

**ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES
DE SEIS ESPECIES VEGETALES RECOLECTADAS EN SUCRE Y BOLÍVAR,
DEPARTAMENTO DE SANTANDER, COLOMBIA**

**GIOHANNA KATHERINE SANTOS QUITIÁN
ELIZABETH GONZÁLEZ MATEUS**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2013

**ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES
DE SEIS ESPECIES VEGETALES RECOLECTADAS EN SUCRE Y BOLÍVAR,
DEPARTAMENTO DE SANTANDER, COLOMBIA**

**GIOHANNA KATHERINE SANTOS QUITIÁN
ELIZABETH GONZÁLEZ MATEUS**

**Trabajo de grado para optar al título de
Química**

Directores:

ELENA E. STASHENKO, Química, Ph.D.

JAIRO R. MARTÍNEZ MORALES, Químico, Ph.D.

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2013

Dedicatoria

*A Dios fuente de sabiduría y fortaleza,
a mis padres, Víctor y Temilde,
por su amor y por todo el apoyo que me brindaron
durante esta etapa de mi vida.*

*A mi gemela por su compañía y Pac por su paciencia,
a mi nonita, mi tía Maritza y mi tía Deley,
por su apoyo incondicional.*

Gichanna

*Dedico esta pequeña proeza a mis padres y a mi abuelita, fueron ellos los que me
dieron la formación más valiosa para la vida, esa que nunca voy a encontrar
en los libros y que trasciende en el tiempo.*

Elizabeth

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Elena y al Dr. Jairo René por compartir con nosotras su conocimiento, por sus enseñanzas, consejos y dedicación.

A mi compañera de aventuras, Elizabeth Taylor quien estuvo conmigo desde el inicio de la carrera, por aguantarme y compartir momentos de felicidad, estrés, tristeza, ansiedad; por su esfuerzo y perseverancia, que permitieron la culminación de esta meta.

Al Centro de investigación CENIVAM – CROM MASS por el apoyo económico y logístico brindado para la realización de la investigación.

A mis amigos del Laboratorio de Cromatografía Sebastián, Néstor y Yuri, que estuvieron guiándonos y animándonos durante este proceso. A Oscar por sus consejos y colaboración, a Yuyeimi, por sus asesorías, a Guspi, Laura P., Marcela, Javier G., Edwin, Camilo, Ginna, Yaride, Carlos R., Mayita, Corina y todos aquellos con los que compartimos momentos inolvidables.

A mis amigos de carrera Diana, Erika, Eduard, Sara, Silvia, Yorgi, Jefer, Jorge, Carlos, Javier, Julieth, Aleja, Laura G., Lina y todos con los que compartí esta etapa de mi vida, logrando que la química fuera el motor día a día.

A mis padres, mi nonita, mis tías, a quienes les debo lo que soy, a mis hermanas y mis príncipes Julián y Joel, que alegraron mis días. Gracias por confiar en mí y contribuir en mi formación y desarrollo como personal.

Giohanna Santos

AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme permitido llegar hasta acá, por darme la fuerza para no desfallecer.

A la profe Elena y al profe Jairo, gracias por haberme formado como profesional, por todas sus buenas enseñanzas, por ser la guía constante en el desarrollo de esta investigación.

A mis padres, a quienes les debo todo lo que soy.

A mis familiares y hermanos por confiar en mí, por siempre estar ahí.

A la familia Vargas Rodríguez por su incondicional ayuda.

A mis amigos; Eduard, Julieth, Erika, Nestor, Edwin, Gustavo, Lina, Juan; ustedes son los encargados de que la experiencia universitaria ahora sea inolvidable. A Yuyeimi por haber sido la guía espiritual durante el desarrollo de este proyecto.

A mi compañera y amiga Nana, gracias por haber sabido sortear tantas dificultades, por tanta paciencia y por tantísima ayuda.

Al Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de masas (CROMM-MASS) por haber financiado la investigación. A mis compañeros del laboratorio, Yuri, Julian, Diego, Aleja, Laura, Mayita, Silvia, Carlos, Ginna, Yaride, Camilo, Bathuel, a la profe Dora, el profe Javier por todas sus piadas y Oscar por ser tan detallista y tan paciente con nosotras.

Elizabeth González

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	22
1. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO	25
1.1 ACEITES ESENCIALES	25
1.1.1 Definición	25
1.1.2 Composición química	26
1.1.3 Biogénesis de los aceites esenciales	26
1.2 TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES	28
1.3 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	30
1.3.1 Determinación de la capacidad antioxidante	31
1.4 PLANTAS AROMÁTICAS BAJO ESTUDIO	33
1.5 TÉCNICAS INSTRUMENTALES DE ANÁLISIS	33
1.5.1 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas	33
1.5.2 Cromatografía de gases con detector de ionización en llama	34
1.5.3 <i>Morella pubescens</i> (Humb.& Bompl. Ex Willd.) Wilbur	35
1.5.4 <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	36
1.5.5 <i>Peperomia subspathulata</i> Yunck.	37
1.5.6 <i>Tanacetum parthenifolium</i> (Willd.) Sch. Bip.	39
1.5.7 <i>Salvia rubriflora</i> Epling	40
1.5.8 <i>Mentha x piperita</i> L.	41

2. CIENCIOMETRÍA	44
2.1 <i>Morella pubescens</i> (Humb. & Bompl. Ex Willd.) Wilbur	46
2.2 <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	47
2.3 <i>Tanacetum parthenifolium</i> (Willd.) Sch. Bip.	48
2.4 <i>Peperomia subspathulata</i> Yunck	50
2.5 <i>Salvia rubriflora</i> Epling	51
2.6 <i>Mentha x piperita</i> L.	53
3. METODOLOGÍA	55
3.1 CARACTERÍSTICAS DE LA ZONA DE MUESTREO	56
3.2 RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA DEL MATERIAL VEGETAL SILVESTRE	57
3.3 OBTENCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES	58
3.4 ANÁLISIS INSTRUMENTAL	60
3.4.1 Preparación de la muestra	60
3.4.2 Caracterización de los aceites esenciales	60
3.4.3 Selección de las seis especies vegetales	62
3.4.4 Normalización de áreas	62
3.5 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	63
3.5.1 Capacidad de absorción de radicales libres de oxígeno (ORAC)	63
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	65

4.1 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA	65
4.2 RENDIMIENTOS DE EXTRACCIÓN	68
4.3 IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LOS ACEITES ESENCIALES	70
4.3.1 <i>Morella pubescens</i> (Humb. & Bompl. Ex Willd.) Wilbur	70
4.3.2 <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	72
4.3.3 <i>Tanacetum parthenifolium</i> (Willd.) Sch. Bip.	75
4.3.4 <i>Peperomia subspathulata</i> Yunck.	78
4.3.5 <i>Salvia rubriflora</i> Epling	82
4.3.6 <i>Mentha x piperita</i>	87
4.4 EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	91
5. CONCLUSIONES	95
6. RECOMENDACIONES	98
BIBLIOGRAFÍA	99

LISTADO DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Parámetros cromatográficos del método para análisis de AE.	61
Tabla 2. Identificación botánica de las especies recolectadas en los municipios de Sucre y Bolívar, Santander.	66
Tabla 3. Rendimientos de extracción de AE de las especies recolectadas.	69
Tabla 4. Composición química del AE, aislados por MWHD, de <i>Morella pubescens</i> (Humb.& Bompl. Ex. Willd.) Wilbur.	71
Tabla 5. Composición química del AE obtenido por MWHD, de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	73
Tabla 6. Composición química del AE, aislado por MWHD, de <i>Tanacetum parthenifolium</i> (Willd.) Sch. Bip.	76
Tabla 7. Composición química del AE obtenido por MWHD, de <i>Peperomia subspathulata</i> Yunck.	79
Tabla 8. Composición química del AE aislado por MWHD de <i>Salvia rubriflora</i> Epling.	86
Tabla 9. Composición química del AE aislado por MWHD de <i>Mentha x piperita</i> L.	88
Tabla 10. Valores de la capacidad antioxidante de los AE de las especies vegetales bajo estudio y de los patrones de referencia.	92
Tabla 11. Distribución de los componentes de los AE, de las seis plantas bajo estudio, por familias de sustancias: monoterpenos (M), monoterpenoides (MO), sesquiterpenos (S), sesquiterpenoides (SO) y fenilpropanoides (F).	97

LISTADO DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Síntesis de terpenos y su clasificación según las unidades de isoprenos que contienen.	27
Figura 2. Esquema del equipo de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas tipo <i>Clevenger</i> .	29
Figura 3. Estructura química de la fluoresceína.	31
Figura 4. Capacidad antioxidante ORAC de una muestra medida como el área bajo la curva (ABC).	32
Figura 5. Reacciones que tienen lugar en el ensayo ORAC.	33
Figura 6. Imagen de <i>Morella pubescens</i> (Humb.& Bompl. Ex Willd.) Wilbur.	36
Figura 7. Imagen de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	37
Figura 8. Imagen de <i>Peperomia subspathulata</i> Yunck.	39
Figura 9. Imagen de <i>Tanacetum parthenifolium</i> (Willd.) Sch. Bip.	40
Figura 10. Imagen de <i>Salvia rubriflora</i> Epling.	41
Figura 11. Imagen de <i>Mentha x piperita</i> L.	43
Figura 12. Relación del número de publicaciones sobre AE, por año. Periodo de observación: 2001-2012. Ecuación de búsqueda: <i>TITLE-ABS-KEY-AUTH: "plant*" AND "essential oil*"</i> ; Base de datos <i>Scopus (Elsevier)</i> , número de publicaciones: 10.976. Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2012.	45
Figura 13. Relación entre las áreas de investigación y el número de publicaciones sobre AE. Periodo de observación: 2001-2012. Ecuación de búsqueda: <i>TITLE-ABS-KEY-AUTH: "plant*" AND "essential oil*"</i> ; base de datos <i>Scopus (Elsevier)</i> ; número de publicaciones: 10.976. Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2012.	46
Figura 14. Relación del número de publicaciones sobre <i>Chenopodium ambrosioides</i> L., por años. Periodo de observación: 1996-2012. Ecuación de búsqueda: <i>TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Chenopodium ambrosioides L." AND "essential oil*"</i> ; base de datos <i>Scopus (Elsevier)</i> , número de publicaciones: 23. Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2012.	47

- Figura 15.** Relación entre las áreas de investigación y el número de publicaciones sobre *Chenopodium ambrosioides* L. Periodo de observación: 1996-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Chenopodium ambrosioides L." AND "essential oil*"*, base de datos *Scopus (Elsevier)*, número de publicaciones: 23. Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2012. 48
- Figura 16.** Relación del número de publicaciones sobre *Tanacetum* por año. Periodo de observación: 2000-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Tanacetum" AND "essential oil*"*, base de datos *Scopus (Elsevier)*, número de publicaciones: 123. Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2012. 49
- Figura 17.** Relación entre las áreas de investigación y el número de publicaciones sobre *Tanacetum*. Periodo de observación: 2000-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Tanacetum" AND "essential oil*"*, base de datos *Scopus (Elsevier)*, número de publicaciones: 123. Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2012. 49
- Figura 18.** Relación del número de publicaciones sobre *Peperomia* por año. Periodo de observación: 1965-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Peperomia" AND "essential oil*"*, base de datos *Scopus (Elsevier)*, número de publicaciones: 14. Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2012. 50
- Figura 19.** Relación entre las áreas de investigación y el número de publicaciones sobre *Peperomia*. Periodo de observación: 1965-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Peperomia" AND "essential oil*"* base de datos *Scopus (Elsevier)*, número de publicaciones: 14. Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2012. 51
- Figura 20.** Relación del número de publicaciones sobre *Salvia*, por año. Periodo de observación: 2001-2012; ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Salvia* AND "essential oil*"*; base de datos *Scopus (Elsevier)*; número de publicaciones: 646. Fecha de consulta: 20 de noviembre de 2012. 52
- Figura 21.** Relación entre las áreas de investigación y el número de publicaciones sobre *Salvia*. Periodo de observación: 2001-2012; ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Salvia*" AND "essential oil*"*; base de datos *Scopus (Elsevier)*, número de publicaciones: 646. Fecha de consulta: 20 de noviembre de 2012. 52
- Figura 22.** Relación del número de publicaciones sobre *Mentha x piperita* L. por año. Periodo de observación: 2000–2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Mentha x piperita L." AND "essential oil*"*, base de

datos <i>Scopus</i> (<i>Elsevier</i>), número de publicaciones: 131. Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2012.	53
Figura 23. Relación entre las áreas de investigación y el número de publicaciones sobre <i>Mentha x piperita</i> L. Periodo de observación: 1990-2012. Ecuación de búsqueda: <i>TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Mentha x piperita L." AND "essential oil"</i> base de datos <i>Scopus</i> (<i>Elsevier</i>), número de publicaciones: 131. Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2012.	54
Figura 24. Diseño metodológico del trabajo.	55
Figura 25. Ubicación de los municipios Sucre y Bolívar en el departamento de Santander, Colombia.	57
Figura 26. Esquema del montaje para obtención de AE. Equipo de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas.	59
Figura 27. Lector de microplacas <i>Turner Biosystems Inc., Modulus™ II, Microplate Multimode Reader</i> (645 N., North Mary Avenue, Sunnyvale, CA, EE.UU) con microplacas de poli(estireno) de 96 pozos.	63
Figura 28. Relación de las familias de las plantas colectadas.	68
Figura 29. Perfil cromatográfico del AE de <i>Morella pubescens</i> (Humb.& Bompl. Ex. Willd.) Wilbur. Columna DB-5 MS (60 m). <i>Split</i> 1:30. MSD (EI, 70 eV).	72
Figura 30. Biosíntesis de ascaridol a partir de α -terpineno.	74
Figura 31. Perfil cromatográfico del AE de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. Columna DB-5MS (60 m). <i>Split</i> 1:30. MSD (EI, 70 eV).	74
Figura 32. Perfil cromatográfico del AE de <i>Tanacetum parthenifolium</i> (Willd.) Sch. Bip. Columna DB-5MS (60 m). <i>Split</i> 1:30. MSD (EI, 70 eV).	78
Figura 33. Perfil cromatográfico del AE de <i>Peperomia subspathulata</i> Yunck. Columna DB-5MS (60 m). <i>Split</i> 1:30. MSD (EI, 70 eV).	80
Figura 34. Espectros de masas del safrol e isosafrol (MS, EI, 70 eV).	81
Figura 35. Rutas de fragmentación del safrol (MS, EI, 70 eV).	82
Figura 36. Espectro de masas del compuesto 1 con tiempo de retención de 48.69 min (EI, 70 eV).	84

Figura 37. Espectro de masas del compuesto 2 con tiempo de retención 49.00 min (EI, 70 eV).	84
Figura 38. Espectro de masas del compuesto 3 con tiempo de retención 49.18 min (EI, 70 eV).	84
Figura 39. Perfil cromatográfico del AE de <i>Salvia rubriflora</i> Epling. Columna DB-WAX (60 m). <i>Split</i> 1:30. MSD (EI, 70 eV).	85
Figura 40. Perfil cromatográfico del AE de <i>Salvia rubriflora</i> Epling, Columna DB-5 MS (60 m) <i>Split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV). En la parte final, se señala la fracción ($t_R=60.0$ min) en que los compuestos 1, 2 y 3 co-eluyen.	85
Figura 41. Reacción general de formación de la isopiperitenona.	89
Figura 42. Perfil cromatográfico del AE de <i>Mentha x piperita</i> L. Columna DB-5MS (60 m). <i>Split</i> 1:30. MSD (EI, 70 eV).	90
Figura 43. Estructuras de los compuestos mayoritarios, cuya capacidad antioxidante se midió por el método ORAC.	93

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AAPH	2,2'- Azobis(2-amidinopropano)hidrocloruro
ABC	Área bajo la curva
AE	Aceite(s) esencial(es)
BHT	<i>Butylated Hydroxytoluene</i> (Butilhidroxitolueno)
CENIVAM	Centro Nacional de Investigación para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas Medicinales Tropicales
DES	Destilación-extracción con solvente simultánea
D_f	Espesor de la fase estacionaria, μm
DI	Diámetro interno
<i>et al.</i>	<i>et alii</i> (y otros)
e.g.	<i>exempli gratia</i> (por ejemplo)
EI	<i>Electron Impact</i> (impacto de electrones)
EE.UU.	Estados Unidos
eV	Electrón-voltio(s)
FID	<i>Flame Ionization Detector</i> (Detector de Ionización en llama)
FL	Fluoresceína
GC	<i>Gas Chromatography</i> (cromatografía de gases)
GC/MS	<i>Gas Chromatography - Mass Spectrometry</i> (Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas)
IPP	Isopentil difosfato
ISTD	Estándar interno

LRI	<i>Linear Retention Index</i> [Índice(s) de retención lineal(es)]
MS	<i>Mass Spectrometry</i> (Espectrometría de masas)
MSD	<i>Mass Selective Detector</i> (Detector Selectivo de Masas)
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
m/z	Relación masa/carga
MWHD	<i>Microwave-Assisted Hydrodistillation</i> (Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas)
ORAC	<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i> (Capacidad de absorción del oxígeno radical).
PDMS	<i>Polidimethylsiloxane</i> [poli(dimetilsiloxano)]
RL	Radical(es) libre(s)
t_R	Tiempo de retención
Trolox[®]	<i>6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic Acid</i> (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8- tetrametil-cromán-2-carboxílico)
US \$	Dólar o dólares estadounidenses
UIS	Universidad Industrial de Santander

RESUMEN

TÍTULO:

ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE SEIS ESPECIES VEGETALES RECOLECTADAS EN SUCRE Y BOLÍVAR, DEPARTAMENTO DE SANTANDER, COLOMBIA*

AUTORAS: Giohanna Katherine Santos Quitián**
Elizabeth González Mateus**

Palabras claves: *Morella pubescens*, *Chenopodium ambrosioides*, *Peperomia subspathulata*, *Tanacetum parthenifolium*, *Salvia rubriflora*, *Mentha x piperita*, aceite esencial, actividad antioxidante, ORAC.

Los aceites esenciales son mezclas de los metabolitos secundarios de las plantas, pertenecen a la familia de sustancias químicas como alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, fenoles, éteres terpenos, fenilpropanoides, entre otros. Los metabolitos secundarios son los responsables de dar a los aceites esenciales el olor típico y su gran volatilidad, además presentan propiedades como actividades biológicas. En el presente trabajo se realizó la identificación química por GC-MS y cuantificación por GC-FID, de los componentes de los aceites esenciales provenientes de seis especies aromáticas recolectadas en los municipios de Sucre y Bolívar, departamento de Santander, Colombia. Se encontró un nuevo quimiotipo para el aceite esencial de *Mentha piperita* y se reporta la primera identificación química de los componentes de los aceites de *Peperomia subspathulata*, *Tanacetum parthenifolium* y *Salvia rubriflora*. Además, se midió la capacidad antioxidante de dichos aceites, mediante el método ORAC. Este método permite evaluar la capacidad antioxidante de los aceites esenciales por un mecanismo de reacción de transferencia de un átomo de hidrógeno del antioxidante al radical peroxilo generado por AAPH (2,2'-Azobis (2-amidinopropano) hidrocloreuro). Los resultados muestran que el aceite esencial de *Salvia rubriflora* tiene capacidad antioxidante comparable con la de las sustancias de referencia, butil-hidroxitolueno (BHT) y vitamina E.

*Proyecto de grado.

**Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Directora: Dra. Elena Stashenko. Codirector: Dr. Jairo René Martínez

ABSTRACT

TITLE:

STUDY OF THE CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OILS FROM SIX VEGETAL SPECIES COLLECTED IN SUCRE AND BOLIVAR, SANTANDER, COLOMBIA.*

AUTHORS: Giohanna Katherine Santos Quitián**
Elizabeth González Mateus**

KEYS WORDS: *Morella pubescens*, *Chenopodium ambrosioides*, *Peperomia subspathulata*, *Tanacetum parthenifolium*, *Salvia rubriflora*, *Mentha x piperita*, essential oils, antioxidant capacity, ORAC.

Essential oils are mixtures of secondary metabolites of plants belonging to the family of chemicals such as alcohols, aldehydes, ketones, esters, phenols, ethers, terpenes, phenylpropanoids, among others. Secondary metabolites are responsible for giving the essential oils smell great volatility typical and also have properties and biological activities. In this project, chemical identification was performed by GC-MS and GC-FID quantification of components of essential oils from aromatic six species collected in the municipalities of Sucre and Bolivar, Santander, Colombia. Was found a new chemotype for the essential oil of *Mentha piperita* and reported the first chemical identification of the components of the oils of *Peperomia subspathulata*, *Tanacetum rubriflora parthenifolium* and *Salvia*. In addition, were measured the antioxidant capacity of these oils by ORAC method. This method allows evaluation of the antioxidant capacity of the essential oils by a reaction mechanism for transfer of a hydrogen atom of antioxidant peroxy radical generated by AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropane) hydrochloride). The results show that the essential oil of *Salvia rubriflora* have antioxidant capacity comparable with that of the reference substance, butylated hydroxytoluene (BHT) and vitamin E.

*Project to degree.

**Science Faculty, Chemical School, Director: Dra. Elena Stashenko. Co-director: Dr. Jairo René Martínez

INTRODUCCIÓN

El mercado mundial de productos naturales para sabores y fragancias genera 4000 millones de US\$/año [1]. En este, los aceites esenciales (AE) representan aproximadamente el 22% (900 millones de US\$), equivalente a la producción de 48.000 toneladas métricas anuales. En los últimos años, el mercado de los AE ha ido creciendo muy rápidamente, debido al aumento de la demanda de los productos y materias primas naturales [1].

A pesar de que Colombia es un país muy rico en diversidad vegetal, no goza de una participación importante en el mercado mundial de productos naturales y AE. Una razón, por la que esto ocurre, se debe a un desarrollo tecnológico deficiente en la cadena de producción de AE y demás productos naturales, debido, en parte, al desconocimiento de este importante sector de desarrollo económico [1].

El primer paso hacia este desarrollo es la identificación de las plantas cuyos AE sean “competitivos” y presentan demanda en el mercado. Colombia, por su gran biodiversidad, tiene potencial, pues es posible encontrar plantas con AE exóticos, altamente apetecidos, en especial, por los consumidores e industria en Europa, en países como Francia, Alemania y Reino Unido, donde se encuentran las principales casas perfumísticas [2].

El mercado de los AE ha venido creciendo sustancialmente en los últimos años, debido a la expansión que ha tenido la industria de sabores y fragancias a nivel mundial. Colombia es considerado el segundo país del mundo en diversidad de plantas, pero se han desaprovechado sus recursos naturales con potencialidades en este mercado de los AE; Colombia importa el 90% de las materias primas que

demanda la industria; entre estos, se encuentran AE y extractos, de los cuales el 95% se utiliza como ingredientes para cosméticos [3].

Los municipios de Bolívar y Sucre, ubicados en el departamento de Santander, se caracterizan por ser regiones con una actividad económica escasa. La base principal de la economía en estos municipios gira alrededor de la ganadería extensiva de doble propósito, sistema, en el cual la crianza del ganado es poco tecnificada, y se lleva a cabo en grandes extensiones de tierra, que se utiliza principalmente para pastoreo.

Sin embargo, este tipo de explotación no asegura la solvencia económica de todos los productores; la mayoría de ellos cuentan con pequeñas parcelas, lo que ha llevado, en los últimos años, a destruir importantes zonas de bosque nativo; se ha diezmado, de manera significativa, la capacidad hídrica de las quebradas que se originan en la región, lo cual afecta directamente la biodiversidad de la zona [4].

En Colombia, la atención se debe enfocar en estudios que permitan que el país sea potencia en generación de materias primas, como AE, y de productos terminados, que los contengan. Para esto es indispensable la implementación de programas nacionales, que fomenten el uso de la biodiversidad para el desarrollo sostenible, con criterios de eficiencia económica, social y ecológica.

Teniendo en cuenta la importancia de conocer los recursos naturales, para poder hacer uso sostenible de los mismos, es importante llevar a cabo estudios de bioprospección que permitan identificar las potencialidades en la región de interés. Es por esto, se consideran importantes las zonas altas (2000 – 2600 msnm) de los municipios de Sucre y Bolívar en el departamento de Santander, ya que

cuentan con importantes bosques (nativos e intervenidos) en los cuales, hasta la fecha, no se hicieron investigaciones sobre las especies vegetales existentes.

La realización del presente estudio permitió la identificación botánica de por lo menos 26 especies vegetales pertenecientes a las familias Myricaceae, Lamiaceae, Piperaceae, Asteraceae, Chenopodiaceae, Apiaceae, Solanaceae y Verbenaceae; las cuales crecen en las zonas altas de los municipios de Sucre y Bolívar del departamento de Santander. De las 26 especies, se seleccionaron seis en las cuales se identificaron y cuantificaron los componentes del AE y se realizaron ensayos de la capacidad antioxidante por el método ORAC. Los resultados muestran que existen dos especies promisorias, por rendimiento alto de sus AE y por capacidad antioxidante elevada.

1. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO

1.1 ACEITES ESENCIALES

1.1.1 Definición

Los AE son mezclas homogéneas líquidas de sustancias volátiles, aisladas de plantas aromáticas por destilación. Son parte del metabolismo secundario de los vegetales, y están generalmente compuestos por terpenoides cíclicos y acíclicos, asociados o no a otros compuestos como azúcares o lípidos, y compuestos fenólicos (fenilpropanoides), que, en conjunto, evocan la fragancia de la planta [5].

En cuanto a sus propiedades fisicoquímicas, los AE son solubles en medio no polar y son más liposolubles cuanto mayor contenido de hidrocarburos terpénicos tengan. La facilidad para disolverse en etanol es ampliamente explotada en la elaboración de fragancias y extractos hidro-alcohólicos para las industrias farmacéutica y cosmética. La capacidad para refractar la luz polarizada es una propiedad que se usa para control de su pureza, ya que cada AE posee un índice de refracción característico. En cuanto a la densidad, generalmente, es menor que la del agua, excepto para algunas esencias como la del clavo [6].

La demanda de los AE de diferente región geográfica, depende entre otras cosas, de su composición química. Algunos aspectos relevantes para su comercialización son: propiedades organolépticas excepcionales, el rendimiento de aceite alto, posibilidad de reemplazar aceites más costosos, porque tienen propiedades biológicas interesantes o porque poseen un componente mayoritario que puede ser utilizado como precursor en síntesis orgánica fina.

1.1.2 Composición química

La mayoría de los componentes, que hacen parte de los AE, pertenecen a la familia de los terpenos, cuya característica estructural, que los distinguen como productos naturales, es una unidad de isopreno, C_5 , en el esqueleto hidrocarbonado. De acuerdo con el número de unidades $(C_5)_n$ presentes en la estructura del metabolito, estas sustancias se clasifican como monoterpenoides (C_{10}), sesquiterpenoides (C_{15}) o diterpenoides (C_{20}). Además de los terpenos, existen otros componentes como fenoles, ésteres e hidrocarburos lineales, que pueden o no estar presentes en el AE.

La composición química de los AE varía con el lugar de origen de la planta, el momento de su colección, el tratamiento *post-cosecha*, la parte de la planta utilizada durante la extracción y con el método de extracción empleado [8].

