

**ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS
ACEITES ESENCIALES DE SEIS ESPECIES
VEGETALES CULTIVADAS EN LOS MUNICIPIOS DE
BOLÍVAR Y EL PEÑÓN – SANTANDER, COLOMBIA**

Presentado por:

ADRIANA P. VARGAS RODRÍGUEZ, Cod: 2010852

EDWIN J. BOTTIA SANTOS, Cod: 2010474

Dirigido por:

Dra. ELENA E. STASHENKO,
Química, Ph.D.

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

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
Escuela de Química
Bucaramanga
2008

**ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS
ACEITES ESENCIALES DE SEIS ESPECIES
VEGETALES CULTIVADAS EN LOS MUNICIPIOS DE
BOLÍVAR Y EL PEÑÓN – SANTANDER, COLOMBIA**

ADRIANA P. VARGAS RODRÍGUEZ

EDWIN J. BOTTIA SANTOS



UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
Escuela de Química
Bucaramanga
2008

Agradecimientos

Son muchas personas a las que debemos dar GRACIAS, no sólo a quienes de alguna manera intervinieron en el desarrollo de este proyecto, sino también a TODOS aquellos que nos acompañaron durante el proceso de nuestra formación académica, profesional y personal, en nuestro paso por la Universidad Industrial de Santander-UIS. En este orden de ideas queremos expresar los más sinceros agradecimientos...

A la Dra. Elena E. Stashenko, por ser un ejemplo de perseverancia, dedicación y entusiasmo. Además, por compartir con nosotros su cultura, sus experiencias y su conocimiento.

Al Dr. Jairo R. Martínez, por toda su colaboración en el desarrollo de este proyecto y especialmente por sus acertados consejos y su humor excéntrico.

A los señores calificadores, los profesores Enrique Avila y Daniel Molina, por toda su comprensión, colaboración y el interés mostrado hacia este trabajo.

A todas las personas que desde otras áreas del conocimiento nos aportaron sus ideas e inquietudes...Fernando Caropress (Estudiante de Biología – UIS), Aldemar Mejía (Estudiante de Ingeniería Industrial – UIS) y Cristina González (Estudiante de Trabajo Social – UIS)... ustedes fueron de gran apoyo.

A toda la comunidad rural de los municipios de Bolívar, El Peñón y Guavatá por su hospitalidad y entusiasmo hacia este proyecto.

Al profesor, compañero y amigo Amner Muñoz, por haber compartido todas nuestras felicidades y tristezas y por estar siempre pendiente de nuestras dificultades y tropiezos.

A las personas más valiosas del Laboratorio: Deyny, Andreita, Carol, Lucy, Sayde, Angelita, Agri, Martica, Geovis y Martica Cervantes, por todos los momentos compartidos, las risas, los corrillos, las lágrimas y su AMISTAD.

Dedicatoria.....

A Dios por haberme permitido nacer en el seno del hogar más hermoso, fundamentado en el respeto, el amor y la unión.

A mi padre Reinaldo Vargas por ser mi amigo, mi maestro y mi motor para la realización de mis sueños, porque todo lo que soy en la vida se lo debo a él, porque eres fuera de serie; a mi mamá Nancy Rodríguez porque al lado de todo gran hombre hay una gran mujer....por sus enseñanzas, su incondicionalidad y especialmente por los sabios consejos que me han ayudado a triunfar en la vida.

A mis hermanas Carolina y María Paula Vargas por regalarme cada día triunfos que me permiten sentirme orgullosa.....A mi hermano Reinaldo Vargas "Junior", por ser el negro mas lindo, inteligente, juicioso y responsable, y especialmente por confiar en mí siempre, los quiero muchísimo..... A mi novio Diego Villarreal que lo amo con todo mi corazón y que la felicidad y el triunfo nos acompañe siempre.....

A mis amigas Carolina, Eddy y Andreita, con quienes hicimos de la vida universitaria una época inolvidable. A Martica por ser un ángel que Dios puso en mi vida, por su colaboración y apoyo, gracias por ser como mi hermana...

A mi abuelita, a mi tía Amparo y a toda la familia Rodríguez, por su fe en mí, su apoyo, amor, compañía y especialmente su aprecio.

Adriana Vargas Rodríguez

Dedicatoria

A las personas más importantes que Dios ha puesto en mi vida...Mi Mamá y mi Hermano.

Y a todas aquellas personas que tienen la capacidad de regalar una sonrisa aún en sus peores momentos, para alegrar la vida de los demás y motivarse a sí mismos.

A Adriana y a Olga, por habernos embarcados juntos en esta travesía, que nos hizo crecer como personas, esforzarnos y dar lo mejor de nosotros mismos.

A Martica la O., su respaldo y colaboración en los momentos más difíciles fueron indispensables para haber alcanzado este logro.

A mis amigos, Ricardo, Sergio, Carol, Luis, Johan, Carito, Nan, Migue, Rafa, María Antonia, porque a pesar del tiempo y de la distancia nuestra amistad se conserva intacta.

Y a José Ivan Báez (Q.E.P.D), un gran colega.

EDWIN BOTTIA

ÍNDICE GENERAL

	Pag.
INTRODUCCIÓN	27
1. ESTADO DEL ARTE	30
1.1 <i>Lippia alba</i>	30
1.2 <i>Rosmarinus officinalis</i>	33
1.3 <i>Cymbopogon citratus</i>	35
1.4 <i>Tagetes lucida</i>	39
1.5 <i>Lippia dulcis</i>	43
1.6 <i>Ocimum basilicum</i>	47
1.7 ACEITES ESENCIALES. GENERALIDADES	50
1.7.1 Definición	50
1.7.2 Composición química	50
1.7.3 Biogénesis. Terpenoides y fenilpropanoides	54
1.7.4 Fuentes y ubicación de los AE en la planta	52
1.7.5 Aplicaciones	57
1.7.6 Tratamiento post-cosecha	58
1.8 MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES	60
1.8.1 Destilación	60
1.8.2 Hidrodestilación	61
1.8.3 Destilación agua-vapor	62
1.8.4 Destilación por arrastre con vapor	62
1.8.5 Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas	64
1.8.6 Expresión	66
1.9 ANÁLISIS Y CONTROL DE CALIDAD DE LOS ACEITES ESENCIALES	66
1.9.1 Cromatografía de gases	68
1.9.2 Cromatografía de gases-espectrometría de masas	70

1.10	PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES	72
1.10.1	Actividad antioxidante	72
1.10.2	Actividad antimicrobiana	74
2.	MERCADO MUNDIAL DE LOS ACEITES ESENCIALES	75
3.	ANÁLISIS CIENCIOMÉTRICO	81
4.	METODOLOGÍA	92
4.1	RECOLECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL SILVESTRE	92
4.2	ADQUISICIÓN, DISTRIBUCIÓN Y RECOLECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL CULTIVADO	92
4.2.1	Adquisición y distribución	92
4.2.2	Recolección de material vegetal cultivado	93
4.3	OBTENCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES	94
4.4	ANÁLISIS INSTRUMENTAL	95
4.4.1	Preparación de la muestra	95
4.4.2	Caracterización de los AE	95
4.4.3	Cuantificación de los componentes mayoritarios	98
4.5	PRUEBAS FÍSICO-QUÍMICAS	91
4.6	ENSAYO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	99
4.7	ACTIVIDAD BIOLÓGICA	100
5.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	102
5.1	CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS ESPECIES SILVESTRES COLECTADAS EN LOS MUNICIPIOS DE LA SUB-REGIÓN DE VÉLEZ.	102
5.1.1	<i>Lepechinia bullata</i> y <i>Salvia palaefolia</i>	105
5.1.2	<i>Tanacetum parthenium</i>	110
5.1.3	<i>Minthostachis mollis</i> y <i>Mentha pulegium</i>	115
5.1.4	<i>Aloysia triphylla</i> (L'Her) Britton.)	120
5.1.5	<i>Lippia alba</i>	124
5.1.6	<i>Tagetes filifolia</i>	127

5.2	EVALUACIÓN DE LOS RENDIMIENTOS Y LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS ESPECIES CULTIVADAS EN LOS MUNICIPIOS DE LA SUB-REGIÓN DE VÉLEZ	131
5.2.1	<i>Rosmarinus officinalis</i>	132
5.2.2	<i>Lippia alba</i>	137
5.2.3	<i>Cymbopogon citratus</i>	141
5.2.4	<i>Tagetes lucida</i>	145
5.2.5	<i>Lippia dulcis</i>	149
5.3	EVALUACIÓN DEL GRADO DE ADAPTACIÓN DE LAS ESPECIES CULTIVADAS BAJO ESTUDIO, A LAS CONDICIONES AMBIENTALES DE LA SUB-REGIÓN DE VÉLEZ	155
5.4	ANÁLISIS DE LOS ESPECTROS DE MASAS DE DIFERENTES COMPONENTES CON GRUPOS FUNCIONALES DIVERSOS, PRESENTES EN LOS AE BAJO ESTUDIO	157
5.5	EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS AE	166
5.6	ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS AE	167
5.6.1	Actividad antioxidante	167
5.6.2	Actividad antimicótica de los AE	172
5.6.3	Citotoxicidad de los AE	174
6.	CONCLUSIONES	176
7.	RECOMENDACIONES	179
8.	BIBLIOGRAFÍA	180
	ANEXOS	201

LISTADO DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1. Quimiotipos y subtipos de la especie <i>Lippia alba</i> (Mill) N.E. Brown ex Britton & Wills, de acuerdo con los componentes mayoritarios presentes en su AE.	32
Tabla 2. Principales compuestos presentes en el AE de la especie <i>Rosmarinus officinalis</i> de diferentes orígenes.	35
Tabla 3. Principales AE de interés comercial obtenidos a partir de diferentes especies del género <i>Cymbopogon sp.</i>	37
Tabla 4. Principales compuestos presentes en el AE de la especie <i>Tagetes lucida</i> de diferentes orígenes.	42
Tabla 5. Composición química de los AE de <i>Lippia dulcis</i> de diferentes orígenes.	46
Tabla 6. Ventajas y desventajas de las diferentes técnicas de obtención de los AE.	63
Tabla 7. Parámetros analíticos empleados para establecer la calidad de los AE.	67
Tabla 8. Partidas arancelarias correspondientes al Capítulo No. 33: <i>Aceites esenciales y resinoides; Preparaciones de perfumería, de tocador y cosmética.</i>	75
Tabla 9. Subpartidas que conforman la posición arancelaria 3301.	76
Tabla 10. Principales usos de los AE consumidos por las industrias de la Unión Europea.	78
Tabla 11. Consumo de AE por la industria cosmética europea, durante el periodo 2001-2003.	78
Tabla 12. Parámetros de búsqueda empleados en la recopilación de información para el análisis cuantitativo.	82

Tabla 13.	Tipología de los documentos publicados sobre AE bajo estudio, durante el periodo 2001-2007. Fuente: <i>Web of Science</i> ; Ecuación de búsqueda: TS = “ <i>Essential oils</i> ” (Tabla 12); Fecha: 26 de julio de 2007.	83
Tabla 14.	Distribución de las publicaciones sobre AE, durante el periodo 2001-2007, de acuerdo con su área de impacto. Fuente: <i>Web of Science</i> ; Ecuación de búsqueda: TS = “ <i>Essential oils</i> ” (Tabla 12); Fecha: 26 de julio de 2007.	87
Tabla 15.	Revistas con el mayor número de publicaciones sobre AE, durante el periodo 2001-2007. Fuente: <i>Web of Science</i> ; Ecuación de búsqueda: TS = “ <i>Essential oils</i> ” (Tabla 12); Fecha: 26 de julio de 2007.	88
Tabla 16.	Distribución por especies del número de parcelas cultivadas en los municipios de Bolívar, El Peñón y Guavatá.	92
Tabla 17.	Condiciones experimentales de extracción para la obtención de los AE por destilación agua-vapor y MWHD.	95
Tabla 18.	Parámetros cromatográficos empleados para el análisis de los AE estudiados.	96
Tabla 19.	Patrones de hidrocarburos lineales y patrones de terpenos certificados utilizados para la determinación de los índices de Kováts.	98
Tabla 20.	Parámetros cromatográficos GC-FID que se usaron para la cuantificación de los componentes mayoritarios presentes en los AE.	99
Tabla 21.	Grupos de investigación que realizaron los ensayos de bioactividad en los AE estudiados.	101
Tabla 22.	Especies vegetales aromáticas colectadas en los municipios de Bolívar, El Peñón y Guavatá, Santander – Colombia.	102

Tabla 23.	Nombres botánicos asignados por el Herbario Nacional Colombiano a las especies vegetales aromáticas colectadas en los municipios de Bolívar, El Peñón y Guavatá, Santander – Colombia.	103
Tabla 24.	Rendimientos (%) de los AE obtenidos por MWHD, de las plantas colectadas en las diferentes regiones de los municipios de Bolívar, El Peñón y Guavatá, Santander-Colombia.	103
Tabla 25.	Composición química de los AE (tipo: sesquiterpenoide) de <i>Lepechinia bullata</i> cod: 001M y <i>Salvia palifolia</i> cod: 002M, aislados por MWHD.	109
Tabla 26.	Composición química del AE (tipo: monoterpenoide) de <i>Tanacetum parthenium</i> cod: 003M, aislado por MWHD.	113
Tabla 27.	Composición química de los AE (tipo: monoterpenoide) de <i>Minthostachis mollis</i> cod: 004M y <i>Mentha pulegium</i> cod: 006M, aislados por MWHD.	120
Tabla 28.	Composición química del AE (tipo: monoterpenoide) de <i>Aloysia triphylla</i> (005-M), aislado por MWHD.	123
Tabla 29.	Composición química de los AE (tipo: monoterpenoide) de <i>Lippia alba</i> código: (007-M) y código: (008-M), aislados por MWHD.	125
Tabla 30.	Composición química del AE (tipo: fenilpropanoide) de <i>Tagetes filifolia</i> cod: 009-M, aislado por MWHD.	129
Tabla 31.	Clasificación de los AE de las especies silvestres bajo estudio, de acuerdo con la familia de compuestos mayoritarios presentes.	129
Tabla 32.	Clasificación de los AE de las especies silvestres bajo estudio, de acuerdo con los grupos funcionales de compuestos presentes.	130
Tabla 33.	Porcentaje de compuestos identificados positivamente, presentes en aceites esenciales bajo estudio.	130

Tabla 34.	Datos de producción de aceites esenciales aislados por destilación con agua-vapor de las especies cultivadas bajo estudio.	131
Tabla 35.	Composición química típica del AE de <i>Rosmarinus officinalis</i> , aislado por destilación con agua-vapor.	135
Tabla 36.	Composición química típica del AE de <i>Lippia alba</i> , aislado por destilación con agua-vapor.	138
Tabla 37.	Composición química típica del AE de <i>Cymbopogon citratus</i> , aislado por destilación con agua-vapor.	144
Tabla 38.	Composición química típica del AE de <i>Tagetes lucida</i> , aislado por destilación con agua-vapor.	148
Tabla 39.	Composición química típica del AE de <i>Lippia dulcis</i> , aislado por destilación con agua-vapor.	151
Tabla 40.	Clasificación de los AE de las especies cultivadas bajo estudio, de acuerdo con la familia de compuestos mayoritarios presentes.	154
Tabla 41.	Clasificación de los AE de las especies cultivadas bajo estudio, de acuerdo con los grupos funcionales de compuestos presentes.	154
Tabla 42.	Porcentaje de compuestos identificados positivamente, presentes en aceites esenciales bajo estudio.	154
Tabla 43.	Propiedades físico-químicas de los AE extraídos de las plantas cultivadas en la Subregión de Vélez.	166
Tabla 44.	Capacidad de atrapamiento del catión-radical ABTS ⁺ de las sustancias antioxidantes BHA, BHT, vitamina E y los AE estudiados.	171
Tabla 45.	Concentración mínima inhibitoria (MIC) de los AE contra <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Candida krusei</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , y <i>Aspergillus fumigatus</i> .	173
Tabla 46.	Concentración Letal Media (CL ₅₀) de los AE bajo estudio contra <i>Artemia franciscana</i> .	174

LISTADO DE FIGURAS

		Pag.
Figura 1.	Planta de <i>Lippia alba</i> (Mill) N.E. Brown ex Britton & Wills.	30
Figura 2.	Planta de <i>Rosmarinus officinalis</i> . L.	33
Figura 3.	Planta de <i>Cymbopogon citratus</i> (D.C.) Stapf.	38
Figura 4.	Planta de <i>Tagetes lucida</i> Cav.	40
Figura 5.	Estructuras de los componentes mayoritarios presentes en el AE de <i>Tagetes lucida cav spp.</i> A. Anetol; B. Estragol y C. Metil eugenol.	41
Figura 6.	Planta de <i>Lippia dulcis</i> (Trevir.) Moldenke.	44
Figura 7.	Sesquiterpenos aislados de la especie <i>Lippia dulcis</i> . A. (+)-Hernandulcin; B. (-)- <i>epi</i> -Hernandulcin.	45
Figura 8.	Planta de <i>Ocimum basilicum</i>	39
Figura 9.	Unidad estructural característica de los terpenoides.	47
Figura 10.	Algunos ejemplos de terpenos de cadena abierta y cíclicos funcionalmente sustituidos.	52
Figura 11.	Unidad estructural característica de los fenilpropanoides.	53
Figura 12.	Biogénesis de los metabolitos secundarios presentes en el AE.	55
Figura 13.	Principales aplicaciones de los AE.	58
Figura 14.	Principales partes de un equipo de extracción de aceites esenciales.	60
Figura 15.	Modos de destilación para la obtención de AE. A. Hidrodestilación, B. Destilación agua-vapor y C. Destilación con vapor seco.	65
Figura 16.	Esquema general de un cromatógrafo de gases.	69
Figura 17.	Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas.	71

Figura 18.	Espectro de absorción del ABTS y su catión-radical ABTS ⁺ .	74
Figura 19.	Importaciones de AE, oleorresinas y mezclas de sustancias odoríferas en Colombia, durante el periodo de 1998 -2002.	77
Figura 20.	Importaciones en millones de € de AE y oleorresinas en países pertenecientes a la Unión Europa, durante el año 2003.	79
Figura 21.	Número de publicaciones sobre AE, durante el periodo 2001-2007. Fuente: <i>Web of Science</i> ; Ecuación de búsqueda: TS = “ <i>Essential oils</i> ” (Tabla 12); Fecha: 26 de julio de 2007.	84
Figura 22.	Países con mayor productividad científica sobre los AE, durante el periodo 2000-2007. Fuente: <i>Web of Science</i> ; Ecuación de búsqueda: TS = “ <i>Essential oils</i> ” (Tabla 12); Fecha: 26 de julio de 2007.	85
Figura 23.	Niveles de producción científica sobre AE en países latinoamericanos y del Caribe, durante el periodo 2001-2007. Fuente: <i>Web of Science</i> ; Ecuación de búsqueda: TS = “ <i>Essential oils</i> ” (Tabla 12); Fecha: 26 de julio de 2007.	86
Figura 24.	Número de publicaciones por año sobre las propiedades biológicas de los AE. Fuente: <i>Web of Science</i> ; Periodo de observación: 2001-2007; Ecuaciones de búsqueda: 10-15 (Tabla 12); Fecha: 26 de julio de 2007.	89
Figura 25.	Publicaciones relacionadas con el estudio de las actividades biológicas de los AE. Fuente: <i>Web of Science</i> ; Periodo de observación: 2001-2007; Ecuación de búsqueda: 10-15 (Tabla 12); Fecha: 26 de julio de 2007.	90

Figura 26.	Número de publicaciones sobre el estudio de los AE de las especies bajo estudio en el presente trabajo. Fuente: <i>Web of Science</i> ; Periodo de observación: 2001-2007; Ecuación de búsqueda: 16-21 (Tabla 12); Fecha: 26 de julio de 2007.	91
Figura 27.	Equipos de extracción: A. Clevenger modificado; B. Destilador de acero semi-industrial.	94
Figura 28.	Planta de <i>Lepechinia bullata</i> (Kunth) Epl.	106
Figura 29.	Planta de <i>Salvia palaefolia</i> Kunth.	106
Figura 30.	Perfil cromatográfico típico del AE de <i>Lepechinia bullata</i> , aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), <i>split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV).	108
Figura 31.	Perfil cromatográfico típico del AE de <i>Salvia palaefolia</i> , aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), <i>split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV).	108
Figura 32.	Planta de <i>Tanacetum parthenium</i> (L) Sch. Bip.	111
Figura 33.	Perfil cromatográfico típico de los AE de <i>Tanacetum parthenium</i> , aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), <i>split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV).	112
Figura 34.	Planta de <i>Minthostachys mollis</i> .	115
Figura 35.	Planta de <i>Mentha pulegium</i> .	116
Figura 36.	Perfil cromatográfico típico del AE de <i>Minthostachis mollis</i> , aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), <i>split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV).	119
Figura 37.	Perfil cromatográfico del AE de <i>Mentha pulegium</i> , aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), <i>split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV).	119
Figura 38.	Planta de <i>Aloysia triphylla</i> (L'Her) Britton.	121
Figura 39.	Perfil cromatográfico del AE de <i>Aloysia triphylla</i> , aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), <i>split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV).	122

Figura 40.	Planta de <i>Lippia alba</i> (Mill) N.E. Brown colectada en el municipio de Bolívar.	124
Figura 41.	Perfil cromatográfico del AE de <i>Lippia alba</i> (007-M) y (008-M), aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), <i>split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV).	125
Figura 42.	Planta de <i>Tagetes filifolia</i> Lag.	127
Figura 43.	Perfil cromatográfico del AE de <i>Tagetes filifolia</i> código: (009-M), aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), <i>split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV).	128
Figura 44.	Cultivo de <i>Rosmarinus officinalis</i> establecido en la parcela 28 situada en el municipio de Guavatá.	132
Figura 45.	Perfil cromatográfico típico del AE de <i>Rosmarinus officinalis</i> , aislado por destilación con agua-vapor. Columna DB-5 (60m), <i>split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV).	134
Figura 46.	Componentes mayoritarios presentes en el AE de <i>Rosmarinus officinalis</i> , cultivado en la Subregión de Vélez en las parcelas evaluadas No14,37,28,56, la ubicación se encuentra en el Anexo 2 .	136
Figura 47.	Cultivo de <i>Lippia alba</i> establecido en la parcela 23 situada en el municipio de Bolívar.	137
Figura 48.	Perfil cromatográfico típico del AE de <i>Lippia alba</i> , aislado por destilación con agua-vapor. Columna DB-5 (60m), <i>split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV).	138
Figura 49.	Componentes mayoritarios presentes en el AE de <i>Lippia alba</i> , cultivada en las parcelas No 28,23 (Anexo 2) en la Subregión de Vélez.	141
Figura 50.	Cultivo de <i>Cymbopogon citratus</i> establecido en la parcela 27 situada en el municipio de Guavatá.	142
Figura 51.	Perfil cromatográfico típico de los AE de <i>Cymbopogon citratus</i> , aislados por destilación con agua-vapor. Columna DB-5 (60m), <i>split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV).	143

Figura 52	Componentes mayoritarios presentes en el AE de <i>Cymbopogon citratus</i> , cultivado en las parcelas No 27,32,34,39 (Anexo 2), Sub-región de Vélez.	145
Figura 53.	Cultivo de <i>Tagetes lucida</i> establecido en la parcela 54 situada en el municipio de Guavatá.	146
Figura 54.	Perfil cromatográfico del AE de <i>Tapetes lucida</i> , aislado por destilación con agua-vapor. Columna DB-5 (60m); <i>split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV).	147
Figura 55.	Componentes mayoritarios presentes en el AE de <i>Tagetes lucida</i> , cultivado en las parcelas No.3,7,54 (Anexo 2) de la Sub-región de Vélez.	148
Figura 56.	Cultivo de <i>Lippia dulcis</i> establecido en la parcela 6 situada en el municipio de Bolívar.	149
Figura 57.	Perfil cromatográfico típico de los AE de <i>Lippia dulcis</i> , aislados por destilación con agua-vapor. Columna DB-5 (60m), <i>split</i> 1:30, MSD (EI, 70 eV).	150
Figura 58.	Componentes mayoritarios presentes en el AE de <i>Lippia dulcis</i> , cultivada en las parcelas N ^o 6 y 13 (Anexo 2), de la Subregión de Vélez.	152
Figura 59.	Espectro de masas del α -felandreno (MS, EI, 70 eV), presente en los AE de <i>Tanacetum parthenium</i> y <i>Rosmarinus officinalis</i> .	158
Figura 60.	Posibles rutas de fragmentación del α -felandreno (MS, EI, 70 eV).	159
Figura 61.	Espectro de masas del δ -cadineno (MS, EI, 70 eV), presente en los AE de <i>Salvia palaefolia</i> y <i>Lippia dulcis</i> .	160
Figura 62.	Posibles rutas de fragmentación del δ -cadineno (MS, EI, 70 eV).	161
Figura 63.	Espectro de masas de la mentona (MS, EI, 70 eV), presente en los AE de <i>Minthostachis mollis</i> y <i>Mentha pulegium</i> .	162

Figura 64.	Posibles rutas de fragmentación de la mentona (MS, EI, 70 eV).	163
Figura 65.	Espectro de masas del estragol (MS, EI, 70 eV), presente en los AE de <i>Tagetes filifolia</i> , <i>Tagetes lucida</i> y <i>Lippia dulcis</i> .	164
Figura 66.	Posibles rutas de fragmentación del estragol (MS, EI, 70 eV).	165
Figura 67.	Grado de inhibición del catión-radical ABTS ⁺ , en función de la cantidad (mM) de Trolox [®] .	169
Figura 68.	Grado de inhibición de las sustancias control (vitamina E, BHT, BHA), en función del tiempo.	170
Figura 69.	Representación gráfica de las estructuras moleculares de la vitamina E, BHA y BHT.	170

ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

ABTS⁺	Catión-radical del ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
AE	Aceite esencial o aceites esenciales, según el contexto
ARS	<i>Agricultural Research Service</i> (Servicio de Investigación de Agricultura)
ASE	<i>Accelerated Solvent Extraction</i> (Extracción con solvente acelerado)
A&HCI	<i>Arts&Humanities Citation Index</i>
BHA	<i>Butylated hydroxyanisol</i> [2-(<i>ter</i> -Butil)-4-metoxifenol]
BHT	<i>Butylated hydroxytoluene</i> [2,6-di(<i>ter</i> -Butil)- <i>p</i> -cresol]
°C	Grados Celsius o centígrados
ca.	<i>Circa</i> (aproximadamente)
CDPMM	Corporación de Desarrollo y Paz del Magdalena Medio
CENIVAM	Centro Nacional de Investigaciones para la Agro-industrialización de Especies Vegetales Aromáticas Medicinales Tropicales
CI₅₀	Concentración inhibitoria media
cm	Centímetro(s)
CNR	<i>Consiglio Nazionale delle Recerche</i> (Consejo Nacional para la Investigación)
Da	Dalton(s)
d_f	Espesor de la fase estacionaria (µm)
D.I.	Diámetro interno (mm)
DPPH	<i>1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazil</i> (1,1-Difenil-2- picrilhidrazilo)
€	Euro(s)
EE.UU.	Estados Unidos
EI	<i>Electron Impact</i> (Impacto con electrones)
EIC	Edema Inducido por Carragenina
e.g.	<i>Exempli gratia</i> (por ejemplo)

etc.	<i>Et cetera</i> (así sucesivamente)
EU	<i>European Union</i> (Unión Europea)
eV	Electrón-Voltio
exc.	Exceptuando
fam.	Familia
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i> (Organización de Alimentos y Agricultura)
g	Gramo(s)
GC	<i>Gas Chromatography</i> (Cromatografía de gases o cromatógrafo de gases, según el contexto)
GC-IRMS	<i>Gas Chromatography – Isotope Ratio Mass Spectrometry</i> (Cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas de relación isotópica)
GC-MS	<i>Mass Spectrometry Coupled to Gas Chromatography</i> (Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas)
Ha	Hectárea(s)
HD	Hidrodestilación
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografía líquida de alta eficiencia)
HS	<i>Harmonized System</i> (Sistema armonizado)
i.e.	<i>In exempli</i> (es decir, o sea)
incl.	Incluyendo
IR	<i>Infrared</i> (Infrarrojo)
ISO	<i>International Standard Organization</i> (Organización internacional de estándares)
Istd	<i>Internal Standard</i> (Estándar interno)
kg	Kilogramo(s)
m	Metro(s)
min	Minuto(s)
mL	Mililitro(s)
mm	Milímetro(s)

msnm	Metros sobre el nivel de mar
MORELIA	Asociación Campesina de Productores MORELIA (Bolívar, Santander)
MWHD	<i>Microwave-Assisted Hydrodistillation</i> (Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas)
m/z	Relación masa/carga
nm	Nanómetro(s)
NICI	<i>Negative Ion Chemical Ionization</i> (Ionización química de iones negativos)
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i> (Resonancia magnética nuclear)
PCL	<i>Luminol-Photochemiluminescence</i> (Luminol-fotoquimiluminiscencia)
PICI	<i>Positive Ion Chemical Ionization</i> (Ionización química de iones positivos)
PNNM	Productos Naturales No Maderables
ppm	Parte por millón
SCI	<i>Science Citation Index</i>
SD	<i>Steam Distillation</i> (Destilación con vapor)
SDE	<i>Simultaneous Solvent Distillation-Extraction</i> (Destilación-extracción con solvente simultánea)
SFE	<i>Supercritical Fluid Extraction</i> (Extracción con fluido supercrítico)
sp.	<i>Specie</i> (especies)
spp.	<i>Subspecies</i> (sub-especies)
SSCI	<i>Social Science Citation Index</i>
UIS	Universidad Industrial de Santander
UV-Vis	<i>Ultraviolet-Visible</i> (Ultravioleta-visible)
tr.	Trazas
µL	Microlitro(s)
µm	Micrómetro(s)
µM	Micromolar

RESUMEN

TITULO: ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE SEIS ESPECIES VEGETALES CULTIVADAS EN LOS MUNICIPIOS DE BOLÍVAR Y EL PEÑÓN, SANTANDER – COLOMBIA*

Autores: Adriana Patricia Vargas Rodríguez**
Edwin Javier Bottia Santos**

Palabras clave: aceite esencial, *Lippia alba*, *Lippia dulcis*, *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum*, *Tagetes lucida*, actividad biológica.

Como parte del macro proyecto “PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE HIERBAS AROMÁTICAS, MEDICINALES Y ACEITES ESENCIALES PARA LOS MUNICIPIOS DE BOLÍVAR, EL PEÑÓN Y GUAVATÁ” adelantado por la Corporación de Desarrollo y Paz del Magdalena Medio, CDPMM y enmarcado dentro de la misión de CENIVAM; en este trabajo se realizó el análisis fitoquímico de los AE de diferentes especies vegetales aromáticas, colectadas de manera silvestre en los municipios de la Subregión de Vélez. Asimismo, se aislaron y analizaron, respectivamente, por destilación con agua-vapor y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), los metabolitos secundarios volátiles de *Rosmarinus officinalis*, *Lippia alba*, *Cymbopogon citratus*, *Tagetes lucida*, *Lippia dulcis* y *Ocimum basilicum*.

Por otro lado, se determinaron sus propiedades físico-químicas. Se evaluó la capacidad antioxidante, por el ensayo de descoloramiento del catión-radical ABTS+, de algunas de las esencias y se estudiaron las propiedades antifúngica y citotóxica contra *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* y *Artemia franciscana*, respectivamente.

Como resultados destacables se encuentran la composición química de los AE de las especies *Lepechinia bullata* y *Salvia paleaefolia*, por primera vez reportadas, la información agronómica acerca de la adaptación de las especies y el volumen de producción de AE, nuevas especies potencialmente atractivas para la tecnificación de su cultivo y la baja efectividad de las esencias como mezclas antioxidantes en el atrapamiento de radicales.

En conclusión, la realización de este trabajo permitió conocer las potencialidades de la región, ampliar las expectativas de la comunidad rural de la Subregión de Vélez y servir como una muy buena primera experiencia en la agro-industrialización de cultivos de plantas aromáticas para la producción de AE.

* Trabajo de grado.

** Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias, Escuela de Química. Directores Elena E. Stashenko y Jairo René Martínez.

ABSTRACT:

TITLE: STUDY OF THE CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OILS SIX PLANT PRODUCED IN THE CITIES OF BOLIVAR AND PEÑÓN, SANTANDER - COLOMBIA*

Authors: Adriana Patricia Vargas Rodríguez**
Edwin Javier Bottia Santos**

KEYWORDS: essential oil; *Lippia alba*, *Lippia dulcis*, *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum*, *Tagetes lucida*; biological activity.

As part of the macro project "PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE HIERBAS AROMÁTICAS, MEDICINALES Y ACEITES ESENCIALES PARA LOS MUNICIPIOS DE BOLÍVAR, EL PEÑÓN Y GUA VATÁ" by the Corporación de desarrollo y paz Magdalena Medio CDPMM in association with CENIVAM; the goal of this study was the phytochemical analysis of the essential oils from aromatic plants collected in wild way in the Velez subregion. Secondary metabolites volatile of these essential oils were isolated from *Rosmarinus officinalis*, *Lippia alba*, *Cymbopogon citratus*, *Tagetes lucida*, *Lippia dulcis* y *Ocimum basilicum* by distillation with water-steam and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

On the other hand, were determined their physico-chemical properties. We evaluated the antioxidant capacity for testing discoloration of the cation-radical ABTS +. of some of the essences and antifungal properties were studied and cytotoxic against *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Aspergillus flavus*, and *Aspergillus fumigatus* *Artemia franciscana*, respectively.

As remarkable results are the chemical composition of the essential oils species of *Salvia paleaefolia* *Lepechinia bullata* and for the first time has been reported, agronomic information about the adaptation of species and the volume of production of essential oils, potentially new species attractive for the technification of their crop and the low effectiveness of this essences as mixtures of antioxidants in atropamiento radicals.

In conclusion, this work has done possible to know the potential of the region, to expand the expectations of the rural community in the Velez subregion. This was a first good experience in the agro-industrial sector of aromatic plants for the production of essential oil.

*College tesis.

** Industrial University of Santander, Science Faculty, School of Chemistry.
Directors, Elena E. Stashenko and Jairo René Martínez.

INTRODUCCION

En la actualidad, el mercado mundial de los AE ha experimentado un aumento, como consecuencia del cambio de patrones en el consumo debido a la tendencia de la utilización de productos naturales. Por otra parte, a pesar de que Colombia posee una gran riqueza en cuanto a número de especies vegetales capaces de servir como fuente de los AE, importa el c.a.100% de estas materias primas. En los últimos años, Colombia importó aceites esenciales (AE), oleorresinas y mezclas de sustancias odoríferas por un valor aproximado de 500 millones de dólares; de los cuales, el 11,7% (ca. 13 millones de dólares) corresponden a las importaciones de AE y oleorresinas, mientras que el restante 88.3% fueron mezclas de sustancias odoríferas (saborizantes, aromatizantes, *flavours*) [146].

Incentivado por hacer un mejor aprovechamiento de la diversidad de nuestros recursos naturales, el Centro Nacional de Investigaciones para la Agro-industrialización de Especies Vegetales Aromáticas Medicinales Tropicales – CENIVAM, enfoca su investigación hacia la obtención del conocimiento en diferentes áreas de la cadena productiva de aceites esenciales y derivados de extractos de plantas aromáticas y medicinales. Además, a través del trabajo técnico y científico del Centro se plantea resolver y satisfacer las necesidades de las industrias de fragancias presentes en el país.

La búsqueda de alternativas que permitan a nuestro país sostener y proyectar niveles superiores de conocimiento sobre sistemas productivos, con el fin de desarrollar nuevas estrategias agrícolas, debe vincular no

solamente al sector académico, sino también a los diferentes sectores productivos y a la sociedad.

De esta manera, la Corporación de Desarrollo y Paz del Magdalena Medio, CDPMM, de la sub-región de Vélez, adelantó el Proyecto de *PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE HIERBAS AROMÁTICAS, MEDICINALES Y ACEITES ESENCIALES PARA LOS MUNICIPIOS DE BOLÍVAR, EL PEÑÓN Y GUAVATÁ*, cuyo objetivo es mejorar la calidad de vida de más de 250 familias campesinas de la provincia de Vélez, vinculadas a diferentes Asociaciones Campesinas.

El presente trabajo hace parte del macroproyecto presentado por la CDPMM, el cual buscó principalmente entregar a la comunidad de los municipios de Bolívar, El Peñon y Guavatá, Santander, conocimiento completo y detallado de la cadena productiva de aceites esenciales, brindar información acerca de qué especies (*Lippia alba*, *Lippia dulcis*, *Cymbopon citratus*, *Tagetes lucida*, *Rosmarinus officinalis* y *Ocimum basilicum*) se adaptaron mejor a las condiciones climáticas de la región y estimar si su cultivo a escala semi-industrial es favorable para la producción de aceites esenciales. Además se se realizó una expedición botánica por la región, la cual, buscó la obtención de información necesaria para incentivar la tecnificación de especies promisorias nativas de la Subregión de Veléz. Por otra parte, se realizaron actividades biológicas (antioxidante, antimicótica y citotoxicidad), para los AE.

Con en el desarrollo de este estudio se pretende contribuir al fortalecimiento de la creciente industria de los AE en Colombia y abrir las puertas para la construcción y puesta en marcha de una planta para extraer el AE de las especies promisorias, ubicada en el municipio de Bolívar, con miras a la comercialización de estos productos.

El trabajo de investigación consta de 8 capítulos, contiene 69 figuras, 46 tablas, 180 referencias bibliográficas y 4 anexos.

1. ESTADO DEL ARTE

1.1 *Lippia alba*

La *Lippia alba* es una especie vegetal originaria de bosques tropical seco y subtropical americano, pertenece a la familia de Verbenaceae y se encuentra ampliamente distribuida en América Central, Suramérica, África Tropical y algunas regiones de Asia [1,2]. Conocida en diferentes regiones de Colombia con los nombres de “*Pronto alivio*”, “*Curalotodo*”, “*Orégano de cerro*” y “*Quita dolor*” es frecuentemente utilizada, por su agradable olor, como planta ornamental [3].

Es una hierba perenne, erecta, arbustiva, que crece hasta 2 m y presenta un fuerte olor a menta, lima o limón. Densamente pubescente, de tallos leñosos, ramas largas y arqueadas; hojas pequeñas, opuestas, de color verde y flores fragantes de color azul, rosado, lila o violeta (**Figura 1**) [3,4].



Figura 1. Planta de *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown ex Britton & Wills.

Generalmente, es utilizada por diversas poblaciones para el tratamiento de múltiples enfermedades, puesto que presenta un amplio espectro de acción farmacológica. Tradicionalmente, se emplea como diaforético y emenagogo,

para el tratamiento de la tos, gripa, asma, bronquitis, diabetes y contra diversas afecciones gastrointestinales [3,4]. Además, se le atribuyen propiedades analgésicas, antiinflamatorias, antipiréticas, sedantes, antimicrobiales, antivirales, citostáticas y anticonvulsiantes [1-4].

La composición química de los aceites esenciales de *L. alba* ha sido objeto de amplios estudios, sin embargo, en la literatura se observan diferencias acerca del contenido y tipo de los constituyentes mayoritarios presentes en los aceites. Tales variaciones en las composiciones de los AE de *L. alba* han llevado a diferentes autores de distinguir varios quimiotipos [5], *i.e.* individuos de una misma especie botánica, idénticos morfológicamente, pero con diferente composición química de sus metabolitos secundarios volátiles. Así, es posible citar los siguientes quimiotipos de *L. alba* según sus componentes mayoritarios: citral [5-9], linalool [9-14], γ -terpineno [15], citral–mirceno [5], citral–limoneno [5], citral–*trans*- β -cariofileno [16], citral–germacreno D [7], carvona–limoneno [5,7,9,17-20], 1,8-cineol–alcanfor [21], 1,8-cineol–limoneno [7], limoneno–piperitona [22], estragol [23] y tagetenona [6,24].

Dada la muy variada información acerca de los constituyentes de los aceites de *Lippia alba*, recientemente investigadores franceses [25], establecieron la existencia de siete quimiotipos (**Tabla 1**), con base en los siguientes aspectos:

- La identidad de los componentes mayoritarios;
- Los compuestos minoritarios, pero característicos, frecuentemente encontrados en un quimiotipo dado;
- El conocimiento de las rutas biosintéticas y la relación existente entre ellas; precursor bioquímico común;
- La información disponible sobre la posible influencia de factores estacionales o climáticos y,
- La ubicación geográfica de los lugares o zonas establecidas para un quimiotipo dado.

Para algunos autores la amplia variabilidad fitoquímica que presenta la *L. alba* se debe a alteraciones genéticas infraespecíficas, ya que las especies vegetales transplantadas a un nuevo ambiente mantienen la composición química original de sus esencias, salvo algunos cambios cuantitativos [9,24].

Tabla 1. Quimiotipos y subtipos de la especie *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown ex Britton & Wills, de acuerdo con los componentes mayoritarios presentes en su AE.

Especie	Quimiotipo	Subtipo	Compuestos mayoritarios
<i>Lippia alba</i>	Quimiotipo I	Subtipo Ia	Citral (neral + geranial)
		Subtipo Ib	Linalool
		Subtipo Ic	Citral + Linalool
		Subtipo Id	β - <i>trans</i> -Cariofileno
	Quimiotipo II	---	Tagetenona (mircenona + ocimenona)
	Quimiotipo III	Subtipo IIIa	Limoneno + Carvona + Germacreno D
		Subtipo IIIb	Limoneno + Dihidrocarvona, Piperitona, Piperitenona o Lipiona
	Quimiotipo IV	---	Mirceno
	Quimiotipo V	---	γ -Terpineno
	Quimiotipo VI	---	Alcanfor + 1,8-Cineol
Quimiotipo VII	---	Estragol	

En Colombia predomina la *L. alba* quimiotipo IIIa, cuyas esencias presentan un contenido de carvona que varía entre el 30 y 55% en peso del AE [20,26].

En cuanto a las condiciones de cultivo, la *Lippia alba* se puede reproducir con facilidad de forma vegetativa mediante acodos o esquejes semileñosos en sustratos porosos [27,28], la propagación por semilla es poco recomendada, pues el porcentaje de germinación es muy bajo [27]. Se recomienda sembrar a distancias de 0,9 m entre surcos y 0,4 m entre plantas [27]. Esta especie es poco exigente en lo que respecta a clima y suelo, sin embargo, para un buen establecimiento, se requiere un suelo bien drenado y condiciones de media-alta luminosidad [29,30] y la aplicación de fertilizantes nitrogenados e.g. gallinaza, urea, etc., que mejoran el desarrollo foliar de las plantas [31,32].

1.2 *Rosmarinus officinalis*

La especie *Rosmarinus officinalis* es una planta que pertenece a la familia de las *Lamiaceae*, es originaria de las costas del mediterráneo y conocida vernáculamente como romero [3]. La planta es un subarbusto, ascendente, muy ramificado, perenne, que puede crecer hasta 2 m; presenta hojas pequeñas y opuestas casi lineares y flores de color azul-violáceo pálido o blanquecino (**Figura 2**) [3]. Las partes aéreas de la planta poseen un olor aromático alcanforado y su sabor es pronunciado, algo amargo y astringente [3].



Figura 2. Planta de *Rosmarinus officinalis*. L.

El *R. officinalis* puede ser cultivado en diferentes niveles altitudinales, hasta 2800 msnm, y en una amplia variedad de climas. Para su reproducción se recomienda la propagación mediante la utilización de semillas o esquejes, plantados a distancias de 0.9 m entre surcos y 0.6 m entre plantas, en suelos arenosos, muy permeables y bien drenados. Esta especie precisa protección contra vientos y heladas, aunque puede tolerar temperaturas de hasta -5°C [33].

Popularmente, el *R. officinalis* se usa como antiséptico, antidepresivo, antiespasmódico, digestivo, diurético, carminativo, abortivo, insecticida y como estimulante [34-36], mientras que, su AE es incorporado en pomadas para tratamientos de reumatismo, úlceras y heridas. También, el AE mezclado con otras drogas se emplea para la elaboración de tónicos capilares para el cuidado del cabello, la alopecia y la caspa (*Pityriasis simples*).

En medicina, el AE de *R. officinalis* se emplea por sus propiedades estimulantes, presumiblemente debido a su alto contenido de alcanfor [34], mientras que, en las industrias cosmética, farmacéutica y de alimentos, se utiliza como fragancia en sopas, cremas, lociones y perfumes, asimismo, como preservante de alimentos por sus propiedades antioxidantes [36,37].

Diversos estudios sobre *R. officinalis* describen la composición química de su AE (**Tabla 2**). La variabilidad en el tipo y contenido de los compuestos presentes en la esencia se atribuye, en gran medida, a factores intrínsecos e.g. quimiotipo, estado de desarrollo fenológico, parte de la planta, etc., y extrínsecos e.g. condiciones climáticas, labores culturales, tratamiento postcosecha, etc., de la planta y a los métodos de obtención y análisis del aceite.

Tabla 2. Principales compuestos presentes en el AE de la especie *Rosmarinus officinalis* de diferentes orígenes.

Origen	Composición química del AE de romero
Grecia	1,8-Cineol (51.2 %), α -pineno (10.3 %), borneol (4.7 %), y canfeno (4.0 %) [38].
Bulgaria	α -Pineno (31.1 %), canfeno (9.2 %), β -pineno (5.9 %), mirceno (8.0 %), α -fenantreno (2.6 %), limoneno (5.6 %), α -terpineno+1,8-cineol (16.7 %), alcanfor (7.3 %), acetato de isobornilo (1.4 %), terpineno + terpinoleno (11.0 %) [39].
Hungría	α -Pineno + canfeno (24.9 %), 3-octenona (10.0 %), β -pineno (3.8 %), 1,8-cineol (20.1 %), alcanfor (14.7 %), borneol (3.0 %), α -terpineol (0.5 %), verbenona (0.8 %), acetato de bornilo (6.0 %), <i>trans</i> - β -cariofileno (9.7 %) [40].
Portugal	Mirceno (20-52 %) y α -pineno (12-30 %) [41,42]. α -Pineno (11,2 %-12,1 %), mirceno (31,5%-36,2%), 1,8-cineol (12,8%-14,9%), alcanfor (8,7%-14,4%) [43].
Colombia	1,8-Cineol + limoneno (7-24%), alcanfor (20-21 %), α -pineno (2-11 %), canfeno (1-11 %), β -pineno (2-10%), borneol (2-5%), acetato de bornilo (2-4 %) [44].
Algeria	1,8-Cineol (29.5 %), 2-etil-4,5-dimetilfenol (12.0 %), alcanfor (11.5 %), borneol (9.4 %), α -terpineol (9.2 %) y α -pineno (7.5 %) [35]. 1,8-Cineol (31.9 %-52.4 %), alcanfor (12.6 %-19.7 %), α -pineno (0.4 %-5.2 %), canfeno (0.3 %-3.0 %), β -pineno (0.3 %-5.7 %), borneol (3.4 %-12.1 %), α -terpinol (2.1 %-12.8 %), β -cariofileno (3.0 %-4.2 %) [45].
Brasil	α -Pineno (41.63%), 1,8-cineol (19.35%), canfeno (4.73%), verbenona (3.86%) y borneol (3.10%) [46].
Turquía	Identificaron AE de tres regiones cercanas al mediterráneo: Mersin: 1,8-Cineol (58-1 %), alcanfor (12.1 %), α -pineno (8.8 %) Izmir: α -Pineno (14.2 %), 1,8-cineol (15.5 %), alcanfor (13.7 %), verbenona (11.8 %), borneol (8.1 %) Canakkale: α -Pineno (12.6 %), 1,8-cineol (12.3 %), alcanfor (16.0 %), verbenona (12.2 %), borneol (7.4 %) [47].
Egipto	Identificaron AE de dos regiones: Sinai: Verbenona (12.3%), alcanfor (11-3%), acetato de bornilo (7.6%), limoneno (7.1%) y linalool (6.60%), no se encontró alcanfor. Giza: Alcanfor (14.9%), α -pineno (9.3%), 1,8-cineol (9.0%) y linalool (5.44%) [34].
Italia	Identificaron dos quimiotipos: Quimiotipo I: (α-pineno) α -Pineno (28.6 %), canfeno (7.44 %), 1,8-cineol (8.50%), alcanfor (9.26 %), borneol (5.97 %) y verbenona (5.97 %). Quimiotipo II: (1,8-cineol) α -Pineno (18.6%), β -pineno (6.79%), 1,8-cineol (43,3%) y borneol (8.96%) [37].

