpm/bpmmarzo2004.pdf> (consultado junio 2009).
 - Gobierno de Guatemala. Aceites esenciales. Ficha 17 UE. Apoyo a MYPES. Promoción de inversiones e intercambios comerciales. Apoyo al sector de la micro y pequeña empresa en Guatemala. <http://www.export.com.gt/.../Ficha17%20-%20Aceites%20esenciales.pdf> (Consultado febrero de 2009).
 - Gómez, N. E.; Witte, L. A simple method to extract essential oils from tissue samples by using microwave radiation. *Journal of Chemical Ecology* **2001**, *27*, 2351-2359.
 - Gören, A.; Gülaçtic, T.; Bilsel, G.; Bilsel, M.; Wilkinson, J.; Cavanagh H. Analysis of essential oil of *Satureja thymbra* by hydrodistillation, thermal desorber, and headspace GC/MS techniques and its Antimicrobial activity. *Natural Product Research* **2004**, *18*, 2, 189-195
 - Halliwell, B. Food-Derived Antioxidants: How to evaluate their importance in food and in vivo. En *Handbook of Antioxidants*. Second edition; Taylor & Francis Group. USA. **2002**, Chapter 1.
 - Hammer, K. A.; Carson, C. F.; Riley, T. V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology* **1999**, *86*, 985-990.
 - Harborne, J. B.; Turner, B. L. Essential Oils. En *Plant Chemosystematics*. First edition; Academic press: England, **1984**.

-
- Heath, H. B. *Source book of flavors*, Publisher by Van Nostrans Reinhold: London, England, **1981**.
 - Heinrich, M.; Robles, M.; West, J.; Ortiz de Montellano, B.; Rodríguez, E. Ethnopharmacology of Mexican Asteraceae (Compositae). *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **1998**, 38, 539-565.
 - Hérent, M. F.; De Bie, V.; Tilquin B. Determination of new retention indices for quick identification of essential oils compounds. *Journal of Pharmaceutical and biomedical analysis* **2007**, 43, 886-892.
 - Hui, L.; He, L.; Xiaolan, L.; AiGuo, Z: Chemical composition of lavender essential oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitis-related bacteria. *African Journal of Microbiology Research* **2010**, 4, 4, 309-313.
 - Institute of medicine of the national academies. *Food Chemicals Codex*. Committee on specifications of the Food Chemicals Codex. Fifth edition. Washington, DC, **2003**.
 - Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI **2010**. <http://mapserver.inegi.com.mx/geografía/espanol/estados/yuc/clima.cmf?c=444&e=07> (consultado febrero de 2010).
 - Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI **2010**. <http://mapserver.inegi.com.mx/geografía/espanol/estados/yuc/relieve.cmf?c=444&e=07> (consultado febrero de 2010).
 - Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI **2010**. <http://mapserver.inegi.com.mx/geografía/espanol/estados/yuc/territorio.cmf?c=444&e=07> (consultado febrero de 2010).
 - Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI **2010**. <http://cuentame.inegi.org.mx/monografías/información/yuc/territorio/clima.aspx?tema=me&e=31> (consultado febrero de 2010).
 - Jahodar, L.; Klecakova, J. Toxicity of Asteraceae with emphasis on pharmaceutically important species. *Chemicke Listy* **1999**, 93, 5, 320-326. *Scifinder*; American Chemical Society: Columbus, EUA (consultado mayo 2008).