1.1.3 Biogénesis de los aceites esenciales

Las plantas por medio del metabolismo secundario producen gran variedad de compuestos orgánicos que, según parece, no tienen función directa en el crecimiento y desarrollo. A estos compuestos, se les conoce como metabolitos secundarios, y algunos tienen funciones ecológicas como atrayentes o repelentes de insectos, poseen funciones protectoras frente a predadores y funciones en la adaptación de la planta al medio [9].

Los metabolitos secundarios pueden dividirse en tres grupos químicamente diferentes: terpenos, fenoles y compuestos que contienen nitrógeno. Los terpenos, principales componentes de los AE, se biosintetizan a partir de dos rutas diferentes (Véase **Figura 1**). En la **ruta del ácido mevalónico**, activa en el citosol, tres moléculas de acetil CoA se condensan, paso a paso, para formar el ácido mevalónico, a partir del cual se forma el isopentil difosfato (IPP²). El IPP es la unidad básica activada de cinco carbonos en los terpenos. En la **ruta del fosfato**

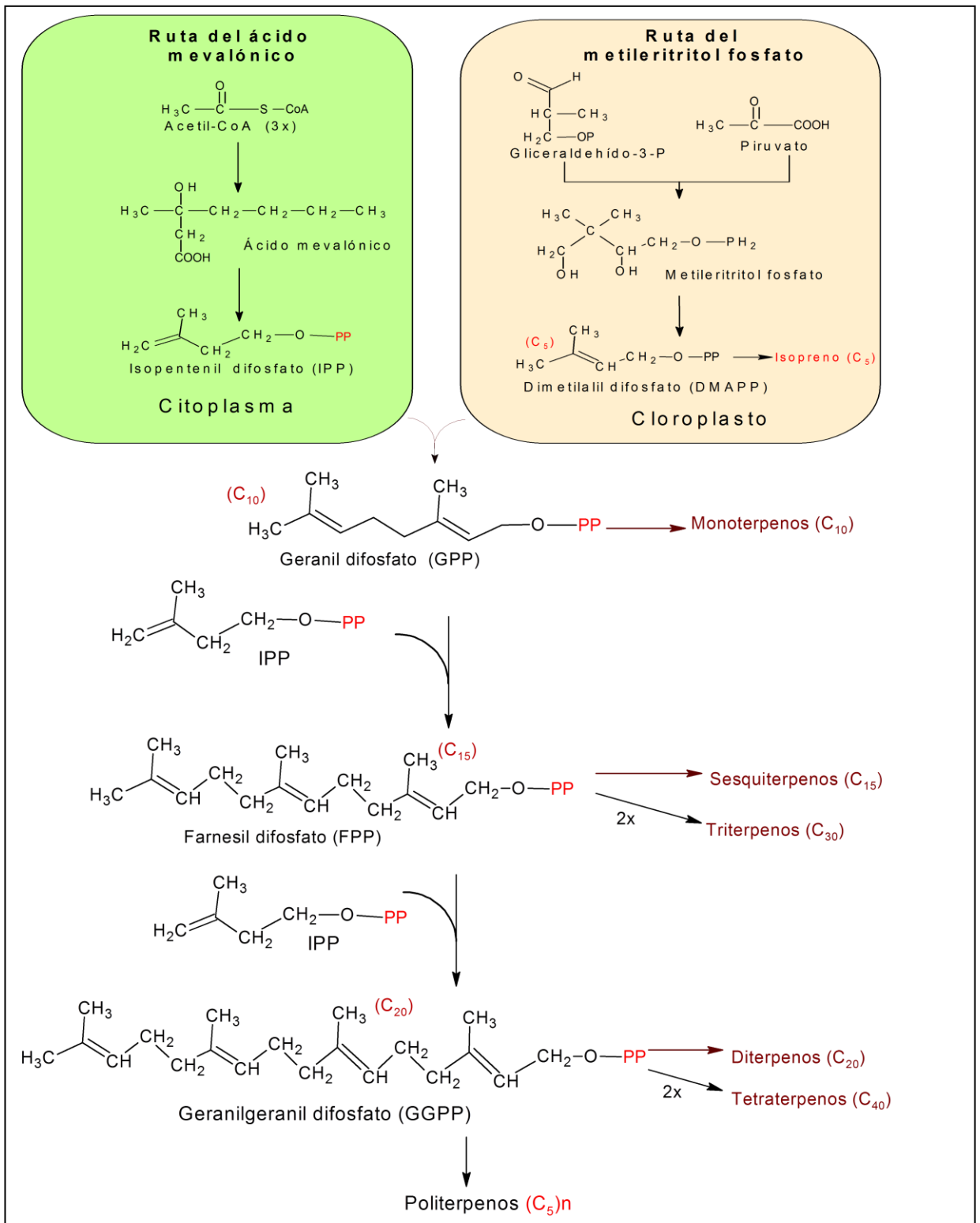


Figura 1. Síntesis de terpenos y su clasificación según las unidades de isoprenos que contienen [9].

de metileritritol (MEP), el IPP se forma a través del ciclo fotosintético de reducción del carbono a través de una serie de reacciones independientes que tienen lugar en los cloroplastos y otros plastos; los detalles no se conocen, pero al parecer el gliceraldehído-3-fosfato y un derivado de dos carbonos del piruvato se combinan para generar un intermediario, que finalmente se convierte en IPP [9,10].

1.2 TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Las técnicas de extracción de los AE más importantes son los métodos de destilación con agua, agua-vapor o vapor de agua. Tienen la ventaja de separar fácilmente los compuestos volátiles de los no volátiles, y además, incluyen simplicidad en la operación; no necesitan aparatos complejos, son reproducibles y rápidas. Entre las técnicas destilativas, junto con la destilación con agua y arrastre con vapor, figura la hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD) [11].

La técnica, que se empleó en la presente investigación, es la MWHD. Este método emplea la radiación de microondas como fuente de energía electromagnética. Cuando las moléculas de agua, que son dipolos, están en presencia del campo eléctrico alterno, giran en su intento, para alinearse con el campo. Al rotar, las moléculas chocan entre sí, lo que aumenta la temperatura del medio [12].

El uso de las microondas para la extracción de productos naturales a partir del material biológico, utilizando solventes transparentes a la radiación microondas, fue patentada en 1990 en Estados Unidos por Paré *et al.* [13]. La ventaja de recurrir a este tipo de energía, y no a una fuente de calor en contacto directo, permite el calentamiento más efectivo de la muestra, la transferencia de energía

rápida, la reducción de gradientes térmicos, y el incremento en la eficiencia del [14]. La aplicación de la microondas para la extracción de AE fue utilizada por Chen *et al.* [15] en 1994; los autores estudiaron la extracción de aceite en material vegetal, usando solventes orgánicos, etanol y hexano.

Específicamente, en el caso de la MWHD, la técnica es empleada en el Centro de Investigación Cenixam de la UIS, según la metodología propuesta por Stashenko *et al.* [16]; el balón se llena con el material vegetal picado y, aproximadamente una tercera parte de su volumen, se cubre con agua; el equipo usado es de tipo *Clevenger*. La radiación de microondas calienta el líquido, *i.e.*, agua, que no es transparente a esta radiación y que está en contacto con el material vegetal; los receptáculos oleíferos se rompen y liberan el AE, el cual, por efecto de la presión de vapor, asciende junto con el vapor de agua, y luego se condensa formando dos capas, que se pueden separar por medio de decantación, en una trampa *Dean-Stark* (Véase **Figura 2**) [17].

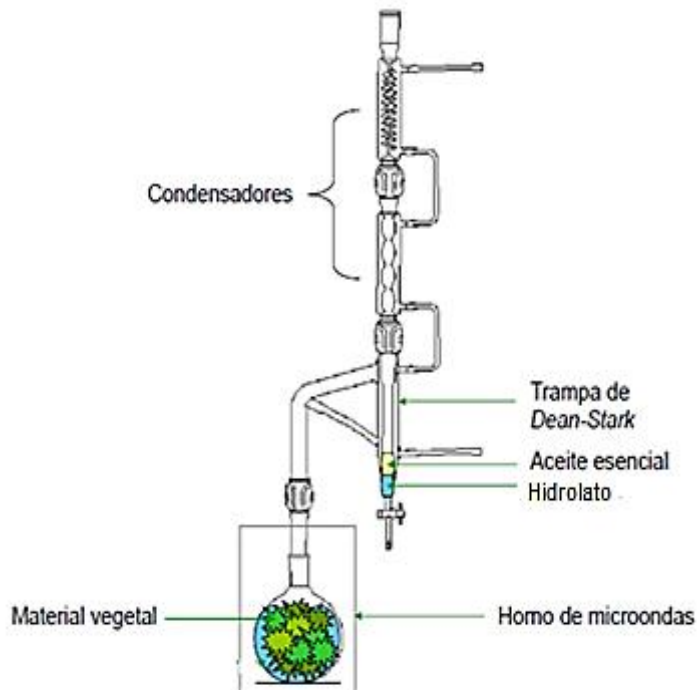


Figura 2. Esquema del equipo de hidroddestilación asistida por la radiación de microondas tipo *Clevenger* [18].

1.3 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Un antioxidante es una sustancia que, cuando está presente en baja concentración, en comparación con la de un sustrato oxidable, retrasa significativamente o previene la oxidación del mismo [25]. El término “sustrato oxidable” incluye proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos. La capacidad antioxidante de una sustancia no es absoluta y depende de las especies reactivas que estén en el medio; por ejemplo, el ácido ascórbico inhibe la peroxidación lipídica en el plasma de fumadores, pero es incapaz de prevenir la formación de carbonilos en proteínas plasmáticas, causada por el humo de cigarrillo [25].

Los radicales libres (RL) son especies moleculares que presentan en su estructura uno o más electrones desapareados; debido a la inestabilidad de su configuración electrónica, son generalmente muy reactivas. Esta reactividad es la base de su toxicidad y de su vida media corta [26]. Las especies reactivas de oxígeno, son muchas veces radicales libres que, por su alta reactividad, generan reacciones en cadena, que producen una cantidad significativa de oxidantes que pueden causar trastornos fisiopatológicos, ante los cuales el cuerpo necesita un sistema que los neutralice. Este sistema está compuesto por sustancias antioxidantes [27].

La oxidación es una reacción química donde un compuesto cede electrones, y, por tanto, aumenta su estado de oxidación. Las reacciones de oxidación pueden producir RL, los cuales son iniciadores de reacciones en cadena. Los antioxidantes neutralizan la acción de los RL, al interactuar con ellos, ceden un electrón y se oxidan. La capacidad antioxidante de una molécula depende de sus características estructurales, de su reactividad hacia los peróxidos y otras especies reactivas, y de factores externos, tales como concentración, temperatura, luz, tipo de sustrato, medio de reacción y la presencia de algunos componentes, que puedan actuar como prooxidantes o sinergistas [28].

Los antioxidantes de origen natural incluyen, flavonoides, polifenoles, índoles, isotiocianatos y terpenoides, estos últimos son constituyentes de AE [29]. Las plantas aromáticas y medicinales son la fuente principal de AE, en los últimos años, se ha aumentado el interés por estudiar sus propiedades antioxidantes.

1.3.1 Determinación de la capacidad antioxidante

La actividad antioxidante de una sustancia se puede determinar por diferentes métodos; uno de ellos, es el ensayo ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*). Este método permite evaluar la capacidad antioxidante de los AE por un mecanismo de reacción de transferencia de un átomo de hidrógeno del antioxidante. Se mide la degradación oxidativa de una molécula fluorescente, la fluoresceína (FL) (Véase **Figura 3**), al ser mezclada con un azo-iniciador, el hidrocloreuro de 2,2'-azobis(2-amidinopropano) (AAPH), cuya función es generar radicales peroxilo (ROO[•]), que causan daño en la molécula, produciéndose un decaimiento en la señal de emisión de la fluorescencia [25].

Debido a la sensibilidad del método a los cambios de temperatura, es necesario controlarla durante la medición. Para disminuir la variabilidad en las mediciones, el medio debe ser incubado a 37 °C, antes de adicionar la fuente radicalaria, AAPH [30].

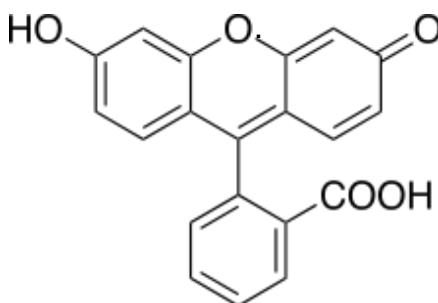


Figura 3. Estructura química de la fluoresceína.

El retardo en el decaimiento de la fluorescencia determina la capacidad antioxidante de la sustancia evaluada. La diferencia entre el área bajo la curva de decaimiento, de la muestra y del blanco (Véase **Figura 4**), se utiliza para calcular el grado de protección de la sustancia. Estos valores se interpolan a la curva de calibración. La cuantificación se hace por comparación con el Trolox[®], ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromán-2-carboxílico, un análogo hidrosoluble de la vitamina E, utilizado como estándar [31].

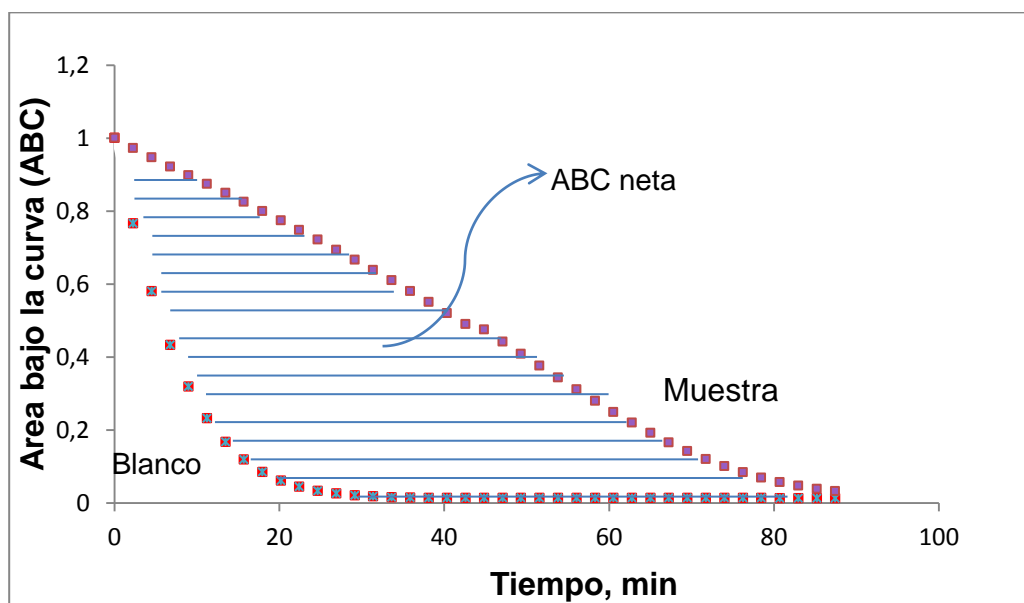


Figura 4. Capacidad antioxidante ORAC de una muestra medida como el área bajo la curva (ABC) [32].

El mecanismo de reacción se basa en la transferencia de un átomo de hidrógeno del antioxidante al radical peroxilo generado por AAPH. Las reacciones se muestran en la **Figura 5**, donde ROO[•] es el radical peroxilo y AH es la sustancia antioxidante.

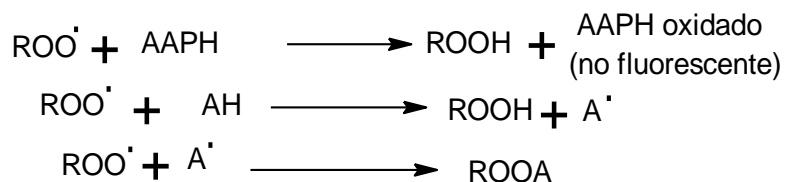


Figura 5. Reacciones que tienen lugar en el ensayo ORAC [33].

1.4 PLANTAS AROMÁTICAS BAJO ESTUDIO

1.5 TÉCNICAS INSTRUMENTALES DE ANÁLISIS

1.5.1 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

El principio de la espectrometría de masas (MS) es generar iones de compuestos orgánicos o inorgánicos que se separan con base en su relación masa/carga (m/z); las corrientes iónicas se detectan cualitativamente y cuantitativamente por su m/z y abundancia. Los analitos se pueden ionizar térmicamente, por campo eléctrico o por impacto de electrones, iones o fotones energéticos. Los iones pueden ser solo iones moleculares y sus fragmentos, *clusters* o asociaciones [19]. Por medio de esta técnica se pueden caracterizar sustancias de manera casi inequívoca, a partir del espectro que muestra la masa molecular del compuesto y la masa de sus fragmentos, más exactamente, sus m/z . Sin embargo, cuando la fragmentación se hace por impacto de electrones, no siempre es posible registrar el ion molecular de algunos compuestos, lo que se considera una falencia de la técnica.

La cromatografía de gases (GC) es una de las técnicas de la familia de métodos de separación, se fundamenta en una distribución asimétrica de los analitos de una mezcla, entre dos fases, una móvil, de naturaleza gaseosa, y una estacionaria, que puede tener naturaleza sólida o líquida [20]. El proceso cromatográfico es el resultado de repetidos actos de absorción/desorción, durante el movimiento de los componentes de la muestra a través de la fase estacionaria polar o apolar; la separación tiene lugar, debido a las diferencias en la constante de distribución K_D , característica para cada uno de los analitos [21].

El acoplamiento de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS) es muy relevante para la identificación de compuestos volátiles. La obtención de los espectros de masas de cada uno de los componentes separados en la columna cromatográfica, es de vital importancia, ya que se considera que los espectros de masas pueden revelar la identidad química de la molécula, pues, cada molécula tiene un patrón de fragmentación diferente y, por lo tanto, un espectro de masas distinto. La introducción de sistemas de adquisición y procesamiento de datos, que incluyen técnicas de búsqueda automatizada en bibliotecas de espectros, permite la identificación presuntiva de los componentes de los AE. La identificación presuntiva se hace por la comparación de los espectros de masas experimentales, con los de la biblioteca de referencia de MS [22].

1.5.2 Cromatografía de gases con detector de ionización en llama

El detector de ionización en llama (FID) es un detector no selectivo utilizado en cromatografía de gases. Un voltaje de 100-200 V se aplica entre la llama de H₂/aire y un electrodo; los compuestos orgánicos llevados por el gas de arrastre hacia la llama, son desintegrados por combustión. Como resultado, se producen iones y electrones, que son atraídos hacia el colector; tal movimiento de iones desde la llama al colector, produce una pequeña corriente, la cual se mide y se usa para cuantificar los compuestos orgánicos presentes. La señal del detector es procesada y se visualiza como el correspondiente pico cromatográfico del compuesto [23].

Este detector es sensible, tiene respuesta para todos los compuestos, que contengan enlaces carbono-hidrógeno, excepto para el ácido fórmico y el formaldehído, cuya señal es muy baja. No da respuesta al agua, gases nobles o gases permanentes. Tiene una relación señal/ruido alta y presenta un rango lineal de respuesta amplio (10^7), por lo que, a menudo, se pueda usar para un amplio rango de concentración de la muestra [24].

1.5.3 *Morella pubescens* (Humb.& Bompl. Ex Willd.) Wilbur

Morella pubescens (Humb. & Bompl. Ex Willd.) Wilbur (Véase **Figura 6**) es una especie proveniente de los Andes Colombianos. Coloniza fácilmente áreas con suelos erosionados, debido a la capacidad de retener el hidrógeno del suelo, característica que también le permite oxigenar a otras plantas a través de sus raíces [34]. Pertenece a la familia Myricaceae y se encuentra distribuida en las montañas de Costa Rica, Panamá y Andes, desde Venezuela hasta Bolivia. En Colombia, está presente en la Sierra Nevada de Santa Marta, Nariño y Cauca, entre 1500 y 3900 msnm, donde se conoce bajo los nombres vulgares de “Laurel”, “Laurel de cera”, “Olivo”, “Olivo de cera”, “Roble” u “Olivón”.

El laurel (*M. pubescens*) es un arbusto de 1-12 m de altura, moderadamente ramificado, con tallos de corteza gris clara a oscura y ramas de color marrón oscuro o pardas; de ramas aplanadas de hojas pubescentes olorosas, simples, alternas y lanceoladas, de borde dentado y nervaduras salientes. Las flores no se identifican fácilmente, son de color verde y están agrupadas en inflorescencias (Véase **Figura 6**) [35]. Este árbol es comúnmente utilizado para el control de la erosión. La cera que cubre sus frutos se extrae y se emplea para fabricar velas, jabones y betunes; también se usa en el proceso de fabricación de panela, como antiadherente al molde y como clarificante.

Las investigaciones hechas sobre la composición del aceite esencial del laurel son pocas a pesar de la aromaticidad de sus hojas. Quijano y Pino [35] analizaron la composición del aceite esencial de *M. pubescens* extraído por destilación-extracción simultánea; los componentes mayoritarios fueron: 1,8-cineol (20%), linalol (16.4%), y acetato de α -terpinilo (11.1%). Arango *et al.* [36], reportaron la composición del AE extraído por arrastre con vapor; los componentes mayoritarios fueron: *trans*- β -cariofileno (21.3%), α -selineno (10.7%), β -selineno (10.0%) y óxido de cariofileno (4.8%); asimismo, estudiaron la actividad biológica del AE y

reportaron actividad antiinflamatoria, antibacterial, antiacné, antialérgica, fungicida e irritante; en el *trans*- β -cariofileno, actividad antimalarial; en el óxido de cariofileno, el β -selineno y el α -selineno, aromatizante e inmuno-estimulante [37].



Fotos de Giohanna K. Santos,
14 de julio de 2011, Bolívar-
Santander.

Figura 6. Imagen de *Morella pubescens* (Humb.& Bompl. Ex Willd.) Wilbur.

1.5.4 *Chenopodium ambrosioides* L.

Chenopodium ambrosioides L. es una especie aromática de la familia Chenopodiaceae. Es originaria de Centroamérica y sur de Norteamérica, actualmente está difundida en zonas de hasta 2500 msnm y está naturalizada en todas las regiones templadas del mundo [38]. Se conoce con los nombres vulgares de “Epazote”, “Hierba del zorrillo”, “Paico”, “Bitia”, “Erva de Santa María”, “Mastruz” o “Pastois”.

Es una planta perenne de 40 cm de altura, de hojas pubescentes, oblongo-lanceoladas y serradas; las flores de color verde amarillo, son muy pequeñas y crecen en espiga; el tallo usualmente postrado al igual que las hojas (Véase **Figura 7**). Toda la planta expide un olor fuerte y amargo característico [39].

La planta se ha empleado de modo tradicional por varias poblaciones nativas de América Latina y el Caribe como condimento y en etnomedicina. También, ha sido utilizado como un potente antihelmíntico, vermífugo, emenagogo y abortifaciente

[40]. Las sobredosis han resultado mortales tanto para animales como para humanos [41]. Se ha reportado actividad antiprotozoaria contra *Trypanosoma cruzi* [42], *Plasmodium falciparum* [43] y *Leishmania amazonensis* [44,45]. Además, Kiuchi *et al.* [42], reportaron el aislamiento de cuatro monoterpenos hidroperoxidados, además del ascaridol, con actividad contra *epi*-mastigotes de *T. cruzi*, encontraron halo de inhibición mínima entre 0.8 y 23 mm.

En el AE de paico, se encuentra ascaridol, al cual se le atribuyen las propiedades antihelmínticas. Marangon *et al.* [46], estudiaron la composición química y la actividad antifúngica del AE extraído por destilación por arrastre con vapor. Los constituyentes principales reportados fueron: *cis*-ascaridol (61.4%), *trans*-ascaridol (18.6%) y carvacrol (3.9%); el crecimiento fúngico se inhibió hasta el 0.3% de la concentración. Así mismo, Bourrel *et al.* [47], reportaron como componentes mayoritarios del AE los siguientes terpenoides: α -pineno (10%), *p*-cimeno (18%), limoneno (6.0%), ascaridol (4.1%) y carvacrol (4.2%); como se observa, el ascaridol no siempre ha sido el componente más abundante reportado en el AE de paico.



Foto de Giohanna K. Santos, 10 de julio de 2011, Sucre-Santander.

Figura 7. Imagen de *Chenopodium ambrosioides* L.

1.5.5 *Peperomia subspathulata* Yunck.

El género *Peperomia* pertenece a la familia de las Piperaceae, comprende alrededor de 1500-1700 especies. En América Central y América del Sur algunas

especies de este género se utilizan tradicionalmente para tratar diversas enfermedades como los resfriados, la tos, bronquitis o también pueden ser utilizadas como diurético [54].

Peperomia subspathulata Yunck es una especie originaria de Colombia y Ecuador, se conoce con el nombre de “Canelón”, debido a que evoca el aroma de la canela; también es llamada “Clavo” o “Canelo”. A menudo, es utilizada para aromatizar dulces y pasteles. El canelón (*P. subspathulata*) es una planta perenne, se encuentra distribuida desde 1200 hasta 2500 msnm. Es una hierba carnosa, aromática, con olor agradable; de espiga verde, hojas gruesas ovaladas, tallo erecto sin ramificaciones y de coloración rojiza (Véase **Figura 9**).

La composición química de los aceites volátiles de algunas especies pertenecientes a este género ha sido objeto de varios estudios. Pinheiro *et al.* [55] reportaron la composición química del AE de la especie *P. serpens* (Sw.) Loud, en el que se encontraron: *trans*-nerolidol (38.0%), ledol (27.1%), α -humuleno (11.5%), *trans*- β -cariofileno (4.0%) y el α -eudesmol (2.7%), como constituyentes principales.

Los componentes principales identificados en los aceites de *P. circinnata* fueron: mirceno (12.2 -31.2%) y β -felandreno (17.5 -25.4%) y de *P. rotundifolia*, limoneno (28.7 -35.0%) y decanal (22.8 -44.4%) [56]. El AE de *P. pelucida*, rico en dillapiol, un fenilpropanoide poli-oxigenado, mostró actividades antibacterianas, antiinflamatorias y analgésicas [57].

La identificación de los metabolitos secundarios de los AE de varias especies *Peperomia* de América del Sur, permite distinguir, al menos dos tipos de AE, en este género, a saber: los aceites que contienen compuestos fenilpropanoides (e.g., apiol, elemicina, isosafrol y safrol) y ricos en terpenos (e.g., pinenos, limoneno y alcanfor, cariofileno, germacreno, hinesol y α -eudesmol) [58-59].



Foto de Giohanna K. Santos, 11 de julio de 2011, Sucre-Santander.

Figura 8. Imagen de *Peperomia subspathulata* Yunck.

1.5.6 *Tanacetum parthenifolium* (Willd.) Sch. Bip.

Es una planta de la familia Asteraceae. Se encuentra distribuida en Suramérica, especialmente, en países como Ecuador y Colombia y en las regiones mediterráneas, del oeste de Asia y parte de Europa, en países como Georgia, Armenia, Azerbaijan, Turquía y sur de Rusia [48]. Se conoce con nombres comunes como “Santa María”, “Manzanilla matricaria”, “Matricaria”. Otros nombres científicos aceptados (sinónimos) son: *Pyrethrum parthenifolium*, *Chrysanthemum parthenifolium*, *C. parthenifolium* y *C. persicum*.

La manzanilla matricaria (*T. parthenifolium*), es una hierba perenne, aromática, de olor suave. Sus tallos son moderadamente rectos y de hasta 60 cm de altura (Véase **Figura 8**); de hojas alargadas, pecioladas, de hasta 8 cm de largo. Su inflorescencia consta de hasta 20 flores de pétalos blancos y corola amarilla; son similares a las flores de *Matricaria recutita* L., de ahí, su nombre común.