Por otro lado, el AE de romero presenta propiedades antimicrobiales contra *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Mycobacterium intracellulare*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Investigadores europeos atribuyen estas propiedades al alto contenido de 1,8-cineol, presente en la esencia [34,35,37].

1.3 *Cymbopogon citratus*

El género *Cymbopogon* pertenece a la familia de Poaceae y comprende cerca de 120 especies. Éstas, en su mayoría, son originarias de las regiones cálidas y tropicales de Asia, aunque también se encuentran ampliamente distribuidas en América Central, Suramérica y África [4,48].

Entre las especies *Cymbopogon sp.* se distinguen *C. citratus*, *C. flexuosus*, *C. winterianus*, *C. martinii*, y *C. nardus*; que por su agradable y característico olor se utilizan como materia prima para la producción de esencias naturales de interés comercial (Tabla 3) [48,49].

La planta *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf, conocida comúnmente como “*Limonaria*” o “*Limoncillo*”, es una hierba perenne, vivaz que crece hasta 1 m. Posee un tallo redondo, corto y ramificado, que origina numerosas macollas; presenta hojas lanceoladas, pubescentes, de color verde y superficie áspera y cortante, que emanan un olor característico a lima o limón (Figura 3) [4,27,33].

Tabla 3. Principales AE de interés comercial obtenidos a partir de diferentes especies del género *Cymbopogon sp.*

Aceite Esencial	Nombre comercial	Especie utilizada	Composición	Aplicación
<i>Citronella Oil</i>	<i>Sri Lanka Citronella Oil</i>	<i>Cymbopogon nardus L.</i>	Citronelal (3-6%) Borneol (4-7%) Citronelol (3-9%) Geraniol (15-23%) Metil isoeugenol (7-11%)	Productos de aseo y limpieza personal y para el hogar
	<i>Java Citronella Oil</i>	<i>Cymbopogon winterianus Jowitt</i>	Citronelal (31-40%) Geraniol (20-25%) Citronelol (9-14%) Acetato de geranilo (3-6%) Acetato de citronelilo (2-4%)	Perfumería; producción de citronelal
<i>Lemongrass Oil</i>	<i>West Indian o Guatemala Lemongrass Oil</i>	<i>Cymbopogon citratus DC.</i>	Neral (31-40%) Geranial (40-50%)	Materia prima para el aislamiento del citral
	<i>East Indian Lemongrass Oil</i>	<i>Cymbopogon flexuosus Nees ex Steud.</i>	Neral (25-35%) Geranial (35-47%)	
<i>Palmarosa Oil</i>	<i>Palmarosa Oil</i>	<i>Cymbopogon martinii (Rox.) W. Wats. var. motia</i>	Geraniol y sus ésteres (95%)	Perfumería y cosmética; obtención de geraniol y sus ésteres

Las infusiones de las hojas frescas o secas de *C. citratus* han sido utilizadas por diferentes culturas alrededor del mundo, para el tratamiento de diversas dolencias: tos, neumonía, fiebre, reumatismo, neuralgias y desórdenes gastrointestinales, entre otras, mientras que, el rizoma es utilizado como dentífrico [4,33,50-53]. De esta manera, a la planta se le atribuyen propiedades sedantes, hipnóticas, analgésicas, antiespasmódicas, antipiréticas, antisépticas, antiinflamatorias, antihipertensivas y antirreumáticas [4,50-53]. El efecto de este tipo de propiedades terapéuticas depende de la posología y modo de administración, si es por vía oral o de manera parenteral [51-53].



Figura 3. Planta de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.

Cymbopogon citratus (DC.) Stapf es una planta aromática de clima tropical o subtropical, que necesita de lluvias abundantes, humedad relativamente alta y plena exposición solar; responde a cualquier tipo de suelo, siempre y cuando no sean muy compactos o estén mal drenados y crece en alturas de hasta 1700 msnm [27,48,54-58]. Su propagación se realiza de forma vegetativa por división de plantas. La densidad de siembra óptima es 0,9 x 0,5 m entre surcos y entre plantas, respectivamente [54]. Se recomiendan 3 ó 4 cortes anuales [55].

La composición química de los metabolitos secundarios volátiles y semivolátiles presentes en las hojas de *C. citratus*, ha sido estudiada utilizando diversas técnicas de extracción, entre ellas, se encuentran: extracción con solvente y sonificación, extracción con fluido supercrítico (SFE), extracción con solvente acelerado (ASE), destilación–extracción con solvente simultánea (SDE), destilación por arrastre con vapor seco (SD), hidrodestilación (HD) e hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD) [59,60]. El AE obtenido a partir de las hojas de *C.*

*citratu*s posee un elevado contenido de citral, que representa entre el 50-75% del total de la esencia [61,62].

El AE de *C. citratu*s, debido a su alto contenido de citral, presenta una efectiva actividad antibacterial y antifúngica frente a un amplio espectro de microorganismos, entre ellos, *Aspergillus niger*, *A. ochraceus*, *Fusarium culmorum*, *Staphylococcus aureus*, *Beneckea natriegens*, *Salmonella pullorum*, *Citrobacter freundii* y *Clostridium perfringens*, entre otros [63-66].

También se ha evaluado la capacidad antioxidante de los AE, extractos alcohólicos e infusiones de *C. citratu*s en diversos ensayos; obteniéndose resultados interesantes en las pruebas de luminol-fotoquimiluminiscencia, PCL, y en los tests de decoloración del β -caroteno y del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo, DPPH [67].

1.4 *Tagetes lucida*

El género *Tagetes* pertenece a la familia Astereaceae y comprende cerca 50 especies [4], entre ellas, la *Tagetes lucida* Cav. (*Tagetes florida* sweet), comúnmente conocida en México como “Anisillo” o “Flor de Santa María” y en Guatemala y Honduras como “Pericón”. Es una hierba perenne, aromática, erecta, que crece entre 30 y 95 cm. Se levanta desde una base corta, gruesa y leñosa; cimosamente ramificada. Presenta hojas opuestas, puntiagudas, finamente dentadas, con numerosas glándulas oleosas y flores amarillas en pequeñas cabezuelas terminales (Figura 4) [4].



Figura 4. Planta de *Tagetes lucida* Cav.

La planta es nativa de México y se distribuye por toda Mesoamérica y Suramérica, se encuentra principalmente en bosques de encino y laderas de ubicadas entre 1000 y 2600 msnm, con temperaturas entre 15 y 20°C [4,68,69].

La infusión de las flores y hojas se usa en Guatemala, México y otros países latinoamericanos para aliviar los dolores del parto, como tratamiento para la anemia, las afecciones nerviosas, gastrointestinales e.g. cólicos, diarrea, flatulencias, indigestión, náuseas, vómitos, etc., y respiratorias e.g. amigdalitis, gripe, resfriados y tos ferina, entre otras, así como para los dolores menstruales, el reumatismo y las úlceras. El zumo de las hojas y flores se utiliza como repelente de mosquitos y, en México, las hojas se fuman debido a sus presuntas propiedades alucinógenas [4,70].

Para la tecnificación del cultivo de *Tagetes lucida* se recomienda la propagación del material vegetal por semillas o esquejes, sembrados a distancias de 0.6 m entre surcos y 0.3 m entre plantas [69]. La siembra debe realizarse al inicio de las lluvias [69].

Aunque en condiciones silvestres, la planta se encuentra en suelos arcillosos, bajo cultivo responde mejor en suelos francos con suficiente materia orgánica [69].

La cosecha del material vegetal se realiza en el periodo de plena floración de la planta, puesto que se obtiene la mayor producción de aceite esencial. El primer corte debe realizarse cuatro meses después de la siembra y los cortes subsiguientes entre los 75 y 90 días después del anterior. El corte de las plantas debe realizarse 5 cm por encima del suelo [69].

En cuanto a la composición química de los AE de *Tagetes lucida*, el estragol (**Figura 5**) es principal constituyente de las esencias (**Tabla 4**), posee un olor agradable, reminiscente a anís y se emplea en la industria de fragancias y sabores [68,71]. Otros constituyentes importantes son el *trans*-anetol y el metil eugenol.

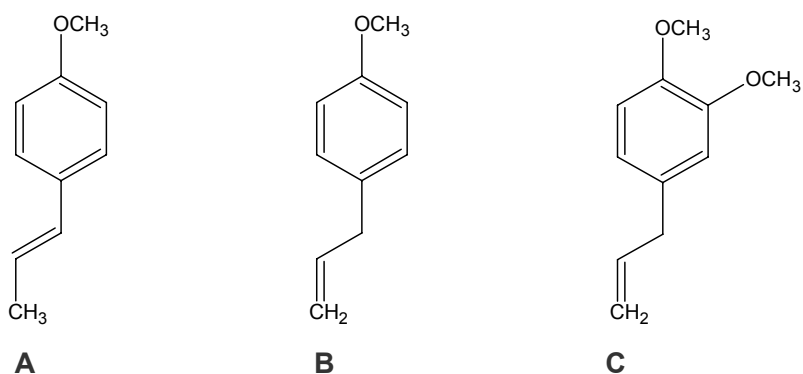


Figura 5. Estructuras de los componentes mayoritarios presentes en el AE de *Tagetes lucida cav spp.* **A.** Anetol; **B.** Estragol y **C.** Metil eugenol.

Tabla 4. Principales compuestos presentes en el AE de la especie *Tagetes lucida* de diferentes orígenes.

Origen	Compuestos mayoritarios
Guatemala	Estragol (33.9 %), anetol (23.8 %), metil eugenol (24.3 %) [72]
Italia	Flores: La esencia contenía principalmente estragol (93.8 %) y el <i>trans</i> - β -cariofileno (2.1 %) [71]. Hojas: Se observó una disminución en el contenido de estragol (78.2%) y la presencia de metil eugenol (3.6%) [71].
Costa Rica	Hojas y tallos: Estragol (97.1 %), mirceno (1.8 %), (<i>E</i>)- β -ocimeno (0.2 %), linalol (0.2 %), germacreno D (0.2 %) [68]. Flores: Estragol (95.4 %), mirceno(1.2 %), (<i>E</i>)- β -ocimeno (0.2 %), linalool (0.2 %), germacreno D (0.5 %), 5-metil-5-(3-buten-1-inil)-2,2-bitienil (0.1 %), 5-(3-penten-1-inil)-2,2-bitienil (0.8 %) [68].

Los extractos de *Tagetes lucida* en ensayos *in vitro* mostraron actividad antibacterial contra *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* y *Shigella flexneri*, y contra bacterias Gran-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*) causantes de afecciones respiratorias [73,74].

Por otro lado, en los extractos metanólicos de *Tagetes lucida* han sido identificados diferentes flavonoides, glucósidos y ácidos fenólicos, tales como pauletin, isorhamnetin, quercetagenini 3-O-arabisonil galactósido y isorhamnetin 7-O-glucósido [75], quercetagenini (3,4-dimetil éter 7-O- β -D-glucopiranosido), el ácido 3-(2-O- β -D-glucopiranosido-4-metoxifenil) propanoico y su metiléster [76]. Los autores destacaron en cada uno de los trabajos, la importancia de las propiedades antioxidantes de estos compuestos.

Entre los compuestos aislados de los extractos metanólicos de *Tagetes lucida* que han presentado actividad biológica contra bacterias Gran-positivas y Gran-negativas, se encuentran: el 7,8-dihidroxi-6-metoxicumarina, el 7,8-dihidroxycumarina y el esculetina, *i.e.* 6,7-dihidroxycumarina, este último mostró una interesante actividad contra *Vibrio cholerae*, principal bacteria

contaminante del agua. Asimismo, la escoparona, i.e. 6,7-dimetoxicumarina y la 6,7-dimetoxi-4-cumarina, presentaron actividad antifúngica contra *Trichophytum mentagrophytes* y *Rhizotonia solani* [77]. Además, los extractos de acetato de etilo, mostraron actividad antimicrobiana contra *Shigella boydii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea* siendo el compuesto bioactivo la 5,7,4'-trimetoxiflavona [78].

1.5 *Lippia dulcis*

La *Lippia dulcis* pertenece a la familia *Verbenaceae* y se conocida también como *Phylla dulcis* Moldenke, *Phylla scaberrima* (Juss.) Moldenke y *Zapania scaberrima* Juss. ex Pers [1].

Nativa de Mesoamérica e introducida en Suramérica y el Caribe, se llama comúnmente "Hierba dulce", "Orozuz" o "Salvia santa". Crece en los bosques o a orillas de riveras y ríos, en terrenos abiertos y a alturas de hasta 1800 msnm [4].

La planta *Lippia dulcis* es una hierba arrastradera, perenne, muy aromática, que crece entre 40 y 60 cm de alto; posee tallos estrigosos, hojas opuestas en pecíolos, finamente dentadas, rugosas en la superficie y de sabor dulce al masticarla (Figura 6) [4].



Figura 6. Planta de *Lippia dulcis* (Trevir.) Moldenke.

La *Lippia dulcis* ha sido empleada en medicina tradicional. En Guatemala, el cocimiento de las hojas se usa para el tratamiento de afecciones digestivas, e.g. diarrea, dolor de estomago, estreñimiento, gastritis, parásitos intestinales y vómitos, enfermedades respiratorias, e.g. asma, bronquitis, gripe, tos y desórdenes menstruales. A las hojas y tallos se les atribuyen propiedades diaforéticas, diuréticas, espasmolíticas, estimulantes, expectorantes, sedantes, sudoríficas, tónicas y edulcolantes [4,79]. En México, se usa como emenagogo, en forma de baños vaginales, se le atribuyen propiedades abortivas y calmantes y ha sido reconocida como una planta con propiedades edulcorantes [4,79].

Los primeros estudios sobre esta especie vegetal fueron realizados por Compadre *et al.* [80], quienes aislaron, por extracción con solvente, el (+)-hernandulcin y su estereoisómero el (-)-*epi*-hernandulcin (**Figura 7**), sesquiterpenos 1000 veces más dulces que la sacarosa, no tóxicos, no calóricos, pero poco solubles en agua; sin embargo, esta última propiedad del hernandulcin, ha sido superada a través de su biotransformación utilizando el hongo *Glomerella cingulata* [81].

En un estudio complementario [82], Compadre determinó que el hernandulcin si se encuentra presente en el AE de *Lippia dulcis*, que es termolábil y se descompone en dos cetonas, a saber: 6-metil-5-hepten-2-ona y 3-metil-2-ciclohexen-1-ona. Además, afirmó que de existir potencial uso de este edulcorante sería más rentable la industrialización del producto de la síntesis que la de la esencia, debido a que el hernandulcin sólo representa el 0.004% en peso de la hierba seca [82].

La inestabilidad térmica del hernandulcin, junto con su ligero sabor amargo, han impedido su producción comercial como sustituto de la sacarosa.

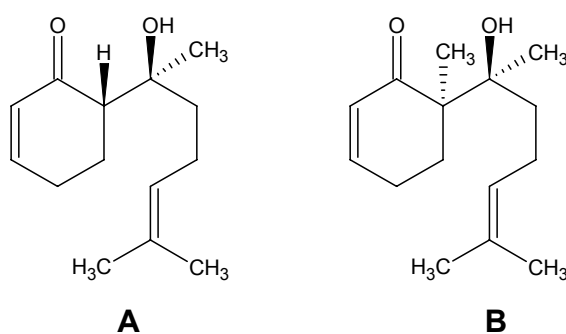


Figura 7. Sesquiterpenos aislados de la especie *Lippia dulcis*. **A.** (+)-Hernandulcin; **B.** (-)-*epi*-Hernandulcin.

El AE de *Lippia dulcis* aislado por Compadre *et al.*, se caracteriza por el alto contenido de monoterpenos, siendo el alcanfor el componente mayoritario de la esencia [79]. El alcanfor es tóxico, presenta una dosis letal media (DL₅₀) de 50 mg/kg y podría ser la causa del poder abortivo atribuido a la planta [79]. Otras investigaciones, sobre la composición química del AE de *Lippia dulcis*, aislado de material vegetal proveniente de diferentes partes de América tropical, se muestran en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Composición química de los AE de *Lippia dulcis* de diferentes orígenes.

Origen	Compuestos mayoritarios
México	Alcanfor (53.24%), canfeno (15.99%), limoneno (7.47%), <i>trans</i> - β -cariofileno (3.00%), α -copaeno (1.6%), 6-metil-5-hepten-2-ona (0.51%) [79].
Panamá	De las flores y hojas (+)-4 β -hidroxihernandulcin, y un glucósido fenilpropanoide, amargo [84].
Puerto Rico	(+)-Hernandulcin (36.0%), (-)- <i>epi</i> -hernandulcin (22.0%), 6-metil-5-hepten-2-ona (2.77%), 3-metil-2-ciclohexen-1-ona (2.81%) [83].
Colombia	Material vegetal colectado de la parcela demostrativa del Complejo Agroindustrial CENIVAM, Bucaramanga - Santander. <i>trans</i> - β -Cariofileno (10.35%), δ -cadieno (8.84%), α -copaeno (8.35%), biciclogermacreno (7.90%), 6-metil-5-hepten-2-ona (3.99%), 3-metil-2-ciclohexen-1-ona (3.37%) [85].

De los extractos etanólicos de las partes aéreas de *Lippia dulcis*, fueron aislados e identificados 9 nuevos sesquiterpenos, a saber: (+)-4 β -hidroxihernandulcin [84], lippidulcin A, *epi*-lippidulcines A-C [86,87], peroxi-lippidulcines A-C y peroxi-*epi*-lippidulcin B [87]; además, se identificaron cinco flavonoides: cirsimaritin, salvigenin, eupatorin, 5-hidroxi-6,7,3-4-tetrametoxiflavona y 5,3-dihidroxi-6,7,4,5-tetrametoxiflavona, y tres glucósidos feniletanoides. Algunos de estos compuestos mostraron actividad antioxidante [86].

Los extractos etanólicos de *Lippia dulcis*, presentaron actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* y *Shigella flexneri* [88] y actividad anti-inflamatoria, con un efecto más intenso que el producido por el medicamento *Indometacina* en las mismas dosis [89].

La actividad antiproliferativa en células humanas de melanomas, adenocarcinomas gástricos y carcinomas uterinos, de diferentes sustancias aisladas de esta especie vegetal, fue evaluada por Abe y colaboradores [90]. Se observó que el sesquiterpeno (+)-animol y los glucósidos acteosido e

isoacteosido presentaron alta actividad antiproliferativa con valores de concentración inhibitoria media (CI₅₀) comprendidos entre 10-16 µM [90].

1.6 *Ocimum basilicum*

La especie *Ocimum basilicum* es una planta herbácea, rústica, arbustiva, vivaz; de tallo erecto, cuadrangular y ramoso, que crece de 30 a 90 cm de altura; posee hojas opuestas, largamente pecioladas, ovales, enteras o ligeramente dentadas y flores blancas o rosadas (**Figura 8**) [33]. Es una planta muy aromática que desprende una fragancia suave a clavo o limón. Pertenece a la familia de las Labiadas (Labiatae) y es nativa de Persia y Asia tropical, aunque ha sido naturalizada en toda América tropical y las Antillas. En Colombia se conoce con el nombre vernáculo de albahaca [33].



Figura 8. Planta de *Ocimum basilicum*.

Se utiliza como carminativo, diurético, laxante y para el tratamiento de gastralgias, resfriados, dolor de cabeza, cálculos renales e inflamación de las vías urinarias [33].

Se estima, que en el mundo se producen más de 42 toneladas de aceite esencial de *Ocimum basilicum*, conocido comúnmente como “Sweet Basil” [91], que se caracteriza por su alto contenido de estragol y linalool [92]. Además, existe una gran variedad de especies *Ocimum sp.* que, aunque son morfológicamente similares, producen AE ricos en otros componentes o mezclas de éstos; así, es posible distinguir cinco variedades de la esencia, dependiendo de su origen geográfico [92-100]:

- *European Basil Oil* es considerado como el de más alta calidad, contiene linalool y estragol, en relación 2 ó 3:1. Otros constituyentes importantes, pero presentes en bajas proporciones, son 1,8-cineol, eugenol, α -terpineol, y geraniol;
- *Egyptian Basil Oil* es similar al anterior, excepto que la relación linalool-estragol es menor;
- *Reunion o Comoro Basil Oil* posee casi exclusivamente estragol;
- *Bulgarian Basil Oil* cuyo componente mayoritario es el cinamato de metilo;
- *Java Basil Oil* que se caracteriza por un alto contenido de eugenol.

En 1990 Charles y Simon [101], compararon el rendimiento del AE de las hojas y flores en varias especies de *Ocimum*, entre ellas, *O. basilicum*, utilizando hidrodestilación (HD) y arrastre con vapor (SD). Se encontró que el contenido más alto de AE se halla en las flores y que los rendimientos alcanzados por ambas técnicas de extracción son comparables. En cuanto a la calidad del aceite, la relación linalool : metilchavicol es mayor en las flores que en las hojas.

Aunque convencionalmente las muestras de AE para el análisis fitoquímico se obtienen por SD y HD, el material vegetal puede ser extraído usando CO₂ bajo condiciones críticas de presión y temperatura [102]. Lachowicz y su grupo de trabajo, en 1996 observaron que los extractos de *O. basilicum*

obtenidos con CO₂ eran de calidad organoléptica más baja que la de los AE [96,97].

El secado, como parte del proceso post-cosecha, en algunas especies influye, de manera positiva, mejorando el rendimiento del AE, pero pocas veces la calidad del mismo. Estudios realizados en Reino Unido, sin embargo, evidenciaron que el secado de las hojas de *Ocimum basilicum*, sí afectaba la calidad de la esencia cambiando la proporción en que se encontraban sus componentes principales [94].

Aunque existen diversos estudios sobre la actividad antibacterial y antifúngica de los AE de *O. basilicum*, la información publicada es difícil de comparar dado el polimorfismo de la especie y la variabilidad en la composición química de los aceites. Además, el tipo de microorganismos seleccionados, el modo de exposición y los métodos de evaluación de la bioactividad varían entre los diferentes trabajos publicados [103].

El AE de *O. basilicum* con alto contenido de estragol ha presentado actividad antioxidante en el ensayo del ácido tiobarbitúrico, así como actividad antibacterial, principalmente, contra *Staphylococcus aureus* [63] y ha sido activo contra los hongos *Aspergillus niger*, *A. ochraceus* y *Fusarium culmorum* [66].

En cuanto a las condiciones agro-ecológicas de cultivo, la especie *Ocimum basilicum* se desarrolla adecuadamente en terrenos con plena o parcial exposición a la radiación solar y en ambientes con temperaturas entre 18 y 20°C. La propagación del material vegetal se puede realizar utilizando semillas o de forma vegetativa mediante esquejes, plantados a 0.6 m entre surcos y 0.5 m entre sitios, en suelos permeables con alto contenido de materia orgánica [104].

Para favorecer el crecimiento arbustivo de la planta, las puntas de las ramas se cortan cuando empiezan a formarse los capullos florales; puesto que la planta se seca después de la floración, conviene segar el cultivo durante este estado de desarrollo [104].

1.7 ACEITES ESENCIALES. GENERALIDADES.

1.7.1 Definición

Los términos aceite esencial (AE) o esencia son utilizados para referirse a las sustancias líquidas, aromáticas y volátiles, de características lipofílicas, que se obtienen a partir de diferentes partes de las plantas a través de métodos físicos, e.g. destilación con vapor, y que llevan en sí misma la huella, olor y sabor, del material vegetal del que proceden. Los AE poseen una química compleja, aunque generalmente consisten en una mezcla de un grupo heterogéneo de sustancias orgánicas: hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, etc., de peso molecular menor de 400 Da y presión de vapor suficientemente alta para volatilizarse a temperatura ambiente; son derivadas del metabolismo secundario de las plantas y asociadas o no a otros componentes [49,105-107].

1.7.2 Composición química

La mayoría de los componentes, que hacen parte de los AE, pertenece a una familia de sustancias químicas llamada “terpenos” o “terpenoides”, e.g. limoneno, carvona, α -humuleno, etc., cuya característica estructural, que los distingue de otros productos naturales, es la unidad isopreno C₅ en el esqueleto hidrocarbonado (**Figura 9**). Esta observación fue hecha por el químico alemán Otto Wallach en 1887 y se conoce como **regla de isopreno** [108,109]. Wallach en 1910 recibió el premio Nobel de Química, por su

contribución al desarrollo de la química orgánica e industrial en el campo de compuestos acíclicos [108].

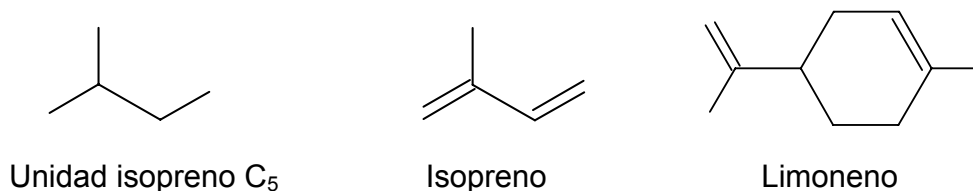


Figura 9. Unidad estructural característica de los terpenoides.

El vocablo “*terpene*”, en español, “terpeno”, fue introducido en 1866 por Kekulé, para expresar el carácter olefínico de los hidrocarburos contenidos en el aceite de trementina (*turpentine oil*), indicando a través del sufijo “ene” la presencia de enlaces dobles [109,110]; por otro lado, los terpenos funcionalmente sustituidos, e.g. linalool, geraniol, farnesol, entre otros, se conocen como terpenoides o isoprenoides. Ocasionalmente, el término “terpeno” se utiliza para referirse a cualquier terpenoide.

Con base en el número de unidades (C₅)_n presentes en el esqueleto hidrocarbonado, los terpenos y sus análogos sustituidos se clasifican como monoterpenoides (C₅)₂, sesquiterpenoides (C₅)₃, diterpenoides (C₅)₄, sesterpenoides (C₅)₅, triperpenoides (C₅)₆, y tetraterpenoides (C₅)₈ (**Figura 10**); con base en la forma de sus estructuras moleculares también, pueden ser clasificados como terpenoides de cadena abierta o cíclicos de uno, dos o más anillos.

Otra clase de sustancias químicas presentes en los AE son los fenilpropanoides y sus análogos sustituidos, e.g. anetol, metil-eugenol, safrol, etc., los cuales se caracterizan por poseer en su estructura un grupo propilénico enlazado a un anillo de benceno (**Figura 11**).

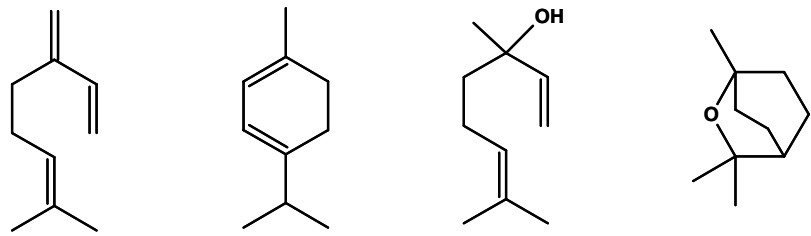
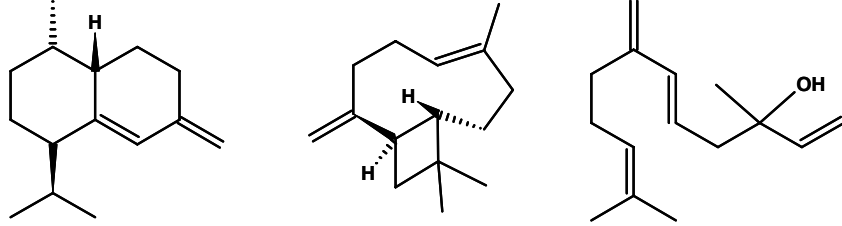
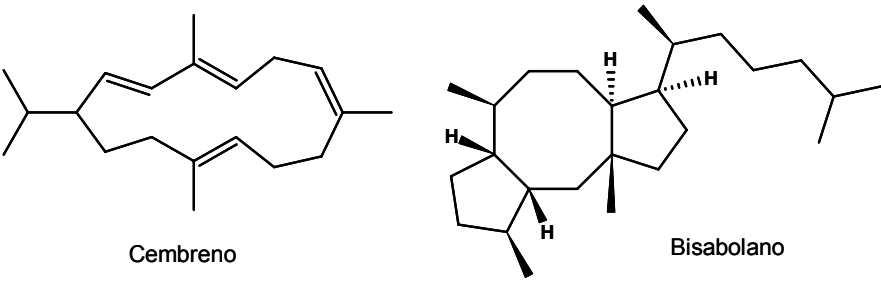
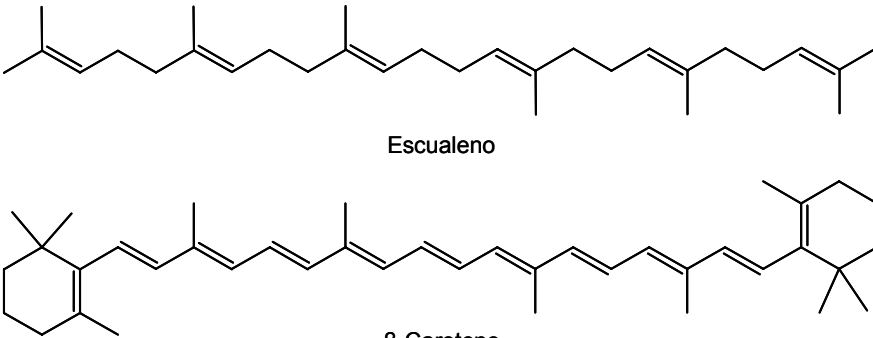
Monoterpenos	 <p>Mirceno α -Terpineno Linaool Eucaliptol</p>
Sesquiterpenos	 <p><i>trans</i>-Muurola-4(14)-5-dieno <i>trans</i>-β-Cariofileno Nerolidol</p>
Diterpenos y Sesterpenos	 <p>Cembreno Bisabolano</p>
Triterpenos y Tetraterpenos	 <p>Escualeno β-Caroteno</p>

Figura 10. Algunos ejemplos de terpenos de cadena abierta y cíclicos funcionalmente sustituidos.

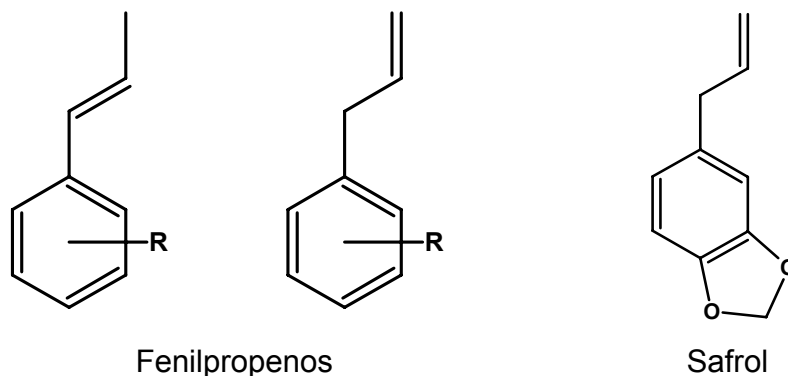


Figura 11. Unidad estructural característica de los fenilpropanoides.

La variedad de formas de acuerdo cómo se pueden unir distintas unidades isoprénicas, origina una amplia diversidad de estructuras terpénicas, sin embargo, desde el punto de vista biosintético estas sustancias proceden, principalmente, de la ruta del mevalonato y xilosa fosfato, mientras que, los fenilpropanoides derivan de la ruta del ácido shiquímico [108,109,111].

Respecto a la formación y evolución de los aceites esenciales en las plantas es necesario tener en cuenta algunos aspectos externos, que pueden afectar la composición química de las esencias de manera cualitativa y cuantitativa, entre ellos, se pueden destacar los siguientes [106,112-114]:

- Condiciones geobotánicas: clima, altitud, tipo de suelo, pluviosidad;
- Labores culturales: uso de fertilizantes, abonos y pesticidas;
- Parte y estado de desarrollo fenológico de la planta;
- Época de recolección;
- Modo de almacenamiento y manejo del material vegetal: fresco, seco, fermentado, tratamiento postcosecha; y
- Modo de obtención del aceite: destilación o expresión.

1.7.3 Biogénesis. Terpenoides y fenilpropanoides.

En contraste con las rutas metabólicas primarias, las cuales sintetizan, degradan e interconvierten compuestos comúnmente encontrados en todos los organismos, existen partes del metabolismo concernientes a compuestos que tienen una distribución limitada en la naturaleza. Tales compuestos, llamados metabolitos secundarios, son encontrados en organismos específicos, o grupos de organismos, y son una expresión de la individualidad de las especies [111].

En la mayoría de los casos, la función y efectos benéficos de los metabolitos secundarios no están aún completamente establecidos [111]. En algunos casos, son producidos por razones fácilmente apreciables, e.g. como materiales tóxicos para la defensa contra predadores, como atrayentes volátiles y agentes colorantes para atraer o advertir a otras especies [109,111].

Las unidades más importantes empleadas en biosíntesis de metabolitos secundarios son derivadas de los intermediarios de acetil coenzima A (acetil-CoA), ácido shiquímico, ácido mevalónico y 1-deoxi-D-xilosa-5-fosfato. Estos se utilizan, respectivamente, durante las rutas biosintéticas del acetato, shiquimato, mevalonato y xilosa fosfato [111].

Los compuestos terpenoides pueden ser derivados principalmente de dos rutas biosintéticas, a través de los intermediarios ácido mevalónico (MVA) o 1-deoxi-D-xilosa-5-fosfato [111]. En la **Figura 12** se muestran los principales bloques constructores que dan origen a la mayoría de los metabolitos secundarios presentes en un AE.

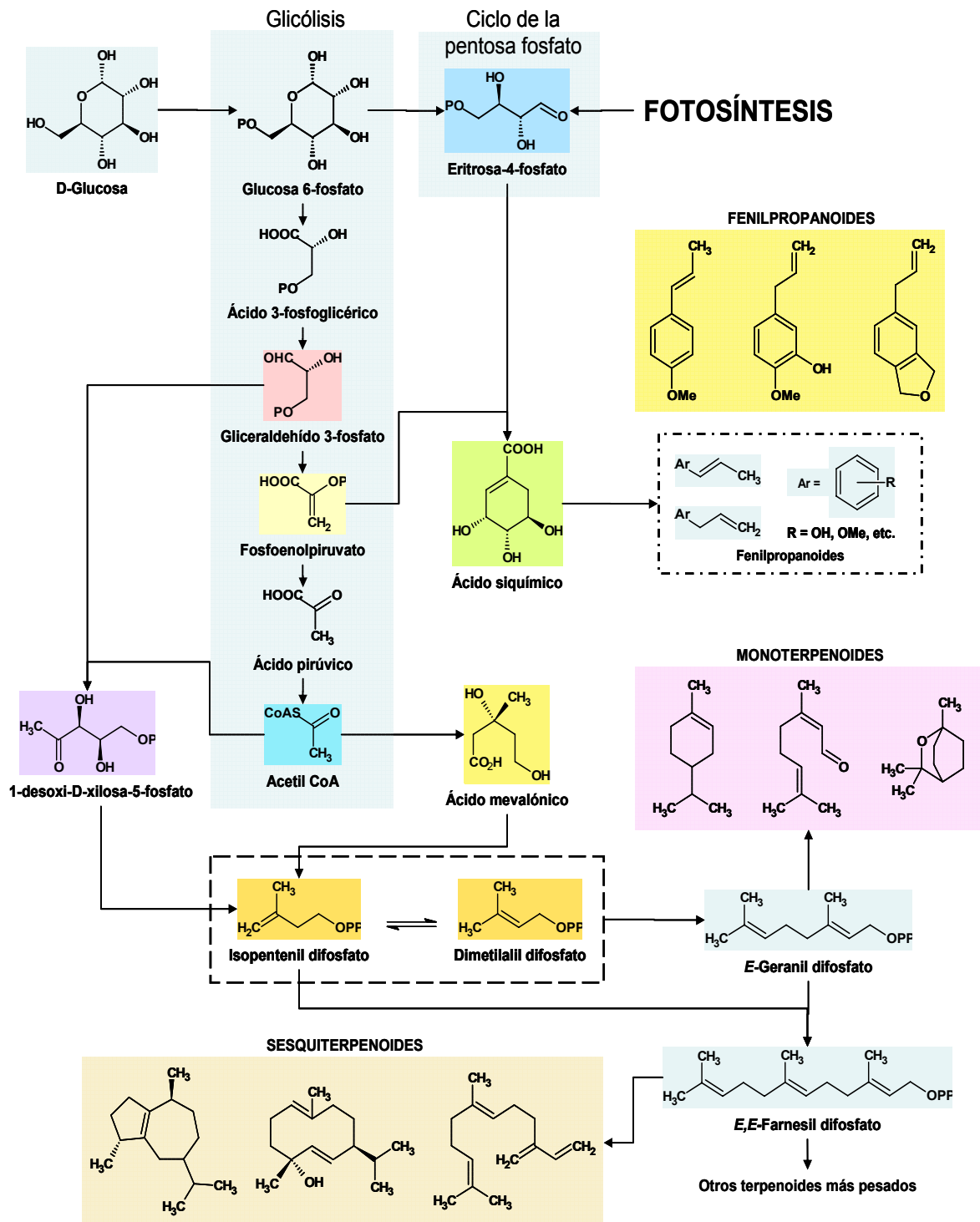


Figura 12. Biogénesis de los metabolitos secundarios presentes en el AE.

Por varios años, las primeras etapas de la ruta mevalonato se consideraban como rutas comunes para todo el rango de derivados de terpenoides; sin embargo, se ha descubierto que existe una ruta alternativa, vía deoxixilulosa fosfato, y que esta ruta es probablemente más ampliamente utilizada en la naturaleza que la ruta mevalonato [111]. Esta ruta es también referida como *la ruta independiente del mevalonato* o *metileritritolfosfato*. No obstante, ambas rutas metabólicas dan origen al isopentenil difosfato (IPP) y el dimetilalil difosfato (DMAPP) [111].

Las propiedades químicas del IPP y DMAPP son complementarias, de forma tal, que pueden reaccionar entre sí para formar un enlace carbono-carbono que conecta las dos unidades isopreno del (E)-geranil difosfato [108,111]. El (E)-geranil difosfato, al igual que el DMAPP, puede actuar como un agente alquilante frente a una molécula de IPP y formar el (E,E)-farnesil difosfato [108,111]. La hidrólisis de estos ésteres, junto con sucesivas isomerizaciones y reacciones intramoleculares, originan la vasta gama de estructuras terpénicas [108].

Por otro lado, el ácido shiquímico se produce por la combinación de fosfoenolpiruvato, un intermediario de la ruta glicolítica, y eritrosa 4-fosfato, un intermediario de la ruta de la pentosa fosfato [111]. A partir del ácido shiquímico, se obtiene una gran variedad de fenoles y derivados del ácido cinámico, e.g. lignanos, cumarinas, fenilpropanoides, etc. [111].

1.7.4 Fuentes y ubicación de los AE en la planta

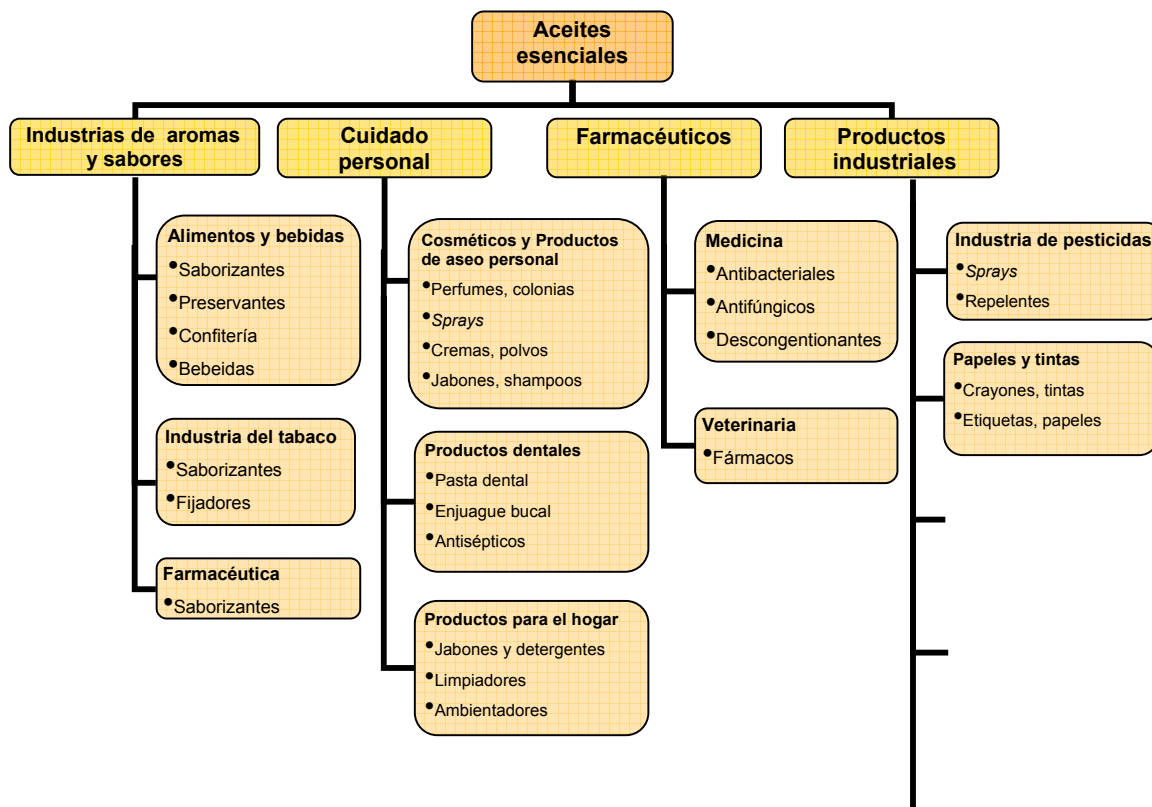
Las plantas aromáticas son la principal fuente de AE, éstas pertenecen generalmente a las familias Anacardiaceae, Apiaceae, Asteraceae, Chenopodiaceae, Cupressaceae, Gentianaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Pinaceae, Piperaceae, Poaceae, Rutaceae, Verbenaceae y Zingiberaceae [115].

Los aceites esenciales se acumulan en estructuras secretoras especializadas ubicadas en diferentes partes de la anatomía de las plantas, e.g. hojas, flores, tallos, raíces, corteza, frutos y semillas. De esta manera, en plantas como albahaca, menta y salvia (*Ocimum basilicum*, *Mentha sp.*, y *Salvia officinalis*, fam. Lamiaceae) los AE se acumulan en los vellos glandulares de los tallo y las hojas; en el jazmín (*Jasminum grandiflorum* L., fam. Oleaceae) y las rosas (*Rosa sp.*, fam. Rosaceae) se concentran en las flores; en el cedro (*Cedrus deodora* L., fam. Pinaceae) y el sándalo (*Santalum album* L., fam. Santaleaceae) están presentes en la madera; en el cinamón (*Cinnamomum zeylanicum* Nees., fam. Lauraceae) está contenido en la corteza y las hojas; en el jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe, fam. Zingiberaceae) se localizan en el rizoma, mientras que, en el sasafrás (*Sassafras officinale* Nees et Eberm., fam. Lauraceae) y el vetíver (*Vetiveria zizanoides* Nash., fam. Poaceae) están presentes en las raíces. Por otro lado, en los cítricos como la naranja, la bergamota y el limón (*Citrus aurantium* L. *Citrus bergamia* Risso y *Citrus limon* Burmann fil., fam. Rutaceae), así, como en el anís y el hinojo (*Pimpinella anisum* L. y *Foeniculum vulgare* Mill., fam. Apiaceae), los AE están contenidos en el pericarpio de los frutos [106,107,114,116].

1.7.5 Aplicaciones

Los aceites esenciales tienen un rango de aplicaciones muy amplio. Éstos se usan en las industrias de alimentos, farmacéutica, cosmética y química, siendo incorporados en productos de consumo, e.g. jarabes, bebidas no alcohólicas, aderezos, mermeladas etc., o de uso externo, e.g. cremas, perfumes, jabones, geles; como saborizantes, aromatizantes y enmascarante de olores [148-150].

En la **Figura 13**, se resumen algunos de los usos más importantes de los AE en diferentes áreas de las industrias de aromas y sabores, cuidado personal,



industrias farmacéutica y química.

Figura 13. Principales aplicaciones de los AE.

Las aplicaciones industriales y terapéuticas de los AE dependen principalmente de su composición química, calidad, propiedades fisicoquímicas, actividad biológica y propiedades organolépticas, así como del grado de refinamiento de la esencia. Por tal motivo, resulta de vital importancia realizar controles de calidad a los AE y estudiar su composición en función de condiciones geobotánicas de su cultivo.

Cauchos y plásticos

- Desodorantes
- Cauchos y plásticos

Industria textil

- Desodorantes
- Tapicería

1.7.6 Tratamiento post-cosecha

Una vez realizada la cosecha de las partes pertinentes del material vegetal, se deben llevar a cabo las siguientes labores [106,117]:

- **Limpieza:** Se realiza tan pronto se recoge la cosecha, consiste en un lavado con agua fresca y limpia;
- **Selección:** En esta parte se eliminan las partes vegetativas afectadas durante la cosecha o que presenten algún problema fitosanitario en alguno de sus órganos;
- **Secado:** Es el proceso más importante en el tratamiento post-cosecha, sus principales objetivos son [106, 117]:
 - Inhibir la destrucción enzimática, para evitar la descomposición del material vegetal;
 - Estabilizar el color, el olor, el sabor, la textura y la composición química;
 - Reducir fletes, costos de embalaje y almacenaje;
 - Reducir tiempos y costos de destilación.
- **Empacado:** El material vegetal previamente desecado, se empaca en sacos de polipropileno o fibra.
- **Almacenamiento:** El material vegetal en fresco se almacena en cuartos fríos con temperaturas entre 2 y 40°C, mientras que el material vegetal deshidratado se almacena en lugares frescos y secos, protegido del sol y del agua. El contenido de humedad cuando el material está almacenado no debe ser mayor del 8 ó 10%. [106, 117].