-
- Jalal, K.; Rahmat, M.; Tabatabaei, M. F.; Bakhsh, H. N. Influence of drying methods, extraction time and organ type on essential oil content of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L). *Nature and Science*, **2009**; 7, 11, 42-44.
 - Jamshidi, R.; Afzali, Z.; Afzali, D. Chemical composition of hydrodistillation essential oil of Rosemary in different origins in Iran and comparison with other countries. *American-Eurasian Journal. Agricultural and environmental science* **2009**, 5, 1, 78-81.
 - Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P. F.; Donoghue, M. J. «Asteraceae». En *Plant Systematics: A Phylogenetic Approach, Third edition*. Sinauer Associates: Sunderland, Massachusetts, **2007**, pp.508-515.
 - Kalemba, D.; Kunicka, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* **2003**, 10, 813-829.
 - Kameoka, H. GC-MS method for volatile flavor components of foods. En *Modern methods of plant analysis. New series volume 3. Gas chromatography/Mass spectrometry*. Edited by H. F. Linskeus and J. F. Jackson. Springer Verlag Berlin Heidelberg: Germany, **1986**, pp 254-276.
 - Karadog, A.; Ozcelik, B.; Saner, S. Review of methods to determine antioxidants capacities. *Food Analytical Methods* **2009**, 2, 41-60.
 - Kasali, A.; Oyedeji, A.; Ashilokun, A. Volatile leaf oil constituents of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. *Flavour and Fragrance Journal* **2001**, 16, 377-378.
 - Keville, K.; Green, M. Chemistry of essential oils. En *Aromatherapy: a complete guide to the healing art*. The crossing press: USA. **1995**.
 - Khorshidi, J.; Mohammadi, R.; Fakhr. M, T.; Nourbakhsh, H. Influence of drying methods, extraction time, and organ type on essential oil content of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Nature and Science* **2009**, 7, 11, 42-44.
 - Koffi, K.; Koma, S.; Guyon, C.; Raynoud, C.; Chaumont, J. P.; Nicod, L. *In vitro* citotoxic activity of *Cymbopogon citratus* L. and *Cymbopogon nardus* L. essential oils from Togo. *Bangladesh Journal Pharmacology* **2009**; 4, 29-34.
 - Kokate, C. K.; Purohit, A. P.; Gokhale, S. B. *Pharmacognosy*. Forty two edition. Editorial Nirali Prakashan: India, **2008**.

-
- Kosar, M.; Ösek, T.; Coger, F.; Kürkcüoğlu, M.; Can Baser, H. Comparison of Microwave-assisted hydrodistillation and hidrodistillation methods for the analysis of volatile secondary metabolites. *Pharmaceutical Biology* **2005**, *43*, 6, 491-495.
 - Kou, D; Mitra, S. Extraction of semivolatile organic compounds from solid matrices. En *Sample preparation techniques in analytical chemistry and its applications*. Winefordner, J. D.; Mitra, S., Eds.; Wiley-Interscience: USA, **2003**; Vol. 62. 2003.
 - Kuklinski, C. *Farmacognosia*. Primera reimpresión, Editorial Omega: Barcelona, España. **2003**.
 - Kumari, R.; Agrawal, S. B.; Sarkar, A.; Evaluation of changes in oil cells and composition of essential oil in lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) due to supplemental ultraviolet-B irradiation. *Current science* **2009**; *97*, 8, 1137-1142.
 - Lahlou, M. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* **2004**, *18*, 435-448.
 - Langseth, L. *Oxidants, Antioxidants, and Disease Prevention*. Ed. International Life Sciences Institute (ILSI): Bruselas. **1995**.
 - Lawrence, M. B. *Mint: the genus Mentha. Medicinal and aromatic plants. Industrial profile*. CRC Press. Taylor & Francis Group. New York, **2006**.
 - Legiscomex.com. Aceites esenciales en la Unión Europea. **2006**. <http://www.legiscomex.com/BancoMedios/Documentos%20PDF/aceitesesencialesue.pdf> (Consultado enero de 2010).
 - Leitao, S.; De Oliveira, D.; Sulsen, V.; Martino, V.; Barbosa, Y.; Bizzo, H.; Lopes, D.; Viccini, L.; Salimena, F.; Peixoto, P.; Leitao, G. Analysis of the chemical composition of the essential oils extracted from *Lippia lacunose* Mart. & Schauer and *Lippia rotundifolia* Cham. (Verbenaceae) by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2008**, *19*, 7, 1388-1393; *Scifinder*: Sociedade Brasileira de Química. (consultado Octubre 2008).
 - Lesueur, D.; De Rocca Serra, D.; Bighelli, A.; Hoy, T.; Thai, T.; Casanova, J. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Acronychia pedunculata*