Como muchas de las especies del género *Tanacetum*, ha sido utilizada ampliamente en medicina tradicional por sus propiedades digestivas, antiinflamatorias y antiespasmódicas [49]. Las especies de este género contienen principalmente sesquiterpenos, flavonoides y raramente compuestos fenólicos. La

presencia de sesquiterpenos supone su comprobada actividad biológica del género [50].

En la búsqueda realizada a la fecha, solo existe un estudio de caracterización química y biológica de esta y otras especies del género *Tanacetum*. En él, se reporta la presencia de dos compuestos, a saber: piretina y artecanina o crisartemina B, sin que se especifique la cantidad relativa [50].

La especie más conocida es *Tanacetum parthenium*, a la cual se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, y algunas propiedades para prevenir la migraña [52-53] y en tratamientos para el dolor de cabeza e irregularidades menstruales [53].



Foto de Giohanna K. Santos, 10 de julio de 2011, Sucre-Santander.

Figura 9. Imagen de *Tanacetum parthenifolium* (Willd.) Sch. Bip.

1.5.7 *Salvia rubriflora* Epling

Es una planta de la familia Lamiaceae. En el 2007 fue catalogada como especie amenazada, según lo reporta el Libro Rojo de Plantas de Colombia [61]. Se conoce con el nombre común “Bretónica” y “Hoja de flecha”. Se emplea en medicina tradicional para tratar resfriados y gripe. Es una especie endémica de

Colombia, específicamente, de Cundinamarca, crece en zonas de 2200 hasta 3000 msnm.

La especie *Salvia rubriflora* Epling tiene un aroma dulce, agradable. Puede alcanzar de 1-2 m, es de hojas suaves al tacto, en forma de flecha, opuestas y con presencia de vellosidades en el haz (Véase **Figura 10**); con inflorescencias en espiga y pétalos rojos. Hasta el momento, no se reportan estudios diferentes al de la identificación botánica, realizada por Fernández [62].



Foto de Giohanna K. Santos, 14 de julio de 2011, Bolívar-Santander.

Figura 10. Imagen de *Salvia rubriflora* Epling.

1.5.8 *Mentha x piperita* L.

Es una especie de la familia Lamiaceae, es originaria de Europa y se conoce con nombres comunes “Piperita”, “Toronjil de menta”, “Menta”, “Menta piperita” y “Monte yuyo”. Es un híbrido de las especies *Mentha aquatica* y *Mentha spicata*. Actualmente, se encuentra distribuida densamente en Inglaterra, Turquía, España, Francia, Suecia, Egipto, Suráfrica y en los EE. UU. Sin embargo, también se puede encontrarla en Rusia, Rumania, Etiopía, Marruecos, México y en algunos países de Suramérica como: Ecuador, Argentina, Chile y Brasil.

Se cultiva en jardines y en praderas, alcanza una altura de 30 a 40 cm. Crece en grupos, sus hojas son ovaladas, dentadas, opuestas y con superficie lisa (Véase **Figura 11**). Su tallo es cuadrangular y de color morado. No se ha observado floración en las plantas que crecen en la localidad de Sucre, donde fue recolectada.

La *Mentha x piperita* L. ha sido utilizada con fines médicos desde los tiempos remotos en la Antigua Grecia y Roma. En la actualidad, se usa ampliamente en medicina tradicional para el tratamiento de resfriados, procesos inflamatorios de órganos como el hígado, boca, faringe y vesícula biliar. También, se ha utilizado en casos de náuseas, diarrea, vómito, traumas gastrointestinales, flatulencia, dolor de cabeza y amenorrea [63].

Varios efectos tóxicos han sido asociados a la ingestión de AE de *M. piperita* L., tales como vómito, náuseas, reacciones alérgicas y dolor de cabeza. Algunos estudios preliminares sugieren que los preparados con hojas de *M. piperita* pueden ser tóxicos para el hígado [64]. En otros estudios, hay evidencia del efecto del aceite esencial de *M. piperita* L., sobre los citocromos P450 isomorfos, en los que el AE (sus componentes) puede afectar los niveles de drogas metabolizadas por los mismos [63].

M. piperita L. ha sido utilizada en tratamientos médicos; donde se encontró que tras administración oral o intraluminal inhibe espontáneamente la actividad peristáltica, y reduce el tránsito gastrointestinal total. Se observó, que la *M. piperita* L. relaja el interior del esfínter esofagal y que puede ser utilizada como un agente antiespasmódico en pacientes con dispepsia [65]. Además, las evidencias preliminares sugieren que el componente de *M. piperita* L., mentol, puede proteger contra el virus simple del herpes [66]; este mismo componente tiene actividad antimicrobiana contra: *Clostridium sporogenes*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella*

pneumoniae, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella pullorum*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* y *Comamonas terrigena* [67].

Con respecto a la composición del AE, en el libro de aceites esenciales de Lawrence [68], se referencian los estudios de Chialva *et al.* [69] que identificaron como componentes mayoritarios los siguientes compuestos: mentol (44.2%), mentona (19.7%) y 1,8-cineol (5.4%). Así mismo, Kurilov *et al* [70], reportaron como componentes mayoritarios de los AE extraídos de plantas de *Menta piperita* provenientes de Rusia, los siguientes compuestos: mentol (44.4%), isomentona (23.4%) y mentona (16.7%).

En general se identifican compuestos tales como: 1,8-cineol, mentol, mentona, isomentona, pulegona, isopulegona, germacreno D, neomentol, limoneno, felandreno, pineno, acetato de mentilo, entre otros [68,70].



Foto de Giohanna K. Santos, 11 de julio de 2011, Sucre-Santander.

Figura 11. Imagen de *Mentha x piperita* L.

2. CIENCIOMETRÍA

La cienciometría comprende el conjunto de trabajos dedicados al análisis cuantitativo de la investigación científica y técnica; es una herramienta basada en el análisis y de diferentes indicadores, e.g., autores de artículos, palabras contenidas en los títulos de los artículos o en los resúmenes, país de publicación del artículo, año de publicación y revista de publicación, patentes, citas, entre otros. El uso de indicadores cuantitativos, es cada vez más frecuente en países desarrollados para definir sus políticas de apoyo a las actividades científicas y tecnológicas [71].

Vargas y Castellanos [72] plantearon un proceso de vigilancia tecnológica centrado en el análisis de fuentes documentales – como las bases de datos,- donde el diseño de estrategias conduce a generar impactos en distintas áreas de forma concreta; el análisis de indicadores puede determinar, por ejemplo, el crecimiento de cualquier campo de la ciencia, según la variación cronológica del número de trabajos publicados en él; el “envejecimiento” de los campos científicos; la colaboración entre los científicos o instituciones, medida por el número de autores por trabajo o centros de investigación que colaboran; el impacto o visibilidad de las publicaciones dentro de la comunidad científica internacional, establecido por el número de citas, que reciben dichas publicaciones, por parte de trabajos posteriores; las trayectorias tecnológicas seguidas por empresas o países en un período determinado, de acuerdo con su actividad en la consecución de patentes.

Para el análisis cuantitativo de esta investigación se tuvieron en cuenta los siguientes indicadores: Productividad de los autores, distribución de las publicaciones de acuerdo con el país, años de publicación, revistas y áreas tecnológicas. La cienciometría sobre aceites esenciales se realizó empleando la base de datos *Scopus (Elsevier)* y *Web of Science* (recursos disponibles dentro

del *campus* de la UIS) [73], se utilizó la ecuación de búsqueda *TITLE-ABS-KEY-AUTH ("plant*") AND ("essential oil*")*, (Véase **Figura 12**). Se encontraron 10.976 publicaciones, de las cuales 9.840 son artículos, y sólo el 0,64% (63 publicaciones) provienen de Colombia.

En las **Figuras 12 y 13**, se muestra la relación de publicaciones sobre AE en los últimos doce años. La tendencia observada muestra el avance significativo de la pesquisa en el área, lo que evidencia el creciente interés por investigar lo relacionado con productos naturales, *i.e.*, y aceites esenciales. Se encontró, que 2011 fue el año en que más se publicó sobre esta especie, siendo *Journal of Essential Oil Research*, la revista con mayor número de publicaciones. India e Irán, son los países, donde se han realizado más estudios sobre los AE, especialmente, en el área de agricultura, ciencias biológicas y química. Los sectores económicos, que demandan los AE, según su uso o aplicación son: industria de aromas y fragancias, sabores y productos farmacéuticos. En Colombia, las áreas en las que se reportan más investigaciones son: agricultura y ciencias biológicas, química, farmacología, toxicología y farmacéutica.

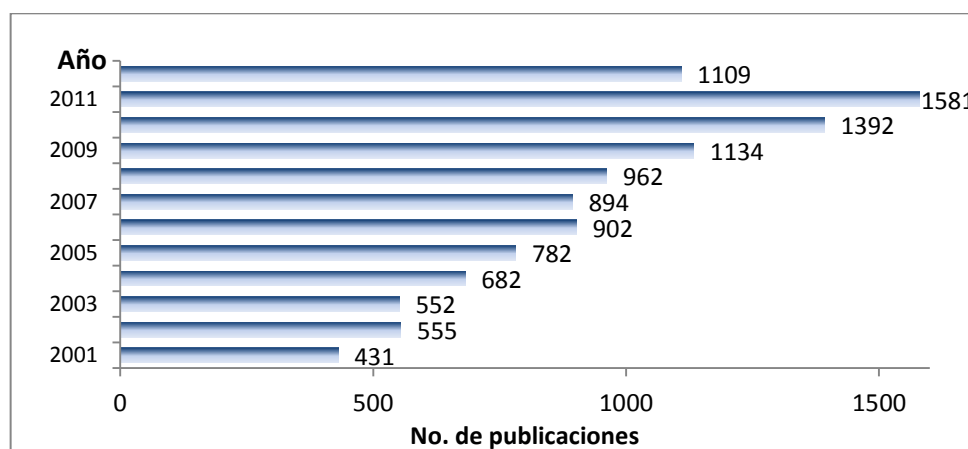


Figura 12. Relación del número de publicaciones sobre AE, por año. Periodo de observación: 2001-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "plant*" AND "essential oil*"*; Base de datos *Scopus (Elsevier)*, número de publicaciones: 10.976. Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2012.

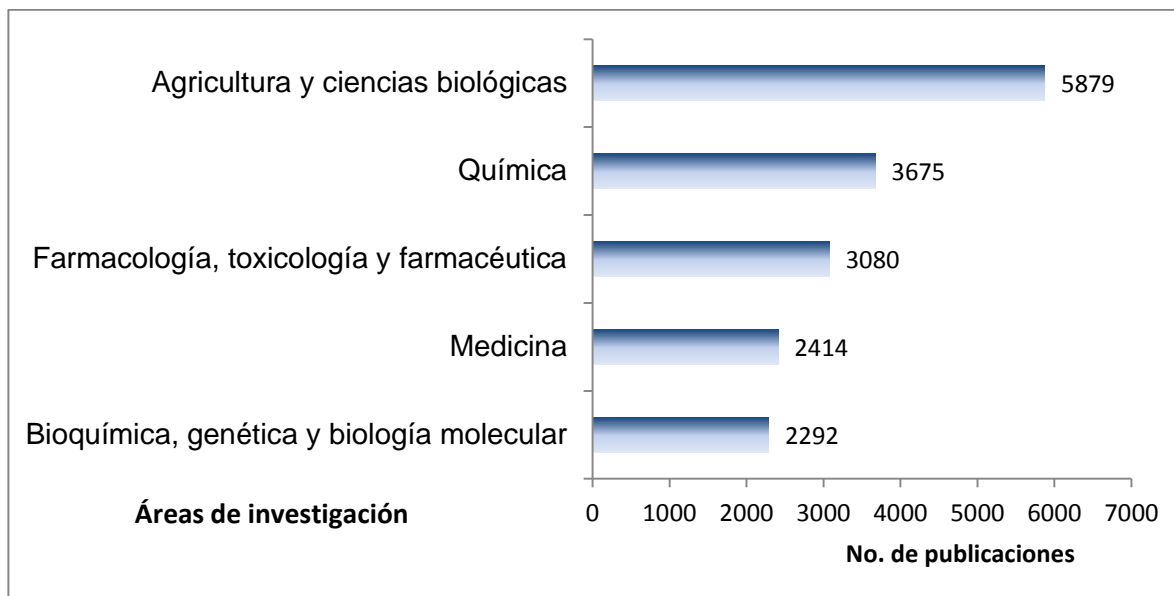


Figura 13. Relación entre las áreas de investigación y el número de publicaciones sobre AE. Periodo de observación: 2001-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "plant*" AND "essential oil"*; base de datos *Scopus (Elsevier)*; número de publicaciones: 10.976. Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2012.

2.1 *Morella pubescens* (Humb. & Bompl. Ex Willd.) Wilbur

Para la especie *Morella pubescens* (Humb. & Bompl. Ex Willd.) Wilbur, se encontró un artículo, en el que se reporta la composición del AE de esta especie, proveniente de Nariño, Colombia [74], en la revista *Journal of Essential Oil Research*. Colombia y Cuba son los países, donde se realizó la investigación. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1957-2012. Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2012. Ecuación de búsqueda: *Morella pubescens*. Con respecto al género (*Morella*), no se reportan publicaciones relacionadas con aceites esenciales, actividad antioxidante o actividad biológica.

2.2 *Chenopodium ambrosioides* L.

En las **Figuras 14** y **15**, se indica la relación de los artículos registrados en las bases de datos de *Scopus* (*Elsevier*) para el paico (*C. ambrosioides*); se halló, que en 2012 se publicaron mas estudios sobre esta especie; se encuentran 26 publicaciones en total, la revista *Journal of Essential Oil Research* registra mayor número de publicaciones (5 artículos). Nigeria y EE. UU. (4 artículos cada uno) son los países con más estudios sobre esta planta aromática, especialmente, en las áreas de agricultura, ciencias biológicas, y química.

Algunas publicaciones relacionan esta planta como medicinal o curativa. Así mismo, se registran estudios sobre su actividad antiparasitaria [43]. Los componentes mayoritarios reportados son: ascaridol (2-83%) y α -terpineno (2-17%) [44,45].

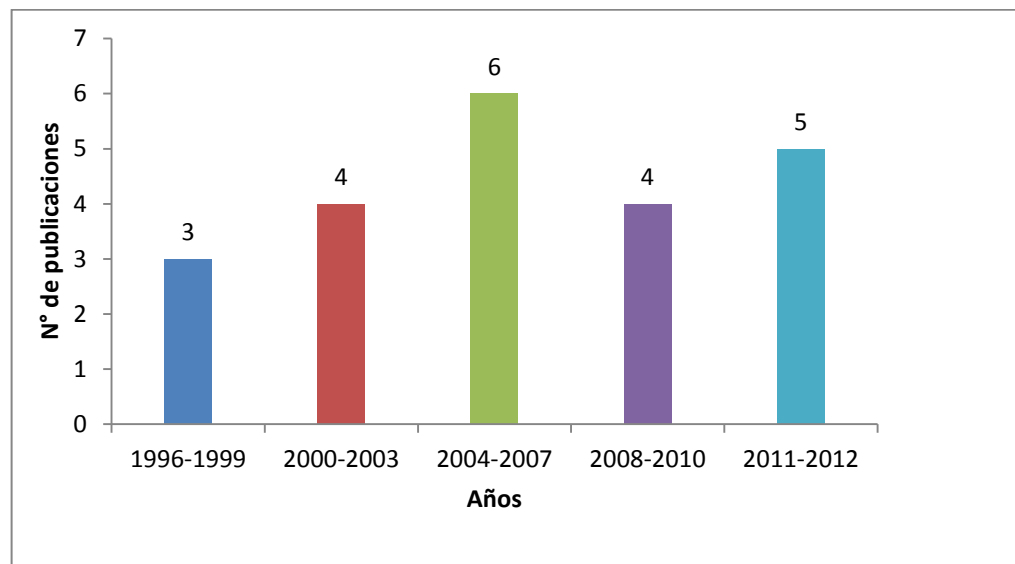


Figura 14. Relación del número de publicaciones sobre *Chenopodium ambrosioides* L., por años. Periodo de observación: 1996-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Chenopodium ambrosioides L." AND "essential oil"*; base de datos *Scopus* (*Elsevier*), número de publicaciones: 23. Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2012.

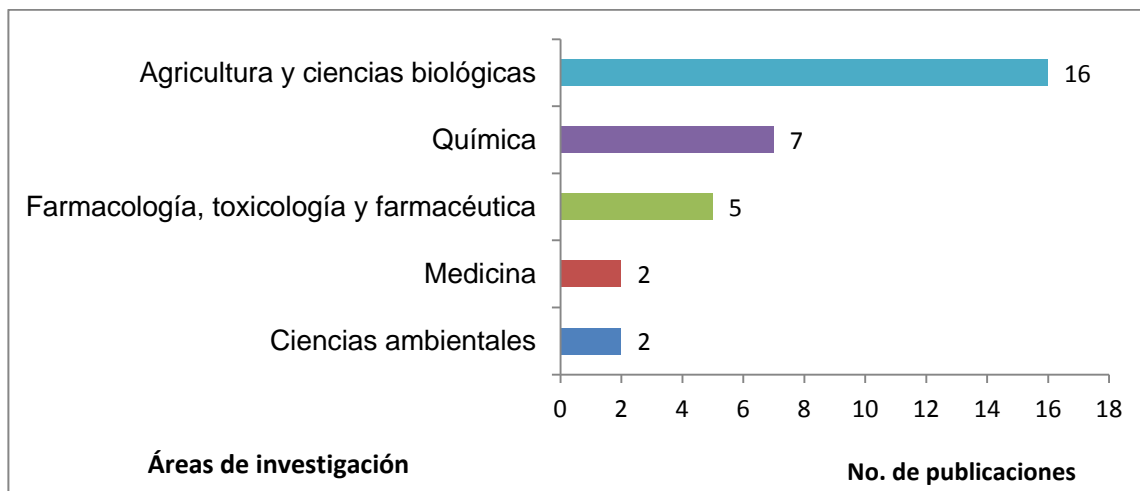


Figura 15. Relación entre las áreas de investigación y el número de publicaciones sobre *Chenopodium ambrosioides* L. Periodo de observación: 1996-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Chenopodium ambrosioides L." AND "essential oil"*, base de datos *Scopus (Elsevier)*, número de publicaciones: 23. Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2012.

2.3 *Tanacetum parthenifolium* (Willd.) Sch. Bip.

En las **Figuras 16** y **17**, se indica la relación de los artículos registrados en las bases de datos de *Scopus (Elsevier)* para las plantas del género *Tanacetum* (123 publicaciones), porque para la planta *T. parthenifolium* (Willd.) Sch. Bip., en particular, no se encuentra ninguna publicación en la base de datos. Se encontró que el 2009 fue el año cuando más se publicó sobre las especies de este género, la revista *Journal of Essential Oil Research* registra mayor número de publicaciones (5 artículos). Irán, es el país que reporta más estudios (37 publicaciones), especialmente, en las áreas de agricultura, ciencias biológicas, y química.

Las especies más estudiadas de este género son: *T. parthenium* y *T. vulgare*. Las publicaciones están relacionados, en su mayoría, con la composición del AE, y la capacidad antimicrobiana y antiinflamatoria de los sesquiterpenos lactónicos característicos de la familia a la que pertenecen (Asteraceae) [75,76]. El

componente mayoritario común para las dos especies (*T. parthenium* y *T. vulgare*) es el alcanfor (6-57%) [77].

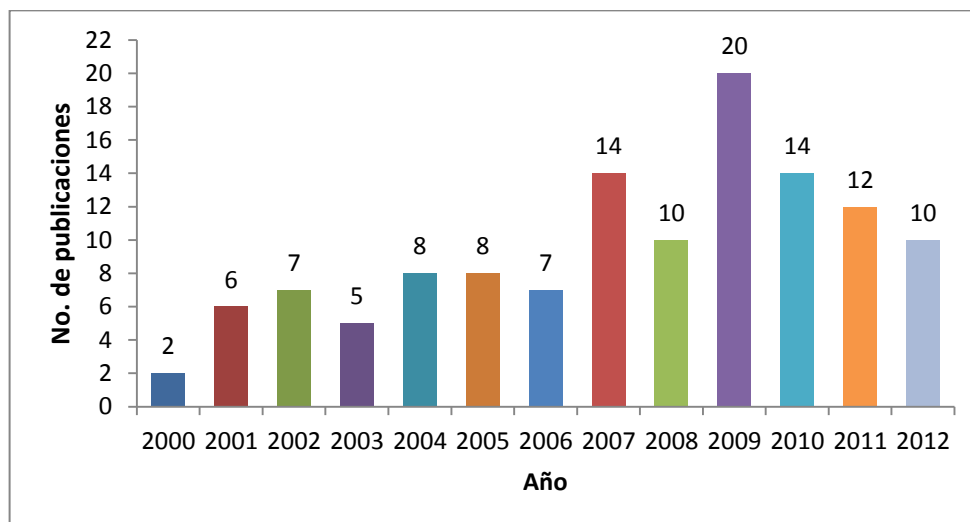


Figura 16. Relación del número de publicaciones sobre *Tanacetum* por año. Periodo de observación: 2000-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Tanacetum" AND "essential oil"*, base de datos *Scopus (Elsevier)*, número de publicaciones: 123. Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2012.

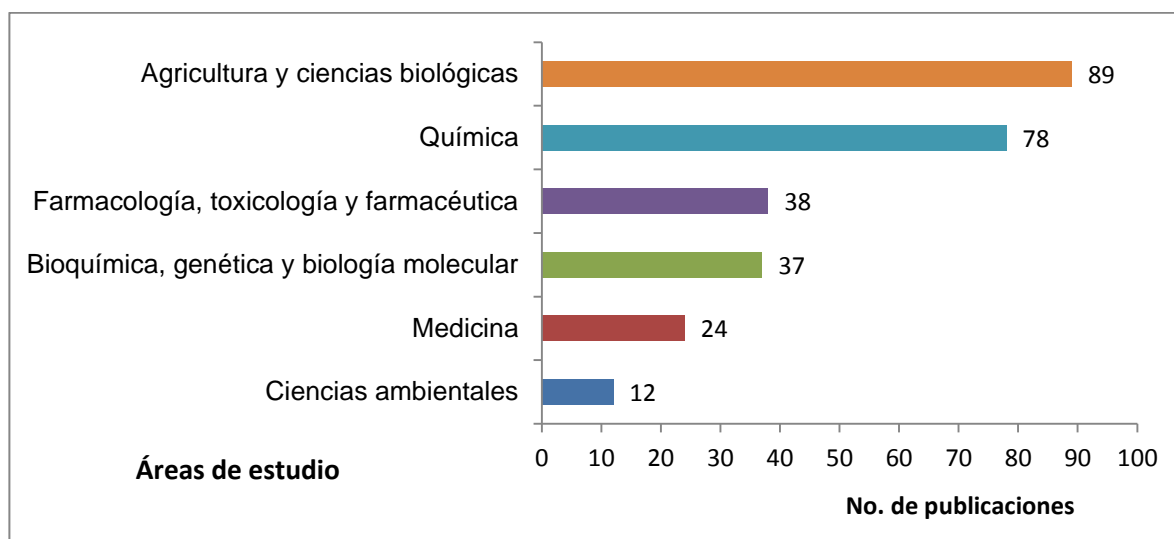


Figura 17. Relación entre las áreas de investigación y el número de publicaciones sobre *Tanacetum*. Periodo de observación: 2000-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Tanacetum" AND "essential oil"*, base de datos *Scopus (Elsevier)*, número de publicaciones: 123. Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2012.

2.4 *Peperomia subspathulata* Yunck

En las **Figuras 18** y **19**, se indica la relación de los artículos registrados en las bases de datos de *Scopus* (*Elsevier*) para las plantas del género *Peperomia* (14 publicaciones), porque no se encontró ninguna publicación en esta base de datos sobre *P. subspathulata*. Se observó, que el año 2011 fue cuando más se publicó sobre este género; la revista *Journal of Essential Oil Research* registra mayor número de publicaciones (5 artículos). Brasil es el país, que reporta el número de publicaciones sobre este género más alto (10 artículos), en las áreas de agricultura, ciencias biológicas, química, farmacología, toxicología y farmacéutica.

Dentro de las especies más estudiadas del género *Peperomia* se encuentra: *P. serpens* (Sw.) Loud; *P. circinnata*, *P. rotundifoli*, *P. pelucida*, y *P. galioides* HBK, entre otras; los AE de estas especies presentaron actividades antiinflamatorias y antimicrobianas. Según los estudios relacionados sobre la composición química del AE, las especies del género *Peperomia*, existen en dos quimiotipos: tipo fenilpropanoide y tipo terpénico [58-60].

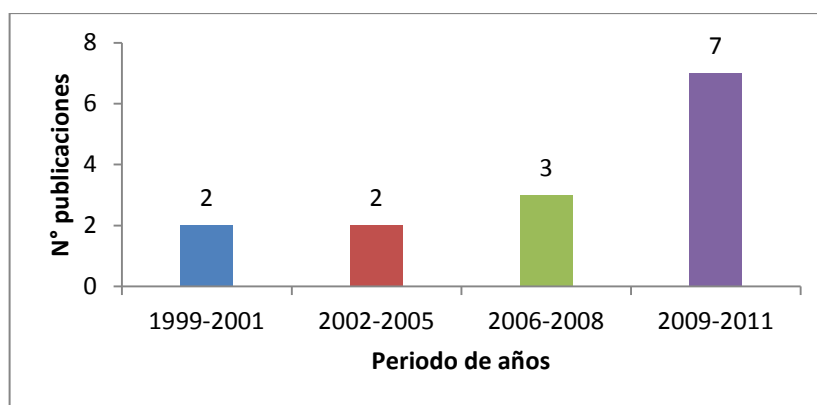


Figura 18. Relación del número de publicaciones sobre *Peperomia* por año. Periodo de observación: 1965-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Peperomia" AND "essential oil"*, base de datos *Scopus* (*Elsevier*), número de publicaciones: 14. Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2012.

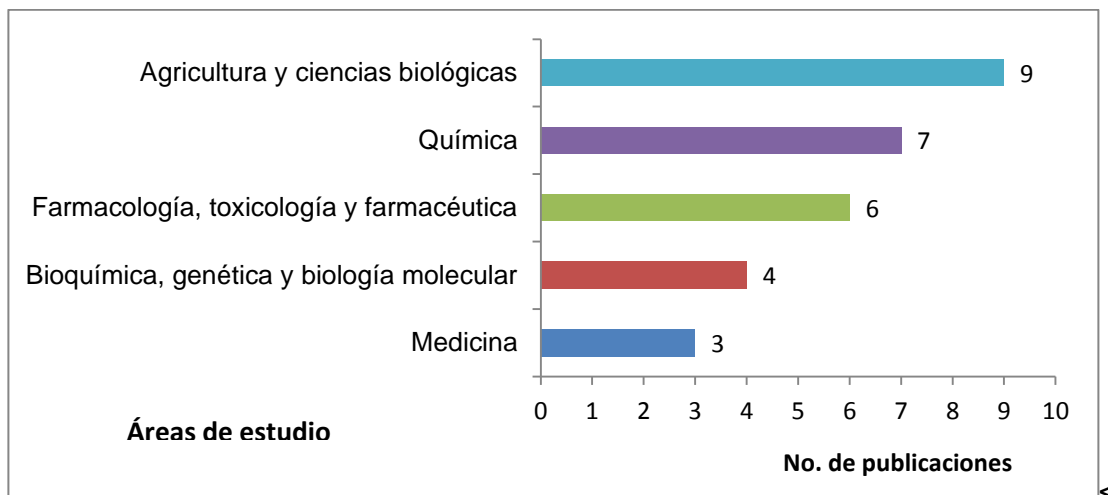


Figura 19. Relación entre las áreas de investigación y el número de publicaciones sobre *Peperomia*. Periodo de observación: 1965-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Peperomia" AND "essential oil"* base de datos *Scopus (Elsevier)*, número de publicaciones: 14. Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2012.