1.8 MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

1.8.1 Destilación

La destilación es uno de los procedimientos más empleados para la obtención de AE; industrialmente, la destilación se realiza en tres modos, a saber: destilación con agua o hidrodestilación, destilación con agua y vapor, y destilación con vapor directo. El esquema de un equipo básico para la obtención de aceites esenciales por destilación se observa en la **Figura 14**.

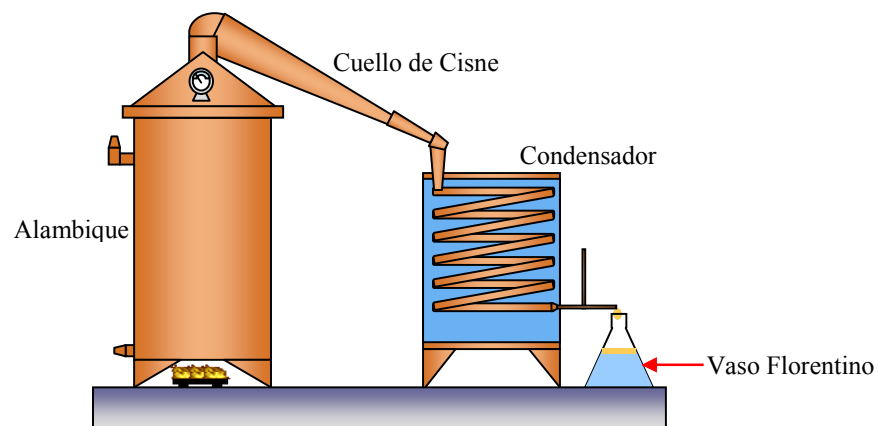


Figura 14. Principales partes de un equipo de extracción de aceites esenciales.

- **Alambique:** Es el componente principal del equipo de destilación, puesto que el material vegetal se coloca en este sitio y se lleva a cabo el proceso de destilación. Las condiciones de operación, tales como presión, temperatura, flujo de vapor y altura del lecho de material vegetal son las variables del proceso más importantes a controlar [118].

- **Cuello de Cisne:** Es la parte más importante del equipo de destilación, porque comunica el alambique con el condensador. Algunos de los factores importantes a considerar durante su construcción son la forma y las dimensiones; ya que, deben reducirse al mínimo las posibilidades de re-condensación de vapores dentro del alambique y permitir su rápida transferencia al condensador del sistema [106].
- **Condensador:** Es parte del sistema, donde ocurre el cambio de estado de agregación, de gaseoso a líquido, de la mezcla de vapor de agua y AE. Entre los diferentes tipos de condensadores, el condensador de espiras es el más utilizado [106].
- **Recipiente recolector o Florentino:** La mezcla líquida, agua y aceite esencial, que eluyen del condensador, se colectan en un recipiente conocido como vaso Florentino, en donde el AE se separa por decantación [106]. El diseño del vaso Florentino depende de si el AE es más o menos denso que el agua.

1.8.2 Hidrodestilación

En la hidrodestilación, el material vegetal se sumerge en el agua. La HD consiste en llevar a estado de ebullición el agua, que penetra los tejidos de la planta y disuelve una parte del aceite esencial presente en las estructuras contenedoras; esta disolución acuosa, se difunde a través de las membranas de las células y el aceite se vaporiza inmediatamente desde la superficie. Este proceso continúa hasta que se remueve todo el aceite contenido en las glándulas de la planta, de tal manera, que los vapores generados puedan ser condensados y colectados [106].

Un factor de especial importancia es el calentamiento. Si el alambique se calienta con fuego directo, el agua presente en el alambique debe ser suficiente para llevar a cabo toda la destilación y es necesario evitar el

sobrecalentamiento y la carbonización del material vegetal [106]. Esta metodología requiere de tiempos de calentamiento largos y adición de agua en grandes cantidades, lo cual incrementa el costo y el tiempo de la destilación. Se precisa de esta técnica para el aislamiento de esencias florales, e.g. ylang-ylang y rosas (**Figura 15**) [114].

1.8.3 Destilación con agua-vapor

Es un método mejorado, donde la carga (el material vegetal) se coloca sobre una malla que sirve como un fondo falso y no permite el contacto directo con el agua. Una vez iniciado el proceso, el agua dentro del alambique se lleva hasta ebullición y el vapor generado *in situ* pasa a través del material vegetal. Consecuentemente, se evita que el material vegetal se queme ya que la cámara de agua lo protege del calentamiento directo. Es importante que el vapor de agua generado pase a través de la carga uniformemente para garantizar la extracción completa de la esencia (**Figura 15**) [106,114].

1.8.4 Destilación por arrastre con vapor

Es el método más usado a nivel industrial, permite obtener AE con buenos rendimientos, y, además, se pueden procesar grandes cantidades de material vegetal [118]. Este método es una destilación de la mezcla de dos líquidos inmiscibles y consiste en una vaporización a temperaturas inferiores a las de ebullición de cada uno de los componentes volátiles por efecto de una corriente directa de vapor de agua. Los vapores que salen del cuello de Cisne se enfrían en un condensador donde regresan a la fase líquida, los dos productos inmiscibles, agua y AE y, finalmente, se separan en un vaso Florentino (**Figura 15**) [106].

En la **Tabla 6** se relacionan algunas de las ventajas y desventajas más significativas de los tres modos de destilación mencionados.

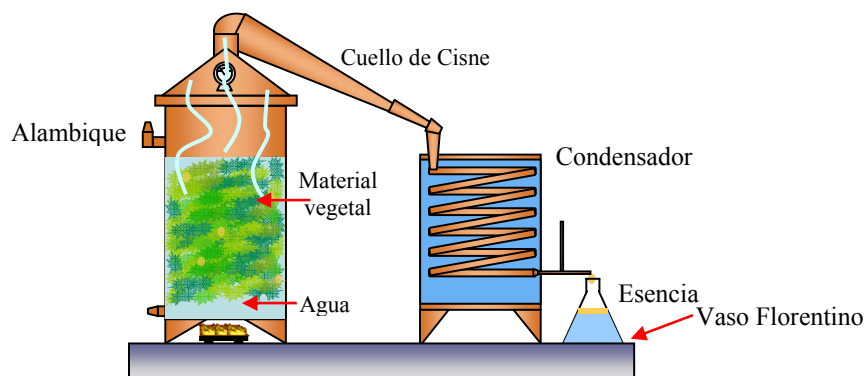
Tabla 6. Ventajas y desventajas de las diferentes técnicas de obtención de los AE.

Técnica	Ventajas	Desventajas
Hidrodestilación	Configuración simple y económica; Método ampliamente utilizado.	Calentamiento difícil de controlar; El sobrecalentamiento puede quemar el material vegetal, produciéndose un aceite de baja calidad; Mayor costo desde el punto de vista energético; Períodos de extracción más largos; Parcial solubilización de los compuestos más polares.
Destilación con agua y vapor	La muestra no es calentada directamente; Tiempos de extracción medios; Configuración simple y económica.	Riesgo de la extracción incompleta; El tiempo de extracción está limitado por el volumen de agua utilizado
Destilación con vapor seco	La muestra no se calienta directamente. Tiempos de extracción más cortos.	Las temperaturas altas pueden causar la hidrólisis de los ésteres, y la polimerización y resinificación de los terpenos presentes en el AE. Necesita infraestructura más costosa.

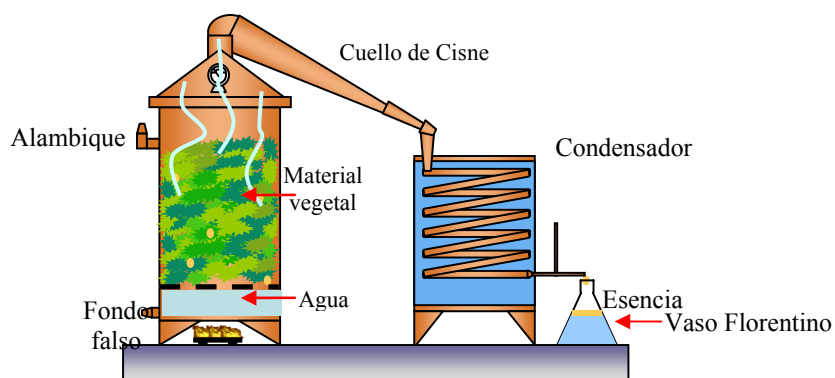
1.8.5. Hidrodestilación asistida por la radiación de Microondas.

La técnica (MWHHD) fue patentada por J. Paré *et al.* [119,120]. En ésta, el material vegetal se sumerge al agua (aproximadamente una tercera parte del material) en un equipo de destilación tipo *Clevenger* [121,122] y se somete a la acción de la radiación de microondas. El agua se calienta hasta ebullición, se producen vapores que atraviesan las estructuras celulares y permiten la evaporización del AE contenido en ellas. Luego, el AE arrastrado por el vapor de agua, se condensa y se colecta. Los AE se encuentran libres de los productos de combustión y de otros contaminantes, por tal razón, este método favorece especialmente la obtención de las esencias de interés en la perfumería [114, 123].

A. Hidrodestilación.



B. Destilación agua-vapor.



C. Destilación con vapor seco

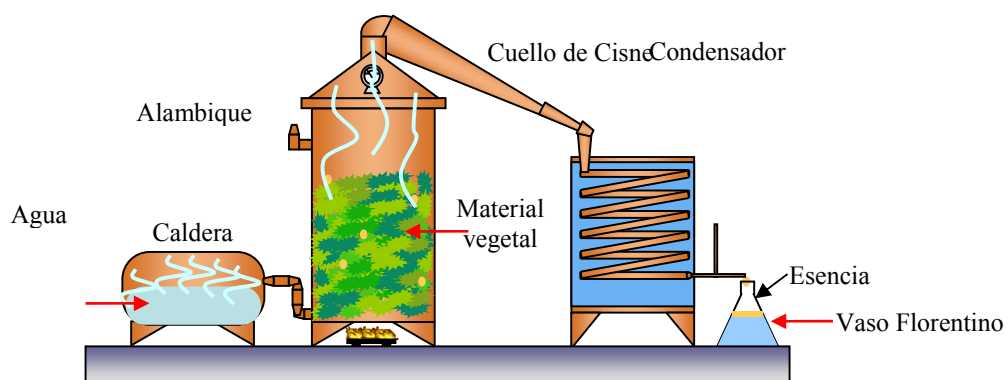


Figura 15. Modos de destilación para la obtención de AE. **A.** Hidrodestilación, **B.** Destilación agua-vapor y **C.** Destilación con vapor seco.

1.8.6 Expresión

La expresión es un método simple por medio del cual es posible obtener un AE de características muy cercanas al producto natural, porque no se realizan tratamientos térmicos. Sin embargo, esta técnica extractiva sólo es aplicable a materiales vegetales que contienen la esencia, en gran contenido, en las células superficiales, e.g. el pericarpio de los frutos cítricos. Este proceso puede ser efectuado manualmente o por medios mecánicos “*cold pressing*” e involucra la perforación de las glándulas que contienen el aceite en el pericarpio del fruto, la expresión mecánica y el lavado con agua. La emulsión agua-aceite es impura debido a la presencia de sustancias proteicas y mucilaginosas; entonces, la esencia debe ser separada por centrifugación [106,114].

1.9 ANÁLISIS Y CONTROL DE CALIDAD DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los AE son mezclas fragantes cuyas calidad y precio en el mercado están determinado principalmente por su composición química, contenido de las sustancias de interés, propiedades fisicoquímicas y organolépticas [115]. De esta manera, el control de calidad de un aceite esencial tiene como objetivo garantizar que la esencia posee determinadas características analíticas [8].

En la **Tabla 7**, se reportan los principales parámetros analíticos empleados para establecer la calidad de un aceite esencial.

Tabla 7. Parámetros analíticos empleados para establecer la calidad de los AE.

Características organolépticas	Determinaciones físicas	Índices químicos	Características cromatográficas
Olor	Densidad	Acidez	Perfil cromatográfico
Color	Índice de refracción	Éster	Índices de retención
Apariencia	Solubilidad	Saponificación	Identificación por GC-MS
Textura	Poder rotatorio	Fenoles	Cuantificación de los componentes principales
	Punto de congelación	Acilo	
	Punto de inflamación		
	Rango de destilación		Adulteraciones

Las determinaciones analíticas para establecer la identidad y pureza de los materiales fragantes involucran el empleo de métodos fisicoquímicos e instrumentales [49,106,107,116].

Los métodos fisicoquímicos se caracterizan por su tiempo de análisis corto e incluyen la determinación de propiedades macroscópicas, tales como densidad, índice de refracción, solubilidad en etanol y rotación óptica, entre otras [106, 107,116].

Por otra parte, los métodos analíticos instrumentales son ampliamente utilizados para determinar la composición química de diversos materiales fragantes, entre ellos los AE. Estos métodos comprenden técnicas de separación como cromatografía de gases (GC), cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), electroforesis capilar (EC); espectroscopías de infrarrojo (IR), de resonancia magnética nuclear, e.g. RMN-H1 y RMN-C13; espectrometría de masas (MS) y técnicas acopladas como GC-MS, GC-GC, GCxGC, GC-FTIR, HPLC-MS(n) y EC-MS [49].

Antes del desarrollo de los métodos instrumentales, la determinación de la composición química de los AE se limitaba a la medición de los índices químicos de acidez, de éster, de acetilo, de fenoles, etc. [106].

1.9.1 Cromatografía de gases

La cromatografía es un método de química analítica instrumental, que involucra una serie de técnicas empleadas para la separación de los analitos de una muestra, los cuales se distribuyen entre dos fases, una estacionaria y la otra móvil, de acuerdo con su afinidad relativa [124].

La cromatografía de gases descrita por James y Martin en 1952, es un método de separación, que se usa ampliamente en investigación, química aplicada, tecnología del petróleo, control ambiental y medicina, entre otras áreas [125, 126].

El principio de la GC está basado en la volatilización de la muestra en el puerto del inyector, la separación de los componentes en una columna, que soporta la fase estacionaria, mientras que los componentes de una mezcla son arrastrados por la fase móvil; y la salida de cada componente de la columna se registra por un detector (**Figura 16**) [126].

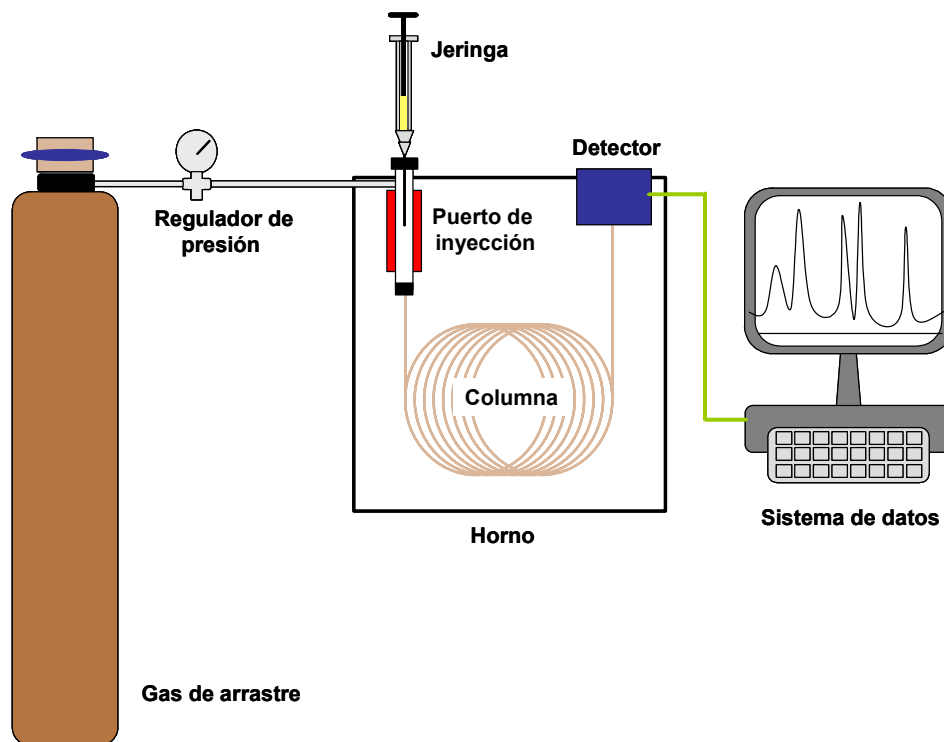


Figura 16. Esquema general de un cromatógrafo de gases.

La separación de componentes se lleva a cabo en virtud de la diferencia de sus coeficientes de distribución entre dos fases, los cuales dependen de su estructura, la naturaleza de las fases (móvil y estacionaria) y la temperatura de la columna cromatográfica [127-130].

El principal avance de la GC fue la introducción de columnas tubulares abiertas por Golay y Desty en 1958 y la elaboración, y, luego, producción comercial, de columnas capilares de sílice fundida, por Dandeneau y Zerenner en 1979 [126].

Las columnas cromatográficas comúnmente usadas, para el análisis de AE, incluyen fases estacionarias tales como DB-1, Carbowax, OV-1, OV-101, PEG 20M, BP5 y DB-5, las cuales cubren un amplio rango de polaridades [126,127]. La longitud de las columnas normalmente varía entre 25 y 100 m y

el grosor de la fase estacionaria entre 0,20 y 0,70 μm . La elusión de los componentes es usualmente realizada con gradiente de temperatura desde 50 °C hasta 280 °C [106,131].

El detector de ionización en llama (FID) se emplea ampliamente como sistema de detección en GC para el análisis de los AE. Entre los criterios de identificación tentativa en GC-FID, están la comparación de los tiempos de retención (t_R) de las sustancias de referencia con los tiempos de retención de los analitos en la muestra y la determinación de sus índices de Kovàts (I_K), calculados bajo las mismas condiciones operacionales, que usados para los patrones. El uso de este tipo de información, obtenido para dos columnas cromatográficas de diferente polaridad, permite una identificación tentativa de los componentes de una muestra particular. Sin embargo, para muestras complejas como los AE, la espectrometría de masas es la técnica de detección y la identificación más empleada [106,131].

1.9.2 Cromatografía de gases-espectrometría de masas

La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas es una técnica analítica poderosa, que permite la separación de los componentes de una muestra en el tiempo y brinda información estructural acerca de los analitos eluidos [132].

El primer sistema de GC-MS fue reportado por Holmes and Morrell en 1957 [133], cinco años después de la descripción de la cromatografía de gases en 1952 [126].

En GC-MS se utilizan como criterios de identificación la información de los tiempos e índices de retención junto con la información estructural, *i.e.* patrones de fragmentación, obtenidos a partir de los espectros de masas de los analitos que eluyen de la columna cromatográfica e ingresan al sistema de detección (espectrómetro de masas) [133].

Grosso modo, el espectrómetro de masas consta de seis bloques principales, a saber: un sistema de inyección, la fuente de ionización, el analizador de iones, los sistemas de detección y registro, el sistema de alto vacío y el sistema de datos (**Figura 17**).

Existe una amplia variedad de instrumentos que pueden ser clasificados de acuerdo con los métodos de ionización y los procedimientos para el análisis de iones. Entre los métodos de ionización el más empleado es el de impacto con electrones (EI), mientras que, el tipo de analizador de iones más común es cuadrupolar [134-136].

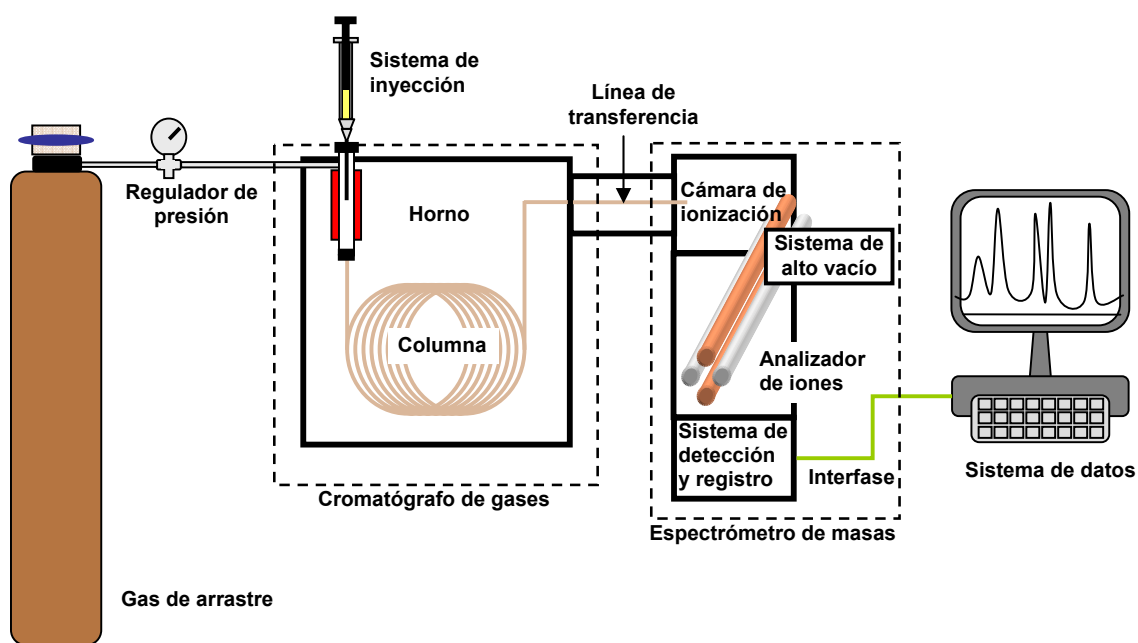


Figura 17. Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas.

1.10 PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES

Desde la antigüedad, las especies aromáticas y sus AE se han empleado en preparaciones culinarias no sólo como agentes saborizantes y aromatizantes, sino también como conservantes naturales [137,138].

Como conservantes en alimentos y otros productos, los AE pueden detener, prevenir o inhibir el deterioro oxidativo y los daños causados por bacterias, hongos u otros microorganismos [137-140].

De esta manera, y debido a la creciente presión de los consumidores, actualmente, las industrias de alimentos y cosméticos han disminuido el uso de conservantes sintéticos en sus productos, reemplazándolos por sustancias de origen natural [114].

Por tal motivo, el conocimiento de las actividades antimicrobianas, antioxidantes y citotóxicas son importantes para la aplicación de los AE en las diferentes industrias.

1.10.1 Actividad antioxidante

Los antioxidantes pueden inhibir o retardar los procesos de oxidación de dos maneras, a saber: por atrapamiento de radicales, en tales casos los compuestos son descritos como antioxidantes primarios, o por un mecanismo que no involucre atrapamiento directo de radicales, en tales casos, los compuestos son llamados antioxidantes secundarios [140]. Los antioxidantes secundarios operan por una variedad de mecanismos que incluyen el complejamiento de iones metálicos, atrapamiento de oxígeno, conversión de hidroperóxidos a especies no radicalarias, absorción de radiación UV o deactivación del oxígeno singulete [140].

Existen diversas metodologías y ensayos para la evaluación de las propiedades antioxidantes de una sustancia o mezclas. Los comúnmente más empleados, son ensayos de *screening* con atrapamiento directo de especies radicalarias cromóforas sintéticas, tales como el radical DPPH \cdot y el catión-radical ABTS $^{+\cdot}$ [141].

El ABTS tiene una absorción máxima en 342 nm, posee una solubilidad alta en agua y buena estabilidad química. Cuando se oxida por la remoción de un electrón, el ABTS genera cationes radicales metaestables, con un espectro de absorción característico y una alta absorptividad molar en 414 nm [141]. Sin embargo, posee bandas de absorción secundarias, en las regiones de 645, 734 y 815 nm [139]. En la **Figura 18** se muestra el espectro de absorción del catión-radical ABTS $^{+\cdot}$.

En la reacción entre el catión-radical ABTS $^{+\cdot}$ y la sustancia antioxidante, la especie radicalaria es neutralizada por la ganancia de un electrón. La desaparición del catión-radical ABTS $^{+\cdot}$ puede ser estimada por la disminución de la absorbancia, virtualmente, a cualquier longitud de onda entre 400 y 900 nm, aunque normalmente se trabaja a 734 nm [141-143]. La metodología de este ensayo fue planteada inicialmente por Rice-Evans y Miller [142] y mejorada por Re y Rice-Evans [143].

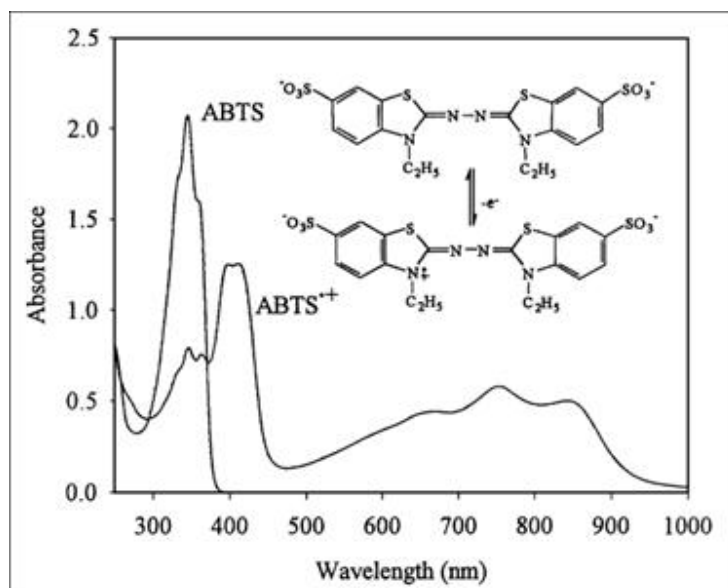


Figura 18. Espectro de absorción del ABTS y su catión-radical $ABTS^{\cdot+}$.

1.10.2 Actividad antimicrobiana

Para la evaluación de las propiedades antimicrobianas de los AE se aplican los métodos convencionales de ensayo para antibióticos [137].

Existen dos técnicas básicas usadas para la evaluación de las actividades antibacteriales y antifúngicas de los AE [114,137,138], a saber:

- Método de difusión en agar
- Método de diluciones

Dadas las características físicas de los AE, se requieren de algunas modificaciones en los métodos mencionados, los cuales han sido desarrollados para agentes antimicrobiales hidrosolubles [137]. Otros métodos, aunque no convencionales son: Micro-atmósfera, turbidimetría, bioimpedimetría y sistemas *in situ* [137].

2. MERCADO MUNDIAL DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los AE se encuentran dentro del Capítulo Arancelario N° 33: *Aceites esenciales y resinoides; preparaciones de perfumería, de tocador y cosmética*; el cual consta de siete partidas de aranceles, que van desde la 3301 a la 3307 (**Tabla 8**). A su vez, cada partida arancelaria o código HS (*Harmonized System*) está constituida por diferentes subpartidas, acordes con el Sistema Armonizado que mantiene la Organización Mundial de Aduanas [144,145]. En la **Tabla 9** se muestran las subpartidas que conforman la posición arancelaria 3301.

Tabla 8. Partidas arancelarias correspondientes al Capítulo No. 33: *Aceites esenciales y resinoides; preparaciones de perfumería, de tocador y cosmética*.

HS	Descripción
3301	Aceites esenciales, desterpenados o no, incl. los concretos o absolutos; resinoides; oleorresinas de extracción; disoluciones concentradas de aceites esenciales en grasas, aceites fijos, ceras o materias similares, obtenidas por enflorado o maceración; subpr.
3302	Mezclas de sustancias odoríferas y mezclas, incl. las disoluciones alcohólicas, a base de una o varias de estas sustancias, de los tipos utilizados como materias básicas para la industria; las demás preparaciones con base en sustancias odoríferas.
3303	Perfumes y aguas de tocador (exc. lociones para después del afeitado y desodorantes corporales).
3304	Preparaciones de belleza, maquillaje y para el cuidado de la piel, incl. las preparaciones antisolares y las bronceadoras (exc. medicamentos); preparaciones para manicure o pedicure.
3305	Preparaciones capilares.
3306	Preparaciones para higiene bucal o dental, incl. los polvos y cremas para la adherencia de las dentaduras; hilo utilizado para limpieza de los espacios interdentes, hilo dental, en envases individuales para la venta al por menor.
3307	Preparaciones para afeitado o para antes o después del afeitado, desodorantes corporales, preparaciones para el baño, depilatorios y demás preparaciones de perfumería, de tocador o de cosmética.

Tabla 9. Subpartidas que conforman la posición arancelaria 3301.

Partida arancelaria	Descripción
3301	Aceites esenciales, desterpenados o no, incl. los concretos o absolutos; resinoides; oleorresinas de extracción; disoluciones concentradas de aceites esenciales en grasas, aceites fijos, ceras o materias similares, obtenidas por enflorado o maceración; subproductos.
-11	Aceites esenciales de bergamota.
-12	Aceites esenciales de naranja (exc. Esencias de azahar)
-13	Aceites esenciales de limón.
-14	Aceites esenciales de lima.
-19	Aceites esenciales de agrios cítricos, (exc. de bergamota, de naranja, de limón y de lima)
-21	Aceites esenciales de geranio.
-22	Aceites esenciales de jazmín.
-23	Aceites esenciales de lavanda espliego o de lavandín.
-24	Aceites esenciales de <i>Menta piperita</i> .
-25	Aceites esenciales de menta (exc. de <i>Menta piperita</i>)
-26	Aceites esenciales de espicanardo vetiver.
-29	Aceites esenciales (exc. de agrios cítricos, de geranio, de jazmín, de lavanda espliego, de lavandín, de mentas y de espicanardo vetiver)
-30	Resinoides
-90	Oleorresinas de extracción; disoluciones concentradas de aceites esenciales en grasas, aceites fijos, ceras o materias similares, obtenidas por enflorado o maceración; subproductos terpénicos residuales de la desterpenación de los aceites esenciales; destilados.

La producción de aceites esenciales en Colombia es muy escasa y se reduce a cantidades mínimas en algunos sectores del país; de esta manera, se puede considerar que los AE consumidos son prácticamente importados en su totalidad de otros países [146].

Durante el año 2002, Colombia importó AE, oleorresinas y mezclas de sustancias odoríferas por un valor aproximado de 500 millones de dólares; de los cuales, el 11,7% (ca. 13 millones de dólares) correspondieron a las importaciones de AE y oleorresinas, mientras que el restante 88.3% fueron mezclas de sustancias odoríferas. Este último tipo de arancel registró un aumento del 75% en el valor de las importaciones, comparado con el de 1998. Por su parte, las importaciones de AE y oleorresinas, en el mismo período 1998-2002, se mantuvieron casi constantes [146]. En la **Figura 19** se puede observar la tendencia de las importaciones.

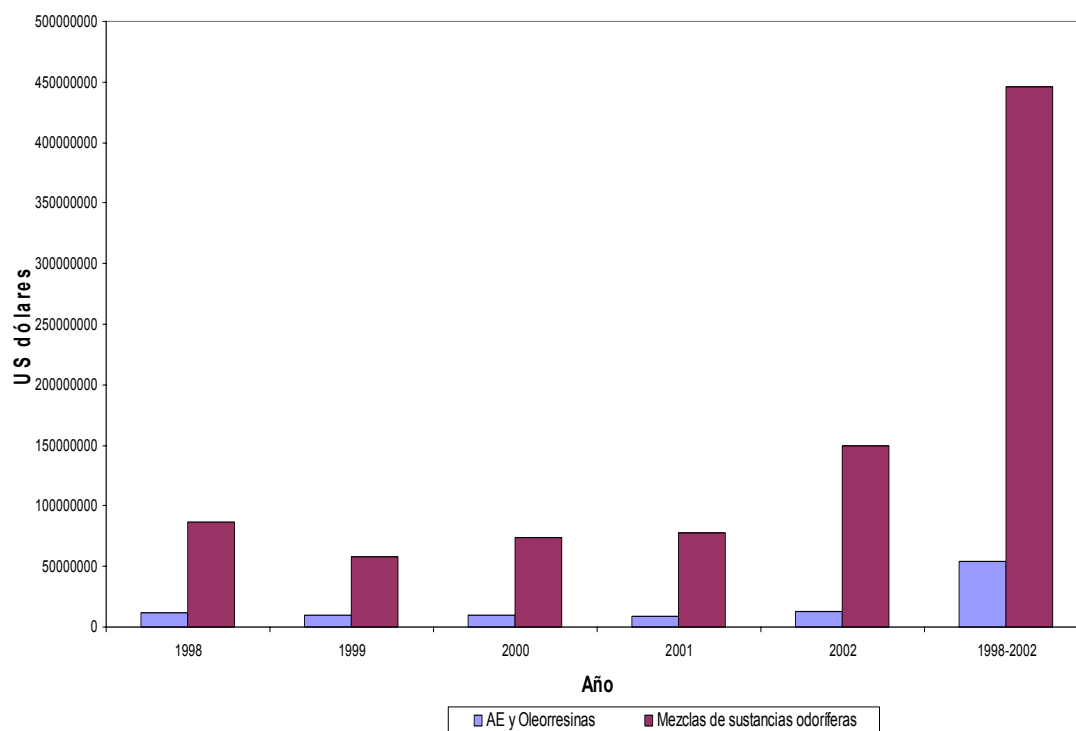


Figura 19. Importaciones de AE, oleorresinas y mezclas de sustancias odoríferas en Colombia, durante el periodo de 1998 -2002 [146].

Las importaciones de AE, oleorresinas y mezclas de sustancias odoríferas en Colombia, involucran a más de 45 empresas, entre las cuales se destacan *Bel Star S.A.*, *Pepsi-Cola Panamericana S.A.*, *Firmenich S.A.*, *Chicles Adams S.A.*, *Colgate-Palmolive Compañía*, y *Yanbal de Colombia S.A.*, entre otras compañías [146].

Los volúmenes de importación realizados por Colombia son relativamente bajos, ya que según la FAO, la producción mundial entre 2001 y 2003 de AE y oleorresinas se estimó en 28,2 millones de toneladas/año, que se usaron principalmente, por las tres industrias: cosmética, farmacéutica y alimenticia (Tabla 10) [146-148].

Tabla 10. Principales usos de los AE consumidos por las industrias de la Unión Europea.

Sector	Segmento	Aceites esenciales
Industria cosmética	Cuidado personal Jabones y detergentes Cuidado dental	<ul style="list-style-type: none"> • Limón • <i>Menta piperita</i> • Naranja • Patchoulí • Palo de rosa • Mentas • Especias • Eucalipto y derivados
Industria alimenticia	Bebidas suaves Tabaco Confitería Alimentos procesados y enlatados	<ul style="list-style-type: none"> • Cítricos • Oleorresinas de especias • Vainilla • Florales • Oleorresinas
Industria farmacéutica	Homeopatía Productos para el cuidado de la salud Aromaterapia	<ul style="list-style-type: none"> • Naranja • Cítricos • Patchoulí • Lavanda • Geranio

Entre 2001 y 2003, la industria cosmética europea consumió ca. 210 000 toneladas de AE y oleorresinas, por un monto que ascendió a los € 1900 millones (**Tabla 11**).

Tabla 11. Consumo de AE por la industria cosmética europea, durante el periodo 2001-2003 [148].

Aceite esencial, AE	€ millones/año		
	2001	2002	2003
Aceites esenciales (HS 330129)	243,068	262,937	277,288
AE de limón	45,334	53,278	37,137
AE de otra frutas cítricas	22,303	22,122	19,157
AE de lima	17,011	16,256	18,325
AE de geranio	8,041	9,449	8,556
AE de jazmín	4,125	5,21	5,282
AE de vetiver	6,386	5,753	5,093
Otros aceites esenciales y oleorresinas	263,949	290,636	285,105
Total	610,217	645,641	655,643

Los principales consumidores de AE y oleorresinas en la Unión Europea (EU) son compañías multinacionales como Unilever (Países Bajos y Reino Unido), L'Oreal (Francia), Wella (Alemania), Sanofi (Francia) y Berersdorf (Alemania),

las cuales realizan importaciones por un valor aproximado de € 1500 millones [148].

En la **Figura 20** se observa, que la demanda de AE utilizados en la industria cosmética prevalece sobre las industrias farmacéutica y alimentaria. La EU es el productor más importante del mundo de productos cosméticos, seguido por los Estados Unidos y Japón.

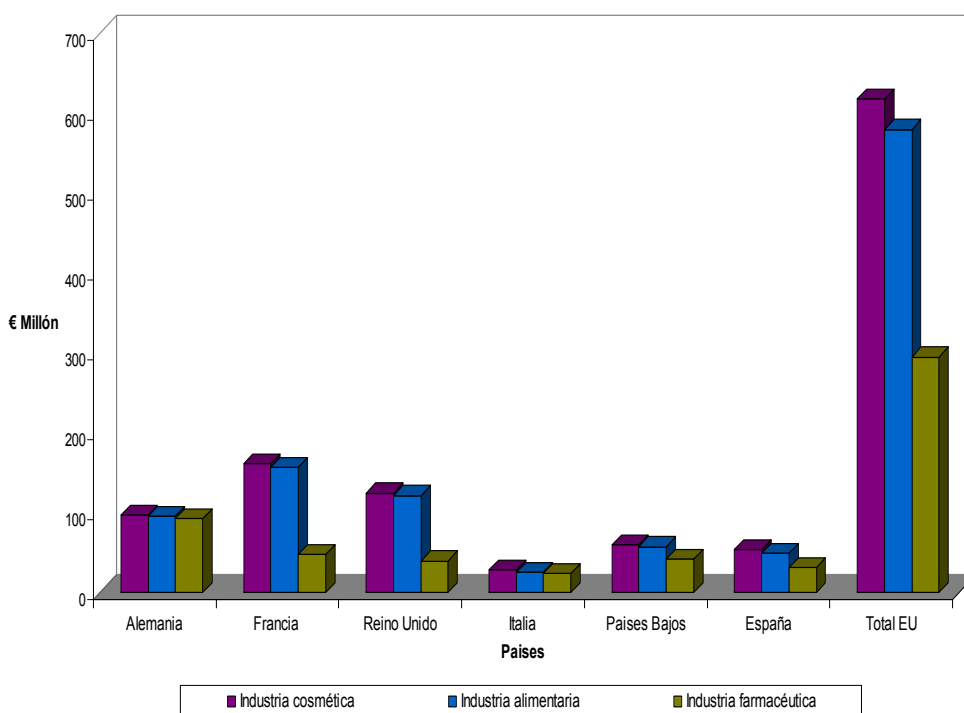


Figura 20. Importaciones en millones de € de AE y oleorresinas en países pertenecientes a la Unión Europea, durante el año 2003 [148].

Francia es el principal importador de AE y oleorresinas, ya que en su territorio se ubican casas de fragancias de gran prestigio a nivel mundial, las cuales utilizan las esencias para la fabricación de perfumes de alto valor agregado. Además, Francia y Reino Unido consumen cerca de la mitad de

las importaciones realizadas por la EU, equivalentes a € 285 millones, dejando ver la gran demanda de AE generada exclusivamente por la industria cosmética europea [148-149]. Respecto a los AE y oleorresinas exportados por parte de los estados pertenecientes a la Unión Europea, es importante tener en cuenta que la mayor parte son productos importados que han sido procesados y re-exportados con el valor agregado más alto.

En el 2003, las industria de alimentos de la Unión Europea exportaron 35 000 toneladas de AE por un valor de € 445 millones, más de la mitad de estas exportaciones fueron dirigidas hacia países como los Estados Unidos, Suiza y Japón. En el mismo año, Alemania, Estados Unidos, Suiza, Francia y Reino Unido, fueron los principales destinos de las exportaciones de AE y oleorresinas, 39 000 toneladas, correspondientes a la industria cosmética, por un monto de € 463 millones. Para el caso de la industria farmacéutica, el total de las exportaciones de extractos de plantas medicinales y aromáticas fue de € 235 millones, representados en 75 000 toneladas en el año de 2003. Alemania fue el principal destino [148-150].

Este breve análisis de la tendencia del mercado sobre los aceites esenciales a lo largo en los últimos años permite observar que los principales exportadores e importadores han mantenido una presencia constante en el contenido global del sector, y que la idea de una industria esenciera en Colombia, además de suplir la demanda del mercado nacional tendría la posibilidad de entrar a competir en el mercado internacional, convirtiéndose de esta forma en una industria generadora de empleo y dividendos para el país.

3. ANÁLISIS CIENCIOMÉTRICO

La cienciometría como término, surgió en la Europa Occidental, alcanzando su máxima popularidad en 1977 con el surgimiento de la revista *Scientometrics*.

La cienciometría estudia los aspectos cuantitativos de la ciencia como disciplina o actividad económica, forma parte de la sociología de la ciencia y encuentra aplicación en el establecimiento de las políticas científicas. Además, es una herramienta que permite situar a un país, institución, área temática o individuo en el contexto mundial de la productividad científica [151].

Con el objetivo de situar a los AE en el contexto mundial de la productividad científica, se realizó un análisis cienciométrico de las publicaciones reportadas sobre este tema, desde el año 2001 hasta la actualidad (julio de 2007), en la base de datos *Web of Science* (recurso disponible dentro del *Campus Universitario* de la UIS).

La obtención de la información se centró en aspectos, tales como la tipología documental de las referencias, e.g. artículos, revisiones, *meeting abstracts*, etc., la evolución cronológica del número de publicaciones, su distribución por lugar geográfico, los autores e instituciones de mayor producción científica, así como, el área de mayor aplicación y las revistas que compilan la mayor parte estos estudios.

La pesquisa se llevó a cabo los días 26 y 27 de julio de 2007, en las bases de datos *Science Citation Index-EXPANDED* (SCI-EXPANDED), *Social Science Citation Index* (SSCI) y *Arts & Humanities Citation Index* (A&HCI) compiladas en la *Web of Science*, durante el periodo de 2001 a 2007, se tuvieron en cuenta todos los tipos de documentos y todos los idiomas. Los

parámetros de búsqueda empleados en la recopilación de la información y los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 12**. En todas las ecuaciones de búsqueda se tuvieron en cuenta los parámetros: fuente, bases de datos, periodo de observación, tipo de documento e idioma, que fueron los mismos, sólo el descriptor varió de una búsqueda a otra.

Tabla 12. Parámetros de búsqueda empleados en la recopilación de información para el análisis cuantitativo.

Fecha de búsqueda:	Julio 26 y 27 de 2007
Fuente:	<i>Web of Science</i>
Bases de datos:	<i>SCI-EXPANDED; SSCI; A&HCI</i>
Periodo de observación:	2001-2007
Tipo de documento:	Todos los documentos

	Descriptor	Resultados
1.	TS = "Essential oil"	3013
2.	TS = "Essential oil" and CU = "USA"	329
3.	TS = "Essential oil" and CU = "Turkey"	256
4.	TS = "Essential oil" and CU = "Italy"	228
5.	TS = "Essential oil" and CU = "Brazil"	219
6.	TS = "Essential oil" and CU = "France"	204
7.	TS = "Essential oil" and CU = "Argentina"	49
8.	TS = "Essential oil" and CU = "Mexico"	19
9.	TS = "Essential oil" and CU = "Colombia"	8
10.	TS = "Essential oil" and "activity"	1132
11.	TS = "Essential oil" and "antioxidant"	146
12.	TS = "Essential oil" and "antifungal"	260
13.	TS = "Essential oil" and "antibacterial"	381
14.	TS = "Essential oil" and "cytotoxic"	31
15.	TS = "Essential oil" and "insecticide"	31
16.	TS = "Essential oil" and "Rosmarinus officinalis"	59
17.	TS = "Essential oil" and "Tagetes lucida"	2
18.	TS = "Essential oil" and "Cymbopogon citratus"	34
19.	TS = "Essential oil" and "Lippia alba"	9
20.	TS = "Essential oil" and "Ocimum basilicum"	59
21.	TS = "Essential oil" and "Lippia dulcis"	0

Se publicaron 3013 artículos de investigación científica sobre los AE de las plantas bajo estudio, a saber: *Lippia alba*, *Lippia dulcis*, *Rosmarinus officinalis*, *Ocimum basilicum*, *Tagetes lucida* y *Cymbopogon citratus*, su composición química, propiedades biológicas y aplicaciones. El artículo fue el tipo de documento más frecuente (**Tabla 13**).

Tabla 13. Tipología de los documentos publicados sobre AE bajo estudio, durante el periodo 2001-2007. Fuente: *Web of Science*; Ecuación de búsqueda: TS = “*Essential oils*” (**Tabla 12**); Fecha: 26 de julio de 2007.

Tipo de documento	No. de documentos
Artículo	2830
Revisión	90
<i>Meeting abstract</i>	59
Otros	34
<i>Total</i>	3013

Durante el periodo 2001-2006 se reportaron 2698 trabajos de investigación científica sobre AE, en promedio 450 publicaciones anuales; cabe destacar que desde enero hasta julio de 2007 se han registrado 249 trabajos en la base de datos *Web of Science*. Por otro lado, se observa una tendencia creciente en el número de publicaciones en función del tiempo (**Figura 21**), que responde a un comportamiento lineal descrito por la ecuación: $y = 60.1x + 239.3$, con factor de correlación $r = 0.994$; en la ecuación “y” corresponde al número de documentos publicados y “x” al año de publicación. Con base en lo anterior, se estima que al terminar el 2007 se habrán publicado ca. 660 trabajos sobre AE.

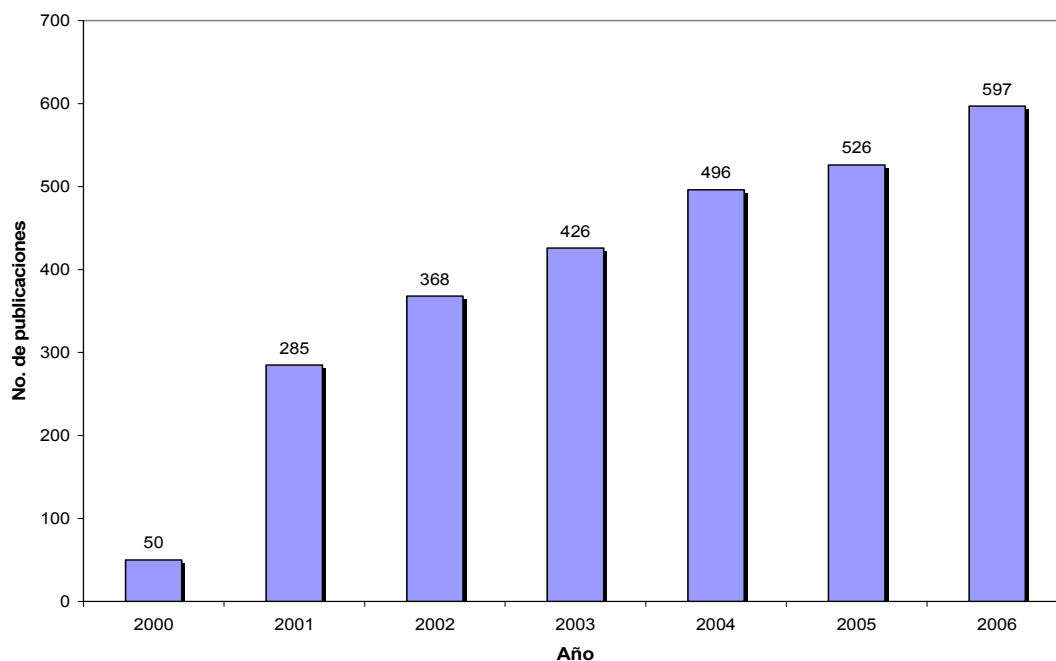


Figura 21. Número de publicaciones sobre AE, durante el periodo 2001-2007. Fuente: *Web of Science*; Ecuación de búsqueda: TS = “*Essential oils*” (**Tabla 12**); Fecha: 26 de julio de 2007.