-
- (L). Miq from Vietnam. *Natural Product Research, Part A: Structure and Synthesis* **2008**, 22, 5, 393-398. *Scifinder*, Taylor & Francis Ltd. (consultado Octubre 2008).
- Lewinsohn, E.; Dudai, N.; Tadmor, Y. Katzir, I. Ravid, U.; Puttievsky, E.; Joel, D. M. Histochemical localization of citral accumulation in lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., Poaceae). *Annals of Botany* **1998**, 81, 1, 35-39.
 - Liang, Q.; Liang, Z.; Wang, J.; Xu, W. essential oil composition of *Salvia miltiorrhiza* flower. *Food Chemistry* **2009**, 113, 592-594.
 - Library of National Institute of Standard and Technology (NIST) database. **2007**.
 - Longenau, E. E. Aceites esenciales. En *Enciclopedia de Tecnología Química*. 1ª edición; Unión tipográfica. Editorial Hispano-americano: México, D. F., **1989**; Tomo 1, pp 61-81.
 - Lopes, L. D.; Alviano, D. S.; Alviano, C. S.; Kolodziejczyk, P. P. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry* **2008**, 69, 1732-1738.
 - López, L. T. El romero. Planta aromática con efectos antioxidantes. *Ámbito farmacéutico. Fitoterapia* **2008**, 27, 7, 60-63.
 - López, V.; Akerreta, S.; Cavero, R. Y.; Calvo, M. I. Actividad antioxidante de plantas empleadas en la medicina tradicional navarra. *Fitoterapia* **2007**, 7, 1, 43-47.
 - Lorenzo, D.; Paz, D.; Dellacasa, E.; Davies, P. Vila, R.; Cañigüeral, S. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. *Brazilian Archives of biology and technology* **2002**, 45, 4, 519-524.
 - Lozoya G. E. Xochipilli updated, terpenes from Mexican plants. *Recent Advances in Phytochemistry*. **2003**, 37 (Integrative Phytochemistry: from ethnobotany to molecular ecology), 285-311. *Scifinder*, American Chemical Society: Columbus, EUA (consultado mayo de 2008).
 - Mantle, D.; Anderton, J. G.; Falkous, G.; Barnes, M.; Jones, P.; Perry, E. K. Comparison of methods for determination of total antioxidant status: application to analysis of medicinal plant essential oils. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* **1998**, 121, 385-391.

-
- Market News Service: Essential oils, Herbs and Spices. <http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/marketnews> (Consultado febrero de **2009**).
 - Marrone, J.; Cigliano, M.; Crisci, J. Cladismo y diversidad biológica. *Ciencia Hoy* **1992**, *4*, 21.
 - Martínez, N.; Merlino, A.; Lorenzo, D.; Márquez, V.; Vázquez, A.; Cesio, V.; Heinzen, H.; Dellacassa, E. Impacto sensorial del procesamiento de la yerbamate sobre la composición volátil. *Revista de la Asociación de Química y Farmacia de Uruguay* **2007**, *51*, 29-35.
 - Marzouk, B.; Ben-Hadj, F. B.; Chraief, I.; Mastouri, M.; Boukef, K.; Marzouk, Z. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian *Mentha pulegium* L. *Journal of food, agriculture and environment* **2008**; *6*, 1, 78-82.
 - Matsukawa, R.; Dubinsky, Z.; Kishimoto, E.; Masaki, K.; Masuda, Y.; Takeuchi, T.; Chihara, M.; Yamamoto, Y.; Niki, E.; Karube, I. A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. *Journal of Applied Phycology* **1997**; *9*, 29–35.
 - McKay, D.; Blumberg, J. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L). *Phytotherapy Research* **2006**, *20*, 619-633.
 - Mc Nair, H.; Miller, J. *Basic Gas Chromatography. Techniques in Analytical Chemistry Series*. John Wiley & Sons: USA, **1998**, pp 60-63, 126-137.
 - Mendivelso, P. D.; Olivares, S. M.; Martínez, J.; Stashenko, E. Composición química de los metabolitos secundarios volátiles de *Pelargonium graveolens*, en función del método de extracción y época de recolección del material vegetal. *Scientia et technica* **2007**, *13*, 33, 183-184.
 - Menut, C.; Bessiere, J. M.; Somate, D.; Djibo, A. K.; Buchbauer, G.; Schopper, B. Aromatic plants of tropical west Africa. XI. Chemical composition, antioxidant and antiradical properties of the essential oils of three *Cymbopogon* species from Burkina Faso. *Journal of Essential Oil Research* **2000**, *12*, 2, 207-212.
 - Miller, F.; Berger, B.; Yegen, O.; Cakir, C. Seasonal variations in the chemical composition of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1997**, *45*, 12, 4821-4825.