2.5 *Salvia rubriflora* Epling

En las **Figuras 20** y **21**, se indica la relación de los artículos registrados en las bases de datos de *Scopus (Elsevier)* para las plantas del género *Salvia* (646 publicaciones); en esta base de datos no se encontró ninguna publicación sobre *S. rubriflora* Epling; se observó, que en el año 2010 se publicó mayor número de estudios sobre esta especie; la revista *Journal of Essential Oil Research* registró el más alto número de publicaciones (52 artículos). Turquía e Irán son los países que más han publicado sobre este género, 92 y 85 artículos, respectivamente. Las áreas con mayor número de investigaciones se reportan en agricultura, ciencias biológicas, química y bioquímica.

Las especies más estudiadas son *S. miltiorrhiza* y *S. officinalis*. De las 646 publicaciones, 30 están relacionadas con actividad antioxidante y 21, con actividad antimicrobial. Los constituyentes mayoritarios encontrados en el AE son:

canfeno (2-4%), 1,8-cineol (5-14%), α -tuyona (3-16%), alcanfor (10-21%) y α -humleno (4-8%) [78,77].

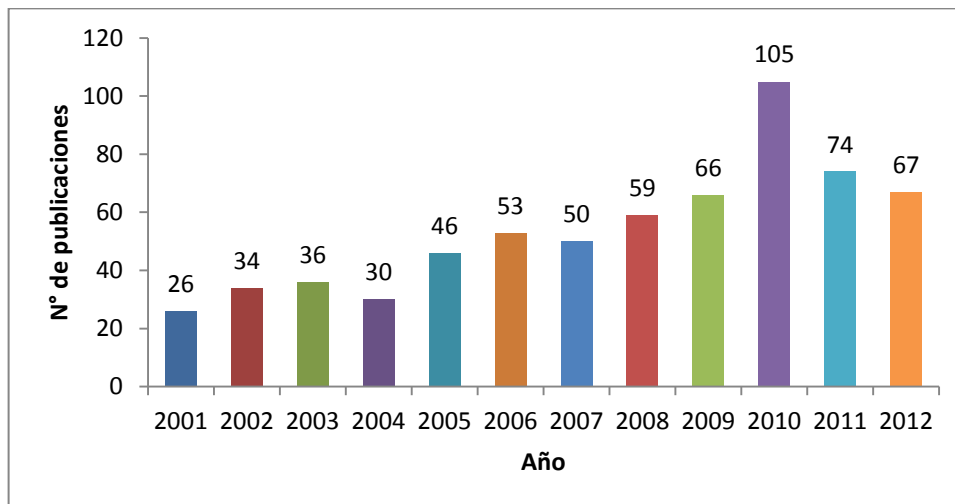


Figura 20. Relación del número de publicaciones sobre *Salvia*, por año. Periodo de observación: 2001-2012; ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Salvia" AND "essential oil"*; base de datos *Scopus (Elsevier)*; número de publicaciones: 646. Fecha de consulta: 20 de noviembre de 2012.

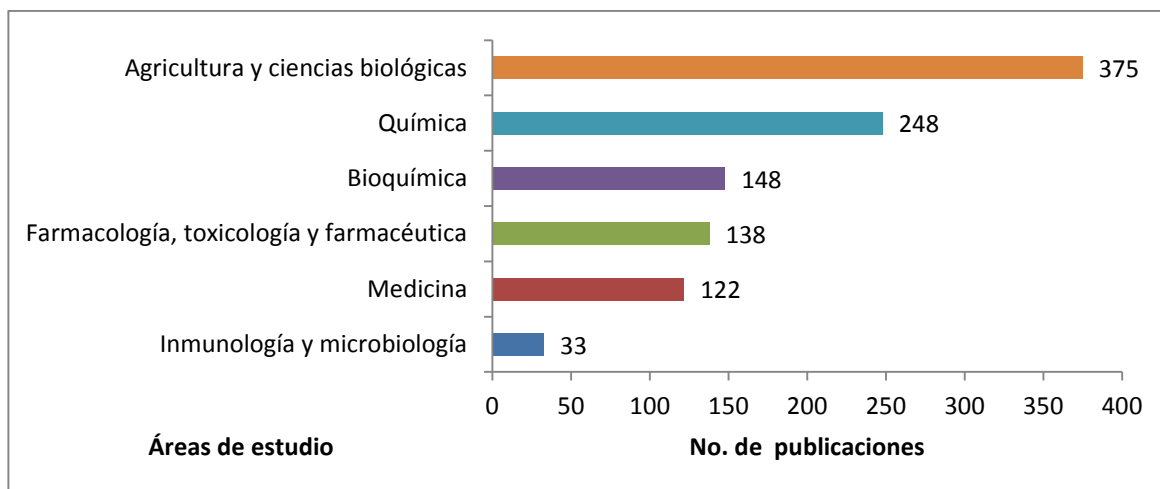


Figura 21. Relación entre las áreas de investigación y el número de publicaciones sobre *Salvia*. Periodo de observación: 2001-2012; ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Salvia" AND "essential oil"*; base de datos *Scopus (Elsevier)*, número de publicaciones: 646. Fecha de consulta: 20 de noviembre de 2012.

2.6 *Mentha x piperita* L.

En las **Figuras 22** y **23**, se indica la relación de los artículos registrados en las bases de datos de *Scopus* (*Elsevier*) para la menta (*M. x piperita* L.); se encontró que en 2011 se publicaron más artículos sobre esta especie. En la base de datos, se registran 131 publicaciones en total, la revista *Flavour and Fragrance Journal*, registra mayor número de publicaciones (14 artículos). EE. UU. y Brasil reportan más estudios sobre esta planta aromática, especialmente, en las áreas de agricultura, ciencias biológicas y química. Las publicaciones relacionadas con la composición de los metabolitos secundarios volátiles, muestran que los constituyentes mayoritarios son: mentol (26- 44%) mentona (17-32%), acetato de mentilo (4-8%), isomentona (4-10%). No se han reportado estudios relacionados con actividad antioxidante o actividad biológica [79].

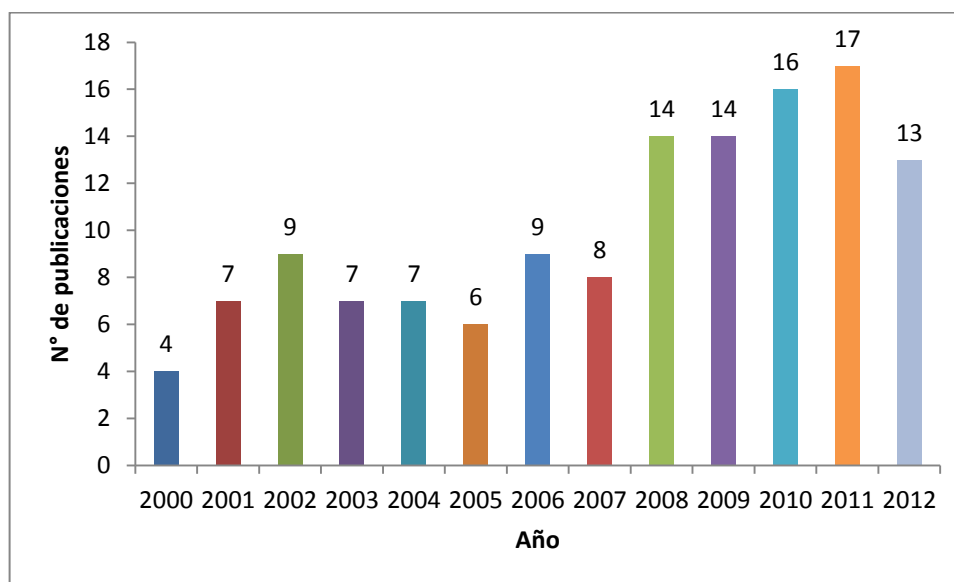


Figura 22. Relación del número de publicaciones sobre *Mentha x piperita* L. por año. Periodo de observación: 2000–2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Mentha x piperita L." AND "essential oil"*, base de datos *Scopus* (*Elsevier*), número de publicaciones: 131. Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2012.

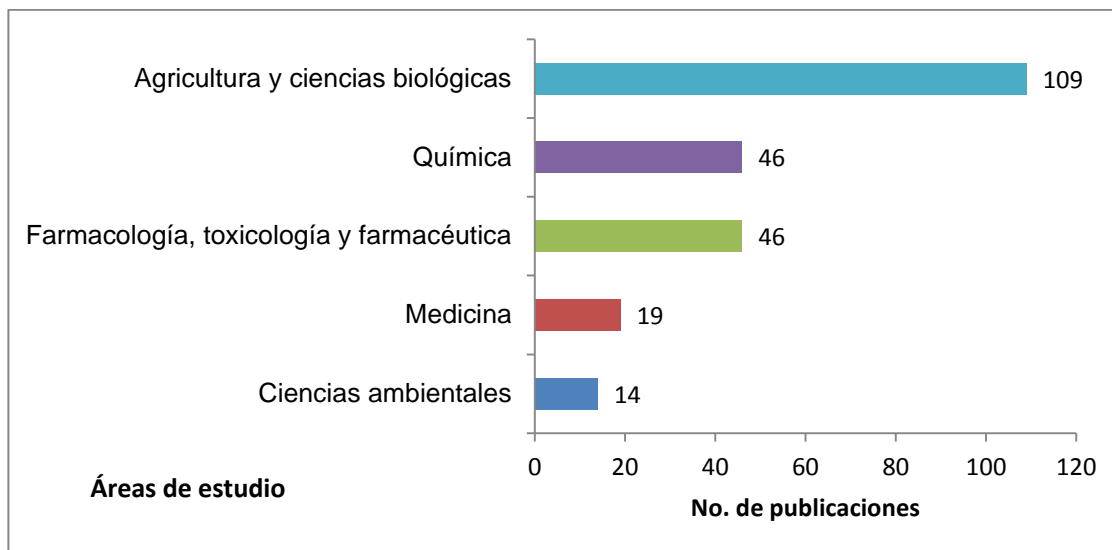


Figura 23. Relación entre las áreas de investigación y el número de publicaciones sobre *Mentha x piperita* L. Periodo de observación: 1990-2012. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY-AUTH: "Mentha x piperita L." AND "essential oil"* base de datos *Scopus (Elsevier)*, número de publicaciones: 131. Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2012.

3. METODOLOGÍA

La metodología, que se llevó a cabo en este trabajo, se resume en el diagrama de flujo que se muestra en la **Figura 24**.

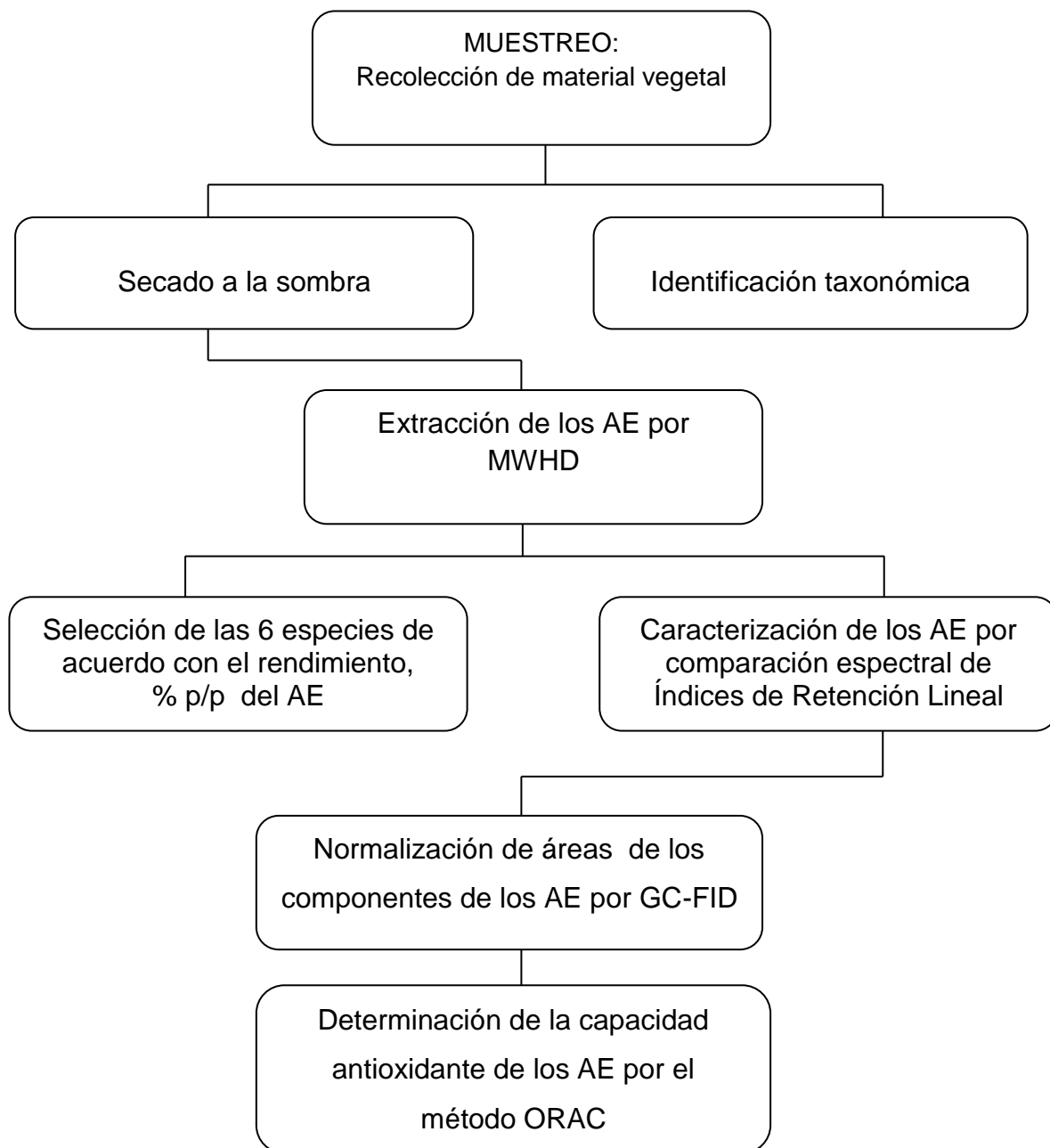


Figura 24. Diseño metodológico del trabajo.

3.1 CARACTERÍSTICAS DE LA ZONA DE MUESTREO

Las zonas de muestreo fueron algunas veredas de los municipios de Sucre y Bolívar, en el departamento de Santander, Colombia (Véase **Figura 25**). En el municipio de Sucre, la zona se encuentra ubicada a una elevación de 2200 a 2500 m.s.n.m., la temperatura promedio es de 17 °C.

El bosque, que se encuentra, es andino nubloso; la mayor parte ha sido intervenido o destruido con fines agropecuarios. Los puntos de muestreo estuvieron ubicados en los alrededores del corregimiento La Granja (lat. 07°08.023´N, long.073°07.045´W), en la vereda Las Palmas (lat. 05°56.695´N, long. 0.73°55.131´W), en los alrededores del corregimiento La Pradera (lat. 05°52.063´N, long. 073°54.729´W), en la vereda El Retiro (lat. 05°52.825´N, long. 073°53.721´W) y en la vereda Peña Blanca (lat. 05°52.824´N, long. 073°53.722´W). Los muestreos se realizaron tanto en bosques nativos, como en bosques intervenidos, praderas y jardines.

En el municipio de Bolívar, se realizó la recolección del material vegetal, en donde los bosques nativos son prácticamente inexistentes, y la humedad es menor, que en el municipio de Sucre. La elevación es de 2000 a 2350 m.s.n.m. y la temperatura promedio es de 19 °C. Las zonas de muestreo estuvieron ubicadas en las veredas Alto Nogales (lat. 05°57.656´N, long. 073°47.437´W) y Boquerón (lat. 05°57.423´N, long. 073°47.598´W), igualmente, el muestreo se realizó en praderas, bosques intervenidos y jardines.

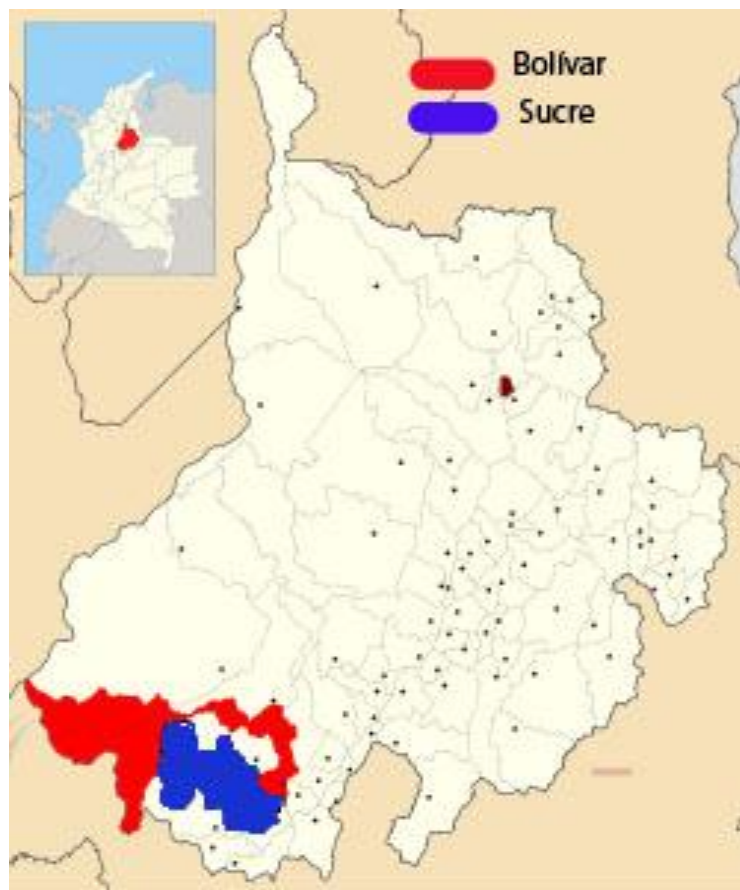


Figura 25. Ubicación de los municipios Sucre y Bolívar en el departamento de Santander, Colombia [81].

3.2 RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA DEL MATERIAL VEGETAL SILVESTRE

Se realizó una salida botánica, del 7 al 12 de junio del año 2011, para recolectar especies vegetales aromáticas. Días antes, en la zona de muestreo, hubo lluvia moderada. Todos los días fueron soleados durante la recolección del material vegetal.

Los siguientes fueron los criterios de selección de las especies recolectadas:

- **Características organolépticas:** olor aromático apreciable.
- **Estado fenológico de la planta:** planta desarrollada, preferiblemente en el estado de floración o próximo a él.
- **Cantidad de material:** disponibilidad de por lo menos 3 kg de material vegetal verde para cada especie.

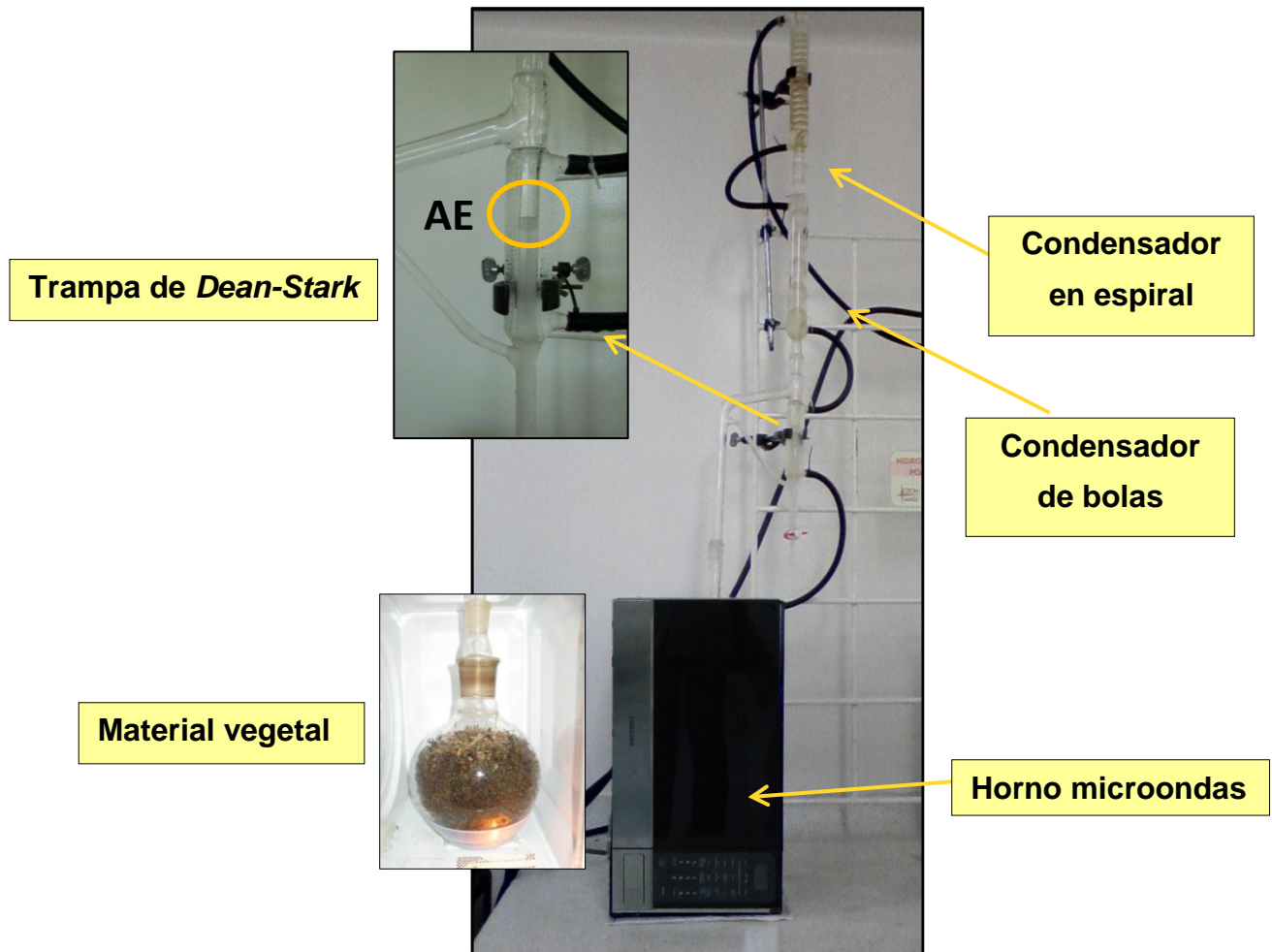
El material recolectado se secó a la sombra, durante los días de muestreo. Posteriormente, se llevó al Complejo Agroindustrial Piloto, CENIVAM-UIS, Bucaramanga (Santander), donde se terminó el proceso de su secado. Se hicieron las extracciones de los AE por MWHD, y se realizó la correspondiente identificación por GC-MS de los AE extraídos. Durante la salida botánica, se obtuvieron las *exsicata* de las especies recolectadas. Para tal propósito, se seleccionaron plantas con presencia de flores o frutos, usados como claves taxonómicas para la identificación botánica de la especie.

En total, se hizo la *exsicata* de las 30 especies encontradas. Estas fueron secadas durante 15 días, en las instalaciones del Centro de Investigación CENIVAM de la Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga. Posteriormente, fueron enviadas por duplicado, para su correspondiente identificación taxonómica, a los expertos del Herbario Nacional Colombiano (COL, Bogotá), Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. De cada especie, se depositó un pliego-testigo en el Herbario del Centro de Investigación CENIVAM. De las 30 especies enviadas, 26 se identificaron hasta “especie” (Véase **Tabla 2**, Capítulo 4, Sección 4.1.).

3.3 OBTENCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales fueron extraídos por el método de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas, utilizando un equipo tipo *Clevenger* modificado, con reservorio de destilación *Dean-Stark* y adaptación para calentamiento a

través de un horno microondas doméstico, con una potencia de salida de 1100 W y frecuencia de 2.5 GHz (Véase **Figura 26**).



Fotografía tomada en el Complejo Agroindustrial CENIVAM por Giohanna Santos.

Figura 26. Esquema del montaje para obtención de AE. Equipo de hidroddestilación asistida por la radiación de microondas.

La obtención de los AE se realizó a partir de las hojas y tallos (250 g) del material vegetal silvestre, previamente secado a la sombra (7 días) y cortado en pequeños trozos, al cual se adicionó agua (300 mL); la mezcla se sometió a calentamiento. El tiempo de extracción fue de 45 min, dividido en intervalos de 15 min (15 min x 3) por cada extracción. El número de extracciones dependió de la disponibilidad de material vegetal. Una vez terminado el proceso, los AE se secaron con sulfato

de sodio anhidro y se almacenaron en tubos de ensayo a una de temperatura de 4 °C, protegidos de la luz.

El rendimiento del aceite (% p/p) se midió en relación con la cantidad de material vegetal seco utilizado en la extracción y el aceite esencial obtenido, usando la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento} = \frac{W_{AE}}{W_{mv}} * 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde, W_{AE} es el peso del aceite esencial y W_{mv} es el peso del material vegetal.

3.4 ANÁLISIS INSTRUMENTAL

3.4.1 Preparación de la muestra

Las muestras para el análisis cromatográfico, se prepararon disolviendo AE (50 μ L) y patrón interno de *n*-tetradecano (2 μ L) en diclorometano; la mezcla se aforó hasta el volumen final (1 mL).

3.4.2 Caracterización de los aceites esenciales

El análisis cualitativo de los aceites esenciales extraídos se realizó por GC-MS, en los equipos *Agilent Technologies 6890 Plus*, con un detector selectivo de masas *Agilent Technologies MSD 7890* (Véase **Tabla 1**). El reconocimiento de los componentes principales, presentes en los aceites, consistió en comparar sus índices de retención lineales (LRI) y espectros de masas con los datos reportados en la literatura [82]. Los índices de retención lineales de cada compuesto se calcularon, teniendo en cuenta los tiempos de retención de una serie homóloga de patrones de hidrocarburo desde C_6 hasta C_{25} , analizados bajo las mismas condiciones operacionales, que el AE, en dos columnas con fases estacionarias polar y apolar [83].

Tabla 1. Parámetros cromatográficos del método para análisis de AE.