Los Estados Unidos (EE.UU.), Turquía, Italia, Brasil y Francia son los países que presentan la mayor cantidad de estudios sobre AE, 1236 publicaciones en conjunto, que corresponden al 41% del total de documentos encontrados mediante el descriptor “*Essential oils*”; el 38,2%, *i.e.* 1150 publicaciones, son de India, Grecia, España, Iran, Japón, Alemania, Australia, Reino Unido y Canadá (**Figura 22**); y el restante 21% se distribuye en países del tercer mundo, donde esta área del conocimiento está en crecimiento.

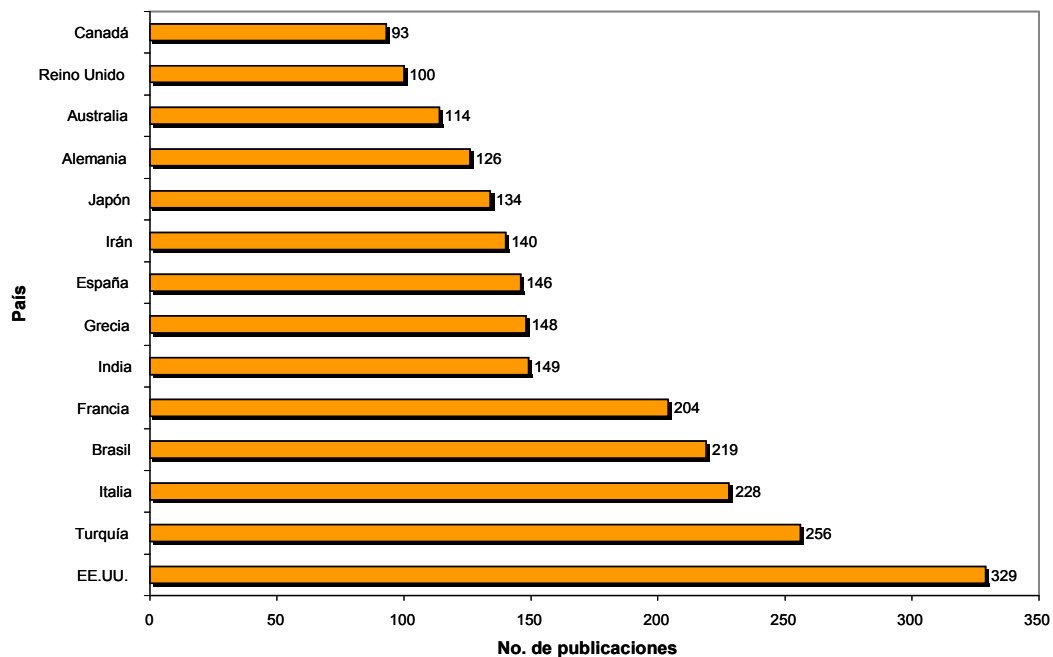


Figura 22. Países con mayor productividad científica sobre los AE, durante el periodo 2000-2007. Fuente: *Web of Science*; Ecuación de búsqueda: TS = “*Essential oils*” (**Tabla 12**); Fecha: 26 de julio de 2007.

El 12% del total de las publicaciones reportadas se han realizado por países Latinoamericanos, siendo Brasil, Argentina y México los países de mayor actividad científica en este campo. Colombia contribuye con el 2.2% del total de publicaciones hechas por los países Latinoamericanos, 27 veces menor que la producción científica en esta área, desarrollada en Brasil (**Figura 23**).

Utilizando los mismos parámetros de búsqueda, pero mediante el descriptor TS = “*Essential oils*” and CU = e.g. “*Italy*” (**Tabla 8**), se encontró que las instituciones donde se realizó el mayor número de investigaciones sobre AE, en EE.UU., fueron el Servicio de Investigación de Agricultura (ARS) y las Universidades de Baylor y Mississippi; en Turquía, las Universidades de Anadolu, Ataturk y Selcuk; en Italia, el Consejo Nacional para la Investigación (CNR) y las Universidades de Messina y Bologna y, en Francia, las Universidades de Corse, Clermont Ferrand y Montpellier.

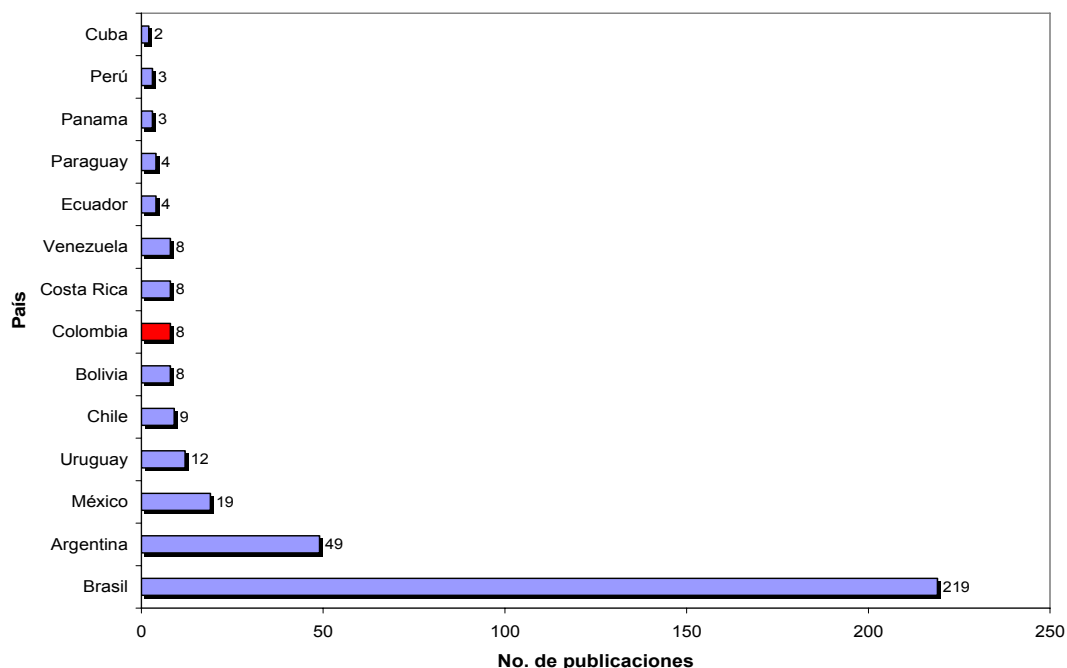


Figura 23. Niveles de producción científica sobre AE en países latinoamericanos y del Caribe, durante el periodo 2001-2007. Fuente: *Web of Science*; Ecuación de búsqueda: TS = “*Essential oils*” (Tabla 12); Fecha: 26 de julio de 2007.

En Latinoamérica las entidades que generan la mayor producción científica en el área de AE son instituciones de Educación Superior, entre las cuales se destacan las Universidades Federal de Ceará, Federal de Rio Grande de Sul y de Saõ Paulo en Brasil; las universidades de Buenos Aires y Nacional de Córdoba, en Argentina y las Universidades Industrial de Santander, de Antioquia y la Nacional de Colombia, en Colombia. En el caso de México, las instituciones están vinculadas a Universidades de EE.UU., lo cual puede indicar que los autores trabajan en conjunto con otras instituciones o que están adscritos a ellas.

En cuanto a los autores, se tiene, que los principales investigadores sobre las esencias naturales en EE.UU. son Adams, RP.; Friedman, M. y Baser, KHC.;

en Turquía, Baser, KHC.; Demirci, B. y Kirimer, N.; en Italia, Cioni, PL.; Flamini, G. y Morelli, I.; en Brasil, Henriques, AT.; Andrade, EHA. y Maia, JGS.; en Francia, Bessiere, JM.; Chalchat, JC. y Menut, C.; en Argentina, Zygadlo, JA.; Bandoni, AI. y Lira, PD. y en Colombia, Stashenko, EE.; Martínez, JR. y Puertas, M. Se observa, que Baser es un autor común para EE.UU. y Turquía, lo cual puede indicar que éste trabaja en un centro de investigación de Turquía y se encuentra adscrito a otro en EE.UU. o *vice versa*, o existe una colaboración entre estos dos países.

Es importante reconocer que entre los autores más productivos no todos tienen la misma consideración científica. Debe ser claro también, que la productividad no siempre significa “calidad”.

De manera general, se puede concluir, que las áreas sobre las que mayor incidencia tienen los trabajos de investigación acerca de AE son la Ciencia y Tecnología de Alimentos, la Química Aplicada y la Farmacia y Farmacología. Es interesante rescatar, que estos estudios también generan impacto sobre la Química Analítica y Agricultura (**Tabla 14**).

Tabla 14. Distribución de las publicaciones sobre AE, durante el periodo 2001-2007, de acuerdo con su área de impacto. Fuente: *Web of Science*; Ecuación de búsqueda: TS = “*Essential oils*” (**Tabla 12**); Fecha: 26 de julio de 2007.

Orden	Área de impacto	No. de artículos
1	Ciencia y tecnología de alimentos	1274
2	Química aplicada	1019
3	Farmacia y farmacología	384
4	<i>Plant Science</i>	343
5	Bioquímica y Biología Molecular	245
6	Química Médica	217
7	Química Analítica	201
8	Agricultura Multidisciplinaria	195
9	Biotecnología y microbiología aplicada	186
10	Entomología	127
11	Ecología	120
12	Química multidisciplinaria	119
13	Microbiología	118
14	Métodos de investigación en Bioquímica	116

En cuanto a las revistas con mayor número de publicaciones sobre los AE durante el periodo de observación, se destacan *Journal of Essential Oil Research*, *Flavour and Fragrance Journal* y *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (**Tabla 15**).

Tabla 15. Revistas con el mayor número de publicaciones sobre AE, durante el periodo 2001-2007. Fuente: *Web of Science*; Ecuación de búsqueda: TS = “Essential oils” (**Tabla 12**); Fecha: 26 de julio de 2007.

Orden	Revista	No. de artículos
1	<i>Journal of Essential Oil Research</i>	397
2	<i>Flavour and Fragrance Journal</i>	343
3	<i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i>	165
4	<i>Biochemical Systematics and Ecology</i>	77
5	<i>Journal of Chromatography A</i>	63
6	<i>Food Chemistry</i>	62
7	<i>Journal of Food Protection</i>	48
8	<i>Zeitschrift Fur Naturforschung C-A Journal of Biosciences</i>	47
9	<i>Phytotherapy Research</i>	46
10	<i>Phytochemistry</i>	44
11	<i>Pharmaceutical Biology</i>	43
12	<i>Journal of Ethnopharmacology</i>	40
13	<i>Chemistry of Natural Compounds</i>	39
14	<i>Journal of Food Protection</i>	33

En los últimos seis años, el interés en los AE no sólo radica en el conocimiento de su composición química, sino también en establecer sus propiedades biológicas. Así, mientras en el año 2000 se publicaron sólo 11 trabajos sobre AE y la evaluación de algún tipo de su bioactividad, en el 2006, el número de estudios de bioactividad ascendió a 234 (**Figura 24**).

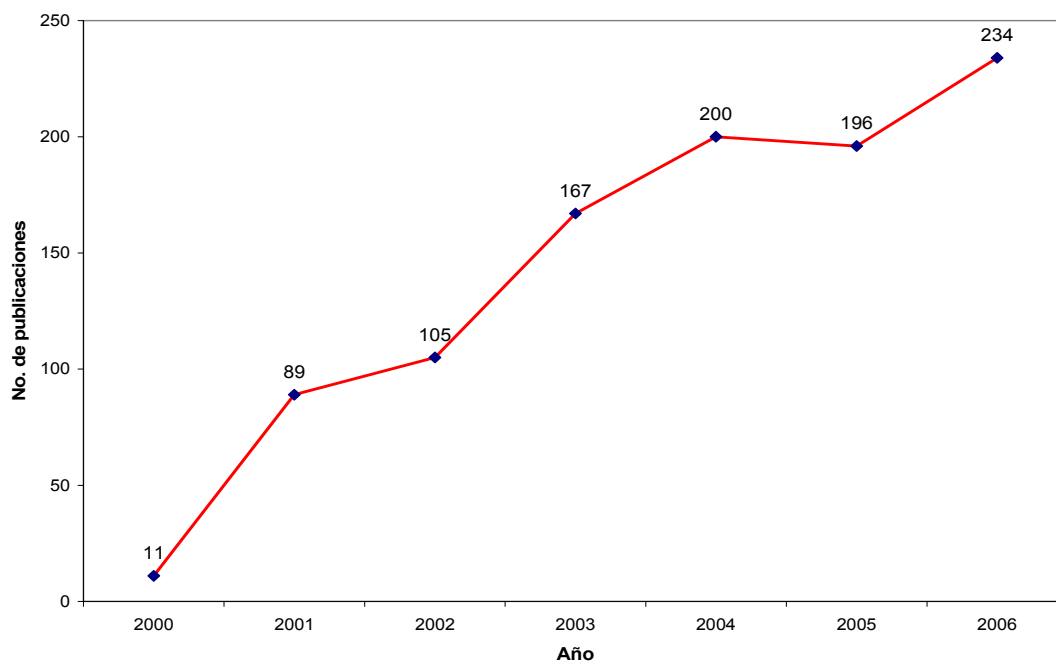


Figura 24. Número de publicaciones por año sobre las propiedades biológicas de los AE. Fuente: *Web of Science*; Periodo de observación: 2001-2007; Ecuaciones de búsqueda: 10-15 (**Tabla 12**); Fecha: 26 de julio de 2007.

Utilizando el descriptor número 10 de la **Tabla 8** se encontraron 1132 documentos de diferente tipología, entre los cuales 1075 son artículos y 42 revisiones. Las 1132 publicaciones representan el 37.6% del total. Entre las propiedades biológicas evaluadas comúnmente se encuentran las actividades antibacterial, antifúngica y antioxidante (**Figura 25**).

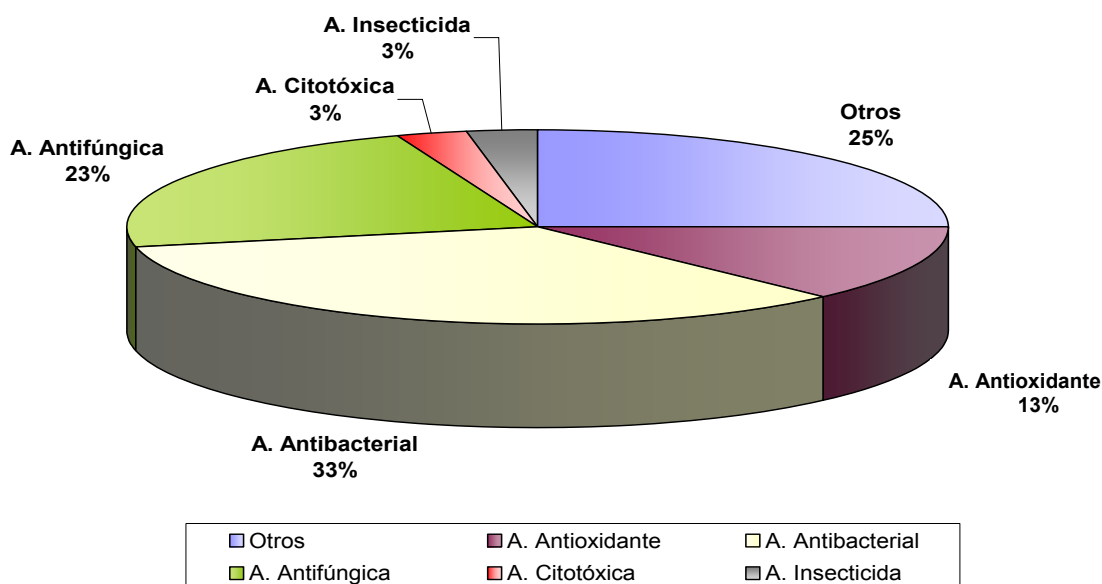


Figura 25. Publicaciones relacionadas con el estudio de las actividades biológicas de los AE. Fuente: *Web of Science*; Periodo de observación: 2001-2007; Ecuación de búsqueda: 10-15 (**Tabla 12**); Fecha: 26 de julio de 2007.

Al restringir la búsqueda a los AE de las especies vegetales aromáticas bajo estudio, mediante los descriptores, que aparecen en la **Tabla 8**, se encontró que la mayor cantidad de estos trabajos de investigación son sobre las especies de origen asiático-europeo: *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus*, y *Ocimum basilicum*, mientras que, las de menor número de estudios fueron las especies de origen sur americano: *Tagetes lucida*, *Lippia alba* y *Lippia dulcis* (**Figura 26**). Existen 163 trabajos sobre los AE de estas especies aromáticas, que representan el 5,4% del total de publicaciones en esta área. Una cifra bastante significativa, teniendo en cuenta cuántas especies vegetales son o podrían ser objeto de estudio.

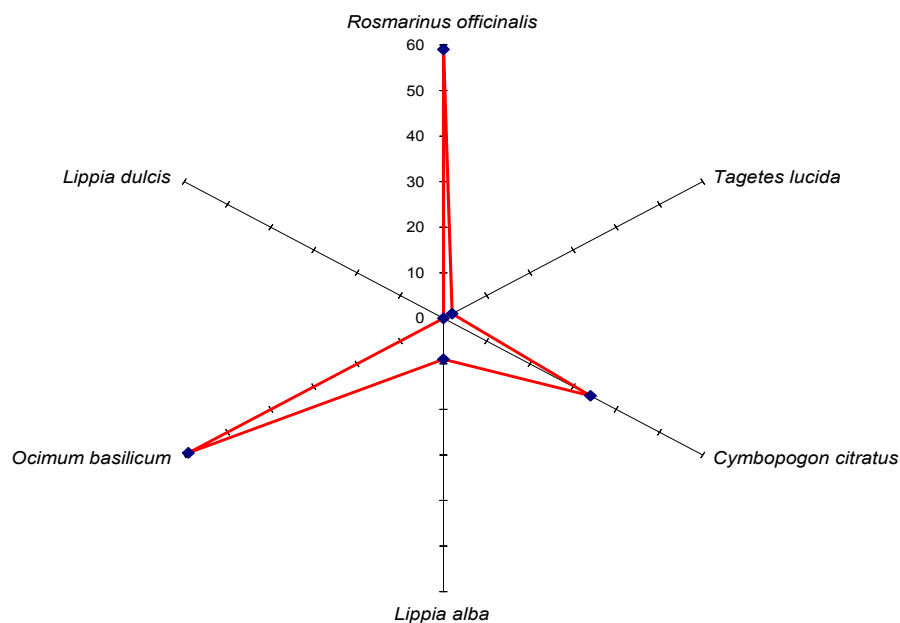


Figura 26. Número de publicaciones sobre el estudio de los AE de las especies bajo estudio en el presente trabajo. Fuente: *Web of Science*; Periodo de observación: 2001-2007; Ecuación de búsqueda: 16-21 (**Tabla 12**); Fecha: 26 de julio de 2007.

De acuerdo con el ejercicio de la cienciometría, descrito previamente, se puede concluir, que en la actualidad existe una tendencia creciente en la producción científica sobre AE, representada por el alto número de publicaciones en revistas especializadas de reconocimiento internacional, realizadas por institutos de investigación agrícola y universidades, enfocadas no sólo hacia la evaluación de la composición química de las esencias naturales, sino también hacia el estudio de sus propiedades biológicas.

En el campo científico de productos naturales, los AE y diversos aspectos como manejo agrícola, composición química, usos, mercados, propiedades farmacológicas y calidad, figuran como el tema de mayor impacto en la productividad científica e industrial.

4. METODOLOGÍA

4.1 RECOLECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL SILVESTRE

Con el acompañamiento de Fernando Caropress, estudiante de Biología de la Universidad Industrial de Santander, se colectaron diferentes muestras de material vegetal silvestre para la obtención de los AE. Se tomaron muestras representativas para su análisis fitoquímico y se hicieron los respectivos montajes de las *exsiccatae*, las cuales fueron enviadas al Herbario Nacional Colombiano (Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá), para su correspondiente identificación taxonómica.

4.2 ADQUISICIÓN, DISTRIBUCIÓN Y RECOLECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL CULTIVADO

4.2.1 Adquisición y distribución

Las plántulas (semillas) de las diferentes especies vegetales aromáticas bajo estudio, a saber: *Lippia alba*, *Cymbopogon citratus*, *Rosmarinus officinalis*, *Tagetes lucida*, *Lippia dulcis* y *Ocimum basilicum*, fueron suministradas por los viveros de CENIVAM-UIS, Universidad Nacional de Colombia y en la empresa MORENOS Ltda., entre otros. Por su parte, la Asociación Campesina de Productores, MORELIA, Bolívar-Santander, dispuso de 52 parcelas de aproximadamente de 500 m² cada una, distribuidas tal, como se muestra en la **Tabla 16**, para la siembra y cultivo de las plántulas. En los **Anexos 1 y 2** se encuentran la ubicación geográfica de las parcelas y la distribución de las especies cultivadas en cada una de las parcelas, respectivamente.

Tabla 16. Distribución por especies del número de parcelas cultivadas en los municipios de Bolívar, El Peñón y Guavatá.

Espece	No. de parcelas cultivadas	Extensión, m ²	Densidad de siembra, m
<i>Lippia alba</i>	6	3000	0.9 x 0.5
<i>Cymbopogon citratus</i>	9	4500	0.7 x 0.45
<i>Rosmarinus officinalis</i>	14	7000	1.2 x 0.5
<i>Tagetes lucida</i>	12	6000	0.4 x 0.6
<i>Lippia dulcis</i>	9	4500	0.9 x 0.4
<i>Ocimum basilicum</i>	3	1500	0.6 x 0.4

Anexo 1. Ubicación geográfica de las parcelas.

Anexo 2. Distribución de las especies cultivadas en cada una de las parcelas.

4.2.2 Recolección de material vegetal cultivado

La primera cosecha de las plantas aromáticas cultivadas se efectuó entre los 6 y 7 meses después de la siembra. Se realizaron 2 cortes adicionales distribuidos en espacios regulares de 45 días después de la primera recolección, en las parcelas en las que se pudo llevar a cabo el experimento. La siega se hizo a una altura entre 20 a 25 cm sobre la superficie del suelo y la selección del material vegetal colectado se realizó de manera aleatoria, hasta completar un peso aproximado de 12 kg, en base húmeda.

Una vez el material vegetal fue colectado, se sometió a un proceso de secado natural, protegido del sol y del agua, en un lugar aireado. Posteriormente, se envió al Complejo Agroindustrial CENIVAM-UIS, Bucaramanga (Santander).

4.3 OBTENCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los AE del material vegetal silvestre fueron obtenidos por MWHD, utilizando un equipo *Clevenger* modificado, mientras que las esencias de las plantas cultivadas se aislaron por destilación con agua y vapor, mediante un destilador de acero con capacidad de 10 kg (**Figura 27**). Los parámetros de extracción utilizados para ambas técnicas se muestran en la **Tabla 17**. Los aceites extraídos se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se almacenaron a 4 °C, protegidos de la luz.



Figura 27. Equipos de extracción: **A.** Clevenger modificado; **B.** Destilador de acero semi-industrial.

Tabla 17. Condiciones experimentales de extracción para la obtención de los AE por destilación agua-vapor y MWHD.

Parámetros	Destilación con vapor y agua	MWHD
Cantidad de material vegetal	1300-1500 g	200 g
Volumen de agua	8 L	300 mL
Tiempo de extracción	2 h	4 x 10 min
Potencia de calentamiento	---	720 W

4.4 ANÁLISIS INSTRUMENTAL

4.4.1 Preparación de la muestra

Las muestras de aceites para análisis cromatográfico, se prepararon disolviendo 50 μL de AE y 1,0 μL de patrón interno (*n*-tetradecano) en diclorometano, hasta un volumen final de 1,0 mL.

4.4.2 Caracterización de los AE

El análisis de los aceites esenciales extraídos se realizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) en los equipos *Agilent Technologies 6890 Plus* con un detector selectivo de masas *Agilent Technologies MSD 5973*, y *Hewlett-Packard 5890A Series II* con detector selectivo de masas MSD, *MSD Hewlett-Packard 5972*. Los parámetros cromatográficos empleados se describen en la **Tabla 18**.

Tabla 18. Parámetros cromatográficos empleados para el análisis de los AE estudiados.

Equipo	GC <i>Agilent Technologies</i> 6890 Plus	GC <i>Hewlett-Packard</i> 5890A Series II
Inyector	<i>split/splitless</i>	
Temperatura del inyector	250°C	
Relación de <i>split</i>	1:30	
Columna	DB-5: 60 m, 0.25 mm, D.I. x 0.25 µm	DB-WAX:60 m x 0.25 mm D.I. x 0.25 µm
Programación de temperatura del horno	45°C (5 min)→250°C (5 min), @ 5°C/min	45°C (5 min)→120°C (3 min), @ 3°C/min → 220°C (3 min), @ 4°C/min
Gas de arrastre	Helio (99,995%, Aga Fano, S.A)	
Flujo del gas de arrastre	1 mL/min	
Detector	MSD <i>Agilent</i> 5973	MDS HP 5972
Temperatura de la cámara de ionización	200 °C	175 °C
Temperatura de la línea de transferencia (GC-MS)	285°C	
Energía de ionización	70 eV	

El reconocimiento de los componentes presentes en los aceites y extractos se realizó con base en los índices de retención de Kovàts, comparándolos con los valores reportados en la literatura [152] y sus espectros de masas, que se confrontaron con los reportados en las bases de datos Willey, NIST y Adams.

Los índices se calcularon teniendo en cuenta los tiempos de retención de una serie homóloga de patrones de hidrocarburos desde C₁₀ hasta C₂₅, corridos en el GC-MS bajo las mismas condiciones operacionales, que los AE y extractos, en dos fases estacionarias.

Los valores fueron calculados aplicando la siguiente fórmula:

$$I_k = 100n + 100 \left[\frac{t_{Rx} - t_{Rn}}{t_{RN} - t_{Rn}} \right]$$

Donde:

I_k : Índice de retención del compuesto de interés x;

n: Número de átomos de carbono del *n*-alcano que eluye antes del compuesto de interés x;

N: Número de átomos de carbono del *n*-alcano que eluye después 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.

Además, se realizó la confirmación de algunos componentes presentes en las muestras, usando los tiempos de retención y espectros de masas de patrones de terpenos certificados, analizados bajo las mismas condiciones operacionales. Las características de los patrones certificados empleados se registran en la **Tabla 19**.

Tabla 19. Patrones de hidrocarburos lineales y patrones de terpenos certificados utilizados para la determinación de los índices de Kováts.

Compuesto	Casa Productora	Pureza
Óxido de cariofileno	<i>Sigma Aldrich</i>	99%
(R)-(+)-Limoneno	<i>Sigma Aldrich</i>	98%
Nerol	<i>Sigma Aldrich</i>	98%
Geraniol	<i>Sigma Aldrich</i>	98%
Linalool	<i>Sigma Aldrich</i>	97%
6-Metil-5-hepten-2-ona	<i>Sigma Aldrich</i>	99%
α -Pino	<i>Sigma Aldrich</i>	98%
1,8-Cineol	<i>Sigma Aldrich</i>	98%
<i>p</i> -Cimeno	<i>Sigma Aldrich</i>	98%
Mezcla de <i>cis</i> - y <i>trans</i> - citrales	<i>Sigma Aldrich</i>	95%
Carvona	<i>Sigma Aldrich</i>	95%
Eugenol	<i>Sigma Aldrich</i>	98%
Mezcla de <i>cis</i> - y <i>trans</i> -Dihidricarvona	<i>Sigma Aldrich</i>	97%
<i>cis</i> -Óxido de limoneno	<i>Sigma Aldrich</i>	97%
(R)-(+)-Mentona	<i>Sigma Aldrich</i>	99%
1-Octen-3-ol	<i>Sigma Aldrich</i>	96%
<i>n</i> -Tetradecano	<i>AccuStandard</i>	99,5%
Serie homóloga de hidrocarburos C ₁₀ -C ₂₅	<i>AccuStandard</i>	

4.4.3 Cuantificación de los componentes mayoritarios

La cuantificación de los componentes mayoritarios de interés presentes en los AE, se realizó por cromatografía de gases (GC), en el equipo *HP 5890A Serie II* con detector de ionización en llama (FID), mediante el método de cuantificación interna; y por GC-MS. En las **Tablas 18 y 20** se describen las condiciones cromatográficas que se usaron para el análisis GC.

Tabla 20. Parámetros cromatográficos GC-FID que se usaron para la cuantificación de los componentes mayoritarios presentes en los AE.

Equipo	GC HP 5890A Series II
Inyector	<i>split/splitless</i>
Temperatura del inyector	250°C
Relación de <i>split</i>	1:30
Columna	DB-5: 30 m, 0.25 mm, D.I. x 0.25 µm
Programación de temperatura en el horno	45°C (5 min)→250°C (5 min), @ 5°C/min
Gas de arrastre	Helio (99,995%, Aga Fano, S.A)
Flujo del gas de arrastre	1 mL/min
Detector	<i>Flame Ionization Detector-FID</i>
Temperatura del detector	280 °C
Mezcla combustible	Hidrógeno + Aire sintético, relación 1:10 (Aga Fano, S.A.)
Gas auxiliar	Nitrógeno (99,995%, Aga Fano, S.A)
Flujo del gas auxiliar	30 mL/min

4.5 PRUEBAS FISCOQUÍMICAS

La densidad del aceite esencial se determinó de acuerdo con el procedimiento descrito en la Norma ISO 279:1998 (E) [153].

Las pruebas de solubilidad en etanol de los AE se realizaron conforme con la Norma ISO 875:1999 (E) [154].

Para la medición del índice de refracción se utilizó un refractómetro con baño termostataado bajo las condiciones estipuladas en la Norma ISO 280:1998 (E) [155].

El tipo y número de pruebas fisicoquímicas se llevaron a cabo según las cantidades de AE obtenidos, para las diferentes muestras vegetales.

4.6 ENSAYO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La capacidad de atrapamiento de radicales por los AE aislados de las especies vegetales bajo estudio, se determinó mediante el ensayo de

decoloración del catión-radical ABTS⁺, aplicando la metodología descrita por Re *et al.* [143].

Para la generación del catión-radical, ABTS (19,25 mg) y peroxidisulfato de potasio (3,45 mg) se disolvieron, en agua grado HPLC (5 mL). La solución final se dejó reaccionar durante 24 h a temperatura ambiente y en la oscuridad. Posteriormente, la solución *stock* del cromóforo ABTS⁺ se diluyó en etanol hasta conseguir una absorbancia de 0.70 (\pm 0.5) a 734 nm.

Las concentraciones de las soluciones de los AE en etanol, fueron seleccionadas teniendo en cuenta la inhibición que presenta una alícuota de cada disolución de esencia (30 μ L) en la solución (3 mL) de ABTS⁺ diluida. Los porcentajes de inhibición de las soluciones de trabajo variaron entre el 20 y 60%.

La absorbancia fue medida en el espectrofotómetro GENESYS 20, 6 min. después desde el momento de la adición de la solución diluida (3 mL) de ABTS⁺ a la alícuota de las sustancias de referencia o de cada uno de los posibles agentes secuestrantes de radicales. La capacidad de atrapamiento de radicales se expresó como la actividad antioxidante total en mmol de Trolox® por kg de AE.

4.7 ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Los ensayos de bioactividad de los AE (actividades antifúngica, bactericida y citotóxica) se realizaron en los diferentes grupos de Investigación, que conforman la Unión Temporal CENIVAM (**Tabla 21**). El tipo y el número de pruebas biológicas estuvieron determinados por las cantidades de AE obtenidos, para las diferentes muestras vegetales.

Tabla 21. Grupos de investigación que realizaron los ensayos de bioactividad en los AE estudiados.

Actividad	Grupo de Investigación	Director(a)	Universidad
Antifúngica	Grupo de Investigación en Infección y Cáncer	Dr. Juan Gabriel Bueno Dra. Jehidys Montiel Dra. Ana Cecilia Mesa	Universidad de Antioquia
Citotóxica	Química Ambiental y Computacional	Dr. Jesús Olivero Dra. Beatriz Jaramillo	Universidad de Cartagena

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS ESPECIES SILVESTRES COLECTADAS EN LOS MUNICIPIOS DE LA SUB-REGIÓN DE VÉLEZ

Enmarcado dentro de la misión de CENIVAM y según los objetivos planteados en este proyecto, se realizó un estudio de los metabolitos secundarios volátiles presentes en los AE de 9 especies vegetales aromáticas silvestres (**Tablas 22 y 23**), oriundas de la región de Bolívar, El Peñón y Guavatá, Santander-Colombia.

Tabla 22. Especies vegetales aromáticas colectadas en los municipios de Bolívar, El Peñón y Guavatá, Santander – Colombia.

Código Colecta	Nombre común	Procedencia de la planta		
		Municipio	Vereda	Altura (m.s.n.m)
001-M	Salvión	Bolívar	Guamal	2656
002-M	Mastranto	Bolívar	Guamal	2424
003-M	Manzanilla	Bolívar	Loma Alta	2232
004-M	Orégano	Guavatá	Helechal y Mesa	1983
005-M	Cidrón	Bolívar	Loma Alta	2360
006-M	Poleo	Guavatá	Helechal y Mesa	1983
007-M	Pronto alivio	Guavatá	Helechal y Mesa	2000
008-M	Pronto alivio	Bolívar	Loma Alta	2232
009-M	Anisillo	Bolívar	Loma Alta	2424

En el **Anexo 3** se recopilan todas las fichas técnicas de las especies aromáticas colectadas y la ubicación de recolección.

Los pliegos testigo de cada especie vegetal identificada, fueron depositados como muestras permanentes en el Herbario Nacional Colombiano, Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

Tabla 23. Nombres botánicos asignados por el Herbario Nacional Colombiano a las especies vegetales aromáticas colectadas en los municipios de Bolívar, El Peñón y Guavatá, Santander – Colombia.

Código Colecta	Nombre común	Nombre científico	Familia
001-M	Salvión	<i>Lepechinia bullata</i> (Kunth) Epl	Lamiaceae
002-M	Mastranto	<i>Salvia palaefolia</i> Kunth	Lamiaceae
003-M	Manzanilla	<i>Tanacetum parthenium</i> (L) Sch. Bip.	Asteraceae
004-M	Orégano	<i>Minthostachis mollis</i> H.B.K.	Lamiaceae
005-M	Cidrón	<i>Aloysia triphylla</i> (L'Her) Britton.	Verbenaceae
006-M	Poleo	<i>Mentha pulegium</i>	Lamiaceae
007-M	Pronto alivio	<i>Lippia alba</i> (Mill) N.E. Brown	Verbenaceae
008-M	Pronto alivio	<i>Lippia alba</i> (Mill) N.E. Brown	Verbenaceae
009-M	Anisillo	<i>Tagetes filifolia</i> Lag.	Asteraceae

En la **Tabla 24**, se relacionan los rendimientos de obtención de aceite esencial de las especies colectadas, la parte de la planta utilizada y la cantidad de material vegetal empleado para la extracción. Todos los AE se aislaron por MWHD, bajo las condiciones descritas en la **Sección 4.3**.

Tabla 24. Rendimientos (%) de los AE obtenidos por MWHD, de las plantas colectadas en las diferentes regiones de los municipios de Bolívar, El Peñón y Guavatá, Santander-Colombia.

Nombre botánico	Parte de la planta empleada	Material vegetal, g	Cantidad de la esencia, g	Rendimiento de extracción, %
<i>Lepechinia bullata</i>	Hojas	405	2,86	0,7
<i>Salvia palaefolia</i>	Hojas y flores	64	0,20	0,3
<i>Tanacetum parthenium</i>	Hojas, flores y tallos	173	0,80	0,5
<i>Minthostachis mollis</i>	Hojas	155	3,16	2,0
<i>Aloysia triphylla</i>	Hojas	234	2,05	0,9
<i>Mentha pulegium</i>	Hojas	10	0,07	0,7
<i>Lippia alba</i>	Hojas	70	1,27	1,8
<i>Lippia alba</i>	Hojas	195	4,78	2,5
<i>Tagetes filifolia</i>	Hojas, flores y tallos	120	1,92	1,6

Los rendimientos de aceites más altos (1,6 – 2,5 %) se obtuvieron a partir de las hojas secas de *Tagetes filifolia* (009-M), *Minthostachis mollis* (004-M) y *Lippia alba* (007-M y 008-M), mientras que *Salvia palaefolia* (003-M) presentó

el rendimiento más bajo (0,3 %). Por otro lado, las especies *Lepechinia bullata*, *Aloysia triphylla*, *Tanacetum parthenium* y *Mentha pulegium* exhibieron rendimientos de extracción intermedios, que varían entre el 0,5 y 0,9%, que son comparables con los de la mayoría de las especies utilizadas para producción de esencias.

El contenido de AE en las partes aéreas de la especie *Tagetes filifolia*, fue ca. 4 veces más alto que el reportado por De Feo *et al.* [156], quienes aislaron la esencia por hidodestilación, con rendimiento del 0,47% en base seca, a partir de material vegetal colectado en el Departamento de Cusco, Perú. Las diferencias en el contenido de AE, de acuerdo con Zygadlo *et al.* [157], se deben, posiblemente a las distintas condiciones ambientales en que se cultiva la planta.

Para *Minthostachys mollis*, la información disponible acerca de los rendimientos de su AE es escasa. No obstante, un contenido de esencia del 2% en base seca, a partir de las partes aéreas de la planta, y de un olor similar al aceite extraído de las especies del género *Mentha*, hace que la especie *Minthostachys mollis* sea una planta aromática promisoría para su cultivo en la región.

La *Lippia alba* presentó variaciones significativas en el contenido de AE, las cuales pueden estar asociadas a factores intrínsecos (edad y estado de desarrollo de planta) o extrínsecos (condiciones ambientales y geobotánicas del cultivo); sin embargo, los rendimientos de extracción del aceite son comparables con los reportados por Monsalve *et al.* (2,5%) [26]. La autora evaluó el rendimiento y la composición química de los AE de *Lippia alba*, provenientes de diferentes regiones de Colombia, entre ellas, Bolívar-Santander, y observó que el contenido de AE en la especie *Lippia alba* era mayor para aquellas plantas que habían sido colectadas en regiones de mayor altura [26]. Este hecho le confiere al municipio de Bolívar-Santander

una ventaja competitiva frente a otras regiones del país, en cuanto a la producción y el rendimiento del AE de *Lippia alba* se refiere.

Con respecto al aceite esencial de *Salvia palaefolia*, no existen reportes en la literatura sobre su rendimiento y la composición química.

La composición química de los aceites esenciales de las especies aromáticas silvestres colectadas en los municipios de la Subregión de Vélez (Bolívar, El Peñón y Guavatá) se muestra en las **Tablas 25-30**.

Todos los aceites aislados se analizaron por GC-MS, en dos columnas, a saber: polar, DB-WAX (60 m) y apolar, DB-5 (60 m), bajo las condiciones descritas en la **Sección 4.4**. La identificación de los analitos se realizó con base en dos criterios, *i.e.* cromatográfico (t_R , I_K) y espectroscópico (MS, EI, 70 eV). Para algunos compuestos mayoritarios se utilizaron los respectivos patrones, analizados por GC-MS bajo las mismas condiciones operacionales usadas para el análisis de los AE, comparando sus t_R , I_K y los espectros de masas con los obtenidos para los AE (**Anexo 4**).

5.1.1 *Lepechinia bullata* y *Salvia palaefolia*.

Lepechinia bullata es una planta medicinal, que pertenece a la familia Lamiaceae (Labiatae), endémica de Colombia y Venezuela [158]; conocida comúnmente como “Salvión” (**Figura 28**). En la literatura, son pocos los estudios sobre la composición química de los AE de las especies *Lepechinia*, algunos de ellos incluyen a *Lepechinia chalepensis*, *L. floribunda*, *L. speciosa*, *L. graveolens* y *L. salviae*, entre otras [159,160].



Figura 28. Planta de *Lepechinia bullata* (Kunth) Epl.

La especie *Salvia palaefolia* (sinonimia: *Salvia scutellarioides*) es nativa de Colombia; crece de forma endémica en las regiones pacífica y andina a alturas entre 1600 y 3500 m.s.n.m. (**Figura 29**) [161]. *Salvia palaefolia* pertenece a la familia de las Lamiaceae (Labiatae), se llama popularmente “Mastranto” y es utilizada en la medicina tradicional colombiana por sus efectos antihipertensivos y diuréticos [161]. No existen reportes en la literatura sobre la composición química de su AE.



Figura 29. Planta de *Salvia palaefolia* Kunth.

En los AE de *Lepechinia bullata* y *Salvia palaefolia* obtenidos por MWHD se detectaron, por GC-MS, 30 y 23 compuestos, respectivamente, en cantidades $>0,1\%$; de ellos, se identificaron positivamente, usando I_k

(columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 22 (73%) y 19 (83%) compuestos (**Tabla 25**), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración, *Thshd* = 17 y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En las **Figura 30** y **31**, se ilustran los perfiles cromatográficos típicos de los metabolitos secundarios volátiles aislados por MWHD de *Lepechinia bullata* y *Salvia palifolia*. En la **Tabla 25**, se muestran la identificación de los picos y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en sus AE.

Los compuestos mayoritarios en el AE de *Lepechinia bullata* corresponden a viridiflorol (22,5%), eremofileno + γ -cadineno (18,2%), *trans*- β -cariofileno (16,6%), y ledol + epóxido de humuleno (7,9%). Por otro lado, el AE de *Salvia palifolia* contiene constituyentes mayoritarios *trans*- β -cariofileno (61,5%), óxido de cariofileno (9,9%), selina-3,11-dien-6- α -ol + α -eudesmol (5,1%) y α -humuleno (3,7%).

De acuerdo con la clase y el contenido de los metabolitos secundarios mayoritarios en los AE de *Lepechinia bullata* y *Salvia palifolia*, aisladas por MWHD, estas esencias pueden clasificarse como de tipo “sesquiterpenoide”, como se muestra en la **Tabla 31**. El contenido de sesquiterpenoides en las esencias de *Lepechinia bullata* y *Salvia palifolia* corresponde a ca. 96 y 97%, respectivamente.

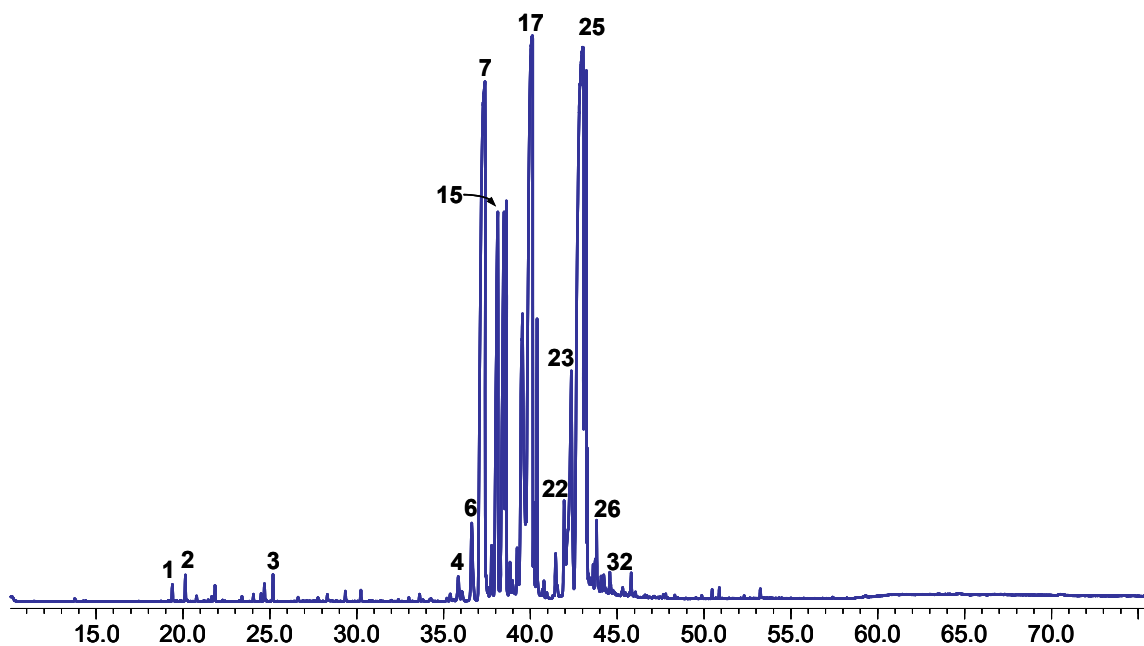


Figura 30. Perfil cromatográfico típico del AE de *Lepechinia bullata*, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

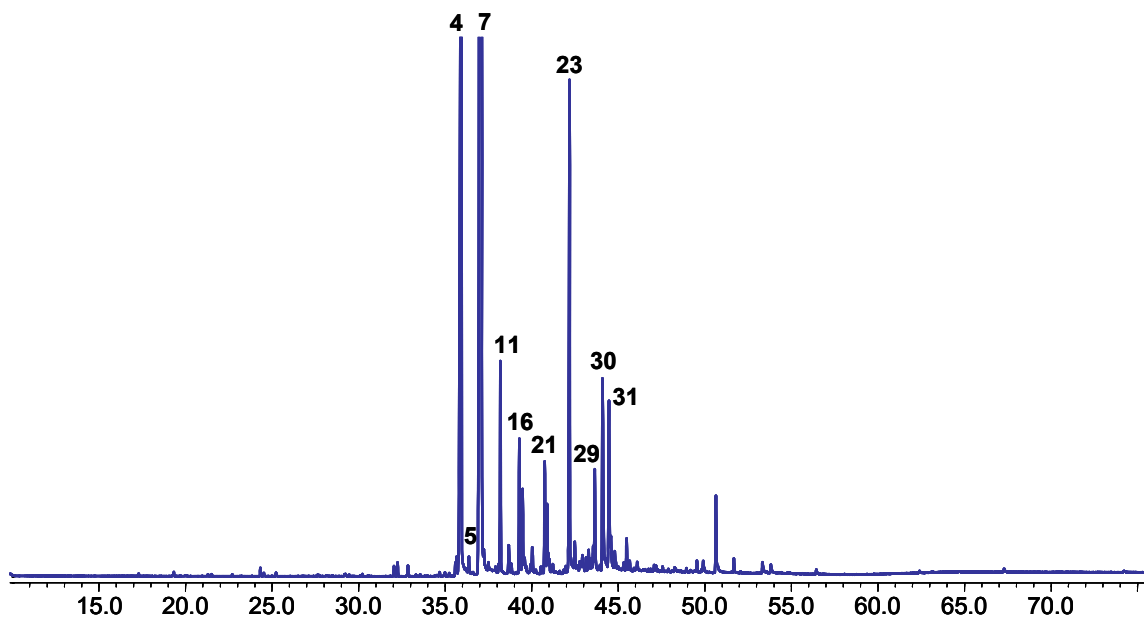


Figura 31. Perfil cromatográfico típico del AE de *Salvia palaefolia*, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

Tabla 25. Composición química de los AE (tipo: sesquiterpenoide) de *Lepechinia bullata* cod: 001M y *Salvia palifolia* cod: 002M, aislados por MWHD.