-
- Mukhopadhyay, S.; Luthria, D. L.; Robbins, R. J. Optimization of extraction process for phenolic acids from cohosh (*Cimicifuga racemosa*) by pressurized liquid extraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2006**, *86*, 156-162.
 - Münevver, S.; Julia, S.; Dimitra, D.; Medine, G.; Moschos, P.; Bektas, T.; Askin, A.; Fikrettin, S.; Atalay, S. In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *Journal of agricultural and food chemistry* **2004**, *52*, 11, 3309-3312.
 - National Research Council. *Food Chemicals Codex*. Second edition. Committee on specifications of the Food Chemicals Codex: Washington, DC. 1972.
 - Niki, E. Antioxidant activity: are we measuring it correctly? *Nutrition* **2002**, *18*, 6, 524-525.
 - Olivero-Verbel, J.; Nerio, L.; Stashenko, E. Bioactivity against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: *Tenebrionidae*) of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils grown in Colombia. *Pest Management Science* **2010**, *66*, 664-668.
 - Pare, J. R. J.; Belanger, J. M. R. Microwave-assisted process (MAPTM): applications to the extraction of natural products. Proceedings of the 28th Microwave Power Symposium, (MPSIMPI39), **1993**. Manassas, pp: 62-67.
 - Pengelly A. *The Constituents of Medicinal Plants: An Introduction to the Chemistry and Therapeutics of Herbal Medicine*, 2nd Edition; Publisher Sunflower Herbals: Australia, **2004**.
 - Phutolhawong, W.; Kawaree, R.; Sanjaiya, S.; Sengpracha, W.; Buddhasukh, D. Microwave-assisted isolation of essential oil of *Cinnamomum iners* Reinw. Ex Bl: comparison with conventional hydrodistillation. *Molecules* **2007**, *12*, 868-877.
 - Prior, R. L.; Wu, X.; Schaich, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, *53*, 10, 4290-4302.

-
- Primo, Y. E. Terpenos. Carotenoides. En *Química Orgánica Básica y Aplicada: De la molécula a la industria*, Editorial Reverté S. A: Valencia, España. Tomo II, **1990**. Pp 851-872.
 - Quijano, L.; Gómez, F.; Trejo, R. I.; Rios, T. Hydroxy-bis-dihydroencelin, a dimeric eudesmanolide and other eudesmanolides from *Montanoa speciosa*. *Phytochemistry* **1991**, 30, 10, 3293-3295.
 - Regnault, R. C. The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews* **1997**, 2, 25-34.
 - Rehman, S.; Bhatti, H. N.; Iqbal, Z.; Rashid, U. Essential oil composition of commercial black tea (*Camellia sinensis*). *International Journal of Food Science and Technology* **2008**, 43, 2, 346-350.
 - Richter, J.; Schellenberg, I. Comparison of different extraction methods for the determination of essential oils and related compounds from aromatic plants and optimization of solid phase microextraction/gas chromatography. *Analytical Bioanalytical Chemistry* **2007**; 387, 2207-2217.
 - Robles, Z. R.; Molina, T. J.; Lozoya, G. E.; López, M. Volatile organic compounds of leaves and flowers of *Montanoa tomentosa*. *Flavour and Fragrance Journal* **2006**, 21, 225-227.
 - Rogers, J. A. Jr. *Elementos de tecnología de los alimentos*. 2ª impresión; Editorial CECSA: México, D. F., **1984**, pp 685-686.
 - Rosas-Gallo, A.; López-Malo, A. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*). *Temas selectos de ingeniería de alimentos* **2010**, 5, 1, 41-50.
 - Sabanero, M.; Quijano, L.; Rios, T.; Trejo, R. Encelin: a fungal growth inhibitor. *Planta Medica* **1995**, 61, 2, 185-186.
 - Sacchetti, G.; Maletti, S.; Muzzoli, M.; Scaglianti, M.; Manfredini, S.; Radice, M.; Bruni, R. Comparative evaluation of eleven essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry* **2005**, 91, 621-632.