Equipo	GC Agilent Technologies 6890 Plus	GC Agilent Technologies 7890A
Inyector	split/splitless	
Temperatura del inyector	250°C	
Relación de <i>split</i>	1:30	1:30
Columna	DB-5MS: 60 m x 0.25mm x 0.25 µm	DB-WAX: 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm
Programación de la temperatura del horno	45°C (5 min) 120°C (5 min), 4°C/min 150 °C (7 min), 5°C/min 275°C (40 min)	50°C (5 min) 120°C (5 min), 4°C/min 150 °C (7 min), 4°C/min 230°C (40 min)
Gas de arrastre	Helio (99.995%, Grupo Linde, Colombia)	
Flujo de gas de arrastre	1 mL/min	
Detector	MSD Agilent 5973	MSD 5975
Temperatura de la cámara de ionización	230 °C	
Temperatura de la línea de transferencia (GC-MS)	285°C	230°C
Energía de los electrones ionizantes	70 eV	

Para el cálculo de los índices de retención lineales de los metabolitos secundarios de las plantas bajo estudio, se utilizó la siguiente ecuación [83]:

$$LRI = 100n + 100 \left[\frac{t_{Rx} - t_{Rn}}{t_{RN} - t_{Rn}} \right] \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

LRI: índice de retención lineal del compuesto de interés x ; t_{Rx} : Tiempo de retención del compuesto de interés x ; t_{Rn} y t_{RN} : Tiempos de retención de n -alcanos, que eluyen antes y después del compuesto x de interés, respectivamente.

Los espectros de masas obtenidos de cada compuesto se compararon con los reportados en las bases de datos ADAMS [82], NIST [84] y Wiley 138.

3.4.3 Selección de las seis especies vegetales

Se establecieron como criterios de selección los siguientes parámetros: identificación taxonómica de la planta, con el fin de precisar la existencia de estudios químicos referentes a su AE; rendimiento de los AE obtenidos y disponibilidad de material vegetal.

Con base en estos parámetros, se escogieron seis especies vegetales: *Morella pubescens* (Humb. & Bompl. Ex Willd.), *Chenopodium ambrosioides* L., *Tanacetum parthenifolium* (Willd.), *Peperomia subspathulata* Yunck, *Salvia rubriflora* Epling y *Mentha x piperita* L. Se cuantificaron los componentes principales en el AE extraído y se realizaron pruebas de su capacidad antioxidante.

3.4.4 Normalización de áreas

La cuantificación de los componentes de los AE de las plantas 6 plantas seleccionadas se realizó por el método de normalización simple, utilizando patrón de *n*-tetradecano. Se empleó el equipo *Agilent Technologies 7890A* con detector de ionización en llama, FID, inyector automático *Agilent Technologies 7893*; puerto de inyección *split/splitless* (250°C, relación de *split* 1:30), columna capilar de fase apolar DB-5 MS (*J&W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.) de 60 m x 0.25 mm x 0.25 μm, con fase estacionaria apolar de 5%-fenil-poli(metilsiloxano). La concentración relativa de cada compuesto se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \bar{x} = 100 * \frac{A_x}{\sum_i A_i} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

$A_{\bar{x}}$ el área del compuesto de interés; $\sum_i A_i$ la sumatoria de las áreas de todos picos cromatográficos y \bar{x} el compuesto de interés.

3.5 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

3.5.1 Capacidad de absorción de radicales libres de oxígeno (ORAC)

Se preparó una solución de *buffer* fosfato 75 mM y pH 7.4; el valor del pH se ajustó con una solución 1 M de ácido clorhídrico (HCl). Se preparó una solución *stock* de fluoresceína 0.0838 mM, de la cual se tomó, para cada ensayo, una alícuota de 48.8 μ L, que se diluyó con 50 mL de *buffer* fosfato, para obtener una solución de trabajo de 8.16×10^{-5} M [87,88].

Se pesó AE (10 mg) y se aforó con etanol hasta el volumen final (1 mL). La solución se diluyó hasta lograr que el valor de la intensidad de la fluorescencia final fuera menor de 5% del valor inicial. Para medir la fluorescencia, se utilizó el lector de microplacas *Turner Biosystems Inc. Modulos™ // Microplate Multimode Reader* (Sunnyvale, CA, EE.UU.), con microplacas de poli(estireno) de 96 pozos (Véase **Figura 27**), empleando el módulo de fluorescencia con filtros que manejan longitudes de onda de 490 nm de excitación y 510-570 nm de emisión.



Fotos de Giohanna K. Santos, 14 de noviembre de 2012, lugar: Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM.

Figura 27. Lector de microplacas *Turner Biosystems Inc., Modulus™ II, Microplate Multimode Reader* (645 N., North Mary Avenue, Sunnyvale, CA, EE.UU) con microplacas de poli(estireno) de 96 pozos.

A la microplaca, se adicionaron la muestra diluída (25 μ L) y la solución de trabajo de la FL (150 μ L); la mezcla resultante se incubó durante 20 min a 37°C, a continuación, se agregó la solución del radical AAPH y, finalmente, se realizó la medición.

Se utilizó el mismo procedimiento con las sustancias de referencia, para lo cual se emplearon BHT, α -tocoferol y patrones de referencia de algunos compuestos mayoritarios: linalol, *trans*- β -cariofileno, α -terpinoleno y canfeno. Los resultados obtenidos se extrapolaron en la curva de calibración realizada con Trolox[®] y se expresaron como μ mol Trolox[®]/g de AE. El Trolox[®] (97%, *Sigma Aldrich*) es un análogo hidrosoluble del α -tocoferol que se emplea universalmente como estándar en diversos ensayos para medir capacidad antioxidante (como TEAC, ORAC), gracias a su alta solubilidad en agua y propiedades antioxidantes.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El proyecto se ejecutó en dos etapas. La primera, consistió en la realización de una salida botánica, donde se recogieron en total 30 especies. Se realizó la extracción de los aceites esenciales de cada una de las especies colectadas. En el Herbario Nacional de Colombia se llevó a cabo la identificación botánica de cada especie (Véase **Tabla 2**); los componentes de los AE extraídos se caracterizaron por comparación de índices de retención lineales y espectros de masas con los datos reportados en la literatura [83]. En la segunda etapa, se seleccionaron seis especies, en las cuales se realizó la cuantificación de los metabolitos secundarios del AE por normalización simple; se usó estándar interno, *n*-tetradecano; y se realizaron ensayos para medir la capacidad antioxidante de los AE.

4.1 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

Los resultados de la identificación botánica se presentan en la **Tabla 2**. En total, 30 especies fueron enviadas al Herbario Nacional de Colombia, de las cuales, cuatro no se lograron identificar debido a la falta de frutos o inflorescencias en la muestra colectada.

Las especies identificadas son, en su mayoría, cultivadas en jardines por los campesinos de la región. Las siguientes corresponden a nativas y crecen espontáneamente en bosques y praderas: *Hyptis colombiana* Epling, *Morella pubescens*, *Satureja brownei* (Sw.) Briq., *Salvia rubriflora* Epling, *Salvia palifolia* Kunth, *Piper aduncum* L., *Piper diffamatum* Trel. & Yunck y *Chenopodium ambrosioides* L. Con excepción a *Hyptis colombiana* Epling y *Piper diffamatum* Trel. & Yunck, los habitantes de la zona utilizan las especies nativas mencionadas con fines curativos.

Tabla 2. Identificación botánica de las especies recolectadas en los municipios de Sucre y Bolívar, Santander.

No	Nombre común	Nombre	Familia	Municipio	No.* COL.
1	Sauco	<i>Sambucus nigra</i> L.	Adoxaceae	Sucre	557715
2	Hinojo	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Apiaceae	Sucre	557714
3	Alcachofa	<i>Cynara scolymus</i> L.	Asteraceae	Sucre	557877
4	N.C. ^a	No determinado	Asteraceae	Sucre	
5	N.C. ^a	No determinado	Asteraceae	Sucre	
6	Ajenjo	<i>Artemisia absinthium</i> L.	Asteraceae	Sucre	557713
7	Manzanilla matricaria	<i>Tanacetum parthenifolium</i> (Willd.) Sch. Bip.	Asteraceae	Sucre	557878
8	Altamisa	<i>Ambrosia cumanensis</i> Kunth	Asteraceae	Sucre	557712
9	Paico	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L. ^b	Chenopodiaceae	Sucre	557879
10	Bretónica	<i>Salvia rubriflora</i> Epling ^b	Lamiaceae	Bolívar	557887
11	Toronjil	<i>Melissa officinalis</i> L.	Lamiaceae	Sucre	557884
12	Hierba Buena	No determinado	Lamiaceae	Sucre	
13	Poleo	<i>Satureja brownei</i> (Sw.) Briq. ^b	Lamiaceae	Sucre	557887
14	Salvia silvestre	<i>Salvia bogotensis</i> Benth.	Lamiaceae	Sucre	557888
15	N.C. ^a	<i>Hyptis colombiana</i> Epling ^b	Lamiaceae	Bolívar	557885
16	N.C. ^a	No determinado	Lamiaceae	Bolívar	
17	Salvión	<i>Lepechinia salviifolia</i> (Kunth) Epling	Lamiaceae	Bolívar	557890
18	Muña	<i>Minthostachys mollis</i> (Kunth) Griseb	Lamiaceae	Sucre	557880
19	Hierba buena	<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh.	Lamiaceae	Sucre	557886
20	Mastranto	<i>Salvia palifolia</i> Kunth ^b	Lamiaceae	Sucre	557882
21	Mejorana	<i>Origanum x majoricum</i> Camb.	Lamiaceae	Sucre	557889
22	Menta	<i>Mentha x piperita</i> L.	Lamiaceae	Sucre	557881

Tabla 2. Continuación.

No	Nombre común	Nombre	Familia	Municipio	No.* COL.
23	Laurel	<i>Morella pubescens</i> (Humb.& Bompl. Ex Willd.) Wilbur	Myricaceae	Bolívar	557892
24	Freijoa	<i>Acca sellowiana</i> (O.Berg) Burret	Myricaceae	Sucre	557891
25	N.C. ^a	<i>Pipper aduncum</i> L.	Piperaceae	Bolívar	557894
26	Canelón	<i>Peperomia subspathulata</i> Yunck.	Piperaceae	Sucre	557893
27	N.C. ^a	<i>Piper diffamatum</i> Trel. & Yunck	Piperaceae	Sucre	557895
28	Borrachero	<i>Brugmansia sanguinea</i> (Ruiz & Pav.) D. Don	Solanaceae	Sucre	557896
29	Uchuva	<i>Physalis peruviana</i> L.	Solanaceae	Sucre	557897
30	Lantana	<i>Lantana camara</i> L.	Verbenaceae	Sucre	557898

*No. Col.: N° de colecta (*voucher*) registrado en el Herbario Nacional de Colombia.

a: No conocido.

b: Especie nativa.

De las especies, que se encontraron cultivadas, se sabe, que su principal propósito es curativo. Sin embargo, especies como *Acca sellowiana* (O.Berg) Burret (freijoa) y *Physalis peruviana* L. tienen fin alimenticio y otras, como *Peperomia subspathulata* Yunck., *Brugmansia sanguinea* (Ruiz & Pav.) D. Don y *Lantana camara* L., se usan como plantas ornamentales.

En cuanto a las familias de las especies recolectadas, Lamiáceas se encontraron con mayor frecuencia (43.3% de las especies identificadas), seguidas de las Asteráceas (20 %) y las Piperáceas (10 %) (Véase **Figura 28**). Las Lamiáceas fueron encontradas en praderas y jardines, las Asteráceas y Piperáceas, en bosques intervenidos y jardines. Los ejemplares de las plantas de las demás familias crecen en jardines, excepto *Morella pubescens* y *Chenopodium ambrosioides* L., que se han encontrado en praderas.

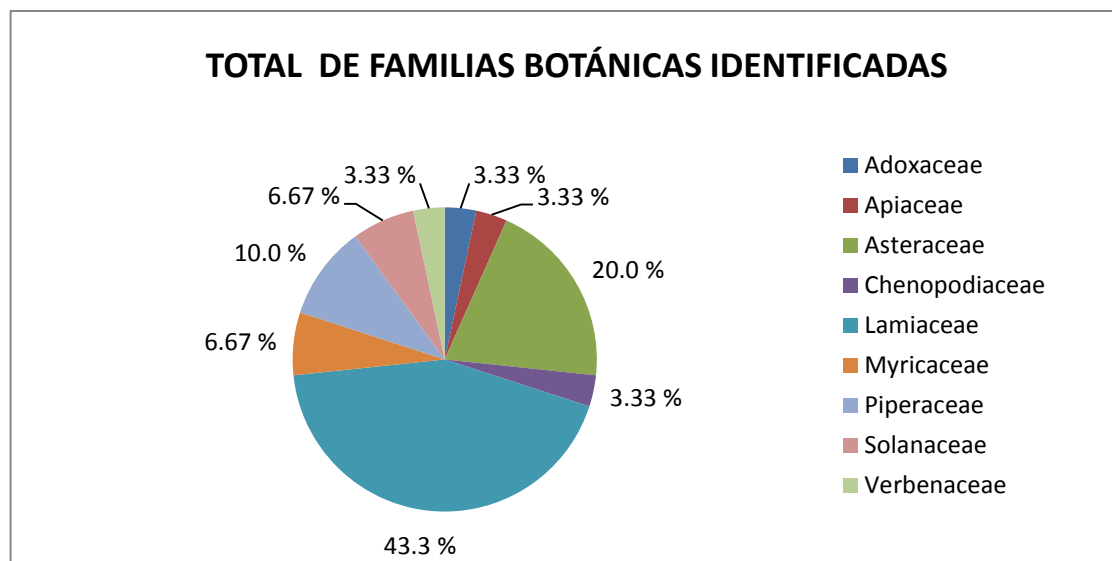


Figura 28. Relación de las familias de las plantas colectadas.

4.2 RENDIMIENTOS DE EXTRACCIÓN

El rendimiento de extracción de los AE está asociado, entre otros factores, al estado fenológico de la planta y las condiciones ambientales de su crecimiento. El material vegetal usado provino de plantas recolectadas en estado de floración o próximo a éste; se considera, que la planta puede contener mayor cantidad de AE, en esta etapa fenológica en comparación con otros estados de desarrollo vegetal.

En cuanto a la influencia de las condiciones ambientales, se sabe, que éstas afectan directamente la producción de AE, pues la planta lo genera según las necesidades fisiológicas que tenga, y estas varían con el hábitat [8]. Con todas las especies colectadas, se realizó el mismo procedimiento de MWHD para la extracción de sus AE. En la **Tabla 3**, se muestran los rendimientos obtenidos para cada especie.

Tabla 3. Rendimientos de extracción de AE de las especies recolectadas.

Nombre común	Nombre	Rendimiento (%) p/p	Lugar de procedencia	
			Altura (m.s.n.m)	Municipio
Sauco	<i>Sambucus nigra</i> L.	<0.01	2286	Sucre
Hinojo	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	0.18	2287	Sucre
Alcachofa	<i>Cynara scolymus</i> L.	<0,01	2297	Sucre
Ajenjo	<i>Artemisia absinthium</i> L.	N.D. ^a	2491	Sucre
Manzanilla matricaria	<i>Tanacetum parthenifolium</i> (Willd.) Sch. Bip.	0.25	2499	Sucre
Altamisa	<i>Ambrosia cumanensis</i> Kunth	N.D. ^a	2363	Sucre
Paico	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	0.62	2270	Sucre
Bretónica	<i>Salvia rubriflora</i> Epling	0.46	2350	Bolívar
Toronjil	<i>Melissa officinalis</i> L.	N.D. ^a	2290	Sucre
Poleo	<i>Satureja brownei</i> (Sw.) Briq.	0.80	2503	Sucre
Salvia silvestre	<i>Salvia bogotensis</i> Benth.	0.21	2493	Sucre
N.C. ^b	<i>Hyptis colombiana</i> Epling	0.09	2268	Bolívar
Salvión	<i>Lepechinia salviifolia</i> (Kunth) Epling	0.88	2030	Bolívar
Muña	<i>Minthostachys mollis</i> (Kunth) Griseb	0.21	2360	Sucre
Hierbabuena	<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh.	0.12	2299	Sucre
Mastranto	<i>Salvia palifolia</i> Kunth	0.11	2486	Sucre
Mejorana	<i>Origanum x majoricum</i> Camb.	N.D. ^a	2481	Sucre
Menta	<i>Mentha x piperita</i> L.	0.61	2300	Sucre
Laurel	<i>Morella pubescens</i> (Humb.& Bompl. Ex Willd.) Wilbur	0.45	2000	Bolívar
Freijoa	<i>Acca sellowiana</i> (O.Berg) Burret	<0.01	2277	Sucre
Cordoncillo	<i>Piper aduncum</i> L.	0.4	2265	Bolívar
Canelón	<i>Peperomia subspathulata</i> Yunck.	0.24	2296	Sucre
N.C. ^b	<i>Piper diffamatum</i> Trel. & Yunck	<0.01	2301	Sucre
Borrachero	<i>Brugmansia sanguinea</i> (Ruiz & Pav.) D. Don	<0.01	2495	Sucre
Uchuva	<i>Physalis peruviana</i> L.	<0.01	2460	Sucre
Lantana	<i>Lantana camara</i> L.	0.01	2500	Sucre

^aN.D.: No determinado debido al poco de material vegetal recolectado (< 1 kg).

^bN.C.: No conocido.

En la **Tabla 3**, se registran siete especies con rendimiento de extracción relativamente alto (>0.4%): *Chenopodium ambrosioides* L., *Salvia rubriflora* Epling, *Satureja brownei* (Sw.) Briq., *Lepechinia salviifolia* (Kunth) Epling, *Mentha x piperita* L., *Morella pubescens* (Humb.& Bompl. Ex Willd.) Wilbur y *Piper aduncum* L. Cuatro de ellas: *Mentha x piperita* L., *Lepechinia salviifolia* (Kunth) Epling, *Salvia rubriflora* Epling y *Satureja brownei* (Sw.) Briq., que pertenecen a la familia Lamiaceae, de la que se hallaron mayor número de ejemplares, tal como se observa en la **Figura 28**. De las anteriores especies, *Lepechinia salviifolia* (Kunth) Epling fue encontrada en jardines, mientras que las demás son silvestres.

4.3 IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LOS ACEITES ESENCIALES

4.3.1 *Morella pubescens* (Humb. & Bompl. Ex Willd.) Wilbur

Los componentes identificados en el AE de *M. pubescens* se presentan en la **Tabla 4**. En total, se identificaron 23 metabolitos secundarios volátiles, que representan el 88.5% del área cromatográfica total de la corriente iónica reconstruida. La mayoría de ellos, sesquiterpenoides: *trans*- β -cariofileno (47%), β -selineno (16.2%), α -selineno (16.4%) y óxido de cariofileno (4.3%).

Esta composición coincide con lo reportado por Arango *et al.* [36], quienes extrajeron el AE por arrastre con vapor, pero difiere con lo encontrado por Quijano y Pino [35], quienes identificaron en el extracto obtenido por destilación-extracción simultánea con solvente (DES) los siguientes componentes mayoritarios: 1,8-cineol (20%), linalol (16.4%) y acetato de α -terpinilo (11.1%). La diferencia se debe básicamente al método de extracción usado, en DES, se empleó un solvente orgánico, éter etílico, cuya afinidad por los compuestos ligeramente polares o por los compuestos, que puedan formar puentes de hidrógeno, es mayor; ejemplos son el 1,8-cineol y el linalol.

Tabla 4. Composición química del AE, aislados por MWHD, de *Morella pubescens* (Humb.& Bompl. Ex. Willd.) Wilbur.

N° pico Fig. 29	Compuesto	LRI				Cantidad relativa, %	Tipo
		Columna DB-5MS		Columna DB-WAX			
		Experimental	Lit. ^[82]	Experimental	Lit. ^[84-86]		
1	Linalol	1100	1098	1547	1551	0.2	MO ^a
2	Limoneno	1031	1031	1202	1212	0.4	M ^b
3	Carvona	1250	1242	1728	1715	0.1	MO
4	Safrol	1305	1285	1881	1890	0.2	MO
5	α -Cubebeno	1355	1351	1467	1480	0.6	S ^c
6	α -Copaeno	1379	1376	1504	1488	0.1	S
7	β -Elemeno	1398	1375	1605	1595	0.1	S
8	γ -Cariofileno	1418	1404	1590	1555	6.1	S
9	<i>trans</i> - β -Cariofileno	1440	1417	1619	1617	47.0	S
10	α -Humuleno	1471	1454	1685	1680	1.4	S
11	4,5-di- <i>epi</i> - Aristolocheno	1474	1471	1697	-	0.1	S
12	α -Selineno	1514	1494	1742	1724	16.2	S
13	β -Selineno	1507	1485	1737	1711	16.4	S
14	γ -Cadineno	1525	1512	1752	1819	0.2	S
15	δ -Cadineno	1528	1524	1749	1808	0.1	S
16	Alcohol de cariofileno	1582	1568	2067	2033	0.1	SO ^d
17	Cariolan-8-ol	1593	1571	-	-	1.5	SO
18	Óxido de cariofileno	1600	1582	1998	2000	4.3	SO
19	<i>epi</i> - δ -Cubenol	1629	-	2181	2037	0.1	SO
20	γ -Eudesmol	1631	1630	1282	1182	0.1	SO
21	1- <i>epi</i> -Cubenol	1627	1616	2078	2090	0.1	SO
22	Intermedeol	1665	1654	2250	2247	2.8	SO
23	<i>neo</i> -Intermedeol	1677	1658	2269	-	2.3	SO

^aM: Monoterpeno

^bMO: Monoterpeno oxigenado

^cS: Sesquiterpeno

^dSO: Sesquiterpeno oxigenado

Lit.: Índices de retención lineales reportados en la literatura [82,84-86]

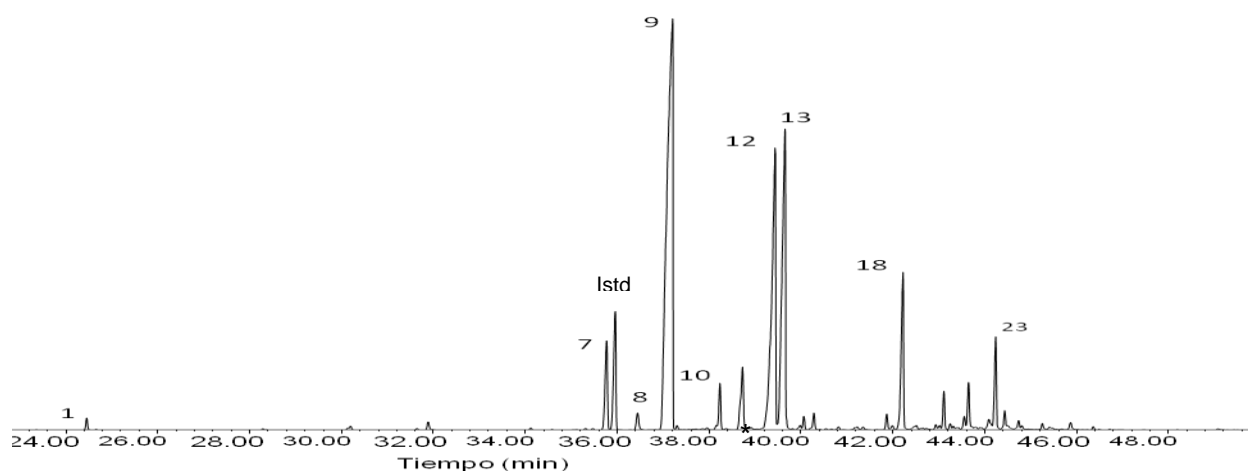


Figura 29. Perfil cromatográfico del AE de *Morella pubescens* (Humb.& Bompl. Ex. Willd.) Wilbur. Columna DB-5 MS (60 m). *Split* 1:30. MSD (EI, 70 eV).

4.3.2 *Chenopodium ambrosioides* L.

En el AE de *Chenopodium ambrosioides* L., se identificaron en total 22 metabolitos secundarios volátiles, que se reportan en la **Tabla 5**. Estos representan el 86.4% del área cromatográfica total de la corriente iónica reconstruida. Los componentes, que se encontraron en mayor proporción, fueron: Δ^3 -careno (10.0 %), limoneno (20.1 %), *trans-p*-menta-2,8-dien-1-ol (15.6 %), *trans-p*-menta-1,8-dien-2-ol (6.7%), *cis-p*-menta-1,8-dien-2-ol (7.8%) y ascaridol (44.2%). Los compuestos encontrados son, en su totalidad, de tipo monoterpenoide (Véase **Figura 31**).

Esta composición está de acuerdo con lo referenciado por Lawrence [68]; para el caso del ascaridol, principio activo del AE, que puede estar presente en mayor o menor cantidad, al igual, que el limoneno y el *p*-cimeno. Sin embargo, hay que resaltar que, aunque el α -terpineno es el precursor directo del ascaridol [89] (Véase **Figura 30**), éste no se encontró entre los compuestos identificados.

Tabla 5. Composición química del AE obtenido por MWHD, de *Chenopodium ambrosioides* L.

N° pico Fig. 31	Compuesto	LRI				Cantidad relativa, %	Tipo
		Columna DB-5MS		Columna DB-WAX			
		Experimental	Lit. ^[82]	Experimental	Lit. ^[84-86]		
1	α -Pinoeno	937	939	1023	1034	1.1	M ^a
2	Canfeno	954	953	1068	1077	0.1	M
3	β -Pinoeno	982	980	1111	1124	0.2	M
4	Δ^3 -Careno	1021	1008	1183	1148	10	M
5	<i>p</i> -Cimeno	1030	1022	1275	1277	3.1	M
6	Limoneno	1037	1031	1206	1212	20.1	M
7	1,3,8- <i>p</i> -Mentatrieno	-	-	1254	1348	1.1	M
8	<i>cis</i> -Óxido de limoneno	1138	1132	1456	1458	0.2	MO ^b
9	<i>trans</i> -Óxido de limoneno	1139	1137	1468	1470	0.2	MO
10	γ -Terpineno	1062	1054	1262	1265	1.1	M
11	Acetato de linalilo	1363	1254	1558	1568	0.3	MO
12	<i>trans-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	1113	1119	1676	1670	15.6	MO
13	<i>cis-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	1128	1133	1670	-	4.3	MO
14	Dihidrocarvona	1193	1193	1620	1600	0.1	MO
15	Pinocarvona	1171	1162	1583	1545	0.7	MO
16	Carvona	1243	1242	1745	1715	0.8	MO
17	<i>trans-p</i> -Menta-1,8-dien-2-ol	1195	1185	-	-	6.7	MO
18	<i>trans</i> -4-Caranona	1207	1196	1614	-	0.5	MO
19	<i>trans</i> -Carveol	1229	1227	1872	1876	0.4	MO
21	<i>cis-p</i> -Menta-1,8-dien-2-ol	1242	1227	-	-	7.8	MO
22	Ascaridol	1303	1327	1735	-	44.2	MO

^aM: Monoterpeno

^bMO: Monoterpeno oxigenado

Lit.: Índices de retención lineales reportados en la literatura [82,84-86]

Lo anterior se debe posiblemente a que la cantidad de α -terpineno presente en el AE extraído es muy baja y, por tanto, el ascaridol pudo encontrarse por debajo del nivel mínimo de detección de los equipos analíticos utilizados. Al despejar el tiempo de retención de la **Ecuación 2** y con el índice de retención del compuesto α -terpineno [82], se encontró que este eluye a los 28 min, tiempo en el cual se observa la presencia de tres compuestos no identificados con área relativa menor de 0.1% (Véase **Figura 31**). Por esto, también se considera probable que el compuesto haya co-eluido con alguno de estos componentes no identificados.