Nº de Pico ^a	I _K ^b		Compuestos	Cantidad relativa, (%)	
	DB-5	DB-WAX		001-M	002-M
1	978	1451	1-Octen-3-ol	0,10	---
2	996	1397	3-Octanol	0.13	---
3	1118	1338	Acetato de 3-octilo	0.13	---
4	1398	1595	β-Elemeno	0.29	0.30
5	1417		<i>cis</i> -β-Cariofileno	---	0.30
6	1421	1538	α-Gurjuneno	1.03	---
7	1440	1607	<i>trans</i> -β-Cariofileno	16.58	61.5
8	1442	1582	β-Ylangeno	---	0.62
9	1455	1657	Aromadendreno	0.49	---
10	1465	1655	α-Guaieno	5.73	---
11	1475	1679	α-Humuleno	5.19	3.74
12	1479	1655	<i>allo</i> -Aromadendreno	3.55	---
13	1484	1702	γ-Muuroleno	---	0.63
		1952	+ (<i>E</i>)-β-Ionona	---	---
14	1486	1734	α-Selineno	0.38	1.18
15	1498	1703	Viridifloreño	6.05	---
		1728	+ Valenceno	---	---
		1750	+ Bicyclogermacreno	---	---
16	1503	1729	β-Selineno	---	2.21
17		1750	+ Eremofileno	18.19	---
		1769	+ γ-Cadineno	---	---
18	1528	1764	δ-Cadineno	---	0.59
19	1536	1841	Calameneno	1.73	---
20	1549		α-Cadineno	0.10	2.01
21	1556	1789	Selina-3,7(11)-dieno	---	1.64
22	1588	1945	Palustrol	1.10	---
23	1600	2004	Óxido de cariofileno	4.58	9.86
24		2141	Espatuleno	---	---
25	1611	2107	Viridiflorol	22.52	0.50
26	1622	2049	Ledol	7.88	---
27	1627	2062	Epóxido de humuleno	---	0.49
28	1654	2325	Cariofila-4(14),8(15)-dien-5,α-ol	0.29	0.47
29	1657	2336	Cariofila-4(14),8(15)-dien-5,β-ol	0.52	1.92
30	1671		Selina-3,11-dien-6-α-ol	---	5.06
		2244	+ α-Eudesmol	---	---
31	1684	2604	<i>trans</i> -9- <i>epi</i> -14-Hidroxicariofileno	---	3.72
32	1687	2242	Cadalenol	0.17	---

a Número de pico en las Figuras 30 y 31

b Índices de Kováts determinados experimentalmente en las columnas DB-5 y DB-WAX.

Entre los componentes del AE de *Lepechinia bullata*, bajo estudio, no se encontraron los hidrocarburos sesquiterpénicos (-)-espirolepechineno y (-)-premnaspirodeno, los cuales han sido reportados como los principales constituyentes de la fracción volátil de esta planta cultivada en Santo Domingo (Venezuela) [158]. Según Eggers *et al.*, el contenido de (-)-espirolepechineno y (-)-premnaspirodeno en el AE de las hojas de *Lepechinia bullata* es 20 y 45%, respectivamente [158].

Aunque los rendimientos de extracción de los AE de *Lepechinia bullata* y *Salvia palifolia* no fueron bajos (0,7 y 0,3%) respectivamente, las composiciones químicas no presentaron mayores atractivos, salvo el alto contenido de *trans*- β -cariofileno (61,5%), en el AE de *Salvia palifolia*.

El *trans*- β -cariofileno es un hidrocarburo sesquiterpénico presente en la naturaleza en 3 formas isoméricas, α , β y γ -cariofileno; el isómero β - es el más abundante en la naturaleza. Está presente en muchos AE, principalmente, en el de clavo, del cual fue originalmente aislado [162]. El consumo anual en el mundo del *trans*- β -cariofileno es ca. 4800 kg, éste se utiliza principalmente como saborizante y aromatizante [162]. Luego, la planta *Salvia palaefolia* podría perfilarse como una fuente natural para la obtención de los AE, destinados para el aislamiento de *trans*- β -cariofileno.

5.1.2 *Tanacetum parthenium*

Tanacetum parthemium es una planta herbácea, erecta, con tallos muy ramosos de 30-90 cm de altura, hojas blandas alternas, de color verde amarillento, capítulos planos dispuestos en corimbos terminales, con el centro amarillento pálido y líguas blancas de 1-2,5 cm de diámetro, es una planta muy aromática (**Figura 32**).



Figura 32. Planta de *Tanacetum parthenium* (L) Sch. Bip.

Pertenece a la familia Asteraceae, se encuentra en Europa, países del mediterráneo y también en América, le favorece la exposición a pleno sol o semi-sombra y lugares frescos; es una planta sumamente resistente a las heladas (tolera temperaturas hasta de -15°C). Se propaga fácilmente por semillas o por esquejes [33].

El nombre botánico de esta planta posee diferentes sinonimias, entre ellas, *Matricaria parthenium* (L.), *Leucanthemum parthenium* (L.) Gren. y Gordon, *Pyrethrum parthenium* (L.) Sm., y *Chrysanthemum parthenium* (L.) Bernh [163].

En el AE obtenido por MWHD de *Tanacetum parthenium* se detectaron, por GC-MS, 101 compuestos, en cantidades $>0,1\%$; de ellos, se identificaron positivamente, usando I_K (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV), 47 (47%) compuestos (**Tabla 26**), usando los parámetros de integración aplicados, *i.e.* umbral de integración, $Thshd = 17$ y área de rechazo del pico en la base = 0,1.

En la **Figura 33** se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Tanacetum parthenium*, obtenidos por MWHD. En la **Tabla 26**, se muestran la identificación de los picos y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes el AE de *Tanacetum parthenium*.

El rendimiento del aceite esencial fue de 0,5%; alcanfor (30,3%), canfeno (6,9%) y *p*-cimeno (5,8%) fueron compuestos principales. El AE de esta planta se utiliza en fitoterapia y la industria farmacéutica [33].

El AE de *Tanacetum parthenium* puede clasificarse como de tipo “monoterpenoide” por la familia de compuestos mayoritarios (74,9%). En la **Tabla 31**, se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes.

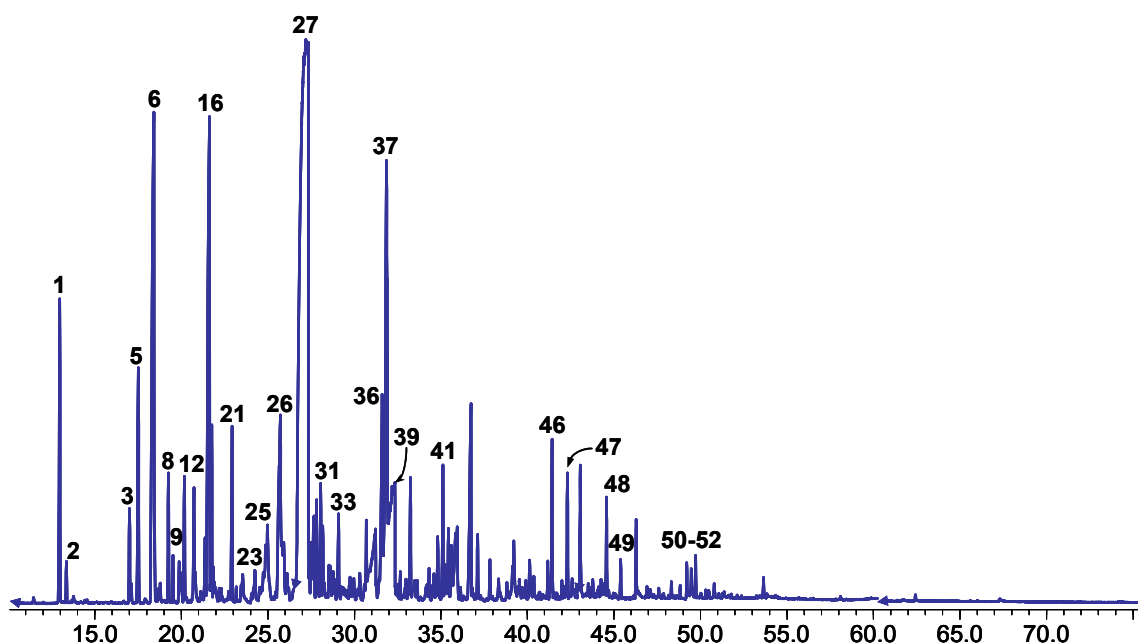


Figura 33. Perfil cromatográfico típico de los AE de *Tanacetum parthenium*, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

El rendimiento del AE de *Tanacetum parthenium* estudiado en el presente trabajo, fue similar al reportado por Akpulat y colaboradores [164]. Sin embargo, respecto a la composición química, se observaron para los componentes mayoritarios variaciones cuantitativas significativas. Akpulat *et al.*, reportan que la esencia obtenida por hidrodestilación de las partes aéreas de *Tanacetum parthenium* originaria de Turquía, posee alcanfor (56,9%) y canfeno (12,7%). La variación observada respecto al contenido de los componentes mayoritarios se debe, posiblemente, a las condiciones climáticas diferentes en las cuales se desarrollaron las plantas.

Tabla 26. Composición química del AE (tipo: monoterpenoide) de *Tanacetum parthenium* cod: 003M, aislado por MWHD.

Nº de Pico ^a	I _k ^a		Compuestos	Cantidad relativa, (%) 003-M
	DB-5	DB-WAX		
1	827		Etil-5,5-dimetil-1,3-ciclopentadieno	1.84
2	827		Etil-5,5-dimetil-1,3-ciclopentadieno (Isómero)	0.19
3	923	1007	Triciclano	0.53
4	925	1026	α-Tujeno	0.11
5	935	1021	α-Pineno	1.58
6	956	1065	Canfeno	6.91
7	965	1199	Benzaldehído	0.12
8	977	1120	Sabineno	0.66
9	982	1107	β-Pineno	0.22
10	991	1164	Mirceno	0.26
11	995		Verbeneno	0.22
12	998	1282	1,3,5-Trimetilbenceno	0.69
13	1012	1165	α-Felandreno	0.94
14	1021	1181	α-Terpineno	0.13
15	1027	1338	Trimetilbenceno (Isómero)	0.47
16	1030	1271	<i>p</i> - y <i>o</i> -Cimeno	5.83
17	1036	1199	Limoneno	0.94
18	1038	1210	β-Felandreno	0.15
19	1041	1213	Eucaliptol (1,8-cineol)	0.24
20	1050	1254	<i>trans</i> -β-Ocimeno + acetil benceno	0.11
21	1064	1247	γ-Terpineno	0.99
22	1079		<i>cis</i> -Hidrato de sabineno	0.40
23	1096		<i>p</i> -Cimeneno	0.37
24	1111	1473	2,2,6-Trimetil-3-ceto-6-vinil-tetrahidropirano	0.61
25	1114	1551	Linalool	0.88
		1468	+ <i>trans</i> -Hidrato de sabineno	
26	1132	1515	Crisantenona	3.27
27	1164	1527	Alcanfor	30.28

Tabla 26. Continuación.

28	1175	1579	Pinocarvona	0.26
29	1180	1732	<i>p</i> -Menta-1,5-dien-8-ol	0.75
30	1183	1709	Borneol	0.73
31	1189	1609	Terpinen-4-ol	0.65
32	1192	1854	<i>p</i> -Cimen-8-ol	0.56
33	1216	1756	<i>trans</i> -Piperitol	0.62
		1718	+ Verbenona	
34	1261		<i>cis</i> -Acetato de crisantenilo	0.50
35		2323	Ácido 3,4,5,5-tetrametil-1,3-ciclopentadienoico	2.25
36	1286	1620	<i>cis</i> -Acetato de verbenilo	2.34
37	1293	1587	Acetato de bornilo	5.67
		1643	+ <i>trans</i> -Acetato de verbenilo	
38	1306	2408	Ácido 3,4,5,5-tetrametil-1,3-ciclopentadienoico	4.17
39	1378	1738	α -Acetato de terpenilo	0.82
40	1391	1876	Isovalerato de bencilo	0.49
			+ <i>trans</i> -Acetato de mirtanilo	
41	1400	1898	Pentanoato de bencilo	0.44
42	1434	1606	<i>trans</i> - β -Cariofileno	0.35
43	1455		<i>cis</i> - β -Farneseno	0.19
44	1570	1876	Angelato de bornilo	0.94
45	1600	2004	Óxido de cariofileno	0.70
46	1684	2257	Intermedeol*	0.53
47	1717		Pentadecanal	0.18

a Número de pico en la figura 33

b Índices de Kováts determinados experimentalmente en las columnas DB-5 y DB-WAX.

* Identificado tentativamente.

De acuerdo con lo reportado en la literatura, el AE aislado de las partes aéreas de *Tanacetum parthenium* contiene una compleja mezcla de monoterpenos y sesquiterpenos, además de una serie interesante de espiroceto enoléteres no terpenoides [163]. Algunos de los compuestos que no fueron posibles identificar, pueden corresponder a una serie compleja de α -metilbutirolactonas sesquiterpénicas, las cuales son comunes entre los miembros de la familia Asteraceae [163].

5.1.3 *Minthostachis mollis* y *Mentha pulegium*

Minthostachis mollis

La especie *Minthostachys mollis* es una planta que pertenece a la familia Lamiaceae (Labiatae), es originaria de Suramérica y conocida comúnmente, en los municipios de la sub-región de Vélez, como “Orégano”. El género *Minthostachys* presenta una gran distribución a lo largo de la Cordillera de los Andes, desde Venezuela y Colombia, hasta la Argentina [4].

La planta es una hierba o subarbusto de 0,30-2 m de altura, muy ramificado, pubescente y aromático, hojas ovaladas, de 1-5 cm de largo, flores blancas dispuestas en inflorescencias más que las hojas (**Figura 34**) [4].



Figura 34. Planta de *Minthostachys mollis*.

La esencia es de un olor muy similar al de las plantas del género *Mentha*. El aceite esencial contiene mentona, pulegona, isomentona, limoneno y β -pineno como compuestos mayoritarios, que se utilizan en la industria de

alimentos para la fabricación de licores y como aromatizantes en muchos productos industriales. Estudios recientes promueven el uso del AE de *Minthostachys mollis* como insecticida [4, 165].

Mentha pulegium.

Mentha pulegium es una planta herbácea muy ramificada 10-60 cm de altura, hojas opuestas de 1-2 cm, flores pequeñas de color lila, rosado o blanco; conocida comúnmente como “Poleo”, distribuida en Europa Central, Oriente Medio y América(Figura 35). Le favorecen climas templados o templados-cálidos, puede tolerar la sombra y resistir las heladas [33].

La planta puede propagarse por semillas o por esquejes, la densidad óptima de plantación es de 50.000 plantas/ha, el rendimiento de la planta fresca en el primer año sería de 6-10 t/ha y años sucesivos de 20-27 t/ha; según la literatura, el rendimiento de AE es 1,5-1,7% en base seca (12% de humedad) [33].



Figura 35. Planta de *Mentha pulegium*

El AE de *Mentha pulegium*, se caracteriza por su olor a menta, contiene como compuesto mayoritario pulegona; además de compuestos monoterpénicos como piperitona, mentona, isomentona, mentol, timol y carvacrol. Se usa en fitoterapia, en las industrias farmacéutica y licorera, en preparaciones culinarias como condimento y en la fabricación de artículos aromáticos [33,166-168].

En los AE de *Minthostachis mollis* y *Mentha pulegium* obtenidos por MWHD se detectaron, por GC-MS, 31 y 15 compuestos, respectivamente, en cantidades >0,1%; de ellos, se identificaron positivamente, usando I_K (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 25 (81%) y 15 (100%) compuestos (**Tabla 27**), respectivamente, bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración, *Thshd* = 17 y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En las **Figuras 36** y **37**, aparecen los perfiles cromatográficos típicos de los metabolitos secundarios volátiles de *Minthostachis mollis* y *Mentha pulegium*, obtenidos por MWHD. En la **Tabla 27**, se muestran la identificación de los picos y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en los AE de *Minthostachis mollis* y *Mentha pulegium*.

Los compuestos mayoritarios en el AE de *Minthostachis mollis* corresponden a pulegona (49,6%), iso-mentona (33,2%), *trans*-β-cariofileno (3%), y iso-pulegona (2,2%). Asimismo, los compuestos mayoritarios presentes en el AE de *Mentha pulegium* corresponden a pulegona (49,4%), mentona (39,4%), *trans*-β-cariofileno (4%), e iso-mentona (1,7%).

Los AE de *Minthostachis mollis* y *Mentha pulegium* pueden clasificarse como de tipo “monoterpenoide”, según el tipo de compuestos mayoritarios. En la **Tabla 31**, se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes. El contenido de monoterpenoides en las esencias

varía entre 92 y 95%. Adicionalmente, los AE de estas especies se caracterizan por la ausencia o muy bajo contenido de mentol.

La información sobre la composición del AE de *Minthostachys mollis* no se encuentra disponible en la literatura científica indexada. Se tienen pocos estudios sobre esta especie. La esencia tiene un agradable olor a menta y la composición presenta altos porcentajes de isomentona y pulegona, que le confieren su agradable fragancia.

Sería de mucho interés llegar a tecnificar un cultivo de *Minthostachys mollis*, puesto que la planta es oriunda de los municipios de la subregión de Vélez, presenta buenos rendimientos, ca. 2%, una composición química que se caracteriza por un alto contenido de compuestos oxigenados. Por otro lado, el AE *Minthostachys mollis* presenta una particularidad interesante: el contenido de isomentona es mayor que el de mentona, mientras que para la mayoría de las plantas del género “Menta” es al revés.

En cuanto al AE de *Mentha pulegium*, la composición química hallada sí concuerda con la reportada en la literatura [166-168].

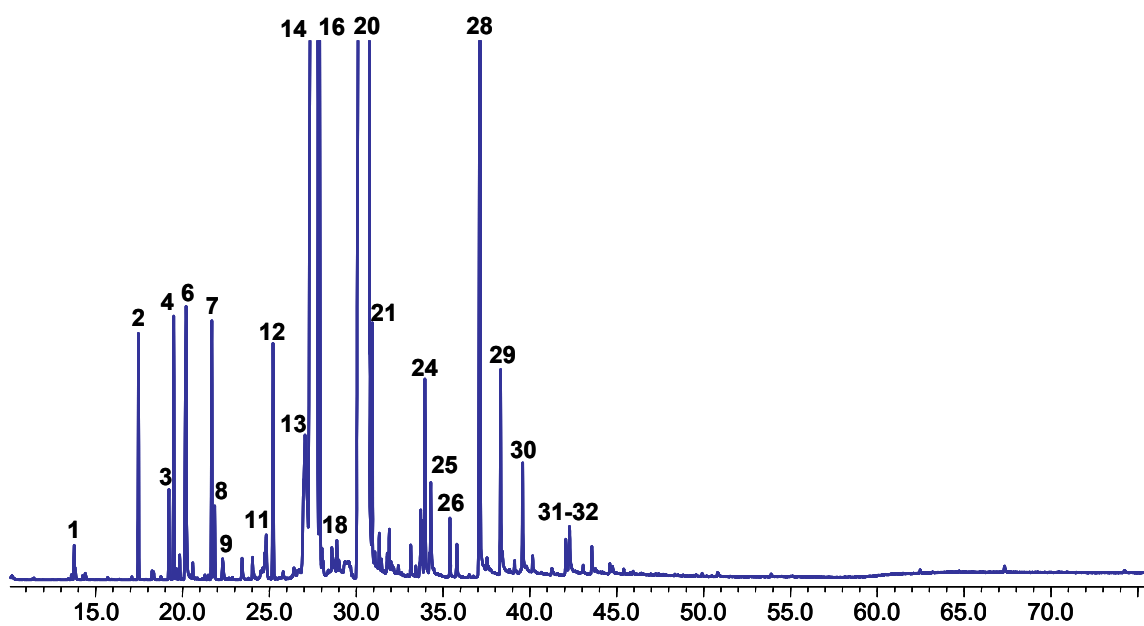


Figura 36. Perfil cromatográfico típico del AE de *Minthostachis mollis*, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

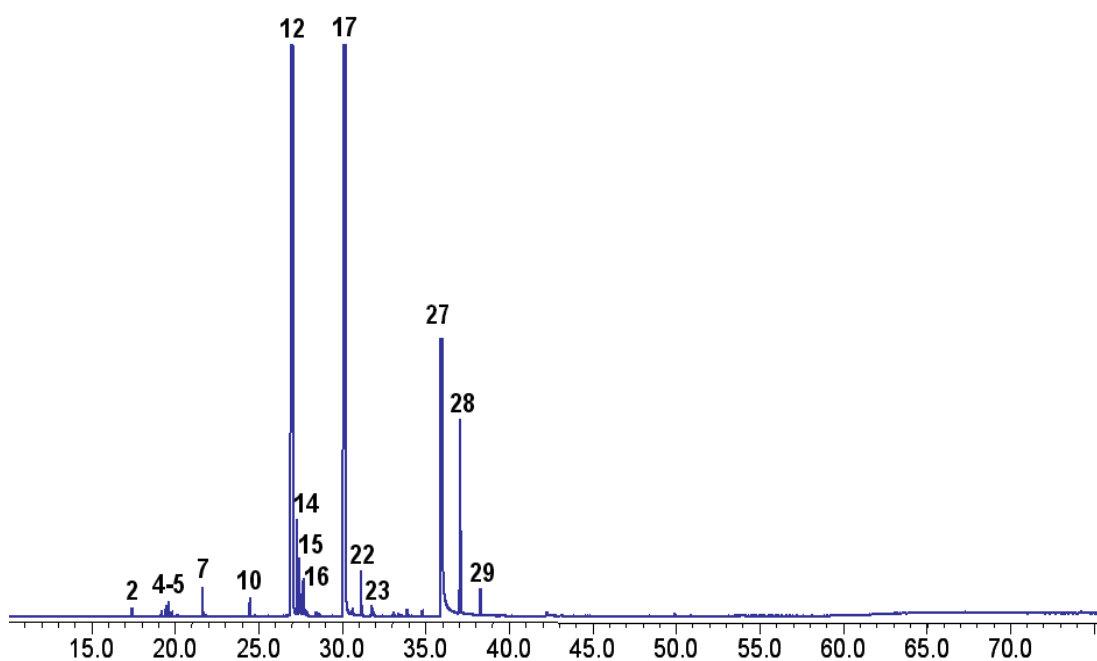


Figura 37. Perfil cromatográfico del AE de *Mentha pulegium*, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

Tabla 27. Composición química de los AE (tipo: monoterpenoide) de *Minthostachis mollis* cod: 004M y *Mentha pulegium* cod: 006M, aislados por MWHD.

Nº de Pico ^a	I _K ^b		Compuestos	Cantidad relativa, %	
	DB-5	DB-WAX		004-M	006-M
1	844	1218	(E)-2-Hexenal	0.13	---
2	845	1387	3-Hexenol	---	---
3	933	1021	α-Pineno	0.64	0.16
4	975	1120	Sabineno	0.23	---
5	981	1107	β-Pineno	0.69	0.20
6	985	1256	3-Octanona	---	0.29
7	998	1397	3-Octanol	1.40	---
8	1033	1199	Limoneno	0.69	0.53
9	1038	1211	Eucaliptol (1,8-Cineol)	0.22	---
10	1048		Acetil benceno	0.10	---
11	1101	1551	Linalool	0.29	0.38
12	1119	1338	Acetato de 3-octanilo	0.83	---
13	1164	1467	Mentona	1.62	39.40
14	1173	1497	iso-Mentona	33.22	1.68
15	1176	1601	Mentol	---	1.29
16	1182	1590	iso-Pulegona	2.21	0.89
17		1647	iso-Mentol	---	---
18	1205	1615	trans-Dihidrocarvona	0.17	---
19	1211	1702	α-Terpineol	---	---
20	1247	1657	Pulegona	49.63	49.43
21	1261	1738	Piperitona	0.64	0.18
22	1275	1569	Acetato de neo-mentilo	---	0.82
23	1292	1536	Acetato de mentilo	---	0.25
24	1349	1939	Piperitenona	0.70	---
25	1357	2177	Eugenol	0.43	---
26	1386	1499	α-Copaeno	0.16	---
27	1397		β-Cubebeno	0.11	---
28	1432	1607	trans-β-Cariofileno	2.99	3.99
29	1470	1678	α-Humuleno	0.56	0.51
30	1508	1744	Biciclogermacreno	0.32	---
31	1592	2141	Espatuleno	0.13	---
32	1599	2004	Óxido de cariofileno	0.24	---

a Número de pico en las Figuras 35 y 36.

b Índices de Kováts determinados experimentalmente en las columnas DB-5 y DB-WAX.

5.1.4 *Aloysia triphylla* (L'Her) Britton.)

La especie *Aloysia triphylla* es una planta arbustiva que crece hasta 2 m, tiene hojas vertilicidas, lanceoladas de hasta 7 cm, rugosas, flores pequeñas blanquecinas o blanquecino-violáceas, agrupadas en espigas (**Figura 38**).



Figura 38. Planta de *Aloysia triphylla* (L'Her) Britton.

Pertenece a la familia Verbenaceae y vernaculamente se conoce como “Cidrón”. Es originaria de América y se distribuye por todos los Andes desde Argentina hasta México.

El AE de *Aloysia triphylla* tiene una amplia aplicación en las industrias de perfumes, cosmética y alimentos, así como en síntesis orgánica fina, debido a su alto contenido de citral, mezcla de los aldehídos isómericos, neral y geranial, que se usan como materia prima para la síntesis de otros compuestos como iononas y la vitamina A [49]. El citral se usa como agente antibacteriano y antifúngico, para el tratamiento de plantas de aguas, siendo considerado como un compuesto biodegradable [169].

El aceite esencial de *Aloysia triphylla* (Cidrón) posee actividades biológicas muy importantes, se emplea en el área de la farmacología o como antiespasmódico, analgésico, antiinflamatorio, antibacteriano, etc [170].

En la **Figura 39**, aparece el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Aloysia triphylla*, obtenidos por MWHD. En la **Tabla**

28, se muestran la identificación de los picos y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Aloysia triphylla*.

Los compuestos mayoritarios en el AE de *Aloysia triphylla* corresponden a geranial (22,6%), neral (18,6%), germancreno-D-4-ol + espatulenol (5,8%), y limoneno (4,8%). Aunque el AE de *Aloysia triphylla* contiene una mezcla rica de monoterpenos y sesquiterpenos, puede clasificarse como de tipo “monoterpenoide”, puesto que la mayoría de los constituyentes son de esta familia (56,67%). En la **Tabla 31**, se registra la composición química del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes.

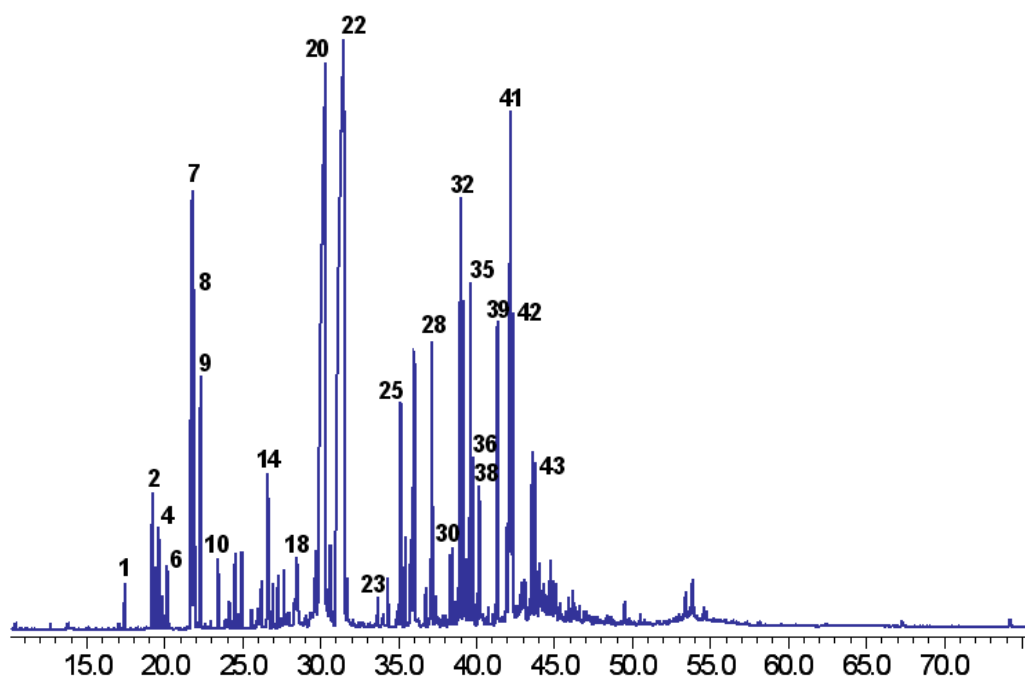


Figura 39. Perfil cromatográfico del AE de *Aloysia triphylla*, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

Tabla 28. Composición química del AE (tipo: monoterpenoide) de *Aloysia triphylla* (005-M), aislado por MWHD.

Nº de Pico ^a	I _K ^b		Compuestos	Cantidad relativa, %
	DB-5	DB-WAX		005-M
1	934	1023	α-Pineno	0.21
2	975	1121	Sabineno	0.68
3	980	1450	Octen-3-ol	0.50
4	985	1339	6-Metil-5-octen-3-ona	0.58
5	990	1160	β-Mirceno	0.15
6	998	1397	3-Octanol	0.38
7	1036	1200	Limoneno	4.81
8	1040	1212	Eucaliptol (1,8-Cineol)	2.05
9	1050	1252	<i>trans</i> -b-Ocimeno	1.50
10	1076	1468	<i>cis</i> -Hidrato de sabineno	0.43
11	1102	1551	Linalool	0.55
12	1106	1152	<i>trans</i> -Hidrato de sabineno	0.13
13	1138		<i>cis</i> -Óxido de limoneno	0.12
14	1154	1512	Fotocitral A	1.01
15	1162	1577	<i>cis</i> -Verbenol	0.28
16	1170		Epóxido de rosefurano	0.29
17	1180		<i>trans</i> -Verbenol	0.36
18	1200	1703	α-Terpineol	1.03
19	1234	1808	Nerol	1.11
20	1250	1686	Neral	18.64
21	1259	1805	Geraniol	0.68
22	1283	1738	Geranial	22.64
23	1341	1469	δ-Elemeno	0.16
24	1358	2178	Eugenol	0.31
25	1379	1760	Acetato de geranilo	1.59
26	1386	1497	α-Copaeno	0.50
27	1396	1525	β-Bourboneno	0.52
28	1434		α-Cedreno	2.27
		1603	+ <i>trans</i> -Cariofileno	
29	1470		Propanoato de nerilo	0.48
		1682	+ α-Humuleno	
30	1475	1655	<i>allo</i> -Aromadendreno	0.42
31	1480		β-Acoradieno	0.14
32	1489	1686	γ-Muuroleno	3.38
		1779	+ <i>ar</i> -Curcumeno	
33	1495	1720	Germacreno D	2.12
34	1500	1727	α-Zingibereno	0.50
35	1511	1743	Biciclogermacreno	2.49
36	1516		β-Curcumeno	0.98
37	1525	1717	γ-Cadineno	0.16
38	1528	1953	<i>epi</i> -10-Cubebol	0.86
39	1568	2044	<i>trans</i> -Nerolidol	2.18
40	1587	2217	<i>ar</i> -Turmerol	0.53
41	1594	2065	Germacreno D-4-ol	5.84
		2140	+ Espatuleno	
42	1601	2004	Óxido de cariofileno	2.40

a Número de pico en la Figura 38.

b Índices de Kováts determinados experimentalmente en las columnas DB-5 y DB-WAX.

5.1.5 *Lippia alba*



Figura 40. Planta de *Lippia alba* (MIII) N.E. Brown colectada en el minucipio de Bolivar.

En los AE obtenidos por MWHD de *Lippia alba* recolectada (**Figura 40**) en diferentes lugares (**Tabla 22**) se detectaron, por GC-MS, 58 y 48 compuestos, respectivamente, en cantidades $>0,1\%$; de ellos, se identificaron positivamente, usando I_K (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 44 (76%) y 41 (85%) compuestos, respectivamente (**Tabla 29**), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración, $Thshd = 17$ y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 41**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Lippia alba*, obtenidos por MWHD. En la **Tabla 29**, se muestran la identificación de los picos y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en los AE de *Lippia alba*.

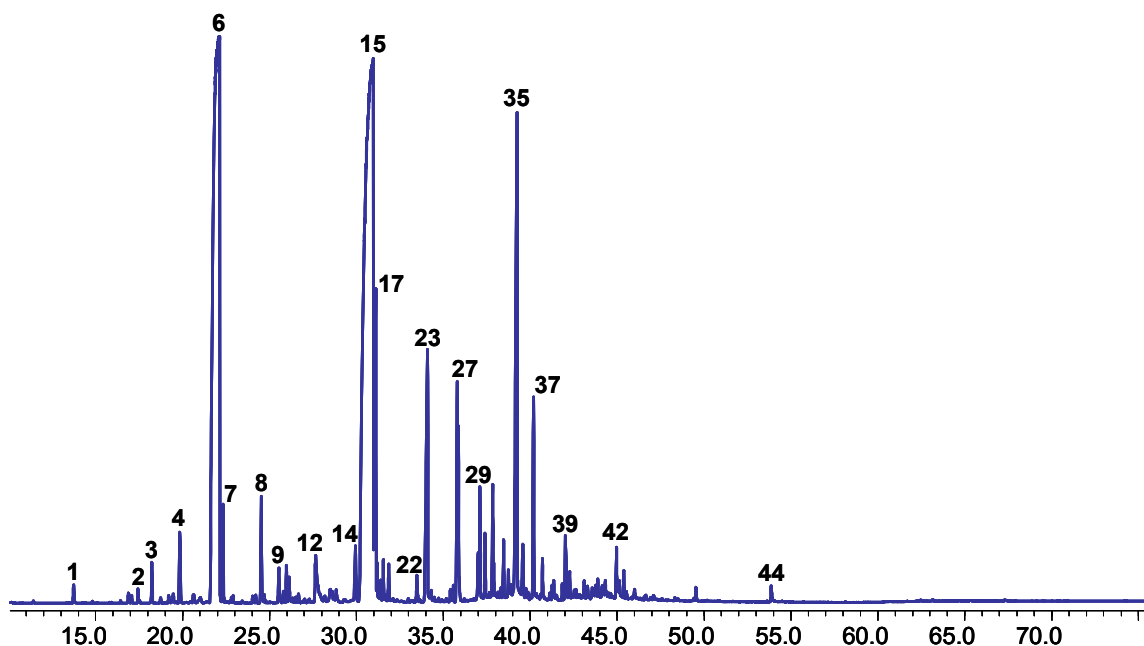


Figura 41. Perfil cromatográfico del AE de *Lippia alba* (007-M) y (008-M), aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

Tabla 29. Composición química de los AE (tipo: monoterpenoide) de *Lippia alba* código: (007-M) y código: (008-M), aislados por MWHD.

Nº de Pico ^a	I _k ^b		Compuestos	Cantidad relativa, %	
	DB-5	DB-WAX		007-M	008-M
1	845	1220	2-Hexenal	0.12	0.17
2	939	1023	α-Pineno	0.11	0.10
3	952	1065	Canfeno	0.28	0.20
4	990	1164	β-Mirceno	0.74	0.66
5	1018		Isobutirato de isoamillo	0.10	---
6	1040	1202	Limoneno	28.72	28.59
7	1050	1252	<i>trans</i> -β-Ocimeno	0.53	0.61
8	1102	1550	Linalool	0.83	0.71
9	1127	1635	<i>trans-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	0.31	0.22
10	1138		<i>cis</i> -Óxido de limoneno	0.20	0.15
11	1142		<i>cis-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	0.21	0.14
12	1179	1710	Borneol	0.97	0.74
13	1209		<i>trans</i> -Dihidrocarvona	0.14	0.25
14	1240		<i>cis</i> -Carveol	0.60	---
15		1746	Carvona	38.30	38.25
16	1270		Epóxido de piperitona	0.89	3.24
17	1272	1738	Piperitona	1.97	
18	1274	1804	<i>cis</i> -Óxido de carvona	0.22	0.21
19	1280		<i>p</i> -Menta-1,8-dien-3-ona	0.10	0.12
20	1284		<i>trans</i> -Óxido de carvona	0.21	0.16
21	1294	2189	Timol	0.26	0.29
22	1335		<i>trans</i> -Acetato de carvilo	0.22	0.16
23	1351	1939	Piperitenona	3.45	4.26

Tabla 29. Continuación.

24	1357	2180	Eugenol	0.11	0.16
25	1386	1498	α -Copaeno	0.10	0.14
26	1390	1597	β -Elemeno (Isómero)	0.10	0.11
27	1396	1526	β -Bourboneno	2.89	2.74
		1594	+ β -Elemeno		
		2020	+ Metil eugenol		
28	1431	1582	β -Ylangeno	0.31	0.29
29	1434	1603	<i>trans</i> - β -Cariofileno	0.71	0.83
30	1443	1598	β -Copaeneo	0.39	0.39
31	1456	1669	<i>cis</i> - β -Farneseno	0.98	0.91
32	1474	1655	<i>allo</i> -Aromadendreno	0.38	0.45
33	1482		<i>cis</i> -Murolo-4(14),5-dieno	0.20	0.19
34	1487		<i>trans</i> - β -Ionona	0.16	0.21
35	1497	1718	Germacreno D	6.59	8.57
36	1508		<i>epi</i> -Cubebol	0.57	0.71
		1736	+ α -Muuroleno		
		1748	+ Biciclogermacreno		
37	1529	1952	<i>epi</i> -10-Cubebol	1.48	1.17
38	1546		<i>trans-iso-γ</i> -Bisaboleno	0.27	0.31
39	1591	2065	Germacreno D-4-ol	0.66	0.38
		2141	+ Espatuleno		
40	1599		Glenol	0.26	0.12
		2006	+ Óxido de cariofileno		
41	1700		Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1a-ol	0.36	0.22
42	1706		Eudesma-4(15),7-dien-1b-ol	0.18	---
43	1717		<i>n</i> -Pentadecanal	0.15	---
44	2112		Fitol	0.13	---

a Número de pico en la figura 39.

b Índices de Kováts determinados experimentalmente en las columnas DB-5 y DB-WAX.

Los siguientes fueron compuestos mayoritarios presentes en los AE de *Lippia alba*, códigos 008-M y 009-M carvona (38,3 y 38,3%), limoneno (28,7 y 28,6%), germacreno D (6,6 y 8,6%) y piperitenona (3,5 y 4,3%), respectivamente. El AE de *Lippia alba* puede clasificarse como tipo “monoterpenoide”, puesto que el contenido de hidrocarburos monoterpénicos y de monoterpenos oxigenados alcanza ca. 80% en la esencia, tal como se puede ver en la **Tabla 31**.

La *Lippia alba*, como se mencionó anteriormente, fue la especie que exhibió los rendimientos de extracción más altos (1,8-2,5%). Respecto a la composición química de sus AE, la relación limoneno/carvona (ca. 0,75), es similar a la encontrada en las esencias, de la misma especie, colectadas en otras regiones del país [26].

5.1.6 *Tagetes filifolia*

Tagetes filifolia es una planta herbácea, anual, erecta, que crece hasta 50 cm de alto, pero generalmente no supera los 25 cm. Posee un tallo bastante ramificado, hojas opuestas, divididas en segmentos muy delgados; cabezuelas con pequeñas flores sésiles de color amarillo y un agradable olor a anís [171] (**Figura 42**).



Figura 42. Planta de *Tagetes filifolia* Lag.

La especie *Tagetes filifolia* pertenece a la familia Asteraceae (Compositae), es originaria de América y se distribuye desde México hasta Argentina; crece en lugares de suelo húmedo y en alturas que varían entre 600 y 2400 msnm [171].

La densidad de plantación recomendada para esta especie es de 20 x 20 cm, para una producción de 250,000 plantas/ha, el rendimiento de la esencia varia entre 0,47 y 1,68% en base seca [156,172]. Los fenilpropanoides representan la mayor parte de los componentes químicos del aceite esencial

de *Tagetes filifolia*, entre ellos, el *cis*-anetol y el estragol [156,172], aunque también se ha registrado *trans*-anetol [157].

En el AE de *Tagetes filifolia* obtenido por MWHD se detectaron, por GC-MS, 7 compuestos en cantidades >0,1%; de ellos, se identificaron positivamente, usando I_K (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 4 compuestos (99,0 %), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración, *Thshd* = 17 y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 43**, aparece el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Tagetes filifolia*, obtenidos por MWHD. En la **Tabla 30**, se muestran la identificación de los picos y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Tagetes filifolia*.

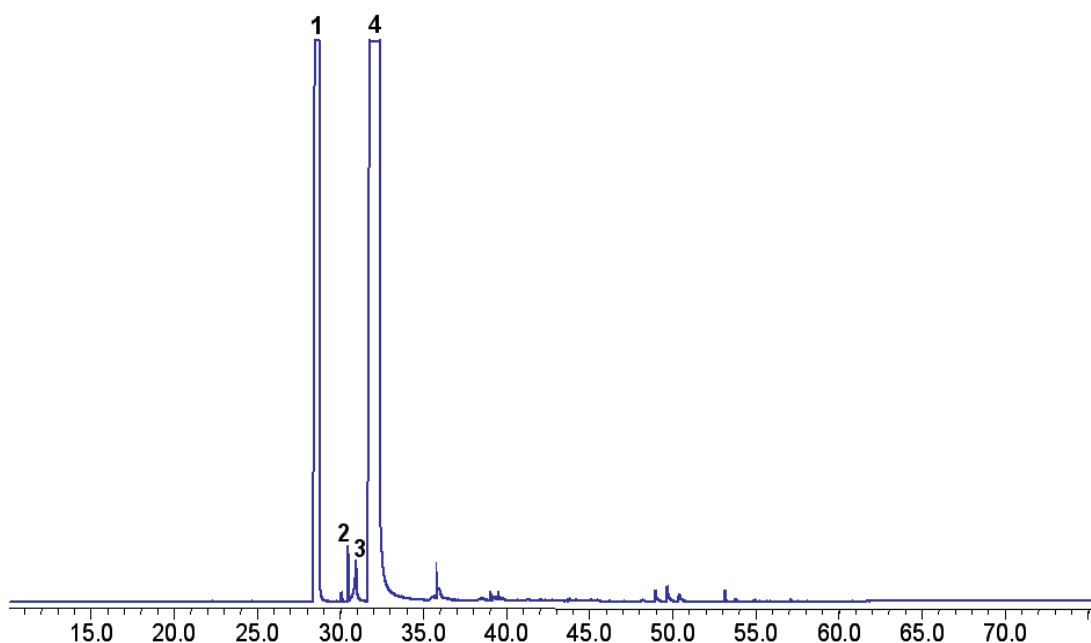


Figura 43. Perfil cromatográfico del AE de *Tagetes filifolia* código: (009-M), aislado por MWHD. Columna DB-5 (60m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

Los compuestos mayoritarios en el AE de *Tagetes filifolia* corresponden a *trans*-anetol (70,6%) y estragol (27,4%). El AE de *Tagetes filifolia* puede

clasificarse como de tipo “fenilpropanoide” ca. (98%). En la **Tabla 31**, se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes.

Tabla 30. Composición química del AE (tipo: fenilpropanoide) de *Tagetes filifolia*, cod: 009-M, aislado por MWHD.

Nº de Pico ^a	I _K ^b		Compuestos	Cantidad relativa, % 009-M
	DB-5	DB-WAX		
1	1206	1681	Estragol	27.41
2	1255	1761	<i>cis</i> -Anetol	0.33
3	1268		<i>p</i> -Anisaldehído	0.71
4	1306	1844	<i>trans</i> -Anetol	70.58

a Número de pico en la Figura 41.

b Índices de Kováts determinados experimentalmente en las columnas DB-5 y DB-WAX.

El AE de *Tagetes filifolia* posee el *trans*-anetol, como compuesto mayoritario. Esta esencia puede ser utilizada en la industria de alimentos y licores, por su fragancia dulce y anisada, similar al aceite de anís.

La clasificación de los AE de las especies silvestres bajo estudio, con base en el tipo y el contenido de los compuestos presentes en cada uno, se muestra en las **Tablas 31 y 32**. En la **Tabla 33**, se muestran los porcentajes de identificación de los constituyentes de los AE estudiados, teniendo en cuenta las áreas de sus picos cromatográficos (>0.1%).

Tabla 31. Clasificación de los AE de las especies silvestres bajo estudio, de acuerdo con la familia de compuestos mayoritarios presentes.

<i>Especie</i>	<i>HM</i>	<i>MO</i>	<i>HS</i>	<i>SO</i>	<i>FP</i>	<i>Otros</i>	Clasificación
<i>Lepechinia bullata</i>	---	---	59.5	36.9	---	0.4	Sesquiterpenoide
<i>Salvia palaefolia</i>	---	---	74.7	22.0	---	---	Sesquiterpenoide
<i>Tanacetum parthemium</i>	20	55	0.5	2.2	---	4.5	Monoterpenoide
<i>Minthostachys mollis</i>	2.6	89.7	4.1	0.3	0.4	1.6	Monoterpenoide
<i>Aloysia triphylla</i>	7.4	49.3	16	11.8	0.3	1.4	Monoterpenoide
<i>Mentha pulegium</i>	0.9	94.3	4.5	---	---	0.3	Monoterpenoide
<i>Lippia alba</i>	31.2	48.1	13.5	3.1	0.1	0.5	Monoterpenoide
<i>Lippia alba</i>	30.3	49.6	15.7	2.1	0.2	0.2	Monoterpenoide
<i>Tagetes filifolia</i>	---	---	---	---	98.3	0.7	Fenilpropanoide

HM = Hidrocarburos monoterpénicos, MO = Monoterpenos oxigenados, HS = Hidrocarburos sesquiterpénicos, SO = Sesquiterpenos oxigenados, FP = Fenilpropanoides.