-
- Saleem, M.; Afza, N.; Anwar, M. A.; Hai, S. M.; Ali, M. S.; Shujaat, S.; Rahman, A. U. Chemistry and biological significance of essential oils of *Cymbopogon citratus* from Pakistan. *Natural Product Research* **2003**, *17*, 5, 369-373.
 - Saleem, M.; Afza, N.; Anwar, M. A.; Abdul, S. M.; Shaiq, M. A comparative study of essential oils of *Cymbopogon citratus* and some members of the genus *Citrus*. *Natural Product Research* **2002**, *17*, 3, 159-163.
 - Sánchez-Moreno, C.; Larrauri, J. A.; Saura-Calixto, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1998**, *76*, 270-276.
 - Sánchez-Moreno, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International* **2002**, *8*, 3, 121-139.
 - Scavroni, J.; Fernandes, B. C.; Ortiz, M. M.; Ferreira, L. C. Yield and composition of the essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) grown with biosolid. *Brazilian Journal Plant Physiology* **2005**; *17*, 4, 345-352.
 - Schaneberg, B. T.; Khan, I. A. Comparison of extraction methods for marker compounds in the essential oil of Lemon Grass by GC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, *50*, 1345-1349.
 - Schery, R. W. *Plants for man*, Second edition; Prentice Hall: New York, **1972**, pp 261-290.
 - Seigler, D. *Plant secondary metabolism*, Second printing; Kluwer academic publishers: USA. **2002**, Chapter 21.
 - Serteser, A.; Kargioğlu, M.; Gök, V.; Bağcı, Y.; Musa, O.; Arslan, D. Antioxidant properties of some plants growing wild in Turkey. *Grasas y Aceites* **2009**, *60*, 2, 147-154.
 - Siquet, C.; Paiva-Martins, F.; Lima, J. L.; Reis, S.; Borges, F. Antioxidant profile of dihydroxy-and trihydroxyphenolic acids- A structure-activity relationship study. *Free Radical Research* **2006**, *40*, 433-442.

-
- Soković, M. D.; Vukojević J.; Merin, P. D.; Brkić, D. D.; Vajs, V.; Van Griensven, L. J. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *Molecules* **2009**; *14*, 238-249.
 - Stanner, S.; Hughes, J.; Buttriss, J. A review of the epidemiological evidence for the antioxidant hypothesis. *Public Health Nutrition* **2004**, *7*, 3, 407-422.
 - Ștef, D. S.; Gergen, I.; Trașcă, T. I.; Hărmănescu, M.; Ștef, L.; Biron, R.; Hegheduș, G. Total antioxidant and radical scavenging capacities for different medicinal Herbs. *Romanian Biotechnological Letters* **2009**, *14*, 5, 4704-4709.
 - Stewart, D. Chemotypes and environmental factors. En *The chemistry of Essential oils made simple*. Care publications: USA. **2005**.
 - Stoyanova, A.; Georgiev, E.; Kula, J. Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Bulgaria. *Journal of Essential Oil Research* **2005**, *17*, 475-477.
 - Sústriková, A.; Salaman, I. Essential oil of peppermint (*Mentha x piperita* L) from fields in eastern Slovakia. *Horticultural Science (Prague)* **2004**, *31*, 1, 31-36.
 - Svoboda, K.; Brooker, J. D.; Zrustova, J. Antibacterial and Antioxidant properties of essential oils: their potential applications in the food industries. *Acta Horticulturae* **2006**, *709*, 35-43. Proceedings of the 1st International symposium on natural preservatives in food systems, 2005.
 - Topal, U.; Sasaki, M.; Goto, M.; Otles, S. Chemical composition and antioxidant properties of essential oils from nine species of Turkish plant obtained by supercritical carbon dioxide extraction and steam distillation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **2008**, *59*, 7-8, 619-634.
 - Torres, J. L.; Lozano, C.; Julia, L.; Sánchez-Baeza, F. J.; Anglada, J. M.; Centelles, J. J.; Cascantes, J. M. Cysteineyl-flavan-3-ol conjugates from grape procyanidins. Antioxidant and antiproliferative properties. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2002**, *10*, 2497-2509.
 - Trejo, R.; Gaytán, A.; Mendoza, D.; Sabanero, M. 3-Hydroxyencelin: synthesis and *in vitro* activity. *Microbios* **1996**, *88*, 355, 97-104.