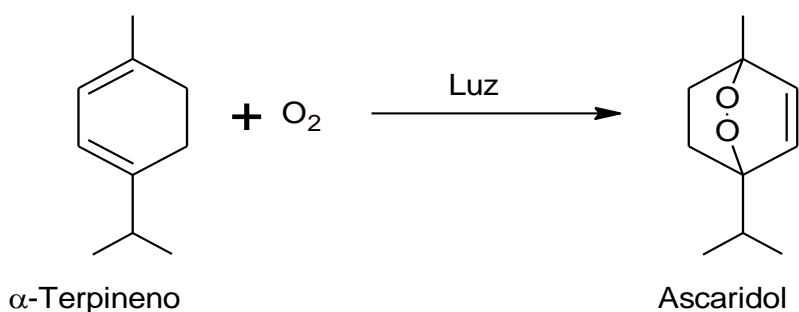


Figura 30. Biosíntesis de ascaridol a partir de α -terpineno [90].

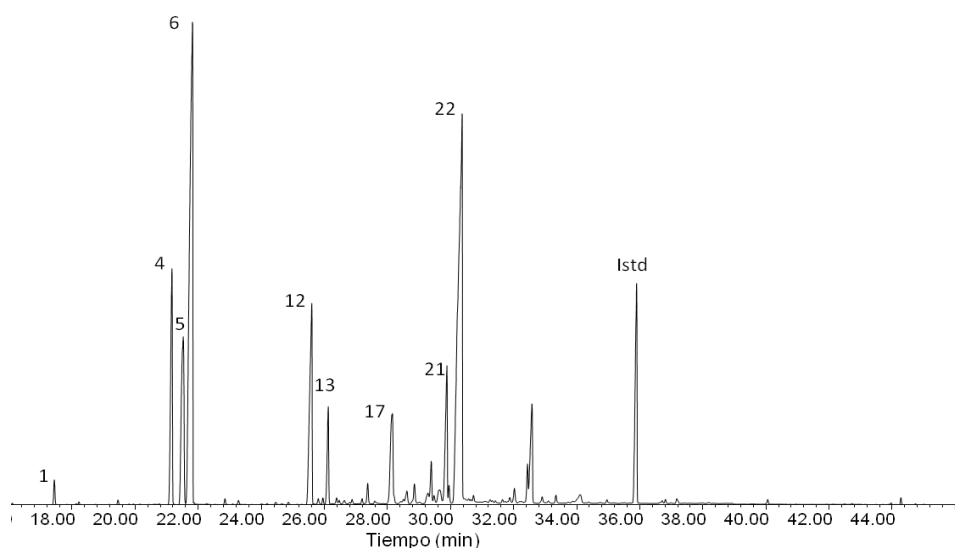


Figura 31. Perfil cromatográfico del AE de *Chenopodium ambrosioides* L. Columna DB-5MS (60 m). *Split* 1:30. MSD (EI, 70 eV).

4.3.3 *Tanacetum parthenifolium* (Willd.) Sch. Bip.

En el AE de *T. parthenifolium*, se identificaron 38 compuestos, que corresponden al 81.5% del área cromatográfica total de los componentes, y son, en su mayoría, monoterpenoides (Véase **Figura 32**). Los compuestos mayoritarios fueron alcanfor (56.8%) y canfeno (8.8%). Como se muestra en la **Tabla 6**, la cantidad relativa de alcanfor es alta, comparado con los demás componentes, por lo que se debe tener precaución a la hora de hacer formulaciones para uso humano, ya que la dosis letal reportada para este compuesto es 0,55 g/kg [91].

En general, la composición es semejante a la del AE de *T. parthenium*, especie distribuida en Latinoamérica [48] y a la cual se le da uso etnobotánico, muy similar a la planta estudiada en el presente trabajo, *T. parthenifolium*. Al comparar la composición de estas dos plantas, se observa, en general, la presencia de los mismos componentes mayoritarios y minoritarios [68]; por esta razón, es posible que este AE tenga las mismas aplicaciones que *T. parthenium*, dentro de las que se destacan la actividad antiinflamatoria [49,50], y algunas propiedades para el tratamiento de migraña [51], y para el tratamiento del cáncer [52].

De acuerdo con Tayler [53], la cantidad de sesquiterpenoides está directamente relacionada con la actividad biológica comprobada del género. Sin embargo, la cantidad relativa de este tipo de compuestos es baja, por lo que se prevé que este AE no tendría usos en este campo.

Tabla 6. Composición química del AE, aislado por MWHD, de *Tanacetum parthenifolium* (Willd.) Sch. Bip.

N° pico Fig. 32	Compuesto	LRI				Cantidad relativa, %	Tipo
		Columna DB-5MS		Columna DB-WAX			
		Experimental	Lit. ^[82]	Experimental	Lit. ^[84-86]		
1	α -Tujeno	928	931	1038	1031	0.3	M ^a
2	α -Pinenos	937	939	1024	1034	1.9	M
3	Canfeno	955	953	1070	1077	8.8	M
4	Tuja-2,4-dieno	957	953	-	-	0.3	M
5	Sabineno	976	973	1124	1134	0.4	M
6	β -Mirceno	990	991	1164	1168	1.0	M
7	Mesitileno	996	994	1373	1383	0.5	F
8	Δ^3 -Careno	1020	1008	1182	1184	0.2	M
9	<i>p</i> -Cimeno	1028	1022	1274	1277	1.7	M
10	Limoneno	1033	1031	1202	1206	0.6	M
11	<i>trans</i> - β -Ocimeno	1036	1050	1242	1243	0.2	M
12	3,5,5-Trimetil-3-ciclohexen-1-ona	1044	-	1471	-	0.1	HO ^b
13	β -Terpineno	1062	1071	1249	-	0.7	M
14	<i>trans</i> -Hidrato de sabineno	1075	1098	1471	-	0.2	MO ^c
15	Linalol	1103	1098	1550	1551	0.4	MO
16	<i>cis</i> -Crisantenona	1128	1124	1521	-	0.2	MO
17	<i>trans-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	1131	1119	1632	1670	2.5	MO
18	<i>cis-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	1147	1133	1676	-	0.1	MO
19	Alcanfor	1159	1143	1537	1498	56.8	MO
21	Pinocarvona	1171	1162	1584	1545	0.9	MO
22	Borneol	1181	1165	1642	1677	0.1	MO
23	Terpinen-4-ol	1188	1177	1610	1616	0.2	MO
24	α -Terpineol	1201	1189	1688	1711	0.1	MO
25	Mirtenol	1203	1194	1797	1787	0.1	MO
26	Verbenona	1216	1204	1743	1733	0.3	MO

Tabla 6. Continuación

N° pico Fig. 32	Compuesto	LRI				Cantidad relativa, %	Tipo
		Columna DB-5MS		Columna DB-WAX			
		Experimental	Lit. ^[82]	Experimental	Lit. ^[84,85]		
27	Acetato de linalilo	1249	1238	1569	1538	0.5	MO
28	<i>trans</i> -Acetato de crisantenilo	1261	1235	1580	-	0.3	MO
29	<i>cis</i> -Acetato de verbenilo	1284	1280	-	-	0.1	MO
30	<i>trans</i> -Acetato de verbenilo	1291	1292	-	-	0.7	MO
31	Acetato de mirtenilo	1328	1324	1677	-	0.3	MO
32	α -Copaeno	1386	1376	1507	1551	0.1	S ^d
33	<i>trans</i> - β -Cariofileno	1434	1417	1614	1617	0.2	S
34	Germacreno D	1493	1484	1722	1712	0.1	S
35	Angelato de bornilo	1569	1564	1877	-	0.1	MO ^e
36	Óxido de cariofileno	1599	1582	1999	2000	0.1	SO
37	Intermedeol	1684	1654	2171	2247	0.2	SO
38	Benzoato de bencilo	1781	1762	-	-	0.2	F ^f

^aM: Monoterpeno

^bHO: Hidrocarburo oxigenado

^cMO: Monoterpeno oxigenado

^dS: Sesquiterpeno

^eSO: Sesquiterpeno oxigenado

^fF: Fenilpropanoide

Lit.: Índices de retención lineales reportados en la literatura [82,84-86]

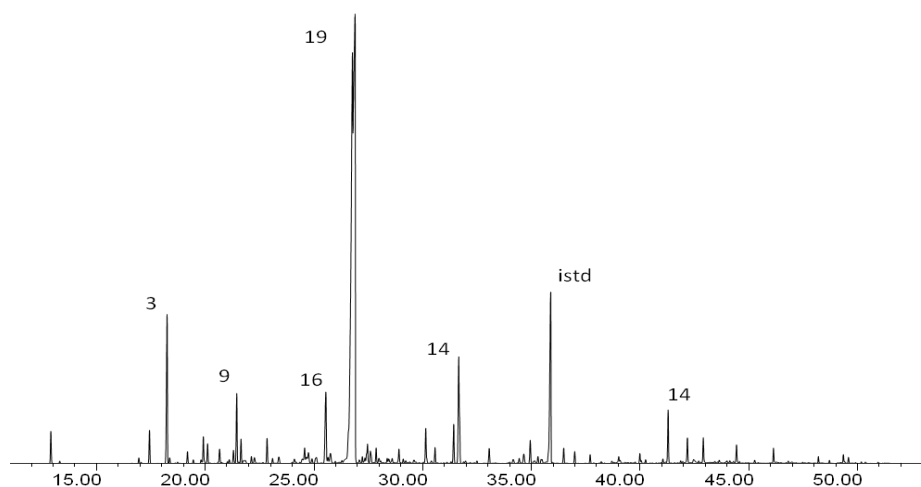


Figura 32. Perfil cromatográfico del AE de *Tanacetum parthenifolium* (Willd.) Sch. Bip. Columna DB-5MS (60 m). *Split* 1:30. MSD (EI, 70 eV).

4.3.4 *Peperomia subspathulata* Yunck.

Los componentes identificados en el AE de *P. subspathulata* se encuentran registrados en la **Tabla 7**. Se identificaron 34 componentes (con área relativa > 0.1%), que corresponden al 92.0% del área cromatográfica total de los componentes registrados.

En cuanto a los componentes mayoritarios del AE de *P. subspathulata*, se resalta la presencia de safrol (43.4%) y *epi*- α -bisabolol (26.5%). Hasta el momento, no hay reporte sobre la composición química del AE de esta especie. Sus metabolitos secundarios volátiles son, en su mayoría, sesquiterpenos y sesquiterpenos oxigenados (Véase **Figura 33**); sin embargo, se destaca la presencia de compuestos de tipo fenilpropanoide, derivados de la ruta del ácido shikímico, entre los que se encuentra el compuesto mayoritario, safrol. Esto está de acuerdo con lo reportado en la literatura para la identificación del AE de especies del género *Peperomia*; según los autores existen dos quimiotipos, a saber: con prevalencia de monoterpenoides y sesquiterpenoides, o con prevalencia de fenilpropanoides [56-60].

Tabla 7. Composición química del AE obtenido por MWHD, de *Peperomia subspathulata* Yunck.

No. Pico Fig. 33	Compuesto	LRI				Cantidad relativa, %	Tipo
		Columna DB-5MS		Columna DB-WAX			
		Experimental	Lit. ^[82]	Experimental	Lit. ^[84-86]		
1	Mirceno	988	991	1164	1168	0.1	M ^a
2	1,8-Cineol	1036	1033	1215	1214	0.1	MO ^b
3	Limoneno	1035	1031	1202	1212	0.4	M
4	Octanoato de etilo	1195	1196	1437	1422	0.1	HO ^c
5	Linalol	1103	1098	1547	1551	0.1	MO
6	α -Terpineol	1201	1189	1704	1711	0.1	MO
7	Safrol	1305	1285	1887	1890 ^g	49.4	F ^d
8	Eugenol	1357	1356	2171	2175	0.1	MO
9	α -Gurjuneno	1420	1409	1529	1529	0.9	S ^e
10	<i>trans</i> - β -Cariofileno	1435	1417	1612	1617	0.1	S
11	Aromadendreno	1444	1439	1622	1650	0.1	S
12	<i>cis</i> - β -Farneseno	1455	1443	1636	1650	1.6	S
13	Sesquisabineno	1460	1457	-	-	0.1	S
14	α -Humuleno	1470	1440	1685	1672	0.4	S
15	<i>trans</i> -Cinamato de etilo	1474	1465	2139	2149	1.3	F
16	γ -Curcumeno	1477	1481	1778	1680	0.1	S
17	Viridifloreño	1503	1493	1710	1697	0.1	S
18	β -Selineno	1491	1485	1733	1711	0.1	S
19	α -Selineno	1500	1494	1737	1724	0.4	S
20	Biciclogermacreno	1502	1500	1746	1744	0.4	S
21	β -Bisaboleno	1515	1509	-	-	0.1	S
22	Metileugenol	1403	1401	2014	-	0.1	F
23	Miristicina	1530	1520	2273	-	1.3	F
24	<i>trans</i> -Nerolidol	1565	1564	2042	2054	1	SO ^f
25	Espatulenol	1592	1576	2135	2129	0.1	SO
26	Óxido de cariofileno	1598	1592	1998	2000	0.3	SO
27	Globulol	1601	1604	2088	2104	0.8	SO
28	<i>cis</i> -Cinamato de etilo	1376	1376	2138	-	0.1	F
29	α -Óxido de bisabolol	1668	1684	-	-	0.1	SO
30	β -Eudesmol	1654	1649	2245	2248	0.3	SO
31	α -Eudesmol	1673	1652	2235	2237	0.2	SO
32	<i>epi</i> - α -Bisabolol	1703	1683	-	-	26.5	SO

^aM: Monoterpeno

^bMO: Monoterpeno oxigenado

^cHO: Hidrocarburo oxigenado

^dF: Fenilpropanoide

^eS: Sesquiterpeno

^fSO: Sesquiterpeno oxigenado

Lit.: Índices de retención lineales reportados en la literatura [82,84-86]

^gLit.: Índice de retención lineal reportado en tesis [92]

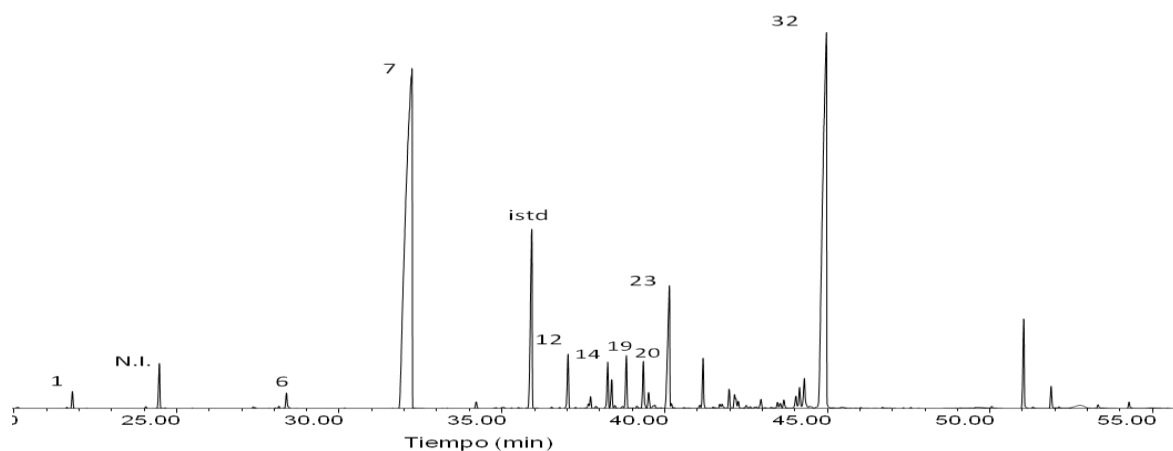


Figura 33. Perfil cromatográfico del AE de *Peperomia subspathulata* Yunck. Columna DB-5MS (60 m). *Split* 1:30. MSD (EI, 70 eV).

Para la identificación del safrol, como compuesto mayoritario en el AE de *P. subspathulata*, se encontró que los espectros de masas de los isómeros safrol e isosafrol, son muy similares (Veáse **Figura 34**). Por ello, se compararon los LRI obtenidos experimentalmente por columnas ortogonales (polar Vs apolar). En general, los valores de índices de retención de las sustancias medidos en columnas apolares (HP-1, DB-1, Ultra-1 y HP-5, DB-5, Ultra-2, etc.) son más reproducibles (\pm 1-10 unidades), que los determinados en columnas polares (Carbowax 20M, Innowax, DB-WAX, etc.) [83]; por tanto, se determinó tentativamente que el pico cromatográfico (LRI_{DB-5}=1305) corresponde al safrol (Véase **Tabla 7**), aun sin que se hubiera podido comparar su LRI experimental en la columna polar, debido a que su valor no se encuentra registrado en las bases de datos consultadas [84-86].

En la **Figura 35**, se presenta la ruta de fragmentación del safrol (C₁₀H₁₀O₂). El ion molecular (m/z 162), en el espectro de masas (EI, 70 eV) de este compuesto, es un ion pico de base, lo cual demuestra una estabilidad, típica de compuestos aromáticos. La fragmentación del safrol es característica para los éteres aromáticos, la presencia del radical alilo se manifiesta a través del fragmento

$C_3H_5^+$ en m/z 41 (2 %); y la de los átomos de oxígeno, a través de los iones $(M-C_2H_3-CH_2O)^+$ en m/z 105 (8%) y $(M-C_2H_3-CH_2O-CO)^+$ en m/z 77 (19 %), así como m/z 131 (39 %), que corresponde al fragmento $(M-CH_3O)^+$ [96].

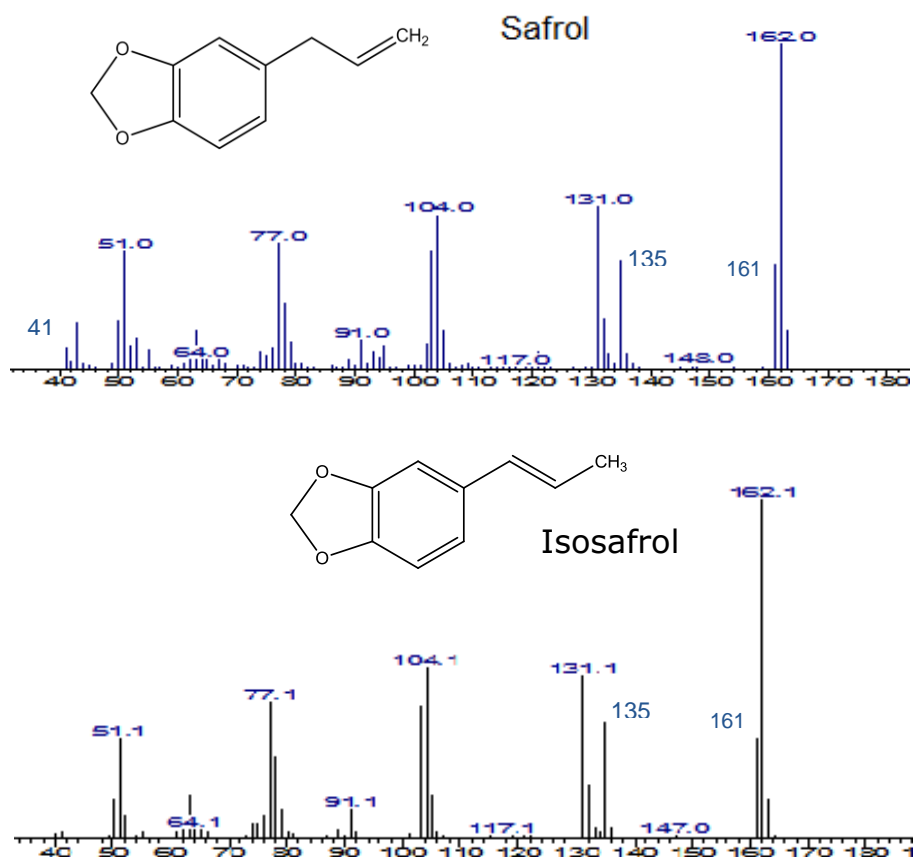


Figura 34. Espectros de masas del safrol e isosafrol (MS, EI, 70 eV) [84].

El safrol es un éter fenólico, se encuentra como componente mayoritario en muchos AE y es el principal componente de los AE de sazafrán de América y del anís estrellado. Se utiliza como saborizante de ciertas bebidas, chicles, productos farmacéuticos, etc., pero su uso principal es como materia prima para la preparación del isosafrol [93], por lo cual está actualmente restringido, debido a que se encuentra en la lista roja de precursores de sustancias sicotrópicas [94], ya que a partir de él, se puede sintetizar el Éxtasis (MDMA). Por esta razón, la comercialización de este AE puede estar restringida. Con respecto al *epi-α-*

bisabolol, Cavalieri *et al.* [95] reportaron estudios en donde se destaca el sorprendente efecto y potencial citotóxico de esta sustancia, sobre células malignas en gliomas humanos y de ratas, inducción de la apoptosis de dichas células en menos de 24 h con una dosis de concentración 10 μM . Por eso, el AE de *P. subspatulata* podría tener uso en farmacología.

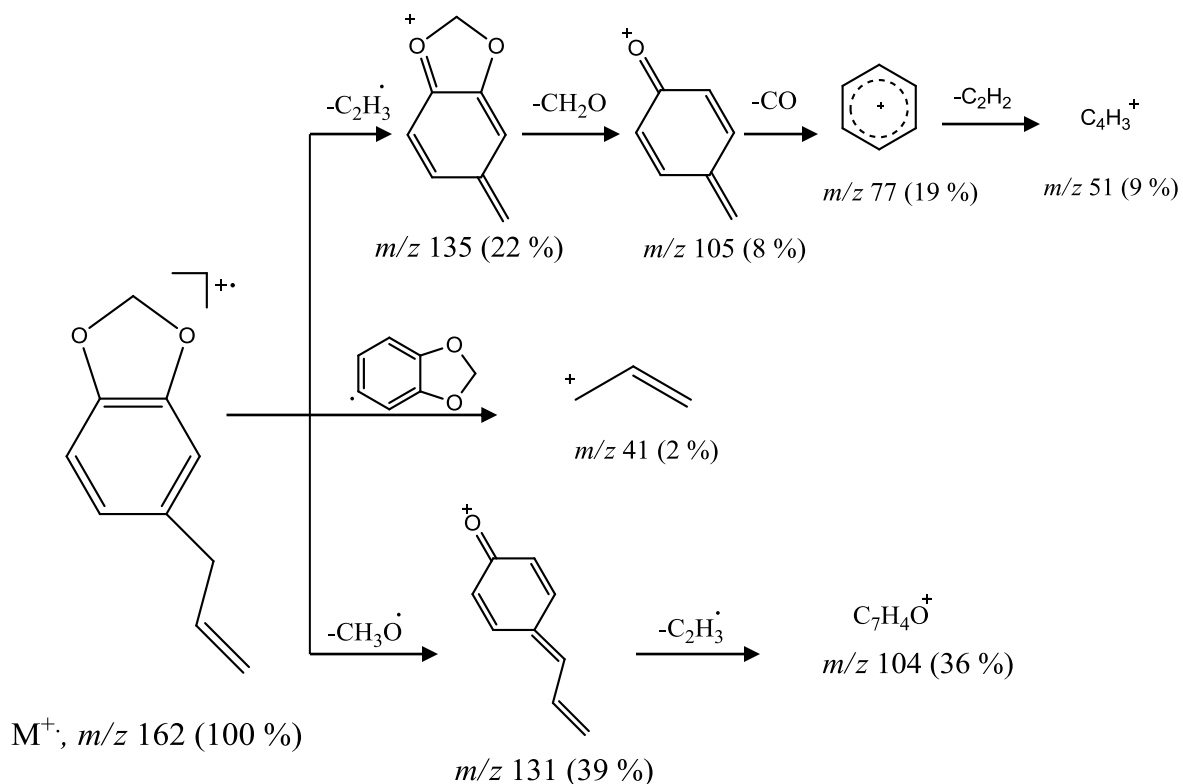


Figura 35. Rutas de fragmentación del safról (MS, EI, 70 eV).

4.3.5 *Salvia rubriflora* Epling

En el AE de *Salvia rubriflora* Epling, en total, se identificaron 20 compuestos (>0.1%), que corresponden al 31.6% del área cromatográfica total. La mayoría de ellos, son sesquiterpenos. Los compuestos mayoritarios identificados fueron el germacreno D (6.3%) y el *trans*- β -cariofileno (19.9%). Con respecto a los otros tres compuestos mayoritarios que conforman el 46.3% del aceite, éstos no se lograron identificar; estas sustancias tienen tiempos de retención mayores de 48.0

min (Veáse **Figura 39**), sus espectros de masas se muestran en las **Figura 36 – 38**. Se denominaron como compuestos 1, 2 y 3, de acuerdo con el respectivo orden de elución en columna polar.

Los espectros de masas de los compuestos son muy similares; solamente difieren en la intensidad de algunos iones en m/z 187, 215 y 172. De acuerdo con lo anterior, se puede suponer que los compuestos 1, 2 y 3 son isómeros. Son posiblemente sustancias aromáticas de tipo fenilpropanoide, con ion molecular m/z 230, que por su intensidad (50, 85 y 70% respectivamente) revela la gran estabilidad estructural. Los iones característicos son m/z 91 y 65 provenientes de la formación y fragmentación del ion tropilio, y m/z 77 y 51 procedentes de la formación y fragmentación del ion bencilo, por lo cual se supone la presencia de un anillo aromático en las estructuras [96]. Con respecto a las otras señales de los espectros, se supone que son fragmentos formados así: M-CH₃ en m/z 215, M-CH₃-H₂O en m/z 197, M-CH₃CO o M-CH₃-CO en m/z 187, M-CH₃CO-CH₃ o M-CH₃-CH₃CO en m/z 172 y M-CH₃CO-CO o M-CH₃-CO-CO en m/z 159 [96].

Los espectros de masas de los **compuestos 1 y 3** son similares, el ion pico de base es m/z 172 y sólo se diferencian en el notable aumento de la intensidad del ion m/z 187 (M-CH₃CO o M-CH₃-CO) del espectro del **compuesto 3**, por lo cual se puede suponer que los **compuestos 1 y 3** son estereoisómeros. Para el **compuesto 2** el ion pico de base es 215 (M-CH₃), este fragmento puede ser el ion “padre” del ion m/z 172 (M-CH₃-CH₃CO), cuya intensidad pasa de ser 100% en los espectros de los **compuestos 1 y 3**, a ser de 10%. Esto posiblemente se deba a que, el fragmento m/z 215 es lo suficientemente estable durante el tiempo que está dentro de la cámara de ionización, que genera poca abundancia del fragmento m/z 172. Teniendo en cuenta lo anterior se presume que el **compuesto 2** es un isómero estructural de los **compuestos 1 y 3**. Son compuestos con presiones de vapor similares que no pueden ser separados en columna apolar (DB-5MS) (**Véase Figura 40**).

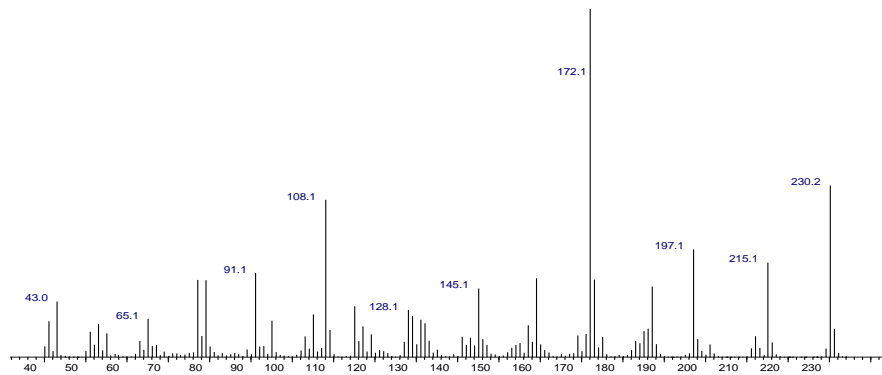


Figura 36. Espectro de masas del **compuesto 1** con tiempo de retención de 48.69 min (EI, 70 eV).