Tabla 32. Clasificación de los AE de las especies silvestres bajo estudio, de acuerdo con los grupos funcionales de compuestos presentes.

Código	Especie	AC	ALC	ALD	CE	ET	ES	HD
001-M	<i>Lepechinia bullata</i>	---	37,1	---	---	---	0,1	59,5
002-M	<i>Salvia palaefolia</i>	---	11,7	---	---	10,4	---	74,7
003-M	<i>Tanacetum parthemium</i>	6,4	35,9	0,3	3,3	1,4	11,2	23,7
004-M	<i>Minthostachys mollis</i>	---	2,7	0,2	88,2	0,2	0,8	6,4
005-M	<i>Aloysia triphylla</i>	---	17,2	42,3	0,6	2,8	---	23,1
006-M	<i>Mentha pulegium</i>	---	1,7	---	91,9	---	1,1	5,4
007-M	<i>Lippia alba</i>	---	6,4	0,3	45,4	0,2	0,3	43,9
008-M	<i>Lippia alba</i>	---	4,8	0,2	46,7	0,2	0,2	45,9
009-M	<i>Tagetes filifolia</i>	---	---	0,7	---	98,3	---	---

AC = Ácidos, ALC = Alcoholes, ALD = Aldehídos, CE = Cetonas, ET = Éteres, ES = Ésteres, HD = Hidrocarburos.

Tabla 33. Porcentaje de compuestos identificados positivamente, presentes en aceites esenciales bajo estudio.

Código de colecta	Especie	Compuestos registrados > 0.1%	Compuestos identificados Positivamente > 0.1%	Porcentaje de identificación, %
001-M	<i>Lepechinia bullata</i>	30	22	73
002-M	<i>Salvia palaefolia</i>	23	19	83
003-M	<i>Tanacetum parthemium</i>	101	47	47
004-M	<i>Minthostachys mollis</i>	31	25	81
005-M	<i>Aloysia triphylla</i>	93	42	45
006-M	<i>Mentha pulegium</i>	15	15	100
007-M	<i>Lippia alba</i>	58	44	76
008-M	<i>Lippia alba</i>	48	41	85
009-M	<i>Tagetes filifolia</i>	7	4	57

Se encontró, que la composición química de los AE estudiados fue variada. Aunque la mayoría de ellos contiene metabolitos secundarios volátiles comunes, éstos difieren en sus cantidades relativas.

5.2 EVALUACIÓN DE LOS RENDIMIENTOS Y LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS ESPECIES CULTIVADAS EN LOS MUNICIPIOS DE LA SUB-REGIÓN DE VÉLEZ

Con la finalidad de aportar conocimiento a la base tecno-científica que se está construyendo con respecto a la producción de las especies vegetales aromáticas promisorias y con el propósito de desarrollar las potencialidades de la región, se cultivaron seis especies vegetales (**Anexos 1 y 2**) a escala semi-industrial. Se evaluaron aspectos como su adaptación, rendimientos de los AE, composición química de las esencias y propiedades fisicoquímicas y biológicas de las mismas. En la **Tabla 34** se muestran las especies vegetales bajo estudio, los rendimientos de extracción de AE y la producción de biomasa por hectárea.

Tabla 34. Datos de producción de aceites esenciales aislados por destilación con agua-vapor de las especies cultivadas bajo estudio.

Especie	Parte de la planta empleada para la extracción	Cantidad de la esencia, kg/ha Base seca		Rendimientos de extracción, % (n=2), Base seca	
		min	max	min	max
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Hojas	36	59	1.45	2.34
<i>Cymbopogon citratus</i>	Hojas	98	140	0.77	1.10
<i>Tagetes lucida</i>	Hojas y flores	115	128	0.33	0.77
<i>Lippia alba</i>	Hojas, tallos y flores	68	85	1.63	2.04
<i>Lippia dulcis</i>	Hojas y flores	1.2	1.8	0.09	0.15

Las siguientes fueron especies aromáticas que presentaron los rendimientos más altos, a saber: *Rosmarinus officinalis* (1,45-2,34%) y *Lippia alba* (1,63-2,04%), seguidos de *Cymbopogon citratus* (0,77-1,10%) y *Tagetes lucida* (0,69-0,77%). El rendimiento de extracción más bajo fue el de la especie *Lippia dulcis* (0,09-0,15%). Para la especie *Ocimum basilicum* no se reportó ningún dato, debido a que la planta no se adaptó a las condiciones climáticas de ninguno de los tres municipios de la Subregión de Veléz, los cultivos se

ubicaron en las parcelas No. 20,30,48 (**Anexo 2**) y no se obtuvo material vegetal.

La composición química de los aceites esenciales de las especies aromáticas cultivadas y colectadas en los municipios de la Sub-región de Vélez (Bolívar, El Peñón y Guavatá) se muestra a continuación (**Tablas 35-39**).

5.2.1 *Rosmarinus officinalis*



Figura 44. Cultivo de *Rosmarinus officinalis* establecido en la parcela 28 situada en el municipio de Guavatá.

Los rendimientos de extracción de los AE de *Rosmarinus officinalis* cultivado en los municipios de Bolívar, El Peñón y Guavatá son significativamente más altos que los encontrados en la literatura [33,37,45,46].

Algunos autores reportan que el rendimiento del aceite de romero extraído por hidrodestilación varía entre 0,14 y 0,71 %, dependiendo del origen, la parte de la planta empleada y el estado del material vegetal (fresco o seco) [37,45,46], no obstante, hay quienes afirman que el contenido mínimo de AE sobre material vegetal seco es de 0,5%, mientras que, sobre base fresca, el contenido de esencia puede variar entre 0,8 y 1,7%, con un valor promedio de 1,4% [33].

En la literatura evaluada, no existe ningún reporte sobre un rendimiento de extracción de AE de romero tan alto, como el encontrado experimentalmente en las plantas cultivadas en la sub-región de Vélez (**Figura 44**). Este hecho, le confiere a la región una ventaja competitiva, en cuanto a la producción y el rendimiento de AE de *Rosmarinus officinalis* se refiere.

En el AE de *Rosmarinus officinalis* obtenido por destilación con agua-vapor se detectaron, por GC-MS, 33 compuestos en cantidades >0,1%; de ellos, se identificaron positivamente, usando I_k (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 32 compuestos (97%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración, *Thshd* = 17 y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 45**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Rosmarinus officinalis*, obtenidos por destilación con agua-vapor. En la **Tabla 35**, se muestran la identificación de los picos y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Rosmarinus officinalis*.

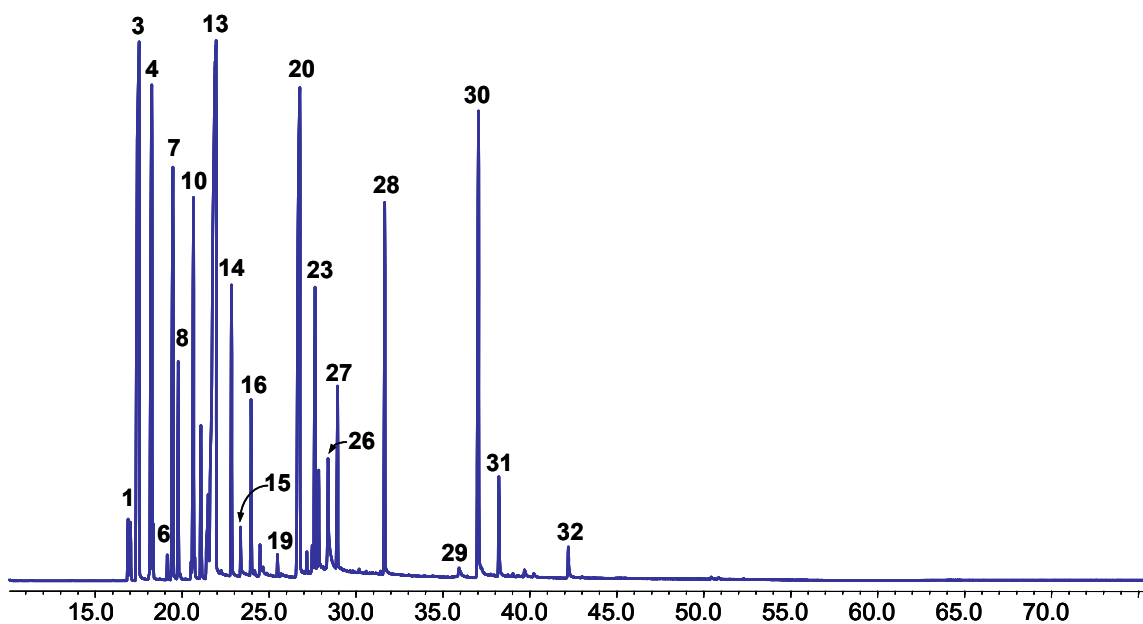


Figura 45. Perfil cromatográfico típico del AE de *Rosmarinus officinalis*, aislado por destilación con agua-vapor. Columna DB-5 (60m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

En el AE de *Rosmarinus officinalis*, se identificaron principalmente metabolitos secundarios característicos de tres grupos de familias de compuestos, a saber (**Tabla 40**): hidrocarburos monoterpénicos (68,41%), constituidos principalmente por α -pineno (15,67%), canfeno (8,65%), β -pineno (5,30%) y α -felandreno (4,50%); monoterpenos oxigenados (25,41%), entre los cuales se destacan el 1,8-cineol (23,08%) y alcanfor (13,24%) y, finalmente, los hidrocarburos sesquiterpénicos (5,53%), cuyo principal representante fue el *trans*- β -cariofileno (4,90%). De acuerdo con lo anterior, el AE de *Rosmarinus officinalis* se clasifica como de tipo “monoterpenoide” (93,83%).

Tabla 35. Composición química típica del AE de *Rosmarinus officinalis*, aislado por destilación con agua-vapor.

Nº de Pico ^a	I _K ^b		Compuestos	Cantidad relativa, %	Nota odorífera ^c
	DB-5	DB-WAX			
1	922	1004	Triciclano	0,59	
2	924	1024	α-Tujeno	0,64	Madera
3	937	1023	α-Pineno	15,67	Pino, trementina
4	954	1063	Canfeno	8,65	Alcanforada
5	956	1120	Thuja-2,4(10)-dieno	0,38	
6	975	1117	Sabineno	0,22	Pimienta
7	983	1104	β-Pineno	5,30	Pino, trementina
8	990	1162	β-Mirceno	1,95	Bálsamica
9	1008		N.I.	0,15	
10	1011	1162	α-Felandreno	4,50	Trementina
11	1021	1176	α-Terpineno	1,78	Limón
12	1031	1267	p-Cimeno	1,22	Gasolina
13	1042	1197	Limoneno	23,08	Limón
		1213	+ Δ ³ -Careno		
		1213	+ Eucaliptol (1,8-Cineol)		Menta
14	1063	1244	γ-Terpineno	2,79	Gasolina
15	1075	1552	cis-Hidrato de sabineno	0,46	
16	1090	1281	Terpinoleno	1,49	
17	1102	1545	Linalool	0,28	Flores de lavanda
18	1107		trans-Hidrato de sabineno	0,14	
19	1127		Crisantenona	0,25	
20	1159	1526	Alcanfor	13,24	Alcanforada
21	1169	1574	Pinocarvona	0,22	
22	1176	1615	δ-Terpineol	0,27	
23	1181	1709	Borneol	2,30	Alcanforada
24	1183		cis-3-Pinanona	0,13	
25	1186	1611	Terpinen-4-ol	0,96	
26	1199	1705	α-Terpineol	1,78	Aceite de anís
27	1214	1720	Verbenona	2,37	
28	1289	1587	Acetato de bornilo	3,15	Alcanforada
29	1400	1401	Metil eugenol	0,18	Clavel
30	1434	1608	trans-β-Cariofileno	4,90	Madera
31	1469	1681	α-Humuleno	0,63	Madera
32	1598	2006	Óxido de cariofileno	0,13	Hierba dulce

a Número de pico en la Figura 42.

b Índices de Kováts determinados experimentalmente en las columnas DB-5 y DB-WAX.

c Ref. Bibl. [173,174].

N.I. No identificado.

La mayor parte de los metabolitos secundarios presentes en el AE de *Rosmarinus officinalis* fueron los hidrocarburos monoterpénicos y sesquiterpénicos.

La composición química de los AE de *Rosmarinus officinalis*, plantas cultivadas en las 4 parcelas evaluadas No.14,37,28,56 (**Anexo 2**) no mostró variaciones estadísticamente significativas en los componentes mayoritarios presentes en las esencias, aisladas por destilación con agua-vapor, (**Figura 46**).

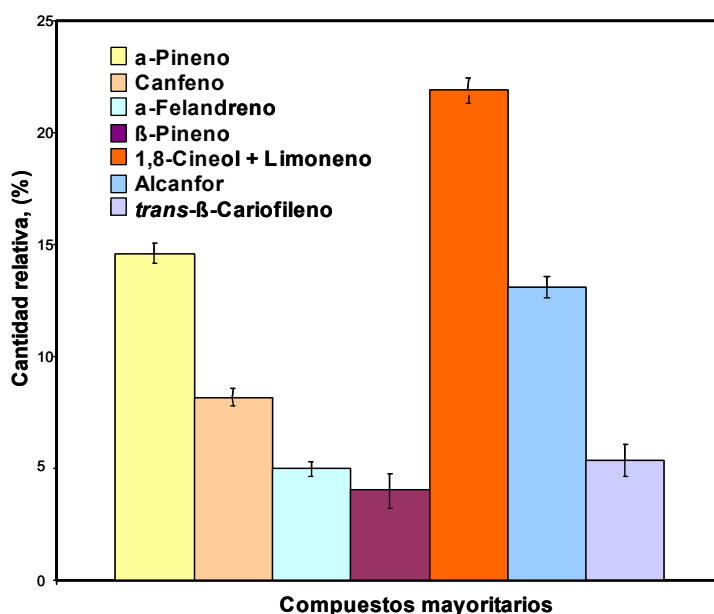


Figura 46. Componentes mayoritarios presentes en el AE de *Rosmarinus officinalis*, cultivado en la Subregión de Vélez en las parcelas evaluadas No14,37,28,56, cuya ubicación se encuentra en el **Anexo 2**.

Los AE de romero, que presentan en su composición contenidos de eucaliptol superiores al 40%, son característicos de países como Marruecos, Túnez, Turquía, Grecia, antigua Yugoslavia, Italia y Francia. Sin embargo, las condiciones climáticas de temperatura (cálido, templado, frío) pueden afectar

el contenido de eucaliptol, en las esencias de una misma región [47]. En regiones frías, el contenido de eucaliptol en las esencias de *Rosmarinus officinalis* es menor, que en las plantas cultivadas en las regiones cálidas [47].

5.2.2 *Lippia alba*



Figura 47. Cultivo de *Lippia alba* establecido en la parcela 23 situada en el municipio de Bolívar.

La especie *Lippia alba* cultivada (**Figura 47**) en las parcelas No. 28 y 23 (**Anexo 2**) mostró rendimientos de los AE similares a los encontrados en las especies silvestres evaluadas previamente. Aunque los rendimientos fueron ligeramente más bajos, esto puede atribuirse, tal vez, a la técnica de extracción empleada. De acuerdo con Mosalve [26], la técnica MWHHD es más efectiva en la extracción de los metabolitos secundarios volátiles que la destilación con agua-vapor, presenta algunas ventajas destacables en cuanto a disminución de tiempo y uso de agua, calentamiento efectivo y tamaño de

equipo reducido. Sin embargo, la destilación agua-vapor es un método sencillo, reproducible, económico y, sobre todo, ampliamente utilizado en la industria.

En el AE de *Lippia alba* obtenido por destilación con agua-vapor se detectaron, por GC-MS, 35 compuestos en cantidades >0,1%; de ellos, se identificaron positivamente, usando I_K (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 34 compuestos (97 %), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración, $Thshd = 17$ y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 48**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Lippia alba*, obtenidos por destilación con agua-vapor. En la **Tabla 36**, se muestran la identificación de los picos y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Lippia alba*.

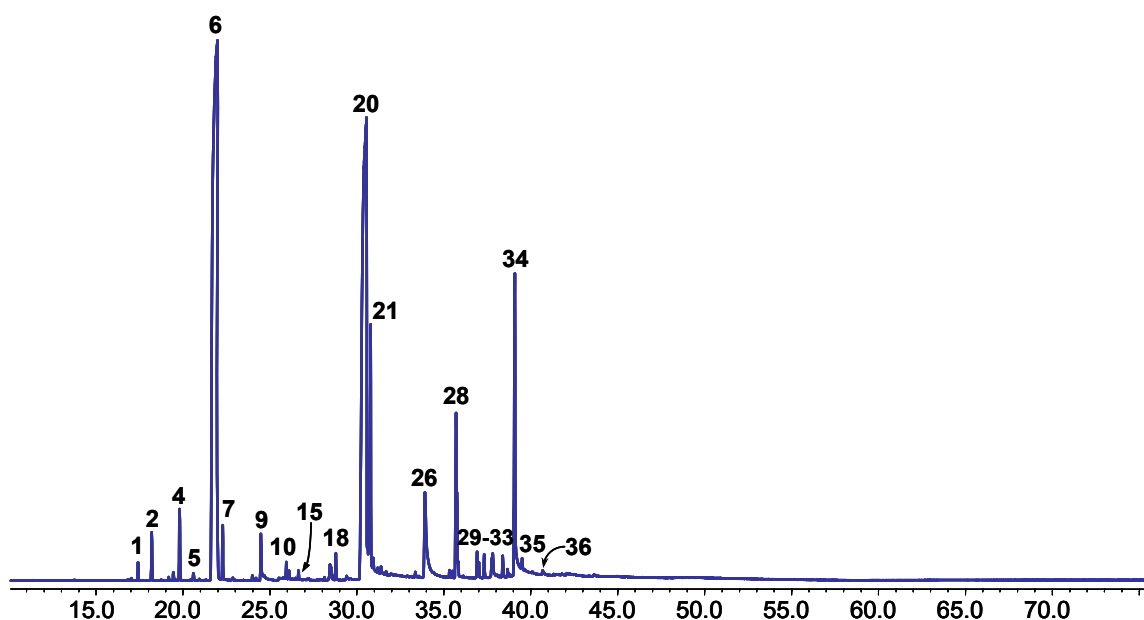


Figura 48. Perfil cromatográfico típico del AE de *Lippia alba*, aislado por destilación con agua-vapor. Columna DB-5 (60m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

Tabla 36. Composición química típica del AE de *Lippia alba*, aislado por destilación con agua-vapor.

Nº de Pico ^a	I _K ^b		Compuestos	Cantidad relativa, %	Nota odorífera ^c
	DB-5	DB-WAX			
1	933	1018	α -Pino	0,28	A pino
2	952	1060	Canfeno	0,71	Alcanforada
3	981	1108	β -Pino	0,14	A pino
4	990	1161	β -Mirceno	1,54	Balsámica
5	1009		N.I.	0,26	
6	1041	1203	Limoneno	35,72	Cítrica, frutal
7	1050	1249	(<i>E</i>)- β -Ocimeno	0,99	Herbácea
8	1090	1286	α -Terpinoleno	0,08	
9	1102	1544	Linalol	1,10	Floral, dulce
10	1128	1634	(<i>Z</i>)- <i>p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	0,38	
11	1135		<i>trans</i> -Hidrato de pino	0,10	
12	1139	1448	<i>cis</i> -Óxido de limoneno	0,21	Frutal, cítrica
13	1143	1630	(<i>E</i>)- <i>p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	0,61	
14	1153	1526	Alcanfor	0,13	Alcanforada
15	1177	1708	Borneol	1,26	alcanforada
16	1201		<i>cis</i> -Dihidrocarvona	0,40	A madera
17	1207	1634	<i>trans</i> -Dihidrocarvona	0,45	Alcaravea
18	1229	1812	<i>neoiso</i> -Dihidrocarveol	0,17	
19	1257	1750	Carvona	36,74	A hierba fresca
20	1267		Epóxido de piperitona	4,72	
		1739	+ Piperitona		Amentolada
21	1270		<i>cis</i> -Óxido de carvona	0,56	
22	1276		<i>p</i> -Menta-1,8-dien-3-ona	0,15	
23	1281		<i>trans</i> -Óxido de carvona	0,18	
24	1332	1678	Acetato de carvilo	0,16	
25	1347	1939	Piperitenona	4,09	
26	1383	1399	α -Copaeno	0,07	A madera
27	1393	1526	β -Bourboneno	2,52	Herbácea
		1595	β -Elemeno		A madera
			1,5-di- <i>epi</i> - β -Bourboneno		
28	1427	1582	β -Ylangeno	0,28	
29	1431	1606	<i>trans</i> - β -Cariofileno	0,10	A madera
30	1439	1691	β -Copaeno	0,25	
31	1451		<i>cis</i> - β -Farneseno	0,37	
		1710	Aromadendreno		A madera
32	1471	1657	<i>allo</i> -Aromadendreno	0,24	A madera
33	1492	1725	Biciclosesquifelandreno	3,73	A madera
34	1505	1748	Biciclogermacreno	0,18	A madera

a Número de pico en la Figura 44.

b Índices de Kováts determinados experimentalmente en las columnas DB-5 y DB-WAX.

c Ref. Bibl. [173,174].

N.I. No identificado.

Los siguientes fueron compuestos mayoritarios presentes en el AE de *Lippia alba*: limoneno (35,72%), carvona (36,74%), piperitona (4,72%), piperitenona (4,09%) y biciclosesquifelandreno (3,73%). En general, el contenido de los componentes mayoritarios en los AE de *Lippia alba*, cultivada en las parcelas No 28 y 23 (**Anexo 2**) de la sub-región de Vélez, no presentó diferencias significativas con lo reportado previamente [**26,30,85,122**]. Sin embargo, se encontró que la relación limoneno/carvona fue muy cercana a 1, diferente a lo observado por Monsalve [**26**] y hallado previamente en las especies silvestres. Las diferencias podrían ser atribuidas al estado de desarrollo de la planta o a la edad de la misma.

Los metabolitos secundarios presentes en los AE de *Lippia alba* se pueden clasificar en 3 familias de compuestos, a saber: hidrocarburos monoterpénicos (39,46%), monoterpenoides oxigenados (51,65%) e hidrocarburos sesquiterpénicos (7,74%). De acuerdo con lo anterior, la esencia de Prontoalivio, puede clasificarse como tipo monoterpenoide (**Tabla 40**).

La composición química de los AE de *Lippia alba*, plantas cultivadas en las 2 parcelas evaluadas (No 28,23), no mostró variaciones estadísticamente significativas en los componentes mayoritarios presentes en las esencias, aisladas por destilación con agua-vapor (**Figura 49**).

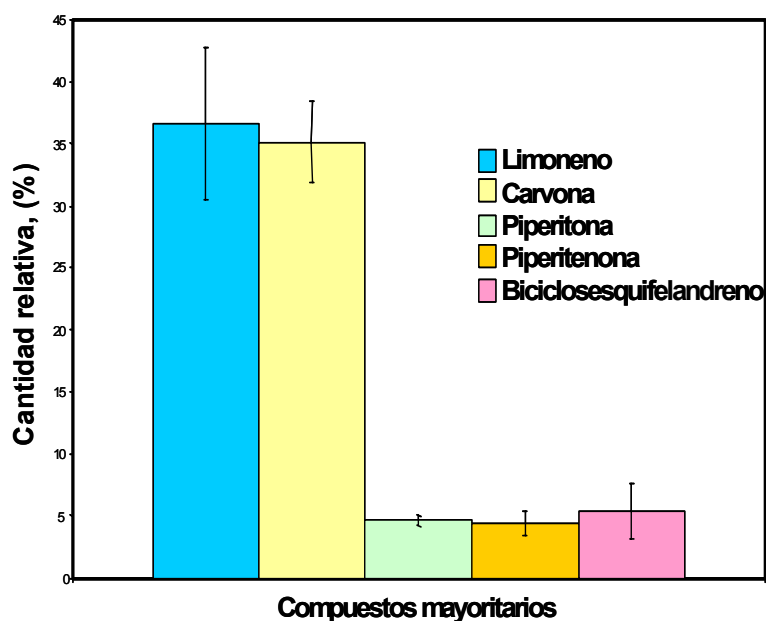


Figura 49. Componentes mayoritarios presentes en el AE de *Lippia alba*, cultivada en las parcelas No 28,23 (**Anexo 2**) en la Subregión de Vélez.

5.2.3 *Cymbopogon citratus*

El contenido de AE de la especie *Cymbopogon citratus* cultivada (**Figura 50**) en las parcelas No 27,32,34,39 (**Anexo 2**) de la sub-región de Vélez, varía entre 0,77 y 1,10%, en base seca. Estos resultados son comparables a los reportados por otros autores, que han obtenido rendimientos de extracción comprendidos entre 0,68 y 0,73% [61,175,176]. No obstante, estos valores son superiores a los descritos en otros trabajos sobre el AE de *Cymbopogon citratus* [59,107], concretamente, por Mora [59] y Guenther [107], quienes reportan que los rendimientos de aceite de limonaria no superan el 0,4%, en base seca, y sólo, como un caso excepcional, se reporta un rendimiento de 3,0% [62].



Figura 50. Cultivo de *Cymbopogon citratus* establecido en la parcela 27 situada en el municipio de Guavatá.

En el AE de *Cymbopogon citratus* obtenido por destilación con agua-vapor se detectaron, por GC-MS, 29 compuestos en cantidades $>0,1\%$; de ellos, se identificaron positivamente, usando I_K (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 23 compuestos (79%), bajo los parámetros de integración aplicados (Umbral de integración, $Thshd = 17$ y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 51**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Cymbopogon citratus*, obtenidos por destilación con agua-vapor. En la **Tabla 37**, se muestran la identificación de los picos y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Cymbopogon citratus*.

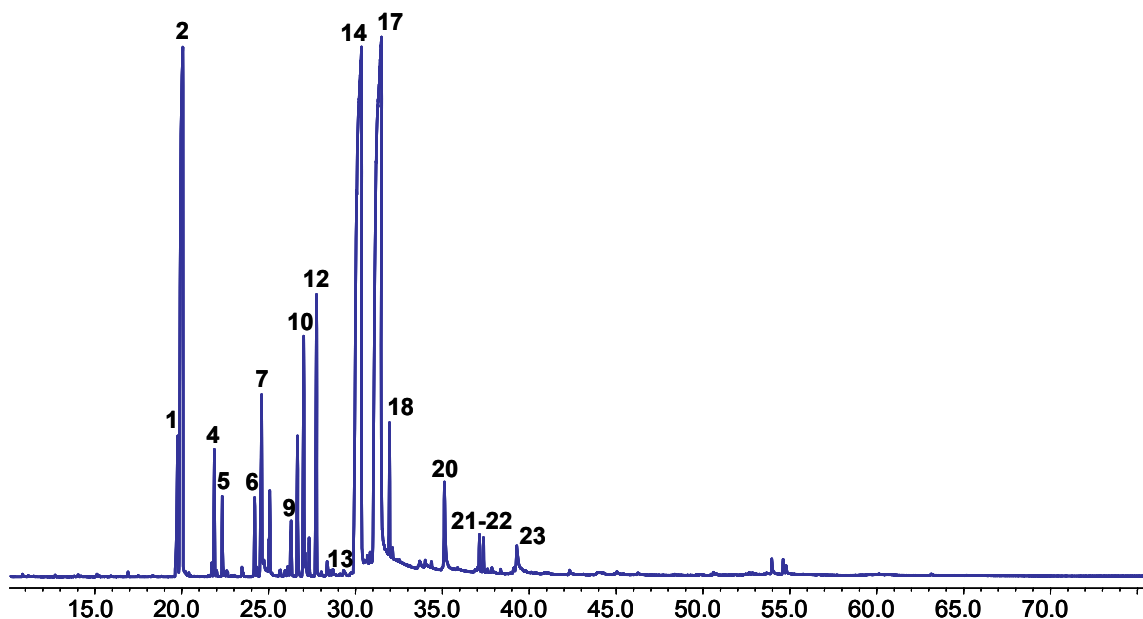


Figura 51. Perfil cromatográfico típico de los AE de *Cymbopogon citratus*, aislados por destilación con agua-vapor. Columna DB-5 (60m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

Los compuestos mayoritarios presentes en el AE de *Cymbopogon citratus* corresponden a geranial (34,26%), neral (29,05%), mirceno (14,19%) y 6-metil-5-hepten-2-ona (2,09%).

La calidad del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* se evalúa con base en el contenido de citral, mezcla de los aldehídos isoméricos, neral y geranial, presentes en la esencia. Los aceites que poseen un contenido de citral >75% se consideran de alta calidad y, la mayor parte de éstos, se destinan para el aislamiento de dicha sustancia. Otro factor, que influye sobre la calidad de las esencias de *Cymbopogon citratus* es la presencia de β -mirceno. Los aceites, que poseen β -mirceno en su composición son poco solubles en etanol, forman soluciones opalescentes, lo que es una limitante para su uso en la industria perfumística.

Tabla 37. Composición química del AE de *Cymbopogon citratus*, aislado por destilación con agua-vapor.

Nº de Pico ^a	I _K ^b		Compuestos	Cantidad relativa %	Nota odorífera ^c
	DB-5	DB-WAX			
1	986	1338	6-Metil-5-hepten-2-ona	2.09	
2	993	1163	β-Mirceno	14.19	Balsámica
3	1033	1197	Limoneno	0.11	Limón
4	1037	1229	<i>cis</i> -β-Ocimeno	0.96	Cítrica
5	1048	1251	<i>trans</i> -β-Ocimeno	0.61	Hierba dulce
6	1092		6,7-Epoximirceno	0.72	
7	1101		Perileno	2.22	
		1548	+ Linalool		Flores de lavanda
8	1105		Nonanal	0.29	Grasa
9	1153	1510	<i>epi</i> -Fotocitral A	1.31	
10	1161	1689	<i>trans</i> -Verbenol	2.62	
11	1169	1603	Epóxido de rosefurano	0.31	
12	1179	1548	<i>cis</i> -Verbenol	2.98	
13	1232	1819	Nerol	0.10	Dulce
14	1248	1690	Neral	29.05	Limón
15	1258	1901	Geraniol	0.13	Rosa, geranio
16	1261	1743	Piperitona	0.23	Menta
17	1279	1729	Geranial	34.26	Limón
18	1293		2-Undecanona	1.24	
19	1297	1701	Formiato de geranilo	0.14	
20	1376	1750	Acetato de geranilo	1.42	
21	1432	1603	<i>trans</i> -β-Cariofileno	0.33	Madera
22	1439	1592	<i>trans</i> -α-Bergamoteno	0.26	
23	1497		2-Tridecanona	0.68	

a Número de pico en la Figura 44.

b Índices de Kovàts determinados experimentalmente en las columnas DB-5 y DB-WAX.

c Ref. Bibl. [173,174].

El AE de *Cymbopogon citratus* cultivado en la sub-región de Vélez, presenta un alto contenido de citral (63,31%), sin embargo, no es suficiente para clasificarlo como una esencia de alta calidad; aunque, esta “deficiencia” es superada con creces, si se tienen en cuenta los rendimientos de extracción. Por otro lado, la esencia presenta un alto contenido de mirceno, lo que afecta su solubilidad en etanol, y, por ende, la posibilidad de ser empleado, satisfactoriamente, en la industria perfumística.

El AE de *Cymbopogon citratus* puede clasificarse como de tipo “monoterpenoide” (89,97%), como se muestra en la **Tabla 40**, en la cual se registra la composición del aceite, de acuerdo con las familias de compuestos presentes.

La composición química de los AE de *Cymbopogon citratus*, plantas cultivadas en las 4 parcelas evaluadas No.27,32,34,39 (**Anexo 2**), no mostró variaciones estadísticamente significativas en los componentes mayoritarios presentes en las esencias, aisladas por destilación con agua-vapor (**Figura 52**).

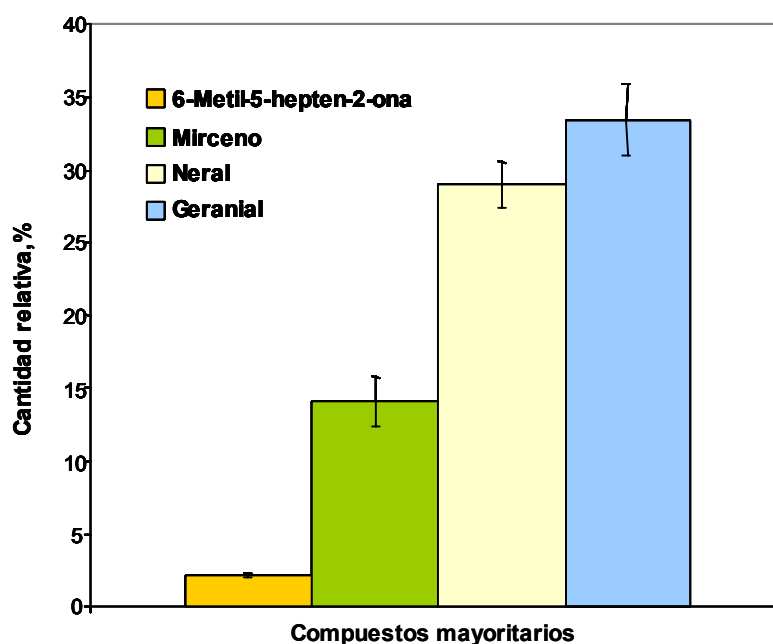


Figura 52. Componentes mayoritarios presentes en el AE de *Cymbopogon citratus*, cultivado en las parcelas No 27,32,34,39 (**Anexo 2**), Sub-región de Vélez.

5.2.4 *Tagetes lucida*

Los AE de fueron aislados de material cultivado (**Figura 53**) de *Tagetes lucida*, fresco o semiseco, proveniente de las 3 parcelas evaluadas No 3,7,54 (**Anexo 2**), con rendimientos de extracción que variaron entre 0,33 y 0,77%. Aunque son pocos los trabajos sobre el AE de *Tagetes lucida*, se han reportado valores de rendimiento entre 0,07 y 0,6% [68,77]. Los rendimientos, relativamente bajos, pueden ser atribuidos al estado del

material vegetal (semiseco o seco), puesto que, en algunas experiencias preliminares se observó, que el contenido de AE disminuía durante el secado de la planta.



Figura 53. Cultivo de *Tagetes lucida* establecido en la parcela 54 situada en el municipio de Guavatá.

En el AE de *Tagetes lucida* obtenido por destilación con agua-vapor se detectaron, por GC-MS, 9 compuestos en cantidades $>0,1\%$; de ellos, se identificaron positivamente, usando I_K (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 6 compuestos (67%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración, $Thshd = 17$ y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 54**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Tagetes lucida*, obtenidos por destilación con agua-

vapor. En la **Tabla 38**, se muestran la identificación de los picos y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Tagetes lucida*.

Los compuestos mayoritarios presentes en el AE de *Tagetes lucida* corresponden a estragol (91,41%), β -mirceno (3,59%), (*E*)- β -ocimeno (2,19%), y 7-metoxicumarina (0,74%). El AE de *Tagetes lucida* se destaca, porque más del 90% de la esencia está representada por un único componente (estragol), que pertenece a la familia de los fenilpropanoides.

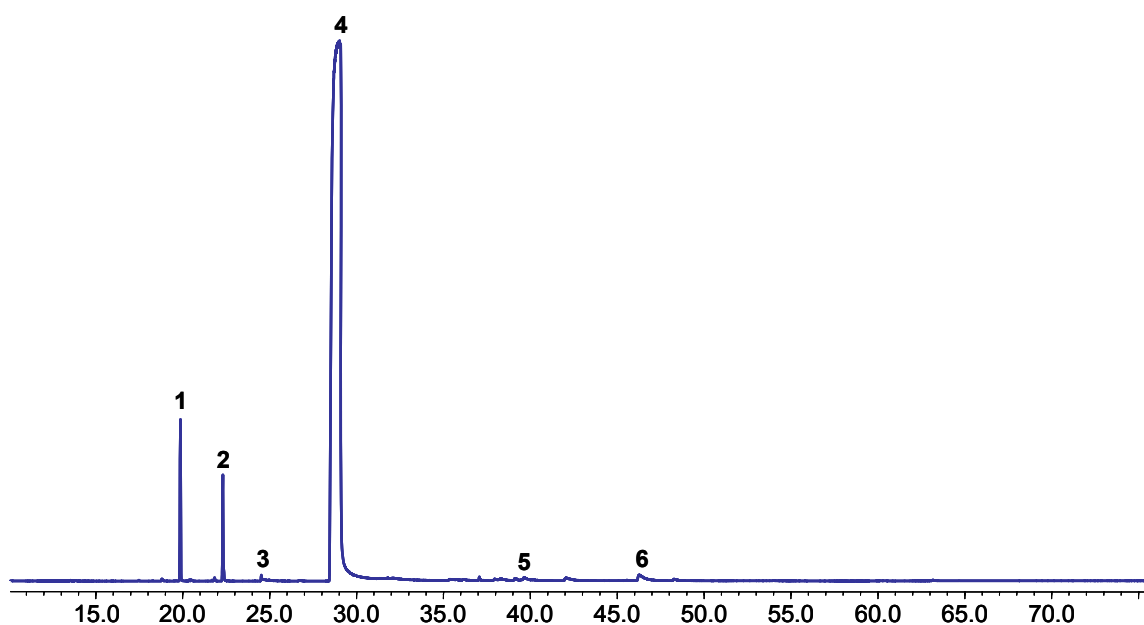


Figura 54. Perfil cromatográfico del AE de *Tagetes lucida*, aislado por destilación con agua-vapor. Columna DB-5 (60m); *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

El estragol, por su olor a anís, se utiliza en la industria de alimentos para la fabricación de confites y licores. Actualmente, su uso se encuentra restringido, puesto que se considera posible cancerígeno [162]. Sin embargo, a partir del estragol se puede obtener *trans*-anetol, que es ampliamente utilizado en la industria de bebidas y licores [49].

Tabla 38. Composición química típica del AE de *Tagetes lucida*, aislado por destilación con agua-vapor.

Nº de Pico ^a	I _K ^b		Compuestos	Cantidad relativa, %	Nota odorífera ^c
	DB-5	DB-WAX			
1	991	1162	β-Mirceno	3,59	Balsámica
2	1049	1249	(<i>E</i>)-β-Ocimeno + Acetil benceno	2,19	
3	1097	1544	Linalool	0,66	Flores de lavanda Anís
4	1210	1681	Estragol	91,41	
5	1504	1748	(<i>E,E</i>)-α-Farneseno	0,39	
6	1756		7-Metoxicoumarina	0,74	

a Número de pico en la Figura 48.

b Índices de Kováts determinados experimentalmente en las columnas DB-5 y DB-WAX.

c Ref. Bibl. [173,174].

La composición química de los AE de *Tagetes lucida*, plantas cultivadas en las 3 parcelas evaluadas (No 3,7,54), no mostró variaciones estadísticamente significativas en los componentes mayoritarios presentes en las esencias, aisladas por destilación con agua-vapor (**Figura 55**).

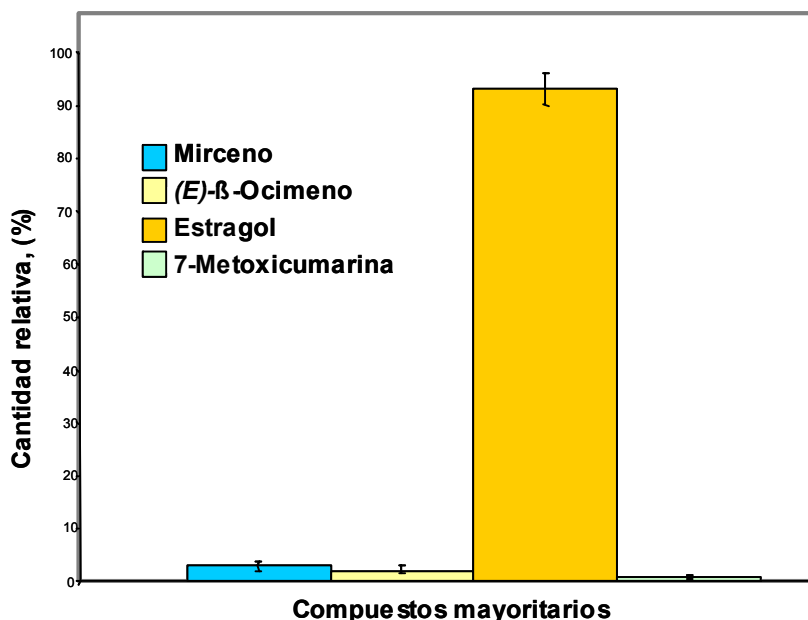


Figura 55. Componentes mayoritarios presentes en el AE de *Tagetes lucida*, cultivado en las parcelas No 3,7,54 (**Anexo 2**) de la Sub-región de Vélez.

5.2.5 *Lippia dulcis*



Figura 56. Cultivo de *Lippia dulcis* establecido en la parcela 6 situada en el municipio de Bolívar.

Para la planta de *Lippia dulcis* cultivada (**Figura 56**) en las parcelas N^o 6 y 13 (**Anexo 2**), se obtuvieron rendimientos de extracción muy bajos, pero similares a los reportados en la literatura [**83,85**].

En el AE de *Lippia dulcis* obtenido por destilación con agua-vapor se detectaron, por GC-MS, 74 compuestos en cantidades >0,1%; de ellos, se identificaron positivamente, usando I_K (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 49 compuestos (66%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración, *Thshd* = 17 y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 57**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Lippia dulcis*, obtenidos por destilación con agua-vapor. En la **Tabla 39**, se muestran la identificación de los picos y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Lippia dulcis*.

En los AE de *Lippia dulcis*, se identificaron principalmente metabolitos secundarios característicos de dos grupos de familias de compuestos, a saber (**Tabla 40**): hidrocarburos sesquiterpénicos (59,3%), representados principalmente, por el *trans*- β -cariofileno (9,4%), α -copaeno (8,9%), δ -cadineno (7,9%), α -muroleno + biciclogermacreno (6,2%) y *trans*-muurola-4(14), 5-dieno (5,9%) y, los sesquiterpenos oxigenados (19,3%), entre los cuales se destacan el α -bisabolol (6,6%) y el óxido de cariofileno (4,6%).

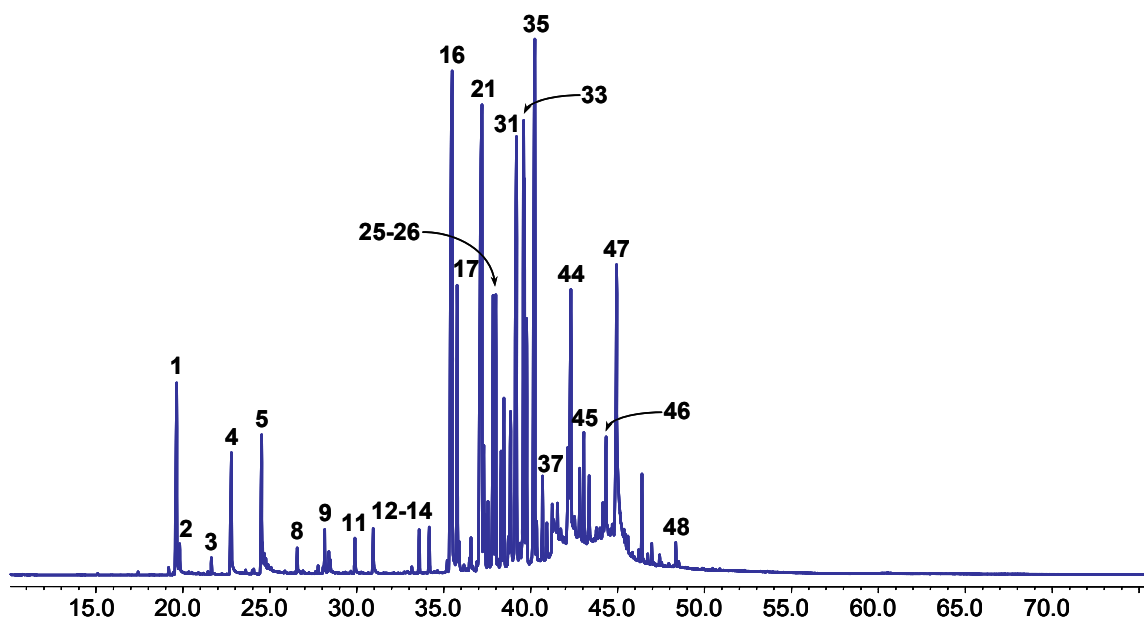


Figura 57. Perfil cromatográfico típico de los AE de *Lippia dulcis*, aislados por destilación con agua-vapor. Columna DB-5 (60m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

Tabla 39. Composición química del AE de *Lippia dulcis*, aislado por destilación con agua-vapor.

Nº de Pico ^a	I _k ^b		Compuestos	Cantidad relativa %	Nota odorífera ^c
	DB-5	DB-WAX			
1	986	1338	6-Metil-5-hepten-2-ona	2,09	Picante
2	990	1163	β-Mirceno	0,27	
3	1033	1191	Limoneno	0,10	Limón
4	1061	1612	3-Metil-2-ciclohexen-1-ona	1,44	
5	1102	1548	Linalool + 2-Metilbutilato de 2-metilbutilo	1,29	Floral, dulce
6	1106		Nonanal	0,17	Grasa
7	1108		<i>n</i> -Amilisovalerato	0,10	
8	1153	1475	Citronelal	0,21	
9	1192		Tiglato de isoamilo	0,31	
10	1200	1681	Estragol	0,12	Anís
11	1238	1688	Neral	0,31	Floral
12	1268	1737	Geranial	0,42	Rosa
13	1339	1482	Bicicloelemeno	0,32	
14	1354	1464	α-Cubebeno	0,36	Cítrica
15	1381	1553	Ciclosativeno	0,11	
16	1388	1502	α-Copaeno	8,96	Madera
17	1396	1521	β-Bourboneno	2,36	
18	1399		Bourboneno (isomero)	0,22	
19	1416		<i>cis</i> -β-Cariofileno	0,09	
20	1419	1541	α-Gurjuneno	0,25	
21	1437	1613	<i>trans</i> -β-Cariofileno	9,43	Madera
22	1440	1594	<i>trans</i> -α-Bergamoteno	0,95	Madera
23	1442	1691	β-Copaeno	0,41	
24	1447	1654	<i>cis</i> -Farneseno	0,54	
25	1456	1669	<i>trans</i> -Farneseno	2,54	A pasto
26	1460	1652	Sesquisabineno B	2,53	
27	1470	1685	α-Humuleno	0,96	Madera
28	1474	1655	<i>allo</i> -Aromandendreno	1,50	Madera
29	1482	1505	γ-Amorfeno	0,35	
30	1486	1702	γ-Muuroleno	1,73	Hierba
31	1496	1605	<i>trans</i> -Murola-4(14), 5-dieno	5,87	
32	1502		<i>n</i> -Pentadecano	0,40	
		1733	+ Viridifloreno		
33	1509	1736	α-Muuroleno	6,23	Madera
		1752	+ Biclicogermacreno		Herbácea
34	1515	1737	β-Bisaboleno	2,78	Dulce
35	1531	1773	δ-Cadineno	7,89	A tomillo
36	1534	1844	<i>trans</i> -Calameneno	0,38	
37	1546	1782	<i>trans</i> -α-Bisaboleno	0,91	Balsámica
38	1554	1935	α-Calacoreno	0,66	
39	1564		2-Metilpentadecano	0,82	
40	1567	2042	(<i>E</i>)-Nerolidol	1,23	Dulce
41	1574	1978	β-Calacoreno	0,91	

Tabla 39. Continuación.