-
- Turner, G.W.; Croteau, R. Organization of monoterpene biosynthesis in *Mentha*. Immunocytochemical localization of geranyl diphosphate synthase, limonene-6-hydroxylase, isopiperitenol dehydrogenase and pulegone reductase. *Plant Physiology* **2004**, *136*, 4215-4227.
 - United Nations Commodity Trade Statistics Database (UNCOMTRADE). <http://comtrade.un.org> (Consultado febrero de **2009**).
 - Vankar, P. H. Essential oils and fragrances from natural sources. *Resonance* **2004**, *9*, 30-40.
 - Vaquero, R. E.; Molero, R. Especies reactivas de oxígeno en las enfermedades inflamatorias del páncreas: ¿una posible diana terapéutica? *Gastroenterology Hepatology* **2005**, *28*, 8, 473-484.
 - Viera de Sousa, O.; Dutra, R.; Yamamoto, C.; Pimenta, D. Chemical composition and biological activity of the essential oils from *Eremanthus erythropappus* (DC) Mc Leisch leaves. *Revista Brasileira de Farmacia* **2008**, *89*, 2, 113-116.
 - Villaño, D.; Fernández-Pachón, M. S.; Troncoso, A. M.; García-Parrilla, M. C. Comparison of antioxidant activity of wine phenolic compounds and metabolites in vitro. *Analytica Chimica Acta* **2005**, *538*, 391-398.
 - Villaseñor, J.; Ibarra, G.; Ocaña, D. Strategies for the conservation of Asteraceae in Mexico. *Conservation Biology* **1998**, *12*, 1066-1075.
 - Viuda-Martos, M.; Ruiz, N.; Sánchez, Z.; Fernández-López, J.; Pérez-Álvarez, J. Antioxidant activity of essential oils of five spices plants widely used in a Mediterranean diet. *Journal of Flavour and Fragrance Journal* **2010**, *25*, 13-19.
 - Wallace, J. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of the Nutrition Society* **2004**, *63*, 621-629
 - Wei, A.; Shibamoto, T. Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, *55*, 1737-1742.
 - Williams, O. P.; Vijaya, G. S.; Orsay, V.; Dai, J. Microwave-assisted extraction of capsaicinoids from *Capsicum* fruit. *Journal of Food Biochemistry* **2004**, *28*, 113-122.

-
- Yang, S. A.; Jeon, S. K.; Lee, E. J.; Shim, C. H.; Lee, I. S. Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. *Natural Product Research* **2010**, *24*, 2, 140-151.
 - Yen, G. C.; Duh, P. D. Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1994**, *42*, 629-632.
 - Yu, T. W.; Ong, C. N. Lag-time measurement of antioxidant capacity using myoglobin and 2, 2-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid): rationale, application and limitation. *Analytical Biochemistry* **1999**, *275*, 217-223.
 - Yu, X.; Yang, X.; Zhou, X. Progress research on chemical composition and pharmacological actions of Compositae plants. *Jilin Daxue Xuebao, Yixueban*. 2005, *31*, 1, 159-162. *Scifinder*, American Chemical Society: Columbus, EUA. (Consultado mayo de 2008).
 - Zaouali, Y.; Messaoud, C.; Salah, A. B.; Boussäid, M. Oil composition variability among populations in relationship with their ecological areas in Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. *Flavour and Fragrance Journal* **2005**, *20*, 5, 512-520.