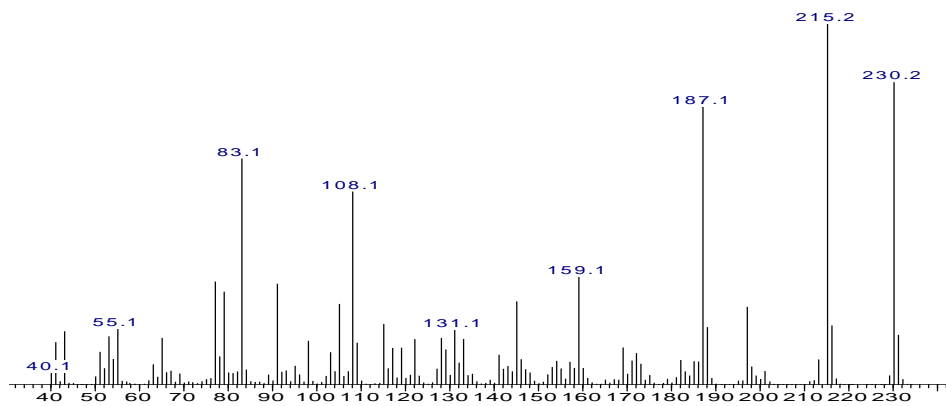


Figura 37. Espectro de masas del **compuesto 2** con tiempo de retención 49.00 min (EI, 70 eV).

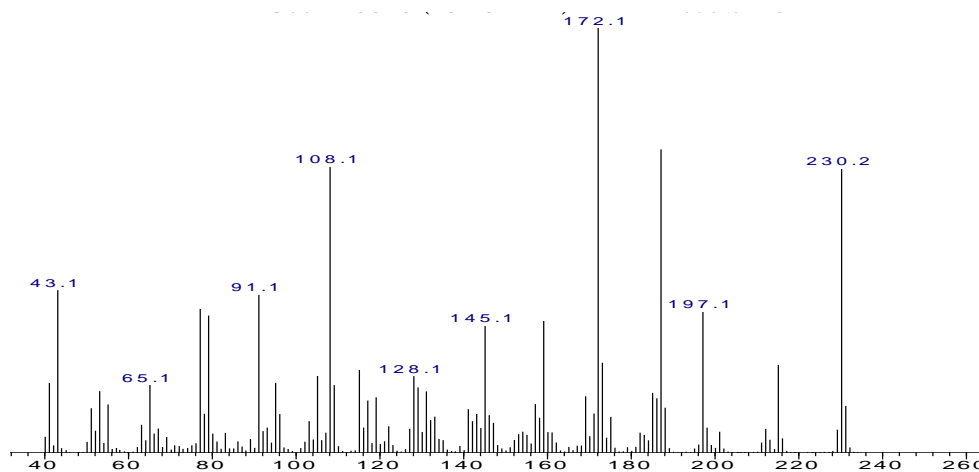


Figura 38. Espectro de masas del **compuesto 3** con tiempo de retención 49.18 min (EI, 70 eV).

En la **Tabla 8**, se registran los compuestos identificados. Es de resaltar, que esta es la primera caracterización química reportada del AE de esta planta, que además, es una especie catalogada como especie amenazada, según el Libro Rojo de Plantas de Colombia [61], actualizado en febrero de 2007.

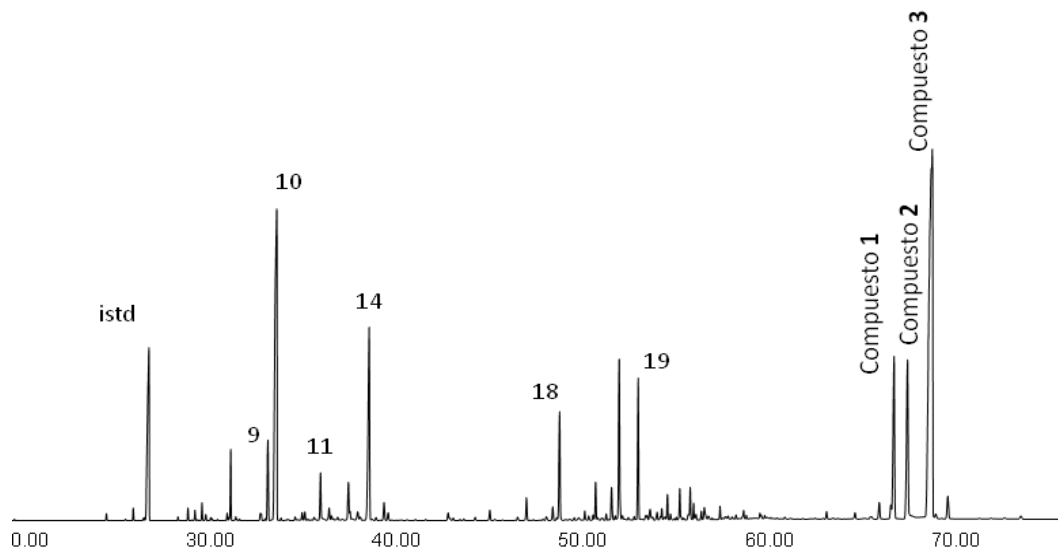


Figura 39. Perfil cromatográfico del AE de *Salvia rubriflora* Epling. Columna DB-WAX (60 m). *Split* 1:30. MSD (EI, 70 eV).

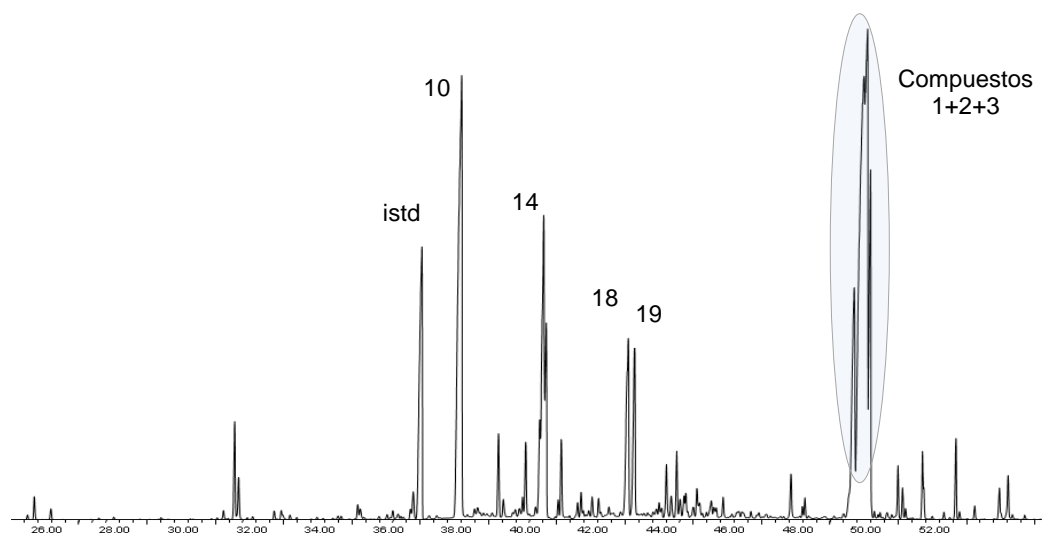


Figura 40. Perfil cromatográfico del AE de *Salvia rubriflora* Epling, Columna DB-5 MS (60 m) *Split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). En la parte final, se señala la fracción ($t_R=60.0$ min) en que los compuestos 1, 2 y 3 co-eluyen.

Tabla 8. Composición química del AE aislado por MWHD, de *Salvia rubriflora* Epling.

N° pico Fig. 39	Compuesto	LRI				Cantidad relativa, %	Tipo
		Columna DB-5MS		Columna DB-WAX			
		Experimental	Lit. ^[82]	Experimental	Lit. ^[84-86]		
1	β -Pinoeno	982	980	1120	1124	0.1	HO ^a
2	1-Octen-3-ol	996	978	1465	1938	0.1	M ^b
3	Linalol	1100	1098	1484	1551	0.1	HO
4	Benzoato de metilo	1165	1099	-	-	0.2	F ^c
5	Hexanoato de fenilo	1291	1292	-	-	0.1	F
6	δ -Elemeno	1323	1339	1469	1452	0.1	S ^d
7	α -Cubebeno	1330	1351	1481	1463	0.1	S
8	α -Copaeno	1346	1376	1493	1551	0.1	S
9	β -Elemeno	1352	1375	1608	1595	0.5	S
10	<i>trans</i> - β -Cariofileno	1372	1417	1618	1617	19.9	S
11	α -Humuleno	1471	1454	1686	1672	0.1	S
12	Alloaromadendreno	1458	1461	1660	1662	0.1	S
13	<i>trans-trans</i> - α -Farneseno ^t	-	-	1668	-	0.1	S
14	Germacreno D	1398	1484	1712	1712	6.3	S
15	Biclogermacreno	1512	1500	1738	1744	1.0	S
16	Hedycario ^t	1556	1546	-	-	0.2	SO ^e
17	<i>trans</i> -Nerolidol	1560	1564	2054	2054	0.2	SO
18	Óxido de cariofileno	1602	1582	2001	2000	1.9	SO
19	Espatulenol	1595	1576	2153	2129	0.7	SO
20	α -Cadinol	1671	1653	2224	2211	0.3	SO
21	Compuesto 1	2544	-	1864	-	9.3	-
22	Compuesto 2	2563	-	1877	-	16.0	-
23	Compuesto 3	2597	-	1882	-	21.0	-

^aHO: Hidrocarburo oxigenado

^bM: Monoterpeno

^cF: Fenilpropanoide

^eSO: Sesquiterpeno oxigenado

t: Identificado tentativamente

Lit.: Índices de retención lineales reportados en la literatura [82,84-86]

4.3.6 *Mentha x piperita*

M. x piperita L. es un híbrido estéril, que resulta del cruce de *M. spicata* y *M. aquatica*. La identificación de la composición química del AE, se muestra en la **Tabla 9**. Como se observa, los componentes mayoritarios fueron el linalol (23.9%), acetato de linalilo (48.3%) y *cis*- β -ocimeno (5.8%). En el perfil cromatográfico (Veáse **Figura 42**) se señalan los componentes mayoritarios.

La composición de este AE es atípica; según la literatura [97,98], los componentes mayoritarios que se han encontrado son mentol, mentona y acetato de mentilo; en menor cantidad, se hallaron la isomentona, isopulegona, neomentol y 1,8-cineol, entre otros.

Una explicación, que se sugiere, sobre la diferencia entre la composición química encontrada y la reportada en la literatura [97,98], es la posible variación de la ruta biosintética de monoterpenos, la cual involucra unidades de isopreno bioquímicamente activos, como son el difosfato de dimetilalilo (DMAPP) y el difosfato de isopentilo (IPP). Para la formación del linalol basta con la defosforilación del difosfato de linalilo (Véase **Figura 41**) [99].

Para que sea posible la síntesis de mentol, mentona y demás esteroisómeros (neomentol, isomentol, piperitona, pulegona, etc.); es necesario que haya un proceso de ciclación del difosfato de linalilo, a partir del cual se forma el catión mentilo, que, al ser reducido, produce el limoneno. Este último se hidroliza y luego se oxida, para formar la isopiperitenona que es el precursor directo de compuestos como el metol, mentona, entre otros (Véase **Figura 41**).

Tabla 9. Composición química del AE aislado por MWHD, de *Mentha x piperita* L.

N° pico Fig. 42	Compuesto	LRI				Cantidad relativa, %	Tipo
		Columna DB-5MS		Columna DB-WAX			
		Experimental	Lit. ^[82]	Experimental	Lit. ^[84-86]		
1	β -Pinenol	982	980	1111	1124	< 0.1	M ^a
2	Mirceno	990	991	1164	1168	0.3	M
3	3-Octanol	996	993	-	-	1.1	HO ^b
4	<i>p</i> -Cimeno	1028	1022	1274	1277	< 0.1	F ^c
5	Limoneno	1033	1031	1202	1212	0.2	M
6	1,8-Cineol	1036	1033	1215	1214	0.6	MO ^d
7	<i>cis</i> - β -Ocimeno	1037	1040	1236	1225	5.9	M
8	<i>trans</i> - β -Ocimeno	1047	1050	1253	1243	0.1	M
9	<i>allo</i> -Ocimeno	1128	1142	1375	1392	< 0.1	M
10	Óxido de linalol	1089	1074	1423	1422	< 0.1	MO
11	Linalol	1104	1098	1550	1551	24.0	MO
12	β -Elemeno	1395	1375	1601	1595	1.7	M
13	Epóxido de rosefurano	1171	1173	1608	-	0.6	MO
14	<i>trans</i> -Pinocanfeno	1185	1160	-	-	0.6	MO
15	Terpinen-4-ol	1187	1177	-	1616	0.8	MO
16	α -Terpineol	1202	1189	1704	1711	3.1	MO
17	Nerol	1228	1227	1753	1770	0.5	MO
18	Acetato de linalilo	1255	1238	1565	1538	48.3	MO
19	Safrol	1297	1285	1881	-	< 0.1	MO
20	Acetato de nerilo	1358	1359	1728	1699	0.8	HO
21	<i>trans</i> - β -Cariofileno	1434	1417	1614	1617	1.4	S ^e
22	Humuleno	1458	1440	1684	1672	0.1	S
23	Germacreno D	1494	1484	1722	1712	< 0.1	S
24	4- <i>epi-cis</i> - Dihidroagarofurano ^t	1499	-	1795	1737	0.2	SO ^f
25	<i>cis</i> -Dihidrofurano ^t	1542	-	-	-	0.2	HO
26	Elemol	1559	1548	2087	1078	0.2	SO
27	Óxido de cariofileno	1599	1582	-	-	1.9	SO
28	Viridiflorol	1612	1592	2097	2103	2.3	SO
29	10- <i>epi</i> - γ -Eudesmol	1640	1622	-	-	0.4	SO
30	γ -Eudesmol	1647	1630	2180	2182	< 0.1	SO
31	Eremoligenol	1661	1629	2190	-	0.6	SO
32	β -Eudesmol	1654	1649	2245	2248	< 0.1	SO
33	α -Eudesmol	1673	1652	2235	2237	0.1	SO

^aM: Monoterpeno

^eS: Sesquiterpeno

^bHO: Hidrocarburo oxigenado

^fSO: Sesquiterpeno oxigenado

^cMO: Monoterpeno oxigenado

t: Identificado tentativamente

Lit.: Índices de retención lineales reportados en la literatura [82,84-86]

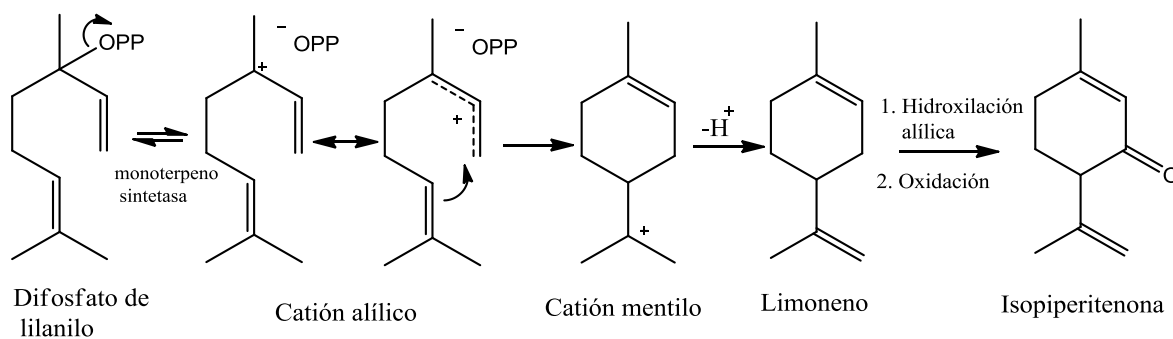


Figura 41. Reacción general de formación de la isopiperitenona.

Esta composición es apenas comparable con la de algunas especies del mismo género, como *M. aquatica* var. *Citrata*, de la cual, *M. x piperita* L. proviene genéticamente [100,101], y algunas Salvias como *S. aungustifolia* Mill., *S. sclarea* y *S. lavandulaefolia* [79,102], que se comercializan por su uso en perfumería y aromaterapia.

El hecho de no encontrar la literatura relacionada con la composición encontrada en este AE, está de acuerdo con lo reportado por Lawrence, quien afirma que *M. x piperita* L. no ha sido incluida en las listas más recientes de especies híbridas, por ahora, su AE aún es objeto de estudio [79].

La presencia de linalol (23.9 %) y acetato de linalilo (48.3 %) hacen que este AE tenga potencial para ser utilizado en farmacología, ya que según Paena *et al.* [103], el contenido de linalol y acetato de linalilo está implicado en el potencial anti-inflamatorio del AE. Asimismo, se ha comprobado que el contenido de linalol está involucrado en el efecto sedativo y anticonvulsante, según investigaciones realizadas con ratones [104]. Otros estudios reportan el efecto relajante en humanos [105] y el efecto en la disminución de la percepción del dolor, tras inhalar AE de lavanda [106].

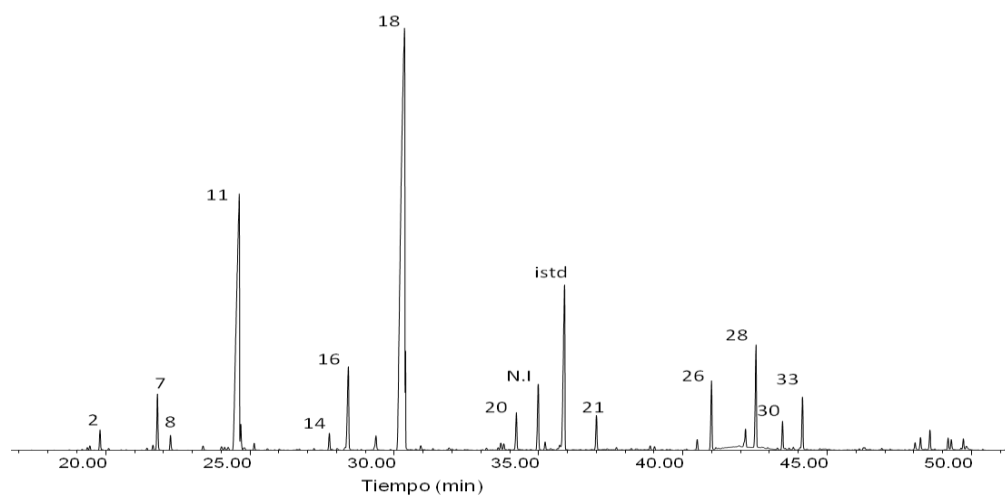


Figura 42. Perfil cromatográfico del AE de *Mentha x piperita* L. Columna DB-5MS (60 m). *Split* 1:30. MSD (EI, 70 eV).

4.4 EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La capacidad antioxidante fue determinada por el método ORAC (Véase **Tabla 10**). Se evaluaron los AE obtenidos por MWHD de las especies *M. x piperita* L., *M. pubescens*, *C. ambrosioides* L., *P. subspathulata*, *T. parthenifolium* y *S. rubriflora*; que fueron recolectadas en los municipios de Sucre y Bolívar, Santander.

Así mismo, se midió la capacidad antioxidante de las sustancias de referencia, butilhidroxitolueno (BHT) (99%) y α -tocoferol (vitamina E) (97%), adquiridas a *Sigma Aldrich* (St. Louis, EE.UU). Estas sustancias se utilizan actualmente en la industria de cosméticos. Se realizó también la medición de capacidad antioxidante de los siguientes patrones de referencia adquiridos también a *Sigma Aldrich* (St. Louis, EE.UU): *trans*- β -cariofileno (98.5%), linalol (97%), canfeno (95%) y terpinoleno (95%). Estos compuestos son los componentes mayoritarios de algunos AE evaluados; y la medición de su capacidad antioxidante se hizo para saber si la capacidad antioxidante del AE se le atribuye al compuesto mayoritario.

En el método ORAC, la capacidad que tiene una molécula para actuar como antioxidante, se debe a la presencia de grupos funcionales que facilitan la transferencia de un átomo de hidrógeno a la especie oxidante, lo que constituye uno de los mecanismos a través de los cuales el radical queda estabilizado electrónicamente. Los compuestos fenólicos (como el BHT) se consideran buenos antioxidantes, porque cuando donan el hidrógeno del grupo hidroxilo a la sustancia oxidante (altamente reactiva), la estabilizan; además, tras la migración del hidrógeno, el compuesto fenólico queda con una carga positiva que puede ser estabilizada por la nube electrónica π del anillo aromático.

Sin embargo, las estructuras de algunos de los compuestos mayoritarios evaluados: *trans*- β -cariofileno, linalol, canfeno y terpinoleno, no son compuestos

con anillos aromáticos (Véase **Figura 43**), por lo que se sugiere que el mecanismo de acción antioxidante, se debe a la transferencia de un átomo de hidrógeno, de la posición más próxima al doble enlace, a la especie oxidante, ya que la estabilización de la carga se debe a las estructuras resonantes que se pueden formar con el doble enlace entre los carbonos α y β .

Tabla 10. Valores de la capacidad antioxidante de los AE de las especies vegetales bajo estudio y de los patrones de referencia.

Especie	($\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}$/g AE) ($\pm\text{s}$, n=3)
<i>Salvia rubriflora</i> Epling	460 \pm 10
<i>Mentha x piperita</i> L.	430 \pm 6
<i>Peperomia subspathulata</i>	200 \pm 8
<i>Morella pubescens</i>	350 \pm 15
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	140 \pm 4
<i>Tanacetum parthenifolium</i>	130 \pm 3
Sustancias de referencia	($\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}$/g sustancia) ($\pm\text{s}$, n=3)
BHT	500 \pm 9
Vitamina E	480 \pm 8
Linalol	520 \pm 35
<i>trans</i> - β -Cariofileno	330 \pm 7
α -Terpinoleno	170 \pm 1
Canfeno	46 \pm 6

Para el caso del *trans*- β -cariofileno, el hidrógeno que se transfiere sería el ubicado en el carbono 5 o 6 de la estructura. El linalol, además del hidrógeno que está en el carbono 4, podría transferir el hidrógeno lábil del grupo hidroxilo. Estas sustancias demostraron actividad mayor, comparada con los otros patrones de compuestos mayoritarios, canfeno y α -terpinoleno (Véase **Tabla 10**).

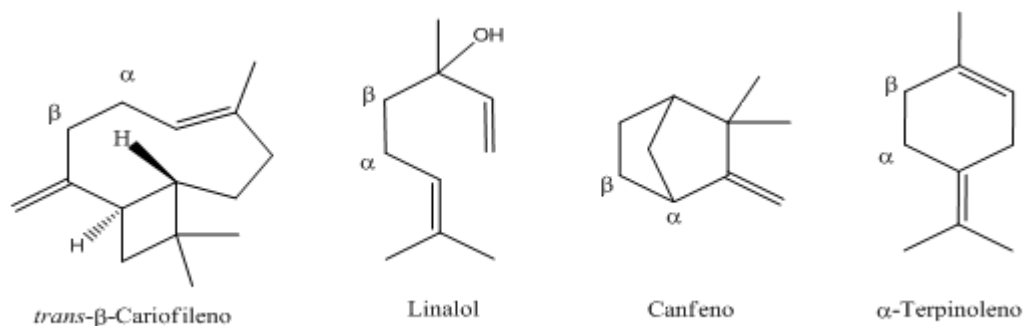


Figura 43. Estructuras de los compuestos mayoritarios, cuya capacidad antioxidante se midió por el método ORAC.

En la **Tabla 10**, se registran los valores ORAC medidos para los AE de seis especies vegetales y sus correspondientes compuestos mayoritarios. Como se observa, el valor ORAC de los AE de *S. rubriflora* es el más cercano al de los patrones BHT y vitamina E. La razón puede ser que en este AE hay una fracción de compuestos mayoritarios no identificados, de tipo fenilpropanoide (46.3% del área total de los componentes separados), en cuya estructura es posible encontrar hidrógenos lábiles, e.g. hidroxilos, que puedan ser transferidos al radical libre.

El valor ORAC obtenido para el AE de *M. x piperita* L. es menor comparado con el obtenido para el patrón de su compuesto mayoritario, linalol (24%) y con las sustancias de referencia BHT y vitamina E. Por esto, se le puede atribuir la actividad antioxidante del AE a la presencia del linalol, un alcohol terciario.

Para el caso de *M. pubescens*, cuyo componente mayoritario es *trans*-β-cariofileno (47%), se presume que prima más sobre la capacidad antioxidante el efecto sinérgico de los componentes del AE, que el efecto del compuesto mayoritario, pues el valor ORAC medido es mayor que el del *trans*-β-cariofileno.

Para los demás AE de las especies estudiadas a saber; *P. subspathulata*, *C. ambrosioides*, *T. parthenifolium*, los valores ORAC medidos son bajos comparados con los del BHT y vitamina E, debido probablemente a la ausencia de hidrógenos lábiles en sus compuestos mayoritarios, ascaridol (44.2%) y alcanfor (56.8%), respectivamente. También, puede deberse al efecto inhibitorio de los demás componentes, el cual hace que, el AE de *P. subspathulata*, no registre una buena actividad antioxidante, a pesar de tener como compuesto mayoritario el safrol (49.4%), en cuya estructura sí hay hidrógenos lábiles.

5. CONCLUSIONES

1. Se recolectaron y se identificaron botánicamente 26 especies silvestres, nativas, introducidas y cultivadas en los municipios de Sucre y Bolívar, en el departamento de Santander, Colombia. Estas especies pertenecen a las familias Adoxaceae, Apiaceae, Asteraceae, Chenopodiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Piperaceae, Solanaceae y Verbenaceae.
2. Se encontró una composición química novedosa, no reportada aún, del aceite esencial de *Mentha x piperita* L., en la cual los componentes mayoritarios son acetato de linalilo y linalol. Esta composición se diferencia de los reportes encontrados en la literatura, según los cuales, los compuestos mayoritarios de esta especie son mentol, mentona e isomentona. La composición encontrada corresponde a un nuevo quimiotipo de la especie.
3. Se realizó el primer estudio relacionado con la composición química de los aceites esenciales de las especies *Peperomia subspathulata* Yunck, *Tanacetum parthenifolium* (Willd.) Sch. Bip. y *Salvia rubriflora* Epling. Se determinó que en los aceites esenciales de *P. subspathulata* y *S. rubriflora* los compuestos mayoritarios fueron safrol (49.4%), *epi-α*-bisabolol (26.5%), y *trans-β*-cariofileno (19.9 %), y germacreno D (6.3%), respectivamente. Los componentes mayoritarios encontrados para cada uno de los aceites esenciales se reportan en la **Tabla 11**.
4. *Mentha x piperita* L. y *Salvia rubriflora* Epling son especies promisorias para Sucre y Bolívar, Santander; presentaron rendimientos de extracción relativamente altos, 0.61 y 0.46%, respectivamente, comparados con las demás especies estudiadas. Son plantas endémicas de la región, por lo tanto, no tienen problemas de su adaptación en la zona y sus aceites esenciales presentaron mayor capacidad antioxidante, medida por el método ORAC (430

y 460 μmol Trolox®/g AE, respectivamente), lo cual es un buen índice para ser utilizados como ingredientes naturales en la industria de cosméticos.