42	1580		1a,10a-epoxi-Amorf-4-eno	0,79	
43	1594	2067	Germacreno D-4-ol	1,33	Herbácea
		2143	+ Espatuleno		Herbácea
44	1600	2012	Óxido de cariofileno	4,61	Cítrica
45	1640		Muurolo-4,10(14)-dien-1-b-ol	1,82	
46	1676	2111	cis-Atlantona	2,18	
47	1699	2231	α -Bisabolol	6,61	Flores
48	1759	2413	Hernandulcin	0,75	
49	1848		6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona	0,17	

a Número de pico en la Figura 48.

b Índices de Kovàts determinados experimentalmente en las columnas DB-5 y DB-WAX.

c Ref. Bibl. [173,174].

La composición química de los AE de *Lippia dulcis* cultivado en las 2 parcelas evaluadas (N^o 6 y 13), no mostró variaciones estadísticamente significativas en los componentes mayoritarios presentes en las esencias, aisladas por destilación con agua-vapor (**Figura 58**).

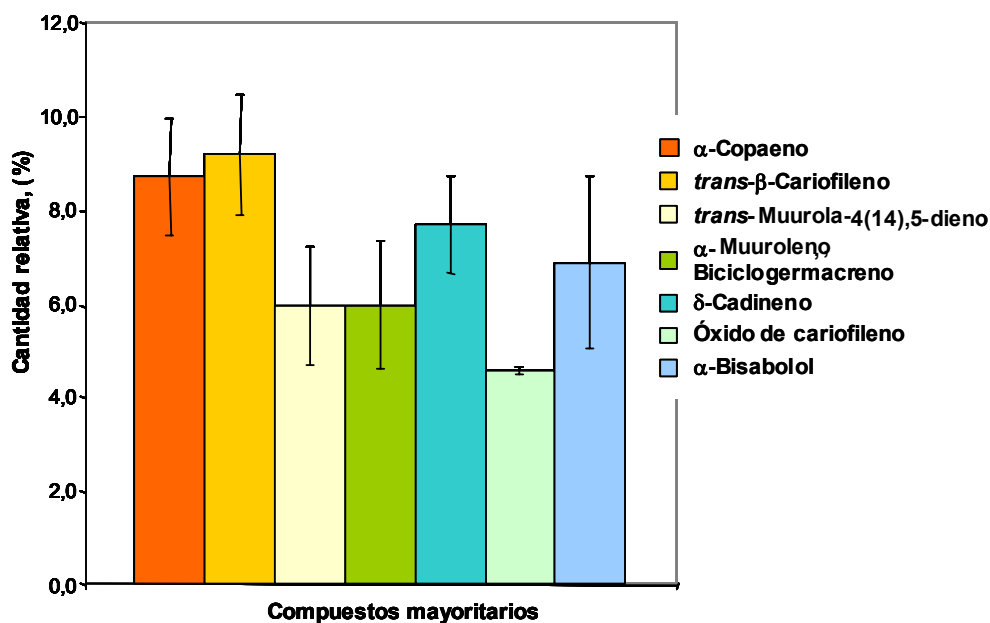


Figura 58. Componentes mayoritarios presentes en el AE de *Lippia dulcis*, cultivada en las parcelas N^o 6 y 13 (**Anexo 2**), de la Subregión de Vélez.

La importancia de la esencia de *Lippia dulcis* radica en la presencia de un edulcorante, 1000 veces más dulce que la sacarosa, llamado hernandulcin, el cual fue reportado como compuesto mayoritario en el AE (ca. 80%), aislado de material vegetal colectado en Puerto Rico [83].

En general, la composición química del AE de *Lippia dulcis* es igual a la reportada por Celis [85], con la principal diferencia, de que fue posible identificar el hernandulcín, sin realizar procedimientos de derivatización, previos al análisis cromatográfico.

La cantidad relativa de hernandulcin en la esencia extraída del material vegetal cultivado en la subregión de Vélez, alcanza tan sólo el 0,75%, o sea, hay pocas posibilidades para que esta planta entre a competir en el mercado de los edulcorantes naturales.

También se reportó en la literatura la existencia de un quimiotipo de *Lippia dulcis*, que posee un alto contenido de alcanfor, y diferentes propiedades organolépticas [83]. Sin embargo, el alcanfor no se encontró en el AE bajo estudio, lo que sugiere, que la *Lippia dulcis* originaria de Colombia, es un quimiotipo diferente a los dos descritos en la literatura [83].

Finalmente, la clasificación de los AE de las especies cultivadas bajo estudio, con base en el tipo y contenido de los compuestos presentes en cada esencia, se muestra en las **Tablas 40 y 41**. En la **Tabla 42**, se muestran los porcentajes de identificación de los componentes, teniendo en cuenta t_R , t_{RR} , I_k en dos columnas (polar y apolar), espectros de masas (EI, 70 eV) Y patrones (**Anexo 4**).

Tabla 40. Clasificación de los AE de las especies cultivadas bajo estudio, de acuerdo con la familia de compuestos mayoritarios presentes.

Especie	HM	MO	HS	SO	FP	Otros	Clasificación
<i>Rosmarinus officinalis</i>	68,4	25,4	5,5	0,1	---	---	Monoterpenoide
<i>Cymbopogon citratus</i>	15,9	74,1	2,0	---	---	4,3	Monoterpenoide
<i>Tagetes lucida</i>	6,4	---	0,4	---	92,2	---	Fenilpropanoide
<i>Lippia alba</i>	39,5	51,7	7,7	---	---	---	Monoterpenoide
<i>Lippia dulcis</i>	2,7	0,9	59,3	19,3	0,1	5,5	Sesquiterpenoide

HM = Hidrocarburos monoterpénicos, MO = Monoterpenos oxigenados, HS = Hidrocarburos sesquiterpénicos, SO = Sesquiterpenos oxigenados, FP = Fenilpropanoides.

Tabla 41. Clasificación de los AE de las especies cultivadas bajo estudio, de acuerdo con los grupos funcionales de compuestos presentes.

Especie	ALC	ALD	CE	ET	ES	HD	Compuestos predominantes
<i>Rosmarinus officinalis</i>	19,3	---	3,0	23,2	3,2	50,9	Hidrocarburos
<i>Cymbopogon citratus</i>	5,1	66,8	4,0	3,1	1,2	17,3	Oxigenados
<i>Tagetes lucida</i>	0,7	---	---	92,1	---	6,2	Oxigenados
<i>Lippia alba</i>	3,8	---	47,3	0,2	0,2	47,5	
<i>Lippia dulcis</i>	14,1	---	5,9	5,2	0,4	61,8	Hidrocarburos

AC = Ácidos, ALC = Alcoholes, ALD = Aldehídos, CE = Cetonas, ET = Éteres, ES = Ésteres, HD = Hidrocarburos.

Tabla 42. Porcentaje de compuestos identificados positivamente, presentes en aceites esenciales bajo estudio.

Especie	Compuestos (> 0.1%)	Compuestos identificados positivamente	Porcentaje de identificación, (%)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	33	32	97
<i>Cymbopogon citratus</i>	29	23	97
<i>Tagetes lucida</i>	9	6	79
<i>Lippia alba</i>	35	34	67
<i>Lippia dulcis</i>	74	49	66

5.3 EVALUACIÓN DEL GRADO DE ADAPTACIÓN DE LAS ESPECIES CULTIVADAS BAJO ESTUDIO, A LAS CONDICIONES AMBIENTALES DE LA SUB-REGIÓN DE VÉLEZ

Los municipios de la sub-región de Vélez (Bolívar, El Peñón y Guavatá), donde se llevó a cabo este Proyecto, se encuentran ubicados a diferentes niveles altitudinales, *i.e.* 1800-2200, 2300-2500, >2600 m.s.n.m., respectivamente, lo que les confiere disímiles condiciones climáticas.

El municipio de Bolívar se encuentra ubicado a 234 km de Bucaramanga, capital del Departamento de Santander, Colombia, que son recorridos en un viaje aproximado de 6 a 7 horas, vía terrestre. Se encuentra a una altura promedio de 2300 m.s.n.m. Presenta un clima templado-frío con una temperatura ambiente que varía entre 18 y 20 °C.

El municipio de El Peñón se encuentra ubicado a 28 km de Bolívar, aproximadamente, a una hora y media de viaje por tierra. Las veredas que hicieron parte del estudio se encuentran a una altura promedio de 2600 m.s.n.m. La región presenta un clima frío, caracterizado por cielos parcial o completamente nubados y una temperatura ambiente que varía entre 13 y 15°C.

El municipio de Guavatá, ubicado a 41 km de Bolívar, aproximadamente, a dos horas de viaje por tierra, se encuentra a una altura promedio de 1900 m.s.n.m., posee un clima templado-cálido, seco y una temperatura ambiente promedio de 26 °C.

Todas las especies aromáticas bajo estudio, *Rosmarinus officinalis*, *Lippia alba*, *Cymbopogon citratus*, *Tagetes lucida*, *Lippia dulcis* y *Ocimum basilicum*, fueron sembradas en los tres municipios, sin embargo, no todas se adaptaron a las condiciones climáticas y geobotánicas de las diferentes

regiones. Otras, aunque se adaptaron, no presentaron el desarrollo fisiológico ideal.

En el municipio de Bolívar, se adaptaron las especies *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus*, *Tagetes lucida* y *Lippia dulcis*, sin embargo, las condiciones climáticas extremas durante el verano (enero-marzo) y el invierno (abril-junio) del 2006, afectaron algunos cultivos; cabe resaltar que la especie *Rosmarinus officinalis* soportó las extremas heladas. Los cultivos sembrados por encima de los 2500 m.s.n.m en este municipio, aunque se adaptaron, no tuvieron buen desarrollo foliar.

Las temperaturas bajas y los cortos períodos de plena exposición solar en el municipio de El Peñón, fueron los factores, posiblemente, que más negativamente afectaron el desarrollo fisiológico y la adaptación de las plantas cultivadas en esta región, ninguna de las especies cultivadas se adaptó a este municipio.

Por el contrario, en el municipio de Guavatá, las condiciones climáticas favorecieron la adaptabilidad del material vegetal cultivado. Especies como *Cymbopogon citratus*, *Tagetes lucida*, *Rosmarinus officinalis* y *Lippia alba* desarrollaron cantidad de biomasa grande y se adaptaron favorablemente.

La especie *Ocimum basilicum* no logró adaptarse a ninguna de las regiones, no obstante, todos estos inconvenientes y observaciones son importantes y necesarios conocerlos y superarlos en una etapa experimental, para más adelante, no correr riesgos en una etapa productiva.

5.4 ANÁLISIS DE LOS ESPECTROS DE MASAS DE DIFERENTES COMPONENTES CON GRUPOS FUNCIONALES DIVERSOS, PRESENTES EN LOS AE BAJO ESTUDIO.

La caracterización química de los AE se llevó a cabo utilizando criterio cromatográfico: tiempos de retención (t_R) e índices de Kováts (I_K) en dos columnas de diferente polaridad, y espectroscópico, basado en el estudio de espectros de masas, obtenidos experimentalmente y comparados con diferentes bases de datos (**Sección 4.4**).

El estudio de los espectros de masas analiza rutas de fragmentación, con base en la estructura y los grupos funcionales presentes en las moléculas analizadas. La importancia de estos análisis se fundamenta en el hecho de que permiten que el analista adquiera destreza en la interpretación de un espectro de masas, y, en caso tal, pueda llegar a conjeturar una posible estructura molecular, a partir de un espectro de masas de un compuesto desconocido.

Algunas de las moléculas analizadas presentes, a continuación, fueron seleccionadas por su diversidad estructural y por los distintos grupos funcionales presentes. Los espectros de masas estudiados corresponden a las siguientes moléculas: α -felandreno, δ -cadineno, mentona y estragol. La gran mayoría de otras moléculas y sus espectros de masas, presentes en los aceites esenciales bajo estudio, fueron analizados y descritos en muchos otros trabajos de grado desarrollados en el Laboratorio de Cromatografía.

El espectro de masas y las posibles rutas de fragmentación, obtenido del α -felandreno se ilustran en las **Figuras 59** y **60**, respectivamente.

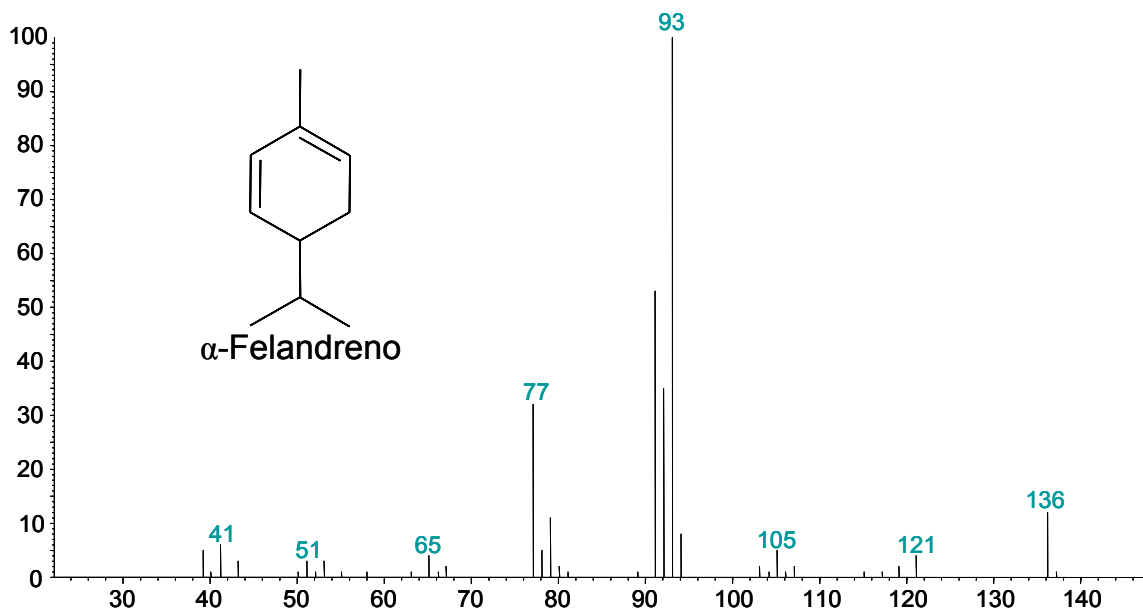


Figura 59. Espectro de masas del α -felandreno (MS, EI, 70 eV), presente en los AE de *Tanacetum parthenium* y *Rosmarinus officinalis*.

El ion molecular del α -felandreno en m/z 136 (12%) elimina el radical metilo, lo que conduce a la formación del ion en m/z 121 (4%). La ruptura simple del sustituyente más voluminoso, *iso*-propilo, a partir del ion molecular en m/z 136, produce la formación del ion pico de base, en m/z 93 (100%). A partir de éste y sufriendo consecutivamente la eliminación de un radical metilo y de etino, se forman los iones en m/z 77 (32%) y 51 (3%), respectivamente.

Adicionalmente, el ion pico de base en m/z 93, elimina dos átomos de hidrógeno, produciendo el fragmento en m/z 91(53%), el cual, sucesivamente, pierde etino generando el ion $C_5H_5^+$, en m/z 65 (4%).

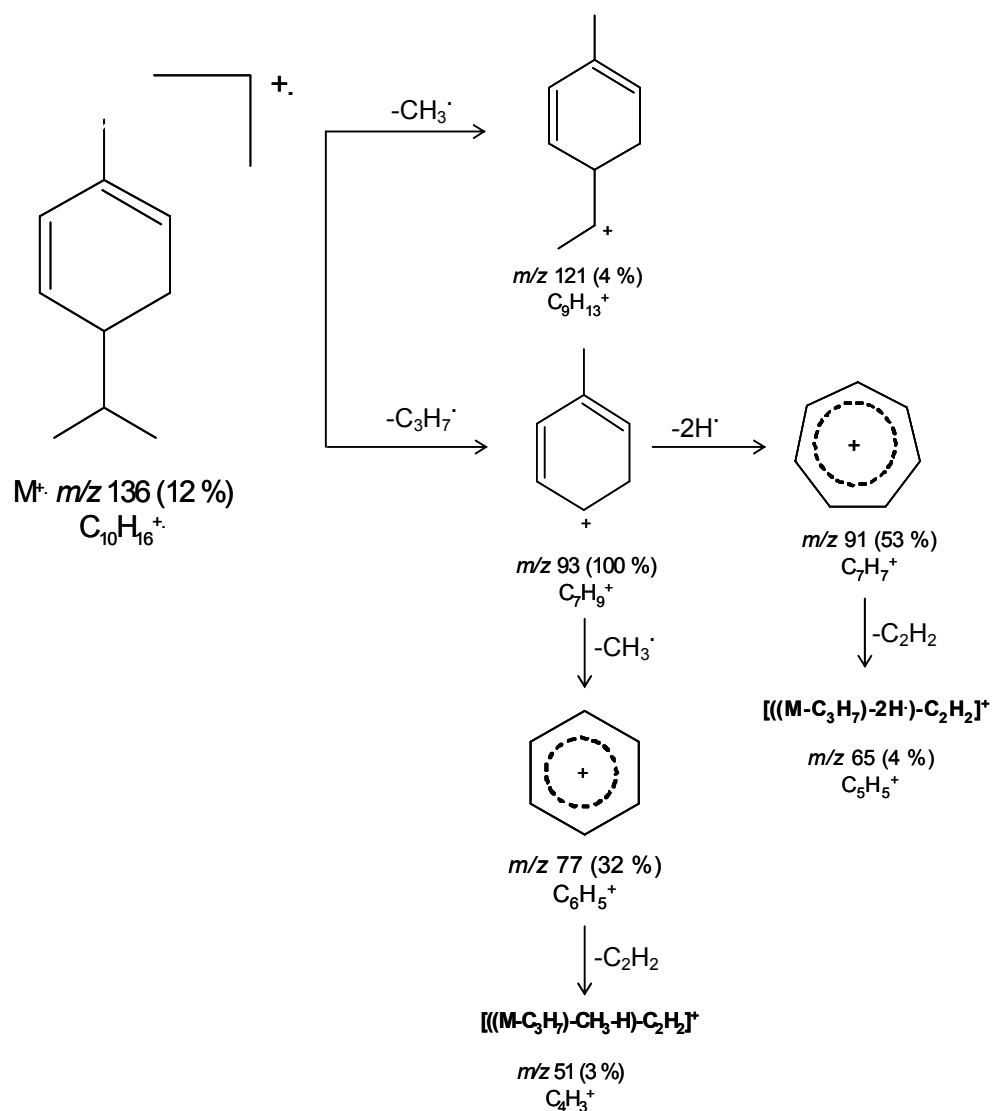


Figura 60. Posibles rutas de fragmentación del α -felandreno (MS, EI, 70 eV).

El siguiente compuesto bajo estudio es el δ -cadineno. El espectro de masas y las posibles rutas de fragmentación, se ilustran en las **Figuras 61** y **62**, respectivamente.

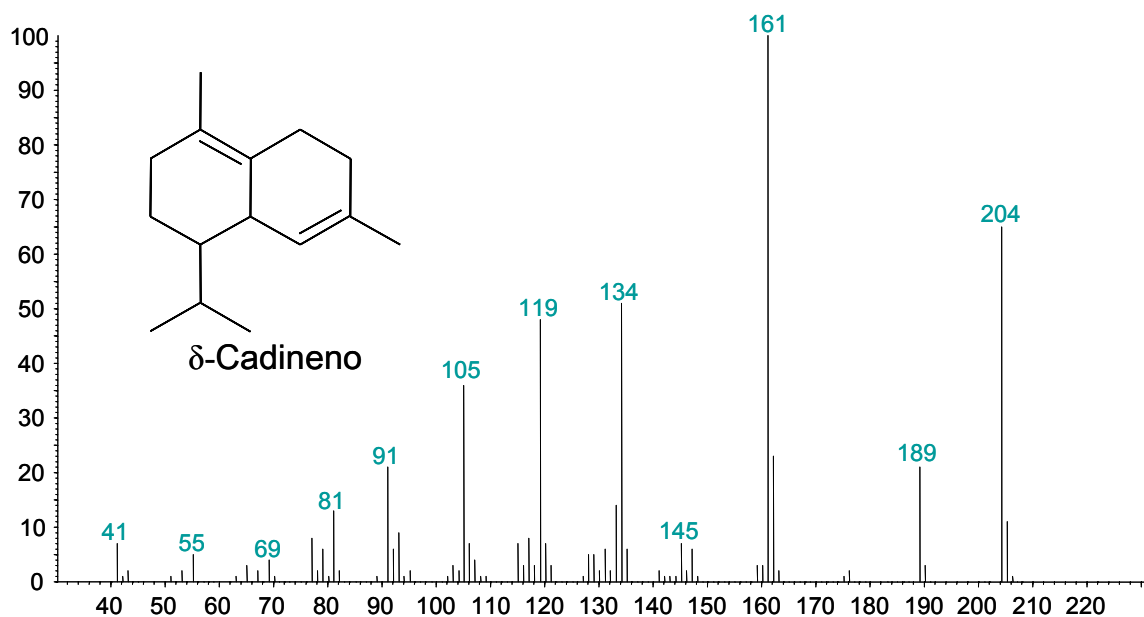


Figura 61. Espectro de masas del δ -cadineno (MS, EI, 70 eV), presente en los AE de *Salvia palaefolia* y *Lippia dulcis*.

El ion molecular en m/z 204 (65%), sufre una ruptura retro-Diels-Alder (RDA), que conduce a la formación del catión-radical en m/z 134 (51%), el cual elimina paralelamente radicales metilo y etilo dando origen a los iones en m/z 119 (48%) y 105 (36%), respectivamente. Adicionalmente, el ion molecular elimina, por ruptura simple, el radical metilo, formando el ion en m/z 119 (48%).

El ion pico de base en m/z 161 (100%), se forma a partir de la eliminación del radical *iso*-propilo del ion molecular.

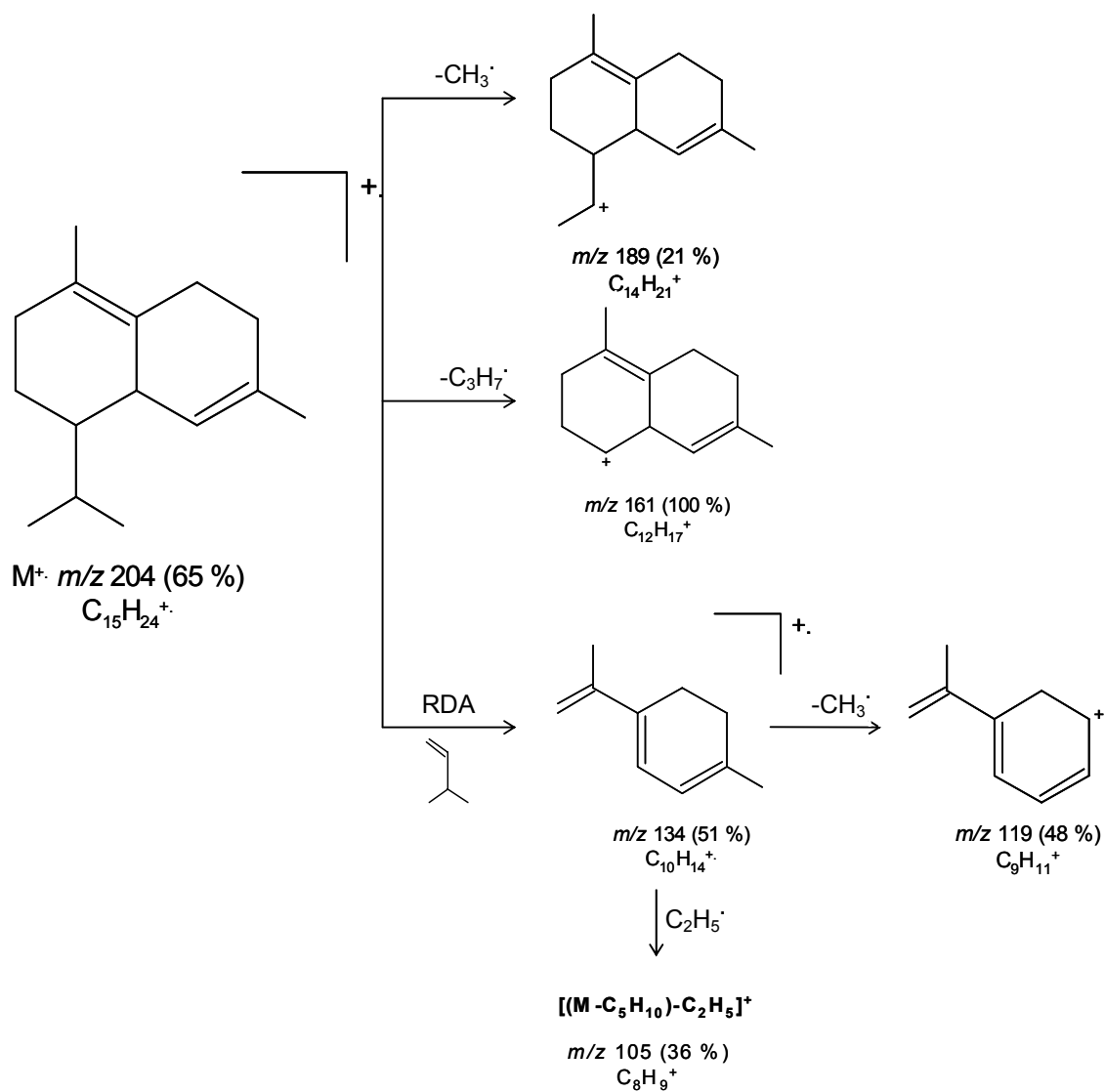


Figura 62. Posibles rutas de fragmentación del δ -cadineno (MS, EI, 70 eV).

La mentona es un monoterpeneo oxigenado tipo cetona, uno de los componentes mayoritarios presentes en los AE de *Minthostachys mollis* y *Mentha pulegium*. Su espectro de masas y las posibles rutas de fragmentación, según su MS (70 eV, EI) obtenido, se ilustran en las **Figuras 63 y 64**.

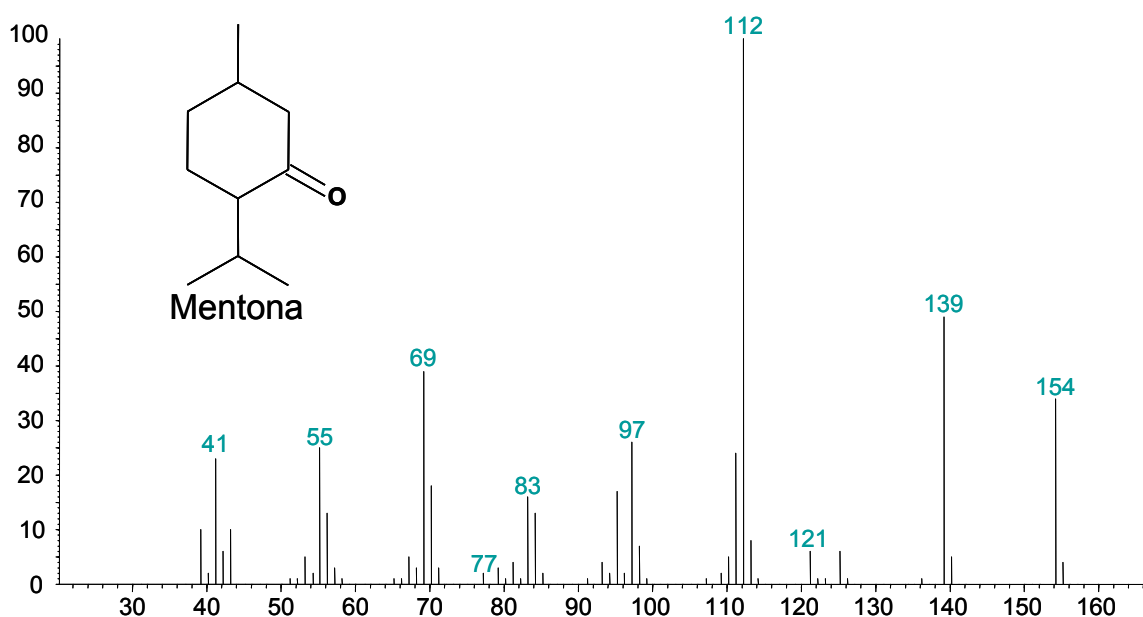


Figura 63. Espectro de masas de la mentona (MS, EI, 70 eV), presente en los AE de *Minthostachis mollis* y *Mentha pulegium*.

La mentona presenta en su espectro de masas el ion molecular en m/z 154 (34%), el cual, por eliminación del radical *iso*-propilo forma el fragmento en m/z 111 (24%); que, por sucesiva pérdida de monóxido de carbono, da origen al ion en m/z 83 (15%). Adicionalmente, la expulsión del radical metilo por ruptura simple del ion molecular en m/z 154, produce el ion en m/z 139 (45%).

El ion pico de base en m/z 112(100%), se genera después de un reordenamiento de tipo McLafferty intramolecular y eliminación de propeno a partir del ion molecular; posteriormente, a través de una ruptura tipo retro-Diels-Alder (RDA) se genera el ion en m/z 70(18%).

Reordenamientos intramoleculares producen iones en m/z 97(26%) y 69(39%). La pérdida de monóxido de carbono del ion en m/z 97 conduce a la formación del ion isobárico en m/z 69(39%), que sucesivamente elimina eteno para generar el ion alilo en m/z 41(23%).

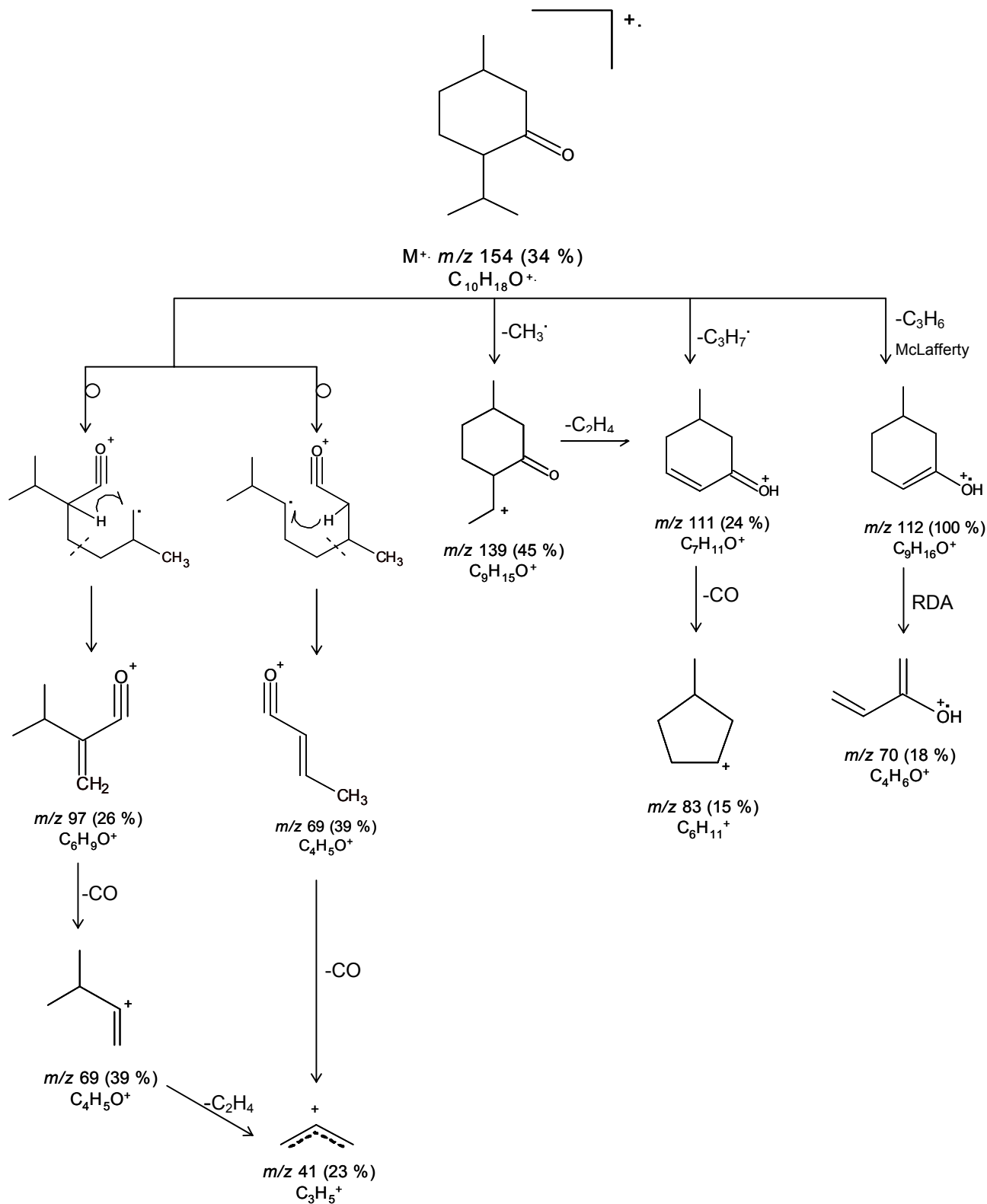


Figura 64. Posibles rutas de fragmentación de la mentona (MS, EI, 70 eV).

El espectro de masas y las posibles rutas de fragmentación según su MS (70 eV, EI) obtenido del estragol se ilustran en las **Figuras 65 y 66**, respectivamente

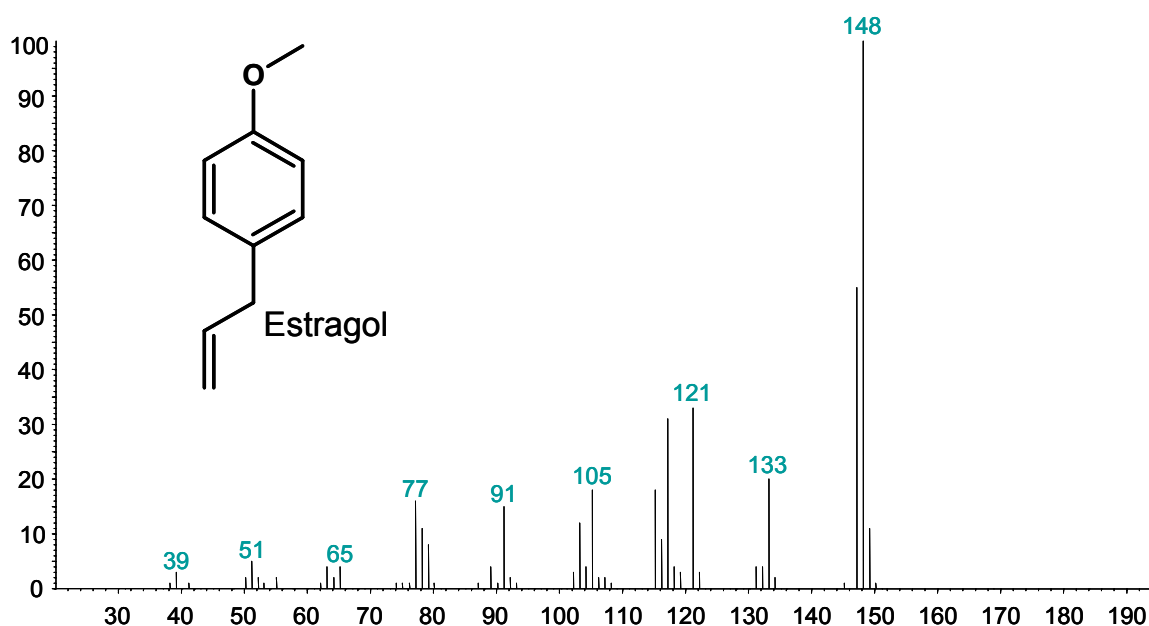


Figura 65. Espectro de masas del estragol (MS, EI, 70 eV), presente en los AE de *Tagetes filifolia*, *Tagetes lucida* y *Lippia dulcis*.

En el espectro de masas del estragol, el ion pico de base es el mismo ion molecular en m/z 148 (100%), a partir de él, se eliminan los radicales de hidrógeno, metilo y etilo, formando los iones en m/z 147 (51%), 133 (21%) y 121 (33%), respectivamente. Adicionalmente, el ion molecular, por eliminación del radical metilo, forma el fragmento en m/z 133(21%), a través de la sucesiva pérdida de monóxido de carbono, se genera el ion en m/z 105(18%);

El ion en m/z 121, sufre reordenamiento de hidrógeno y salida de formaldehído, que conducen a la formación del ion tropilio en m/z 91 (15%), que por sucesiva eliminación de etino, produce el ion $C_5H_5^+$ en m/z 65 (4%).

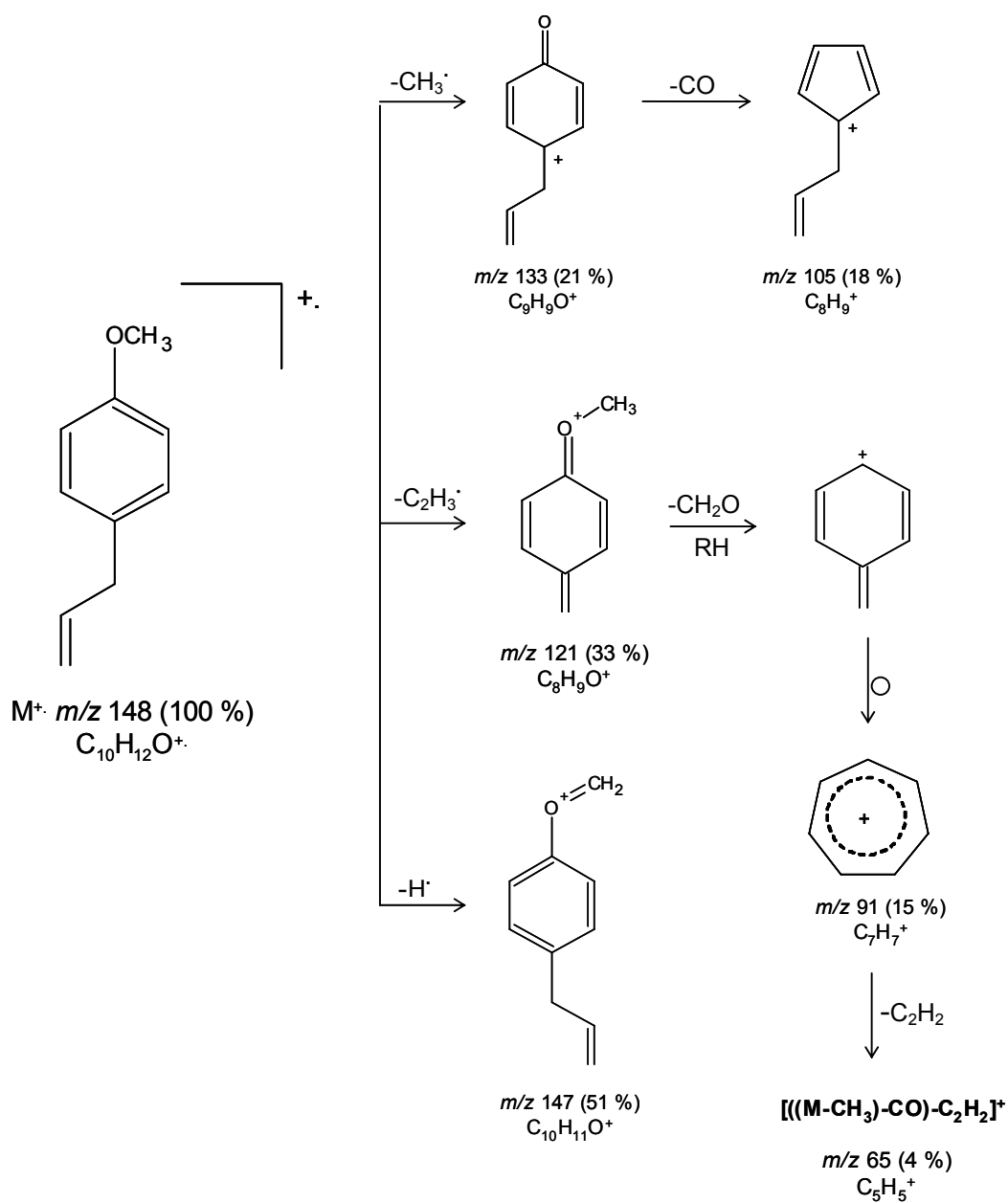


Figura 66. Posibles rutas de fragmentación del estragol (MS, EI, 70 eV).

5.5 EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE LOS AE

La medición de las propiedades físico-químicas, tales como índice de refracción, densidad, poder rotatorio, solubilidad en etanol, índices de acidez, entre otros, permite elaborar una ficha técnica propia de cada aceite, siendo ésta de gran importancia en el momento de la comercialización del mismo. Por ejemplo, la determinación de la solubilidad es un parámetro importante si se considera que el AE es extraído con el objeto de ser aplicado en la industria de perfumes, en la cual, generalmente, el etanol es el solvente más utilizado.

La **Tabla 43** reporta los datos obtenidos de las propiedades físico-químicas de los AE de las especies cultivadas. Las mediciones de densidad, índice de refracción y solubilidad en etanol, se realizaron bajo los procedimientos descritos en las Normas ISO 279:1998 (E), ISO 280:1998 (E) e ISO 875:1999 (E), respectivamente.

Tabla 43. Propiedades físico-químicas de los AE extraídos de las plantas cultivadas en la Subregión de Vélez.

Especie	Densidad (g/mL)	Índice de refracción (21°C)	Solubilidad en etanol, %			
			60	70	80	90
<i>Lippia alba</i>	0,90	1,4891	x	< 0,7 mL	>2,0 mL	√
<i>Cymbopogon citratus</i>	0,88	1,4886	x	< 0,8 mL	<1,0 mL	<1,2 mL
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,91	1,4801	x	< 0,7 mL	>1.0 mL	√
<i>Tagetes lucida</i>	0,98	1,5245	x	< 0,7 mL	>2,4 mL	√
<i>Lippia dulcis</i>	---	1,5050	---	---	---	√

X-Es insoluble, √-Completamente solubles

La prueba de solubilidad en etanol se realizó con soluciones agua-etanol del 60, 70, 80 y 90%. En la **Tabla 43**, los datos que se reportan en sobre solubilidad corresponden a los volúmenes de las mezclas agua-etanol en los cuales los aceites esenciales fueron solubles.

En alcohol absoluto de 99,8% los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis*, *Lippia alba* y *Tagetes lucida* fueron completamente solubles. El aceite de *Cymbopogon citratos* presentó opalescencia después de la adición de 1,6 mL de etanol absoluto.

5.6 ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS AE

5.6.1 Actividad antioxidante

Los compuestos hidrofílicos tales como la vitamina C, tioles y flavonoides, así, como compuestos lipofílicos, tales como las vitaminas E y A, carotenoides y ubiquinoles, son antioxidantes naturales bien conocidos [141]. Muchos de estos compuestos son de especial interés por su habilidad para reducir el peligro causado por las especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (RNS) y han sido asociados con la disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares y otras dolencias relacionadas con el estrés oxidativo [141,177].

Las principales especies reactivas de oxígeno (ROS), de relevancia fisiológica en el hombre, son los radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) y superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) [2], formados durante el proceso de respiración. Las ROS están involucradas en diferentes patologías degenerativas del sistema nervioso central, e.g. la enfermedad de Alzheimer [177].

Prácticamente, todos los compuestos antes mencionados son consumidos por el hombre a través de su dieta, por ingestión de productos naturales como frutas y vegetales, nueces, aceites vegetales e infusiones de plantas aromáticas y medicinales.

La medición de la actividad antioxidante total, de sustancias puras, extractos, y fluidos biológicos, por el ensayo de decoloración del catión-radical ABTS⁺ ha sido ampliamente utilizada [143]. No obstante, son pocos los trabajos reportados en la literatura, acerca de la evaluación por este método de la actividad antioxidante total de los AE.

La determinación de la actividad antioxidante por el ensayo de decoloración del catión-radical ABTS⁺, se basa en la desaparición del radical cromóforo, el cual es reducido y neutralizado por la ganancia de un e⁻, que es fácilmente donado por la sustancia antioxidante (**Figura 67**). Experimentalmente, se observa una disminución de la absorbancia, medida en 734 nm, debido a la reducción del catión-radical.

Generalmente, el catión-radical ABTS⁺ es generado directamente a partir de su precursor en medio acuoso por reacción química, e.g. dióxido de manganeso, ABAP, persulfato de potasio, o por una reacción enzimática, e.g. peroxidasa, hemoglobina, met-mioglobina.

La capacidad de atrapamiento de radicales por el ensayo de decoloración del catión-radical ABTS⁺ se expresa como capacidad antioxidante equivalente al Trolox[®] (TEAC), para el caso de sustancias puras, o como actividad antioxidante total (TAA), para el caso de mezclas de sustancias.

En este trabajo, el Trolox[®] se usó como estándar y la vitamina E, el BHA (*tert*-butilhidroxianisol) y el BHT (*di-tert*-butilhidroxitouleno), como sustancias de control. La capacidad antioxidante de los AE y las sustancias control se determinaron, respectivamente, como TAA, expresado como mmol de Trolox[®] por kg de AE y TEAC, expresado como mmol de Trolox[®] por mmol de sustancia.

La **Figura 67** muestra la capacidad antioxidante del Trolox[®] medida en el ensayo con el catión-radical ABTS⁺; se observa la relación lineal entre la concentración de Trolox[®] y el porcentaje de inhibición.

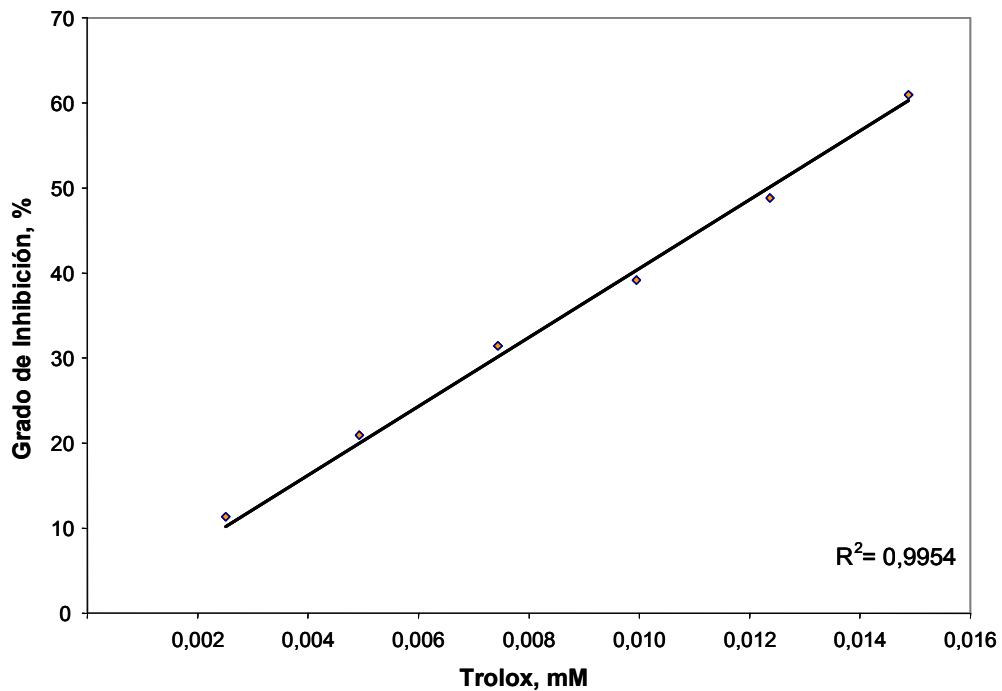


Figura 67. Grado de inhibición del catión-radical ABTS⁺, en función de la cantidad (mM) de Trolox[®].