Tabla 11. Distribución de los componentes de los AE, de las seis plantas bajo estudio, por familias de sustancias: monoterpenos (M), monoterpenoides (MO), sesquiterpenos (S), sesquiterpenoides (SO) y fenilpropanoides (F).

Familia	Género	Especie	Rendimiento de AE, %	Compuestos mayoritarios	Familia de compuestos, %				
					M	MO	S	SO	F
Chenipodiaceae	<i>Chenopodium</i>	<i>ambrosioides L.</i>	0.62	Δ^3 -Careno	38.1	61.9			
				Limoneno					
				<i>trans-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol					
				Ascaridol					
Myricaceae	<i>Morella</i>	<i>pubescens</i> (Humb.& Bompl. Ex Willd.) Wilbur	0.45	<i>trans</i> - β -Cariofileno	4.3	13.0	43.5	30.4	
				α -Selineno					
				β -Selineno					
				Óxido de cariofileno					
Laminaceae	<i>Mentha</i>	<i>piperita L.</i>	0.62	Linalol	24.2	30.3	9.1	27.3	
				Acetato de linalol					
				<i>cis</i> - β -Ocimeno					
Piperaceae	<i>Peperomia</i>	<i>subspathulata</i> Yunck.	0.24	Safrol	6.1	15.2	39.4	24.2	15.1
				<i>epi</i> - α -Bisabolol					
Asteraceae	<i>Tanacetum</i>	<i>parthenifolium</i> (Willd.) Sch. Bip.	0.26	Canfeno	27.5	45.0	7.5	10.0	5.0
				Alcanfor					
Laminaceae	<i>Salvia</i>	<i>rubriflora</i> Epling	0.46	Germacreno D	4.8		52.4	23.8	9.5
				<i>trans</i> - β -Cariofileno					

6. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de actividad biológica y farmacológica con las especies de las cuales no se reportan estudios hasta el momento: *Peperomia Subspathulata* Yunck, *Tanacetum parthenifolium* (Willd.) Sch. Bip. y *Salvia rubriflora* Epling.
- Aislar por columna cromatográfica abierta los componentes no identificados del AE de *Salvia rubriflora* Epling y caracterizarlos por espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear (RMN).
- Para medir la capacidad antioxidante, en el presente estudio solo se empleó el método ORAC, cuyo mecanismo se basa en la transferencia de hidrógeno al radical libre, para determinar la capacidad antioxidante total; se recomienda realizar ensayos, e.g., TEAC, en los que el mecanismo se basa en la transferencia de un electrón, o ensayos *in vitro*, por ejemplo, el estudio del avance de la peroxidación lipídica.

BIBLIOGRAFÍA

[1] Instituto de Investigación de Recursos Biológicos “Alexander von Humboldt, Estudio del mercado nacional de aceites esenciales, Bogotá, Colombia, 2008, p.p. 38-45.

[2] DUARTE, O.; VELHO, L.; ROA-ATKINSON, A. La bioprospección como mecanismo de cooperación para la construcción de capacidades endógenas en ciencia y tecnología, y análisis de las capacidades de Colombia para adelantar procesos de bioprospección, Departamento de Ciencia y Tecnología (COLCIENCIAS), Bogotá, Colombia, 2009, p.p. 2,3.

[3] ROBBIE, H.; JAN – WILLEM, K. Fortalecimiento de la capacidad comercial hacia los países EFTA: Inteligencia de mercados para Colombia - Ingredientes naturales, OSEC, Holanda, 2010, Disponible en: [http://<www.colombiatrader.com.co/ >](http://www.colombiatrader.com.co/). Fecha de consulta: 12 de marzo de 2012.

[4] Ministerio de tecnologías de la información y las comunicaciones, Gobierno en línea, Sucre-Santander, Disponible en: [http://<sucre-santander.gov.co>](http://sucre-santander.gov.co). Fecha de consulta: 12 de marzo de 2012.

[5] BANDONI, A.; (Ed.). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, La Plata, Universidad de la Plata, 2000, p.p. 29,30.

[6] MARSILI, R. (Ed.). Flavor, fragrance and odor analysis. 1ª Ed. Marcel Dekker Inc., New York, 2002, p. 249.

- [7] STASHENKO, E. E. ; MARTÍNEZ, J. R. (Editores) Plantas aromáticas y aceites esenciales: estudio y aplicaciones, División de publicaciones, Universidad Industrial de Santander, 2012, Bucaramanga, Colombia, p.p 20-30.
- [8] JIROVETS, L.; BUCHBAUER, G. Processing, analysis and application of essential oils, Ed. Krishan Bhalla & Sons, Dehradun, 2005, p.p. 21-23.
- [9] ÁVALOS, A.; PÉREZ-URRIA, E. Metabolismo secundario de plantas, REDUCA (Biología), Fisiología Vegetal, 2009, Madrid, 2(3), p.p. 119-145.
- [10] TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiología vegetal, Vol. 1, Publicaciones de la Universidad Jaume I, 2006, Castello de la Plana, España, p.p. 533-538.
- [11] LUQUE DE CASTRO, M. D.; JIMÉNEZ –CARMONA, M. M.; FERNÁNDEZ-PÉREZ, V. Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants, TRAC, 1999, 18(11), p.p. 708-716.
- [12] MAEDA, S., MINOWA, Y; KOMURA, H.; KABUSHIKI, D. U.S. Patent. 4.307.277, 1981.
- [13] PARÉ, J.R.J.; SIGAMIN, M.; LAPOINTE, J. U.S. Patent. 5.002.784., 1991.
- [14] KAUFMANN, B.; CHRISTIAN, P. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurized solvent extraction, *Phytochem. Anal.* 2002, 13, p.105.
- [15] CHEN, S.S.; SPIRO, M. Study of microwave extraction of essential oil constituents from plant materials, *J. Microw. Power Electromagn. Energy*, 1994, 29(4), p.p. 231-241.

- [16] STASHENKO E.; JARAMILLO B.; MARTÍNEZ J., Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity, *J. Chromatogr. A.*, 2004, 1025, p.p. 93-103.
- [17] GOLMAKANI, M.; REZAEI, K., Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L., *J. Food Chem.*, 2008, 109(1), p.p. 925-930.
- [18] FERHAT, M.; MEKLATI, B.; SMADJA, J.; CHEMAT, F. An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel, *J. Chromatogr. A.*, 2006, 1112(1-2), p.p.121-126.
- [19] GROSS, J. *Mass Spectrometry*, Springer, Heidelberg, 2004, p. 15.
- [20] STASHENKO, E.; MARTÍNEZ, J. GC Y GC-MS: configuración del equipo versus aplicaciones. *Sci. Chromatogr.*, 2010, 2(3), p.p. 23-46.
- [21] MARVIN C. McMASTER, *GC/MS A practical user's guide*, 2^{da} Ed, Wiley-Interscience, New Jersey, EE.UU., 2007, p.p. 95-109.
- [22] A. ORAV, Identification of terpenes by gas chromatography-mass spectrometry, *Handbook of essential oils*, Cap. 20, Marcel Dekker, Inc. Boca Raton, EE.UU., 2001, p.p.472-484.
- [23] COLIN POOLE, *Gas chromatography*, 1^{ra} Ed. Elsevier, Detroit, EE.UU., 2012, p.p. 307-310.

- [24] McNAIR, H.; MILLER, J. Basic Gas Chromatography, Wiley, 2^a Ed. 2009, New Jersey, p.125.
- [25] KRINSKY, N. Mechanism of action of biological antioxidants, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1992, 200(1), p.p. 248-254.
- [26] BOOTS, A. W.; HAENEN, G. R. M. M.; BASTA, A. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *Eur. J. Pharmacol.*, 2008, 505, p.p. 325-337.
- [27] HALLIWELL B.; GUTTERIDGE J.M.C. Oxidative stress: Adaptation damage, repair and death in, Halliwell B, Gutteridge JMC (EDS.), *Free Radical Biology & Medicine*. New York, Oxford University Press, 1999, p. 246.
- [28] HUANG, D.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53(6), p.p. 1841-1856.
- [29] AGGARWAL, B.; AHMAD, N.; MUKHTAR, H. Spices as potent antioxidants with therapeutic potencial, *Handbook of Antioxidants*, 2^a Ed. 2002, Taylor & Francis Group, Los Angeles, Cap. 22. p.p. 1-10.
- [30] FRANKEL, E. N. In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. *Trends Food Sci. Technol.*, 1993, 4, p.p. 220-225.
- [31] OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R.L. Development and validation of an improved Oxygen Radical Absorbance Capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49(10), p.p. 4619-4626.

- [32] PRIOR, R. L.; WU, W.; AND SCHAICH, K. Standarization methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53(10), p.p. 4290-4302.
- [33] BOVER, L.; ALMAJOS, M., Estudio y cuantificación de la actividad antioxidante de flores comestibles, Universidad Politécnica de Cataluña, España, 2009, p.p. 26-27.
- [34] PARRA, C. Revisión taxonómica de la familia *Myricaceae* en Colombia. *Caldasia*, 2003, 25(1), p.p. 23-64.
- [35] QUIJANO, C.; PINO, J. Constituyentes volátiles de las hojas de *Morella pubescens* (Humb. et Bompl. Ex Willd.) Wilbur, *Rev. Cub. Química*, 2007, 19(1), p.p. 54-57.
- [36] ARANGO, O.; HURTADO, A.; CASTILLO, P.; SANTACRUZ, M. Estudio de las condiciones de extracción por arrastre con vapor del aceite esencial de laurel de cera (*Morella pubescens*), *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 2009, 7(2), p.p.40-48.
- [37] CASTILLO, R.; SANTACRUZ, P. Extracción, caracterización y purificación de aceites esenciales de las hojas de laurel de cera (*Morella pubescens*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) como alternativa de desarrollo agroindustrial para el departamento de Nariño. Trabajo de grado Ingeniería Agroindustrial. Facultad de Ingeniería Agroindustrial. Universidad de Nariño. Pasto, 2009, p. 181.
- [38] GÓMEZ, J. Epazote (*Chenopodium ambrosioides*). Revisión a sus características morfológicas, actividad farmacológica, y biogénesis de su principal principio activo, ascaridol. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas*

Medicinales y Aromáticas, Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica, BLACPMA, 2008, 7(1), p.p. 3-9.

[39] Tropicos.org, Database, Missouri Botanical Garden, *Chenopodium ambrosioides* L., Estados Unidos, disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/7200092>>>; Fecha de consulta: 8 de agosto de 2012.

[40] DUKE, J. Handbook of Medicinal Herbs, CRC Press, Inc., Boca Ratón, EE.UU., 1980, p.p. 797-808.

[41] DE PASCUAL, T.; TORRES, B.; PEREZ, M. Essential oil of *Chenopodium ambrosioides*. *Riv. Ital. Ess.*, 1980, 62(1), p.p. 123-125.

[42] KIUCHI, F.; UCHIYAMA, N.; HONDA, G.; TSUBOUCHI, A.; NAKAJIMA-SHIMADA, J.; AOKI, T. Monoterpene hydroperoxides with trypanocidal activity from *Chenopodium ambrosioides*, *J. Nat. Prod.*, 2002, 65(4), p.p. 509-512.

[43] POLLACK, Y.; SEGAL, R.; GOLENSER, J. The effect of ascaridole on the in vitro development of *Plasmodium falciparum*. *Parasitol. Res.*, 1990, 76(7), p.p. 570-572.

[44] PATRÍCIO, F.; COSTA, G.; PEREIRA, W.; ARAGÃO-FILHO, W.; SOUSA, S.; FRAZÃO J.; PEREIRA, P.; MACIEL, M.; SILVA, L.; AMARAL, F.; REBÊLO, R.; GUERRA, R.; RIBEIRO, M.; NASCIMENTO, F. Efficacy of the intralesional treatment with *Chenopodium ambrosioides* in the murine infection by *Leishmania amazonensis*. *J. Ethnopharmacol.*, 2008, 115(2), p.p. 313-319.

[45] MANZOTE, L.; MONTALVO, A.; SCULL, R.; MIRANDA, M.; ABREU, J. Activity, toxicity and analysis of resistance of essential oil from *Chenopodium*

ambrosioides after intraperitoneal, oral and intralesional administration in BALB/c mice infected with *Leishmania amazonensis*: A preliminary study. *Biomed. Pharmacother.*, 2007, 61(2-3), p.p. 148-153.

[46] MARANGON, C; NEWANDRAM, G; DEV, O; MOREIRA, M. Composition and antifungal activity of the essential oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L., *J. Chem. Ecol.* 2008, 34(1), p.p 213-218.

[47] BOURREL, C. R.; DARGENT, G.; VILREM; GASET, A. Chemical analysis and fungistatic properties of some essential oils in a liquid medium. Effect on hyphal morphogenesis, *Riv. Ita. EPPOS*, 1995, 6(1), p.p. 31-42.

[48] Tropicos.org, Database, Missouri Botanical Garden, *Tanacetum parthenifolium* (Willd.) Sch. Bip., Estados Unidos, disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/7200092>; Fecha de consulta: 18 de septiembre de 2012.

[49] WILLIAMS, C.; HARBORNE, J.; GEIGER, H.; HOULT, J. The flavonoids of *Tanacetum parthenium* and *T. vulgare* and their anti-inflammatory properties, *Phytochemistry*, 1999, 51(3), p.p. 417-423.

[50] GÖREN, N.; ARDA, N.; ÇALISKAN, Z. Chemical characterization and biological activities of the genus *Tanacetum* (Compositae), *Stud. Nat. Prod. Chem.* 2002, 27, p.p. 547- 658.

[51] JOHNSON, E.; LEWIS, J. Efficacy of feverfew as prophylactic treatment of migraine, *Brit. Med. J.*, 1985, 291(31), p.p. 569-573.

- [52] ZHANG S.; ONG CN.; SHEN HM. Involvement of proapoptotic Bcl-2 family members in parthenolide-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis. *Cancer Lett.* 2004, 211, p.p. 75-88.
- [53] TAYLER, V. The honest herbal: a sensible guide to the use of herbs and related remedies, 3^a Ed. Binghamton: Pharmaceutical Products Press, New York, EE.UU., 1993 , p.p.133-134.
- [54] MATHIEU, G.; SAMAIN, M-S.; REYNDERS, M.; GOETGHEBEUR, P. Taxonomy of the *Peperomia* species (Piperaceae) with pseudo-epiphyllous inflorescences, including four new species. *Bot. J. Linn. Soc.* 2008, 157, p.p. 177–199.
- [55] PINHEIRO, B.G.; SILVA, A.S.B.; SOUZA, G.E.P.; FIGUEIREDO, J.G.; CUNHAC, F.Q.; LAHLOUD, S.; DA SILVA, J.K.R.; MAIA, J.G.S.; SOUSA, P.J.C. Chemical composition, antinociceptive and anti-inflammatory effects in rodents of the essential oil of *Peperomia serpens* (Sw.) Loud. *J. Ethnopharmacol.* 2011, 138(2), p.p. 479-486.
- [56] ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; LOBATO, R.C.L.; TAVARES, A.C.C.; SOUZA, A.P.S.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; GUIMARÃES, E.F. *Peperomia circinnata* Link and *Peperomia rotundifolia* (L.) Kunth growing on different host-trees in Amazon: volatiles and relationship with bryophytes. *Biochem. Syst. Ecol.* 2005. 33(3), p.p. 269-274.
- [57] DA SILVA, M. H.; ZOGHBI, M. D. G.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. The essential oils of *Peperomia pellucida* Kunth and *P. circinnata* Link var. *circinnata*. *Flavour Fragr. J.* 1999, 14 (5), p.p. 312–314.

[58] BESSIERE, J.M.; C. MENUT, G.; LAMATY & H. JOSEPH. Variations in the volatile constituents of *Peperomia rotundifolia* Schlecht. & Cham. grown on different host-trees in Guadeloupe, *Flavour Fragr. J.* 1994, 9, p.p. 131-133.

[59] MOREIRA, D.L.; DE SOUZA, P.O.; KAPLAN, M.A.C. & GUIMARÃES, E.F. Essential oil analysis of four *Peperomia* species (Piperaceae), *Acta Hort.* (ISHS) 1999, 500, p.p. 65-70.

[60] CICCIO J. F. Chemical composition of the leaf oil of *Peperomia hernandiifolia* (Piperaceae) from Costa Rica, *Lankesteriana*, 2005, 5(1), 69-71.

[61] BETANCUR, J.; GARCÍA, N.; FERNÁNDEZ-ALONSO, J.; RIVERA-DÍAZ, O. Libro Rojo de Plantas de Colombia, Instituto Alexander von Humboldt – Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras- INVEMAR, Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – SINCHI, Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, Conservación Internacional Colombia, Fundación Inguedé y el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. 2007, Vol. 3. Bogotá, Colombia, p.p. 550-555.

[62] Trópicos.org, Database, Missouri Botanical Garden, *Mentha rubridiflora* Epling, en línea <<<http://www.tropicos.org/Reference/1032430>>>; Fecha de consulta: 4 de octubre de 2012.

[63] NAIR, B. Final report on the safely assessment of *Mentha piperita* (Peppermint) oil, *Mentha piperita* (Peppermint) leaf extract, *Mentha piperita* (Peppermint) leaf, and *Mentha piperita* (Peppermint) leaf water. *Int. J. Toxicol.* 2001, 20, p.p. 61-73.

- [64] AKDOGAN, M., Investigation of biochemical and histopathological effects of *Mentha piperita* L. and *Mentha spicata* L. on kidney tissue in rats, *Hum Exp Toxicol.*, 2003, 22(1), p.p. 213-219.
- [65] McKAY, D. L.; BLUMBERG, J.B. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.), *Phytother. Res.*, 2006, 20(8):619-633.
- [66] SCHUHMACHER, J.A.; REICHLING, P.J. SCHNITZLER, P. Virucidal effect of peppermint oil on the enveloped viruses herpes simplex virus type 1 and type 2 *in vitro*, *Phytomedicine*, 2003, 10(6-7): 504-410.
- [67] RODRIGUEZ-FRAGOSO, L.; REYES-ESPARZA, J.; BURCHIEL, S.; HERRERA-RUIZ, D.; TORRES, E. Risks and benefits of commonly used herbal medicines in México, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2008, 227(1), p.p. 125-135.
- [68] LAWRENCE, B. Essential oils 1995-2000, Vol. 6, Allured Pub Corp, 2003, p.p. 306-307.
- [69] CHIALVA, F.; ARIOZZI, A.; DECASTRI, D.; MANITTO, P.; CLEMENTI, S.; BONELLI, D. Chemometric investigation on Italian Peppermint oils, *J. Agric. Food Chem.* 1993, 41, p.p. 2028-2033.
- [70] KURILOV, D.V.; KIRICHENKO, E.B.; OLEKHNOVICH, L.S.; DAM KU, L. Composition of the essential oil of introduced mint forms of *Mentha piperita* and *Mentha arvensis* species. *Doklady Akademii Nauk*, 2009, 429(4), p.p. 568-570.

[71] ESCORSA, P.; MASPONS, R. De la vigilancia tecnológica a la inteligencia competitiva, Capítulo 4: La cienciometría y sus aplicaciones, 1ª Ed., 2001, Pearson Educación, Madrid, p.p. 1-18.

[72] VARGAS, F.; CASTELLANOS, O. Vigilancia como herramienta de innovación y desarrollo tecnológico. Caso de aplicación: Sector de empaques plásticos flexibles. Universidad Nacional de Colombia, *Ing. Investig.*, 2005, 25 , p.p. 32-41.

[73] Elsevier (Scopus), Base de datos, Disponible en: <<http://www.scopus.co/home.url>>; Fecha de consultada: 10 de noviembre de 2012.

[74] CLARA, E., J.S.; QUIJANO, C.E.; PINO, J.A. Composition of essential oil from the leaves and fruits of *Morella pubescens* (Humb.et Bompl. Ex Willd.) Wilbur in Colombia, *Revis. Cub. Quím.*, 2010, 22(2), p.p. 133-134.

[75] PICMAN, A.K. Biological activities of sesquiterpene lactones, *Biochem. Sys. Ecol.*, 1986, 14(3), p.p. 255-281.

[76] BOHLMANN, F.; ZDERO, C. Sesquiterpene lactones and other constituents from *Tanacetum parthenium*, *Phytochemistry*, 1982, 21(10), p.p. 2543-2549.

[77] ACHA DE LA CRUZ, O.; GUERRERO, J.; PODEA, R.; BATIU. I. Composition of the essential oil the leaves of Palma Real (*Tanacetum vulgare* L.) from Perú, *Chem. Bull "POLITEHNICA" Univ. (Timișoara)*, 2008, 53(67), p.p.1-2.

[78] LONGARAY, A.P.; MOSCHEN.PISTORELLO, I.T.; ARTICO, L.; ATTI-SERAFINI, L.; ECHEVERRIFARAY, S. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil, *Food Chem.* 2007, 100(2), p.p. 603-608.

[79] LAWRENCE, B. M. Oil composition of other *Mentha* species and hybrids, Taylor & Francis Group, LLC, CRC Press, 2006, Cap. 8, p. 15.

[80] RUSSO, A.; FORMISANO, C.; RIGANO, D.; SENATORE, F.; DELFINE, S.; CARDILE, V.; ROSSELLI, S.; BRUNO, M. Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grow in different enviromental conditions, *Food Chem. Toxicol.* 2013, 55(1), p.p. 42-47.

[81] Bolívar-Santander, disponible en: <<http://www.bolivar-santander.gov.co/index.shtml>>; Fecha de consulta: 10 de enero de 2013.

[82] ADAMS P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th Ed., Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, 2004, 456 p.

[83] STASHENKO, E.E.; MARTÍNEZ, J.R. Algunos aspectos prácticos para la identificación de analitos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, *Sci. Chromatogr.*, 2010, 2(1), p.p. 29-47.

[84] NIST Standard Reference Database. NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library with Search Program. Gaithersburg, MD, USA. Data Version 05, 2008.

[85] DAVIES, N. W. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases, *J. Chromatogr.*, 1990, 503, p.p. 1-24.

[86] The Pherobase: Database of pheromones and semiochemicals, Kovats index, o, disponible en: <http://www.pherobase.com>>; fecha de consulta: 1 de octubre de 2012.

[87] CAO, G.; ALESSIO, H.; CUTLER, R. OXYGEN – radical absorbance capacity assay for antioxidants, *Free Radical Biol. Med.*, 1993, 14(3), p. 303.

[88] ARIAS, G. Estudio de la composición química y la actividad antioxidante de aceites esenciales y extractos aislados de *Salvia officinales*, *Rosmarinus officinales*, *Thymus vulgaris* y *Lippia citriodora*, cultivadas en el municipio Sucre (Santander). Trabajo de investigación de Maestría, Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, 2012, p.p. 66-70.

[89] GOMÉZ J. Epazote (*Chenopodium ambrosioides*). Revisión a sus características morfológicas, actividad farmacológica y biogénesis de su principal principio activo, *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, BLACPMA, 2008, 7(1), p.p. 3-9.

[90] JOHNSON, M.; CROTEAU, R. Biosynthesis of ascaridole: Iodide peroxidase-catalyzed synthesis of monoterpene endoperoxide in soluble extract of *Chenopodium ambrosioides* fruit. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1984, 235(1), p.p. 254-266.

[91] TISSERAND, R.; BALACS, T. Essential oil safety: A guide for health care professional, Churchill Livingstone, Londres, 1995, p.p. 185-186.

[92] CASTAÑEDA, M. Estudio de la composición química y la actividad biológica de los aceites esenciales de diez plantas aromáticas colombianas, tesis de grado, Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, 2007, p. 109.

[93] BURDOCK, G.A., FENAROLI'S, Handbook of flavour ingredients, 2005, CRC Press, 5^a Ed., Boca Raton, EE.UU. p. 1943.

[94] Convención de las Naciones Unidas contra el tráfico ilícito de estupefacientes y sustancias sicotrópicas, Naciones Unidas, 1988, Viena.

[95] CAVALIERI, E.; MARIOTTO, S.; FABRIZI, C.; CARCERERI DE PRATI, A.; GOTTARDO, R., BERRA, L.; LAURO, G.; CIAMPA, A.; SUZUKI, H. α -Bisabolol, a nontoxic natural compound, strongly induces apoptosis in glioma cells, *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 2004, 315(3), p.p. 589-594.

[96] McLAFFERTY F.W.; TURECEL, F. Interpretation of mass spectra, University Science Books, 4^{ta} Ed. Sausalito, EE.UU., 1992, p.p. 226-240.

[97] LAZUTKA, J.; MIERAUSKIEN, J.; SLAPSYT, G.; DEDONYT, V. Genotoxicity of dill (*Anethum graveolens* L.), peppermint (*Mentha x piperita* L.) and pine (*Pinus sylvestris* L.) essential oils in human lymphocytes and *Drosophila melanogaster*, *Food Chem. Toxicol.*, 2001, 3(5), p.p. 485-492.

[98] BASSOLÉ, I.; LAMIEN-MEDA, A.; BAYALA, B.; TIROGO, S.; FRANZ, C.; NOVAK, J.; NEBIÉ, R.; DICKO, M. Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohol alone and in combination, *Molecules*, 15(11), 2010, p.p. 7826-7839.

[99] DEWICK, P. Medicinal natural products: A biosynthetic approach. 2^a Ed., John Wiley & Sons, Chichester, UK., 2002, p.p. 172-178.

- [100] KUMAR P.; MISHRA, S.; MALIK, A.; SATYA, S. Insecticidal properties of *Mentha* species: A review, *Ind. Crop Prod.*, 2011, 34, p.p. 802-817.
- [101] SATO, H.; YAMADA, K.; MIJ, M.; HOSOMI, K.; OKUYAMA, S.; USAWA, M.; ISHIKAMA, H. & ITO, Y. Production of an interspecific somatic hybrid between peppermint and gingermint, *Plant Sci.*, 1996, 115, p.p. 101-107.
- [102] GIANNOULI A.L.; KINTZIOS, S.E. Essential oil of *Salvia* Spr. Taylor & Francis Group, LLC, CRC Press, Los Angeles, EE.UU. 2000, cap 5, p.p. 69-79.
- [103] PAENA, A.; D'AQUILA, P.; PANIN, F.; SERRA, G.; PIPPIA, P.; MORETTI, M. Anti-inflammatory activity of linalol and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*, 2002, 9(8), p.p. 721-726.
- [104] ELISABETSKY, E.; SILVA BRUM, L.; SOUZA, D. Anticonvulsant properties of linalol in glutamate-related seizure models, *Phytomedicine*, 1999, 6(2), p.p.107-113.
- [105] MOSS, M.; COOK, J.; WESNER, K.; DUCKETT, P. Aromas of rosemary and lavender essential oils differentially effect cognition and moos in healthy adults, *J. Neur. Sci.*, 2003, 113, p.p. 15-38.
- [106] GEDNEY, J.; GLOVER, T.; FILLINGIM, R. Sensory and effective pain discrimination after inhalation of essential oils, *Psych. Som., Med.*, 2004, 66, p.p. 599-606.