Por otro lado, la **Figura 68** muestra el efecto de la duración de interacción, de las sustancias antioxidantes de control, sobre la disminución de la absorbancia del catión-radical ABTS⁺.

Los resultados revelan, que las velocidades de reacción con el catión-radical ABTS⁺ de las sustancias antioxidantes de control, son diferentes. En el primer minuto, la reacción es completa para la vitamina E; en el segundo minuto, para el BHA y por encima del sexto minuto para el BHT.

Considerando las estructuras moleculares de la vitamina E, el BHA y el BHT (**Figura 69**), se puede suponer, que la velocidad de reducción del catión-radical ABTS⁺ depende de la presencia de sustituyentes electro-donadores, como el grupo hidroxilo (-OH), y su disponibilidad para ceder electrones. De esta manera, la velocidad de reacción lenta del BHT podría explicarse por el impedimento estérico de los grupos *ter*-butilo, dispuestos en posiciones *orto*, con respecto al grupo hidroxilo.

En la **Tabla 44** se muestran, respectivamente, los valores de TEAC y TAA obtenidos para las sustancias control y los AE evaluados. Los valores de TEAC hallados experimentalmente, para las sustancias control, concuerdan con los reportados en la literatura [**122,143,178,179**].

Tabla 44. Capacidad de atrapamiento del catión-radical ABTS⁺ de las sustancias antioxidantes BHA, BHT, vitamina E y los AE estudiados.

Sustancias	TEAC (mmol de Trolox [®] /mmol de sustancia)*	TAA (mmol de Trolox [®] /kg de sustancia)*
BHA	1.02 ± 0.02	5700 ± 225
Vitamina E	1.01 ± 0.007	2350 ± 57
BHT	0.26 ± 0.04	1160 ± 30
<i>Tagetes lucida</i>	Valores disponibles sólo para sustancias puras	3.9 ± 0.1
<i>Lippia dulcis</i>		3.6 ± 0.1
<i>Rosmarinus officianlis</i>		3.0 ± 0.1
<i>Lippia alba</i>		2.7 ± 0.2
<i>Minthostachys mollis</i>		1.9 ± 0.1
<i>Tagetes filifolia</i>		1.5 ± 0.1
<i>Lepechinia bullata</i>		< 0.1
<i>Tanacetum parthenium</i>		< 0.1
<i>Cymbopogon citratus</i>		N.D

* Promedio de las tres mediciones ± s
N.D: No determinado

La actividad antioxidante total del AE de *Cymbopogon citratus*, evaluada por el método de decoloración del catión-radical ABTS⁺, no pudo ser establecida, puesto que el AE no fue soluble en el solvente de trabajo (etanol), ya que formaba una solución opalescente, que no permitió obtener

valores correctos de absorbancia. Sin embargo, cualitativamente se observa que el AE de *Cymbopogon citratus* reduce al catión-radical ABTS⁺, de forma similar como lo hace el AE de *Lippia alba*.

En términos generales, se puede concluir, que los AE de *Tagetes lucida*, *Lippia dulcis*, *Rosmarinus officianlis*, *Lippia alba*, *Minthostachys mollis*, *Tagetes filifolia*, *Lepechinia bullat*, y *Tanacetum parthenium*, evaluados por el método de decoloración del catión-radical ABTS⁺ no son mezclas de antioxidantes eficientes.

La evaluación de la actividad antioxidante por el método de decoloración del catión-radical ABTS⁺, es una técnica de *screening* efectiva, para la búsqueda de nuevas sustancias o mezclas antioxidantes, sin embargo, la efectividad de un antioxidante depende de una variedad de factores, incluyendo, la polaridad, solubilidad y la actividad quelante de metales, entre otros. Por esta razón, es necesario evaluar las posibles sustancias antioxidantes por diferentes metodologías, entre ellas, aquellas que implican directamente un sustrato.

5.6.2 Actividad antimicótica de los AE

La Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de los AE contra *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus fumigatus*, fue evaluada por el Grupo de Investigación en Infección y Cáncer de la Universidad de Antioquia (Medellín, Colombia), por los doctores Juan Gabriel Bueno, Jehidys Montiel, Ana Cecilia Mesa y otros colaboradores, empleando las técnicas de microdilución en caldo AFST-EUCAST para levaduras fermentadoras de glucosa y la M38-A CLSI para hongos filamentosos. Los resultados se reportan en la **Tabla 45**.

Entre los 7 AE estudiados, se encontró sólo uno de presentó actividad contra *C. parapsilosis*, 3 contra *C. krusei*, y ninguno contra *A. flavus*, un aceite contra *A. fumigatus*, como se muestra en la **Tabla 45**. No obstante, la efectividad de los AE fue más baja que la de la sustancia de referencia (itraconazol).

Las sustancias que son más activas hacia los microorganismos muestran valores bajos de MIC [137]. De acuerdo con Rojas *et al.* [180], existe actividad biológica relevante cuando la MIC, para una mezcla, está por debajo de 100 µg/mL. En este estudio, ninguno de los AE evaluados presentó una MIC menor que 100 µg/mL, por lo tanto, estas esencias no poseen actividad antimicótico, ni antifúngica promisorias.

Tabla 45. Concentración mínima inhibitoria (MIC) de los AE contra *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Aspergillus flavus*, y *Aspergillus fumigatus*.

Sustancias	MIC, µg/mL			
	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Lepechinia bullata</i>	> 500	> 500	> 500	> 500
<i>Minthostachys mollis</i>	> 500	> 500	> 500	> 500
<i>Aloysia Triphila</i>	500	250.0	> 500	99.21
<i>Rosmarinus officinalis</i>	> 500	> 500	> 500	> 500
<i>Cymbopogon citratus</i>	> 500	379.8	> 500	> 500
<i>Lippia alba</i>	> 500	> 500	> 500	> 500
<i>Tagetes lucida</i>	> 500	500	> 500	> 500
Itraconazol	0.107	0.125	0.25	0.125

La efectividad antimicótica, aunque escasa, de los AE de *Aloysia triphila* y *Cymbopogon citratus* contra *Candida krusei*, puede ser atribuida, posiblemente, al alto contenido de neral y geranial, puesto que los aldehídos, se caracterizan por su fuerte acción antimicrobial. No obstante, la efectividad antimicrobial de los AE no sólo depende de la composición química de los mismos, también influyen el método de la medición, el tipo de microorganismo y las condiciones de su cultivo, además de otra serie de factores como el solvente, la presencia de agentes surfactantes o el

mecanismo de acción [115]. Sin embargo, este último es complejo, aún no ha sido establecido y puede ser casi exclusivo para cada tipo de sustancia.

5.6.3 Citotoxicidad de los AE

La Concentración Letal Media (CL₅₀) de los AE frente a *Artemia franciscana* fue determinada por el Grupo de Química Ambiental y Computacional de la Universidad de Cartagena (Cartagena, Colombia), dirigido por el Dr. Jesús Olivero. Los resultados se muestran en la **Tabla 46**.

Tabla 46. Concentración Letal Media (CL₅₀) de los AE bajo estudio contra *Artemia franciscana*.

Aceite esencial	Tiempo de exposición, h	CL ₅₀ , µg/mL	CL ₅₀ (24 h)/ CL ₅₀ (48 h)	Toxicidad
<i>Lepechinia bullata</i>	24	2.55	2.51	Alta
	48	1.02		
<i>Minthostachys mollis</i>	24	76.55	1.48	Baja
	48	51.55		
<i>Aloysia triphila</i>	24	16.04	2.21	Media
	48	7.25		
<i>Rosmarinus officinalis</i>	24	36.37	1.19	Baja
	48	30.68		
<i>Cymbopogon citratus</i>	24	29.35	1.20	Baja
	48	24.52		
<i>Lippia alba</i>	24	38.23	1.19	Baja
	48	32.02		
<i>Tagetes lucida</i>	24	41.78	1.31	Baja
	48	31.78		

Todos los AE evaluados presentaron valores de CL₅₀ entre 2,55 y 76,77 µg/mL después de 24 h de exposición y entre 1,02 y 51,55 µg/mL, después de 48 h de exposición frente a *Artemia franciscana*.

Los AE con una CL₅₀ entre 0 y 10,0 µg/mL después de 24 h de exposición se clasificaron de toxicidad alta, en este grupo, sólo se ubicó 1 de los 7 AE bajo estudio. El AE de *Lepechinia bullata* exhibió la toxicidad más alta de todos estudiados frente *Artemia franciscana* (1,02 µg/mL).

Así mismo, los AE con una CL₅₀ entre 10,01 y 20,00 µg/mL después de 24 h de exposición, se clasificaron como AE de toxicidad media; en este grupo se situó el AE de *Aloysia triphila*, que presentó toxicidad media contra *Artemia franciscana* con un valor de 16,04 µg/mL.

Por último, los AE que presentaron una CL₅₀ superior a 20,01 µg/mL después de 24 h de exposición, se clasificaron como AE de toxicidad baja, a este grupo corresponden 5 de los 7 AE bajo estudio. La toxicidad más baja contra *Artemia franciscana* la mostraron los AE de *Minthostachys mollis* (76,55 µg/mL), seguido de *Tagetes lucida* (41,78 µg/mL), *Lippia alba* (38,23 µg/mL), *Rosmarinus officinalis* (36,37 µg/mL) y *Cymbopogon citratus* (29,35 µg/mL).

De acuerdo con el resultado de la relación entre los valores de CL₅₀ después de 24 y 48 h de exposición (**Tabla 46**), se puede concluir, que los crustáceos de *Artemia franciscana* fueron más sensibles a los AE de *Lepechinia bullata* y *Aloysia triphila*, cuyos valores de CL₅₀ (24 h)/ CL₅₀ (48 h) fueron 2,51 y 2,21, respectivamente.

La toxicidad alta del AE de *Lepechinia bullata*, posiblemente, se debe al alto contenido de sesquiterpenoides (96,33%), presentes en la esencia, i.e. hidrocarburos sesquiterpénicos (59,49%) y sesquiterpenos oxigenados (36,84%). Ésta podría ser, también, la explicación al porqué los crustáceos de *Artemia franciscana* fueron más sensibles al AE de *Aloysia triphila* que al de *Cymbopogon citratus*. El AE de *Aloysia triphila* posee un 28,82% de compuestos sesquiterpénicos, mientras que el aceite de *Cymbopogon citratus* contiene apenas un 2,01%. Asimismo, las esencias de *Minthostachys mollis*, *Rosmarinus officinalis* y *Lippia alba*, presentan un contenido de sesquiterpenoides y una citotoxicidad contra *Artemia franciscana*, similar al AE de *Cymbopogon citratus*.

6. CONCLUSIONES

1. En la expedición botánica por la Subregion de Veléz se recolectaron 9 especies silvestres, a saber: Salvión, Mastranto, Manzanilla, Orégano, Cidrón, Poleo, Pronto alivio y Anisillo, que se identificaron taxonómicamente así: *Lepechinia bullata* (Kunth) Epl., *Salvia palaefolia* Kunth, *Tanacetum parthenium* (L) Sch. Bip., *Minthostachis mollis* H.B.K., *Aloysia triphylla* (L'Her) Britton., *Mentha pulegium*, *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown y *Tagetes filifolia* Lag., respectivamente. Sus aceites esenciales se aislaron por MWHD; las especies *Minthostachis mollis* H.B.K., *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown y *Tagetes filifolia* Lag., presentaron los mayores rendimientos con valores entre 1,6-2,5%, mientras que las demás especies exhibieron rendimientos inferiores a 1.0%. Los AE de *Salvia palaefolia* Kunth., *Minthostachis mollis* H.B.K., *Mentha pulegium* y *Tagetes filifolia* Lag. mostraron dentro de su composición química, metabolitos secundarios volátiles de interés científico y económico.
2. De las nueve plantas silvestres recolectadas en la Subregión de Velez sería promisoría la tecnificación de cultivos de las especies de *Minthostachis mollis* H.B.K., *Mentha pulegium* y *Tagetes filifolia*, que poseen altos rendimientos y metabolitos secundarios volátiles de interés para la industria saborizante y aromatizante. La especie *Salvia palaefolia*, aunque tiene bajo rendimiento de aceite, podría perfilarse como una fuente natural del *trans*- β -cariofileno, compuesto mayoritario del AE (ca. 62%).

3. Las especies vegetales, a saber: *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus*, *Lippia alba*, *Ocimum basicilicum*, *Lippia dulcis* y *Tagetes lucida*, fueron sembradas en una extensión equivalente a 26.000 m² distribuidas en 52 parcelas ubicadas en diferentes niveles altitudinales de la Subregión de Veléz, comprendidos entre 1800 y 2800 m.s.n.m.; la zona más baja era Guavatá, ubicada entre 1800 y 2200 m.s.n.m., la zona media era Bolívar, entre 2200 y 2600 m.s.n.m. y la zona más alta era El Peñon, entre 2500 y 2800 m.s.n.m. No obstante, sólo fueron evaluadas 16 parcelas, de las cuales se obtuvo la información agrícola suficiente, así como sobre los rendimientos de obtención de AE aislados por destilación agua-vapor, su composición química y propiedades físicas y biológicas. La presencia de la especie *Lippia alba* (MIII) N.E. Brown, en la región en forma silvestre, permitió a la misma tener una gran ventaja para la tecnificación de su cultivo.

4. La composición química y los rendimientos de extracción de los AE aislados de las especies cultivadas *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus*, *Lippia alba*, *Lippia dulcis* y *Tagetes lucida*, no presentaron variaciones estadísticamente significativas en función del sitio de su cultivo (**Anexos 1 y 2**).

5. Con base en el grado de adaptación de las especies bajo estudio, *i.e.* *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum*, *Lippia alba*, *Lippia dulcis* y *Tagetes lucida*, a las condiciones geobotánicas y medioambientales de los municipios de la Subregión de Vélez, las siguientes pueden ser seleccionadas para una segunda fase del proyecto: *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus*, *Lippia alba* y *Tagetes lucida*, para los municipios de Bolivar y Guavatá; las condiciones climáticas del municipio El Peñon no permitieron la adaptabilidad de ninguna especie.

6. En la determinación de la actividad antioxidante se evaluaron los AE de *Tagetes lucida*, *Lippia dulcis*, *Rosmarinus officianlis*, *Lippia alba*, *Minthostachys mollis*, *Tagetes filifolia*, *Lepechinia bullata* y *Tanacetum parthenium* por el método de decoloración del catión-radical ABTS⁺; ninguno de estos aceites resultó ser una mezcla eficiente como antioxidante (atrapamiento de radicales).

7. Entre los siete AE, a saber: *Lepechinia bullata*, *Minthostachys mollis*, *Rosmarinus officinalis*, *Aloysia triphylla*, *Cymbopogon citratos*, *Lippia alba* y *Tagetes lucida*, estudiados para la determinación de actividad antimicótica, se encontró que *Aloysia triphylla* presentó actividad contra *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* y *Aspergillus fumigatus*, que *Lippia alba* y *Cymbopogon citratus* presentaron actividad contra *Candida krusei* y ningún aceite fue efectivo contra *Aspergillus flavus*. No obstante, la efectividad de los AE fue más baja que la de la sustancia de referencia (itraconazol).

8. De los siete AE estudiados, *Lepechinia bullata*, *Minthostachys mollis*, *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus*, *Aloysia triphylla*, *Lippia alba* y *Tagetes lucida*, los AE de *Lepechinia bullata* y *Aloysia triphylla*, exhibieron toxicidad alta y media frente *Artemia franciscana*; mientras que otros fueron de toxicidad baja.

7. RECOMENDACIONES

- Debido a las condiciones climáticas extremas poco favorables, como las épocas secas que se presentan en cierta época del año en la Subregión de Veléz, algunos cultivos sufren daños irreversibles, para ello, sería necesario implementar un riego artificial, de tal forma, que se pueda suplir las necesidades hídricas que requieren las plantas.
- El material vegetal que queda después de la extracción del aceite esencial, puede ser usado para la elaboración de *compost*, y así contribuir al proceso de agricultura orgánica, que la Asociación de campesinos Morelia siempre ha manejado.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Terblanché, F.C.; Kornelius, G. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae) – A Literature Review. *Journal of Essential Oil Research*, **1996**, 8, pp. 471–485.
2. Pascual, M.E.; Slowing, K.; Carretero, E.; Sánchez Mata, D.; and Villar, A. *Lippia*: Traditional Uses, Chemistry and Pharmacology: a Review. *Journal of Ethnopharmacology*, **2001**, 76, pp. 201-214.
3. García Barriga, H. Flora medicinal de Colombia. Botánica Médica. **1992**. Segunda edición. Tercer Mundo Editores. Bogotá, pp. 29-31, 506.
4. Gupta, M.P. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. **1995**. Editorial Presencia Ltda. Bogotá. pp. 559-560.
5. De Abreu Matos, F.J.; Lacerda Machado, M.I.; Aragao Craveiro, A.; Wilson Alencar, J. Essential oil composition of two chemotypes of *L. alba* grown in Northeast Brazil. *Journal of Essential Oil Research*, **1996**, 8, pp. 695–698.
6. Fischer, U.; Lopez, R.; Pöll, E.; Vetter, S.; Novak, J.; and Franz, C.M. Two chemotypes within *Lippia alba* populations in Guatemala. *Flavor and Fragrance Journal*, **2004**, 19, pp. 333-335.
7. Zoghbi, M.G.B.; Andrade, E.H.A.; Santos, A.S.; Silva, M.H.L.; and Maia, J.G.S. Essential oils of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br growing wild in the Brazilian Amazon, *Flavour and Fragrance Journal*, **1998**, 13, pp. 47-48.
8. Oliveria, D.R.; Leitão, G.G.; Santos, S.S.; Bizzo, H.R.; Lopes, D.; Aliviano, C.S.; Aliviano, D.S.; and Leitão, S.G. Ethnopharmacological study of two *Lippia alba* species from Oriximiná, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, **2006**, 108, pp. 103-108.
9. Tavares, E.S.; Julião, L.S.; Lopes, H.R.; Lage, C.L.S.; and Leitão, S.G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **2005**, 15, (1), pp. 1-5.

10. Duarte, M.C.T.; Figueira, G.M.; Sartoratto, A.; Garcia-Rehder, V.L.; and Delarmelina, C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **2005**, 95, pp. 305-311.
11. Bahl, J.R.; Garg, S.N.; Singh, S.C.; Bansal, R.P.; Naquiv, A.A.; and Kumar, S. Composition of linalool rich essential oil from *Lippia alba* grown in Indian plains. *Flavour and Fragrance Journal*, **2000**, 15, pp. 199-200.
12. Bahl, J.R.; Sinha, S.; Naqvi, A.A.; Bansal, R.P.; Gupta, A.K.; and Kumar, S. Linalool-rich essential oil quality variants obtained from irradiated stem nodes in *Lippia alba*. *Flavour and Fragrance Journal*, **2002**, 17, pp. 127-132.
13. Lorenzo, D.; Paz, D.; Davies, P.; Vila, R.; Cañigüeral, S.; and Dellacassa, E. Composition of a new essential oil type of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown from Uruguay. *Flavour and Fragrance Journal*, **2001**, 16, pp. 356-359.
14. Siani, A.C.; Tappin, M.R.R.; Ramos, M.F.S.; Mazzei, J.L.; Ramos, F.R.A. N.; and Frighetto, N. Linalool from *Lippia alba*: Study of the reproducibility of the essential oil profile and the enantiomeric purity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2002**, 50, pp. 3518-3521.
15. Gomes, E.C.; Ming, L.C.; Moreira, E.A.; Miguel, O.G.; Miguel, M.D.; Kerber, V.A.; Conti, A.; and Filho, A.W. Constituintes do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. (Verbenaceae). *Revista Brasileira de Farmácia*, **1993**, 74, pp. 29-32.
16. Craveiro, A.A.; Alencar, J.W.; Matos, F.J.A.; Andrade, C.H.S.; and Machado, M.I.L. Essential oils from Brazilian Verbenaceae genus *Lippia*. *Journal of Natural Products*, **1981**, 44, pp. 598-601.
17. Braga, M.E.M.; Ehlert, P.A.D.; Ming, L.C.; and Meireles, M.A.A. Supercritical fluid extraction from *Lippia alba*: global yields, kinetic data, and extract chemical composition. *The Journal of Supercritical Fluids*, **2005**, 34, pp. 149-156.

18. Pino Alea, J.A.; Ortega Luis, A.G.; Pérez, A.R.; Rodríguez Jorge, M.; y Baluja, R. Composición y propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. *Revista Cubana de Farmacia*, **1996**, 30, pp. 29-35.
19. Leclercq, P.A.; Delgado H.S.; García, J.; Hidalgo, J.E.; Cerrutti, T.; Mestanza, M.; Rios, F.; Nina, E.; Nonato, L.; Alvarado, R.; and Menendez, R. Aromatic plant oils of the peruvian Amazon. Part 1. *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. and *Cornutia odorata* (Poeppig) Poeppig ex Schauer, Verbenaceae. *Journal of Essential Oil Research*, **1999**, 11, pp. 753-756.
20. Stashenko, E.E.; Jaramillo, B.E.; Martínez, J.R. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its *in vitro* antioxidant activity. *Journal of Chromatography A*, **2004**, 1025, pp. 93-103.
21. Dellacassa, E.; Soler, E.; Menéndez, P.; and Moyna, P. Essential oils from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown and *Aloysia chamaedrifolia* Cham. (Verbenaceae) from Uruguay. *Flavour and Fragrance Journal*, **1990**, 5, pp. 107-108.
22. Senatore, F.; Rigano, D. Essential oil of two *Lippia* spp. (Verbenaceae) growing wild in Guatemala. *Flavour and Fragrance Journal*, **2001**, 16, pp. 169-171.
23. Tucker, A.O.; Maciarello, M.J. Volatile leaf oil of the "Licorice Verbena" [*Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown ex Britton and P. Wills. var. *carterae* Moldenke] from the North American herb trade. *Journal of Essential Oil Research*, **1999**, 11, pp. 314-316.
24. Ricciardi, G.A.L.; Veglia, J.F.; Ricciardi, A.I.A.; y Bandoni, A.L. Examen comparado de la composición de los aceites esenciales de especies auctótonas de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, Universidad Nacional del Nordeste, **1999**, 8, pp. 103-106.

25. Hennebelle, T.; Sahpaz, S.; Dermont, C.; Joseph, H.; and Bailleul, F. The essential oil of *Lippia alba*: Analysis of samples from French Overseas Departments and review of previous works. *Chemistry & Biodiversity*, **2006**, 3, pp. 1116-1125.
26. Monsalve, L.A. Comparación de la composición química de los aceites esenciales de las plantas de *Lippia alba* (Mill.) N.E, Brown, provenientes de diferentes regiones de Colombia. Tesis de Pregrado, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, **2007**. 141 p.
27. Acosta de la Luz, L.L.; Rodríguez Ferrada, C.A. Plantas medicinales: bases para su producción sostenible. Agrinfor **2006**, Impresiones MINAG, La Habana, Cuba. 203 pp. 91-92.
28. Biasi, L.A.; Costa, G. Propagação vegetativa de *Lippia alba*. *Ciência Rural*, **2003**, 33, (3), pp. 455-459.
29. Ventrella, M.C. Produção de folhas, óleo essencial e anatomia foliar quantitativa de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. (Verbenaceae) em diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita. **2000**, 86 p. Dissertação (Doutorado em Agronomia – Horticultura) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu. Citado por: Aguiar, J.S.; Costa, M.C.C.D.; *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown (Verbenaceae): levantamento de publicações nas áreas química, agrônômica e farmacológica, no período de 1979 a 2004. *Revista Brasileira de Plantas Medicinales*, Botucatu, **2005**, 8, (1), pp. 79-84.
30. Duran, D. Estudio del aceite esencial de *Lippia alba* (Fam. Verbenaceae) y de los aspectos fisiológicos en diferentes etapas de su crecimiento bajo tres niveles de luz. Tesis de Pregrado, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander. **2005**.
31. Hernández, H.; Bonilla, C.; Sánchez, M. Efecto de la fertilización nitrogenada en la producción de biomasa y calidad de aceite esencial en *Lippia alba* (Miller), Pronto alivio. *Acta Agronómica*, Universidad Nacional de Colombia, **2004**, 53, (1). Disponible en internet en

http://www.sinab.unal.edu.co/revistas/index.php/acta_agronomica/issue/view/27/showToc. Consultado en mayo 15 del 2007.

32. Santos, M.R.A.; Innecco, R. Adubação orgânica e altura de corte da erva-cidreira brasileira. *Horticultura Brasileira*, **2004**, 22, (2), pp. 182-185.
33. Fernández-Pola, J. Cultivo de plantas medicinales, aromáticas y condimenticias. **1996**. Ediciones Omega. Barcelona, pp.32-35, 218-221.
34. Soliman, F.M.; El-Kashoury, E.A.; Fathy, M.M.; and Gonaid, M.H. Analysis and biological activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. from Egypt. *Flavour and Fragrance Journal*, **1994**, 9, pp.29-33.
35. Kabouche, Z.; Boutaghane, N.; Laggoune, S.; Kabouche, A.; Ait-Kaki, Z.; and Benlabeled, K. Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *The International Journal of Aromatherapy*, **2005**, 15, pp. 129-133.
36. Cala, V.; Cases, M.A.; and Walter, I. Biomass production and heavy metal content *Rosmarinus officinalis* grown on organic waste-amended soil. *Journal of Arid Environments*, **2005**, 62, pp. 401-412.
37. Flamini, G.; Cioni, P.L.; Morelli, I.; Macchia, M.; and Ceccarini, L. Main agronomic-productive characteristics of two ecotypes of *Rosmarinus officinalis* L. and chemical composition of their essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2002**, 50, pp. 3512-3517.
38. Skrubis, G. Seven wild aromatic plants growing in Greece and their essential oils. *Flavour Industry*, **1972**, 3, pp. 566-568, 571.
39. Devetak. Production of the essential oil of rosemary on the island of Hvar. *Zbornik Simpozija Hvar u Prirodnim Znanostima (Zagreb)*, **1977**, pp. 109-123.
40. Hethelyi, E.; Kaposi, P.; Domonkos, J.; and Kernoczi, Z.S. GC/MS investigation of the essential oils *Rosmarinus officinalis* L. *Acta Pharmaceutica Hungarica*. **1987**, 57, pp. 159-169.

41. Do Vale, C.; Da Cunha, P.; Roque, O.R. Contribuição para o estudo analítico do óleo essencial de alecrim nacional 1. Características físico-químicas e determinação dos principais constituintes. *Boletim Faculdade de Farmácia de Coimbra*. **1980**, 4, pp. 35-45.
42. Da Cunha, P.; Roque, O.R. Contribuição para o estudo analítico do óleo essencial de alecrim nacional 2. Variações quantitativas dos principais constituintes durante a floração da primavera. *Boletim Faculdade de Farmácia de Coimbra*. **1986**, 10, pp. 5-13.
43. Mateus, E.M.; Lopes, C.; Nogueira, T.; Lourenço, J.A.A. and Marcelo, M.J. Pilot Steam Distillation of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from Portugal. *Silva Lusitana*. **2006**, 14 (2), pp. 203-217.
44. Checira, G.; Lozano, Z. Estudio de la composición química de los aceites esenciales extraídos de las plantas medicinales (*Lepechina*, mejorana, romero y salvia). Tesis de Pregrado, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, **1992**. pp. 27-92.
45. Boutekedjiret, C.; Bentahar, F.; Belabbes, R.; and Bessiere, J. M. Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal*, **2003**; 18, pp. 481–484.
46. Atti-Santos, A.C.; Rossato, M.; Fernandes, G.; Duarte, L.; Rech, J.C.; Pansera, M.R.; Agostini, F.; Atti-Serafini, and Moyna, P. Physico-chemical evaluation of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil. *Brazilian Archives of Biology and Technology. An Internacional Journal*, **2005**, 48, pp. 1035-1039.
47. Yesil Celiktas, O.; Hames Kodabas, E.E.; Bedir, E.; Vardar Sukan, F.; Ozek, T. and Baser, K.H.C. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, **2007**, 100, pp. 553-559.
48. Soto Ortiz, R.; Vega Marrenero, G.; Tamajon Navarro, A.L. Instructivo técnico del cultivo de *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf (caña santa). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, **2002**, 7, (2), p.0-0. ISSN 1028-4796. Disponible en Internet:

<http://scieloprueba.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962002000200007&lng=pt&nrm=iso>. Consultado: 9 de mayo de 2007.

49. Bauer, K.; Garbe, D.; Surburg, H. Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses. **2001**. Cuarta Edición. WILEY-VCH, Weinhein, 305 p.
50. Carlini, E.A.; Contar, J.D.P.; Silva-Filho, A.R.; Silveira-Filho, N.G.; Frochtengarten, M.L.; and Bueno, O.F.A. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals. *Journal of Ethnopharmacology*, **1986**, 17, pp. 37-64.
51. Souza Formigoni, M.L.O.; Lodder, H.M.; Gianotti Filho, O.; Ferreira, T.M.S.; and Carlini, E.A. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). II. Effects of daily two month administration in male and female rats and in offspring exposed "in utero". *Journal of Ethnopharmacology*, **1986**, 17, pp. 65-74.
52. Leite, J.R.; Seabra, M.L.; Maluf, K.A.; Suchecki, D.; Tufik, S.; Klepacz, S.; Calil, H.M.; and Carlini, E.A. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). III. Assessment of eventual toxic, hypnotic and anxiolytic effects on humans. *Journal of Ethnopharmacology*, **1986**, 17, pp. 75-83.
53. Carbajal, D.; Casaco, A.; Arruzazabala, L.; González, R.; and Tolon, Z. Pharmacological study of *Cymbopogon citratus* Leave. *Journal of Ethnopharmacology*, **1989**, 25, pp. 103-107.
54. Soto Ortiz, R.; Vega Marrero, G.; Tamajon Navarro, A.L. Efecto de diferentes densidades de plantación en *Cymbopogon citratus* Stapf. *Revista Cubana Plantas Medicinales*, **2003**, 8, (2), p.0-0. ISSN 1028-4796. Disponible en internet: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962003000200008&lng=es&nrm=iso>. Consultado : 10 de mayo de 2007.

55. Soto Ortiz, R.; Vega Marrero, G.; Tamajon Navarro, A.L. Frecuencia de las cosechas en *Cymbopogon citratus* Stapf en las condiciones edafoclimáticas de La Habana. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, **2003**, 8, (2), p.0-0. ISSN 1028-4796. Disponible en Internet: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962003000200009&lng=es&nrm=iso>. Consultado: 10 de mayo de 2007.
56. Rodríguez A., Sonia C. Estudio de la composición del aceite esencial de limonaria (*Cymbopogon citratus*), en función de condiciones agroecológicas de su cultivo en las provincias Guanentina y Comunera del Departamento de Santander, Tesis de Pregrado, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander. **2002**, 113 p.
57. Beech, D.F. Growth and oil production of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) in the Ord Irrigation Area, Western Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, **1977**, 17, (85), pp. 301-307.
58. Leal, T.C.A.B.; Freitas, S.P.; Silva, J.F.; and Carvalho, A.J.C., Produção de biomassa e óleo essencial de elixir-paregórico em função do corte das inflorescências e épocas de colheita. Produção de biomassa e óleo essencial de elixir-paregórico em função do corte das inflorescências e épocas de colheita *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, **2003**, 5 (2), pp. 61– 64.
59. Mora, Amanda. Composición química del aceite esencial de *C. citratus* sp. en función del método de extracción, época de cosecha y tiempo de secado de la planta. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander. **2002**. 198 p.
60. Schaneberg, B.T.; Khan, I.A. Comparasion of extraction methods for marker compounds in the essential oil of lemon-grass by GC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2002**, 50, pp. 1345-1349.

61. Kasali, A.A.; Oyedeji, A.; Ashilokun, A. Volatile leaf oil constituents of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. *Flavour and Fragrance Journal*, **2001**, 16, pp. 377-378.
62. Chisowa, E.H.; Hall, D.R.; Farman, D.I. Volatile constituents of the essential oil of *Cymbopogon citratus* Stapf grown in Zambia. *Flavour and Fragrance Journal*, **1998**, 13, pp. 29-30
63. Baratta, M.T; Dorman, D.H.J.; Deans, S.G.; Figueiredo, C.; Barroso, J.G.; and Ruberto, G. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, **1998**, 13, pp. 235- 244.
64. Onawunmi, G.O.; Yisak, W.A.B.; Ogunlana, E.O. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Journal of Ethnopharmacology*, **1984**, 12, pp. 273-286.
65. Cimanga, K.; Kambu, K.; Tona, L.; Apers, S.; De Bruyne, T.; Hermans, N.; Totté, J.; Pieters, L; and Vlietinck, A.J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, **2002**, 79, pp. 213-220.
66. Lis-Balchin, M.; Deans, S.G.; Eaglesham, E. Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, **1998**, 13, pp. 98 – 104.
67. Sacchetti, G.; Maietti, S.; Muzzoli, M.; Scaglianti, M.; Manfredini, S.; Radice, M.; and Bruni, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, **2005**, 91, pp. 621-632.
68. Ciccio, J.F. A source of almost pure methyl chavicol: Volatile oil from the aerial parts of *Tagetes lucida* (Asteraceae) cultivated in Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, **2004**, 52 (4), pp. 853-857.
69. Orellana, A. Recomendaciones técnicas del cultivo de Pericón. Tomado de la Internet: http://www.icta.gob.gt/reco_rec_nat.htm. Consultada: 22 de febrero de **2007**.

70. Cáceres, A; Alvarez, A.V; Ovando, A.E.; and Samayoa, B.E. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening of 68 plants against Gram-positive bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*. **1991**, 31 (2), pp. 193-208.
71. Marotti, M; Piccaglia, R; Biavati, B.; and Marotti, I. Characterization and yield evaluation of essential oils from different *Tagetes* species. *Journal of Essential Oil Research*, **2004**, 16 (5), pp. 440-444.
72. Bicchi, C; Freesia, M; Rubiolo, P; Monti, D; Franz, C.; and Goehler, I. Constituents of *Tagetes lucida* cav. ssp. *Lucida* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, **1997**, 12 (1), pp. 47-52.
73. Cáceres, A; Cano, O; Samayoa, B.; and Aguilar, L. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *Journal of Ethnopharmacology*. **1990**, 30 (1), pp. 55-73.
74. Girón, L.M; Freire, V; Alonzo, A.; and Cáceres, A. Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, **1991**, 34 (2-3), pp. 173-187.
75. Abdala, L.R. Flavonoids of the aerial parts from *Tagetes lucida* (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, **1999**, 27, (7), pp. 753-754.
76. Aquino, R; Cáceres, A; Morelli, B.; and Rastrelli, L. An extract of *Tagetes lucida* and its phenolic constituents as antioxidants. *Journal of Natural Products*, **2002**, 65 (12), pp. 1773-1776.
77. Céspedes, C.L; Avila, J.G; Martínez, A; Serrato, B; Calderón-Mugica, J.C.; and Salgado-Garciglia, R. Antifungal and antibacterial activities of Mexican tarragon (*Tagetes lucida*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2006**, 54(10), pp. 3521-3527.
78. Hernández, T; Canales, M; Flores, C; García, A.M; Duran, A.; and Avila, J.G. Antimicrobial activity of *Tagetes lucida*. *Pharmaceutical Biology*, **2006**, 44 (1), pp. 19-22.

79. Compadre, C.M.; Robbins, E.F.; Kinghorn, A.D. The intensely sweet herb, *Lippia dulcis* Trev.: Historical uses, field inquiries, and constituents. *Journal of Ethnopharmacology*, **1986**, 15 (1), pp. 89-106.
80. Compadre, C.M.; Pezzuto, J.M.; Kinghorn, A.D.; and Kamath, S.K. Hernandulcin: an intensely sweet compound discovered by review of ancient literature. *Science*, **1985**, 227, (4685), pp. 417-419.
81. Yang, H.-J.; Hyun Jung Kim, Whang, Y.-A., Choi, J.-K. and Lee, I.-S. Microbial transformation of the sweet sesquiterpene (+)-hernandulcin. *Natural Product Sciences*, **1999**, 5 (3), pp. 151-153.
82. Compadre, C.M.; Hussain, R.A.; Lopez De Compadre, R.L.; Pezzuto, J.M.; and Kinghorn, A.D. The intensely sweet sesquiterpene hernandulcin: Isolation, synthesis, characterization, and preliminary safety evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1987**, 35 (2), pp. 273-279.
83. Souto-Bachiller, F.A.; Jesus-Echevarria, M.; Cardenas-Gonzalez, O.E.; Acuña-Rodriguez, M.F.; Melendez, P.A.; and Romero-Ramsey, L. Terpenoid composition of *Lippia dulcis*. *Phytochemistry*, **1997**, 44 (6), pp. 1077-1086.
84. Kaneda, N.; Lee, I.-S.; Gupta, M.P.; Doel Soejarto, D.; Douglas and Kinghorn, A. (+)-4 β -Hydroxyhernandulcin, a new sweet sesquiterpene from the leaves and flowers of *Lippia dulcis*. *Journal of Natural Products*, **1992**, 55 (8), pp. 1136-1141.
85. Celis, C.N. Estudio comparativo de la composición y actividad biológica de los aceites esenciales extraídos de *Lippia alba*, *Lippia origanoides* y *phyla Lippia dulcis*, especies de la familia *Verbenaceae*. Tesis de Pregrado, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, **2007**, 153 p.
86. Ono, M.; Morinaga, H.; Masuoka, C.; Ikeda, T.; Okawa, M.; Kinjo, J.; and Nohara, T. New bisabolane-type sesquiterpenes from the aerial parts of *Lippia dulcis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **2005**, 53 (9), pp. 1175-1177.

87. Ono, M.; Tsuru, T.; Abe, H.; Eto, M.; Okawa, M.; Abe, F.; Kinjo, J.; and Nohara, T. Bisabolane-type sesquiterpenes from the aerial parts of *Lippia dulcis*. *Journal of Natural Products*, **2006**, 69 (10), pp. 1417-1420.
88. Caceres, A.; Fletes, L.; Aguilar, L.; Ramirez, O.; Figueroa, L.; Taracena, A.M.; and Samayoa, B. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 3. Confirmation of activity against enterobacteria of 16 plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **1993**, 38 (1), pp. 31-38.
89. Pérez, S.; Meckes, M.; Pérez, C.; Susunaga, A.; and Zavala, M.A. Anti-inflammatory activity of *Lippia dulcis*. *Journal of Ethnopharmacology*, **2005**, 102 (1), pp. 1-4.
90. Abe, F.; Nagao, T.; Okabe, H. Antiproliferative constituents in plants 9. Aerial parts of *Lippia dulcis* and *Lippia canescens*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **2002**, 25 (7), pp. 920-922.
91. Lawrence, B.M., *Advances in Labiate Science*, Royal Botanic Garden, Kew, U.K., **1992**, pp. 399-436.
92. Günther, E., *The Essential Oils*, Vol. 3, p. 399, Robert E. Krieger, New York, **1974**.
93. Sánchez, E., Leal, I.M., Fuentes, L., Rodríguez, C.A. Estudio farmacognóstico de *Ocimum basilicum* L. (*Albahaca blanca*), *Revista Cubana de Farmacia*, **2000**, 34 (3), 187-195.
94. Grayer, R.J., Kite, G.C., Goldstone, F.J., Bryan, S.E., Paton, A., Putievsky, E., Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry*, **1996**, 43 (5), pp. 1033-1039.
95. Hasegawa, Y., Tajima, K., Toi, N., Sugimura, Y. Characteristic components found in the essential oil of *Ocimum basilicum* L. *Flavour and Fragrance Journal*, **1997**, 12, pp. 195-200.
96. Lachowicz, K.J., Jones, G.P., Briggs, D.R., Bienvenu, F.E., Palmer, M.V., Ting, S.S.T., Hunter, M. Characteristics of essential oil from Basil

- (*Ocimum basilicum*) grown in Australia. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **1996**, 44, pp. 877-881.
97. Lachowicz, K.J., Jones, G.P., Briggs, D.R., Bienvenu, F.E., Palmer, M.V., Ting, S.S.T., Hunter, M. Characteristics of plants and plant extracts from five varieties of Basil (*Ocimum basilicum*) grown in Australia. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **1997**, 45, pp. 2660-2665.
98. Essential oils market, disponible en la Internet: <http://ienica.net/marketdatasheets/essentialsmdbig.pdf>; Consultada: 9 de octubre de **2007**.
99. Heath, H.B. Source book of flavors. **1981**. AVI. Westport, CT. p. 222-223
100. Fleischer, A. Essential oils from two varieties of *Ocimum basilicum* L. grown in Israel. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **1981**, 32 (11), pp.1119-1122.
101. Charles, D.J., Simon, J.E. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **1990**, 115 (3), pp. 458-462.
102. Maroto-Díaz, M.C.; Coello-Pérez, M.S. and Cabezudo, M.D. Supercritical carbon dioxide extraction of volatiles from spices comparison with simultaneous distillation-extraction. *Journal of Chromatography*, **2002**, 947 (1), pp 23-29.
103. Suppakul, P.; Miltz, J.; Sonneveld, K.; and Bigger, S.W. Antimicrobial properties of Basil and Its possible application in food packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2003**, 51, pp. 3197-3207.
104. Orellana, A. Recomendaciones técnicas del cultivo de Albahaca. Tomado de la Internet: http://www.icta.gob.gt/reco_rec_nat.htm, consultada el 24 de febrero de **2007**.
105. Marsili, R. (Ed.) Flavor, fragrance, and odor analysis. **2002**, Marcel Dekker, Inc., Primera edición, New York, pp. 249.

106. Bandoni, A. (Ed.). Los recursos vegetales en Latinoamérica. **2000**, Editorial de la Universidad Nacional de la Plata. Argentina. 410 p.
107. Guenther, E.; History – Origen in plants, Production – Analysis. Volumen 1. **1948**, Robert E. Krieger Publishing Co. Inc. Florida. pp 236-263.
108. Carey, F.A. Química orgánica. **1999**, Tercera edición, Ed. McGraw-Hill, Inc., Madrid, pp. 945-953.
109. Sell, C.S. A fragrant introduction to terpenoid chemistry. Primera edición, Royal Society of Chemistry, **2003**, 396 p. Disponible en la Internet <http://www.rsc.org/pdf/books/terpenoidsc.pdf>. Consultado: 28 de junio de 2007.
110. Kekulé, *Lehrbuch der Organischen Chemie*, Band II, p. 437, (**1866**). Citado en: Mesmin Mekem Sonwa, Isolation and structure elucidation of essential oils constituents: Comparative study of the oils of *Cyperus alopecuroides*, *Cyperus papyrus*, and *Cyperus rotundus*. Tesis Doctoral (**2000**). Facultad de Química, Universidad de Hamburg. 158 p. Disponible en la Internet: http://deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=961708654&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=961708654.pdf. Consultado: 28 de junio de 2007.
111. Dewick, P.M. Medicinal natural products: A biosynthetic approach. **2002**, Segunda edición, Ed. Wiley & Sons Ltda, Londres, pp. 7-12, 167.
112. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos “Alexander von Humboldt. Informe final de estudio del mercado nacional de aceites esenciales. Bogotá: **2002**, p.p. 23, 43-54.
113. Stashenko, E.E.; Combariza, Y.; Puertas, A.M. Aceites esenciales, técnicas de extracción y análisis. **1998**. Laboratorio de Fitoquímica y Cromatografía. Bucaramanga. Colombia: 30 p.
114. Jirovetz, L.; Buchbauer, G. Processing, análisis and application of essential oils. **2005**, Ed. Har Krishan Bhalla & Sons, Dehradun, India. pp. 21-23.
115. Lahlou, M. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, **2004**, 18, pp. 435-448.

116. Parry, E.J. The chemistry of essential oils and artificial perfumes, Volumen 2. **1992**. Scott, Greenwood and Son, Londres, pp 1, 299-309.
117. Volvamos al Campo, Manual de Cultivos Orgánicos y Alelopatía. Grupo Latino Ltda. **2005**. 470-475 p.
118. Denny, E. Hidro-distillation of oils from aromatic herbs. *Perfumer & Flavorist*, **1989**, 14, pp. 57.
119. Paré, J.R.J.; Sigamin, M.; Lapointe, J. US Patent. 5.002.784., **1991**.
120. Paré, J.R.J. European Patent Application 0485668A1., **1992**.
121. Ferhat, M.A.; Meklati, B.Y.; Smadja, J.; and Chemat, F. An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel, *Journal of Chromatography. A.*, **2006**, 1112, pp. 121-126.
122. Stashenko, E.E.; Jaramillo, B.E.; y Martínez, J.R. Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante *in vitro* de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias*, **2003**, 27, p.p. 579-597.
123. Tsarkova, T. Desarrollo de la técnica de extracción de metabolitos secundarios de plantas aromáticas utilizando la radiación de microondas, Tesis de Maestría (Química), Facultad de Ciencias, Universidad industrial de Santander, Bucaramanga, **1997**, pp. 27-31.
124. Sadek, P.C. Illustrated pocket dictionary of chromatography. **2004**. Ed. John Wiley & Sons, Inc., Nueva Jersey. 227 p.
125. Novotny, M. Gas chromatography. Tomado de: Meyers, R. (Ed.). *Encyclopedia of Physical Science and Technology*. **2004**, Química Analítica. Tercera Edición. pp. 455-472.
126. Yacuano, M.; Indrayanto, G. Gas chromatography system instrumentation. Tomado de Cazes, J. *Encyclopedia of Chromatography*. **2002**, Marcel Dekker, Inc., New York.
127. Jennings, W. *Analytical Gas Chromatography*. **1997**. Ed. Academic Press. San Diego, California, pp. 1-6.

128. Rouessac, F.; Rouessac, A. Análisis químico: Métodos y técnicas instrumentales modernas, teoría y ejercicios resueltos. **2003**, Ed McGraw-Hill/Interamericana, Madrid, pp. 7-54, 91-97.
129. Skoog, D. Análisis Instrumental. **1994**. Cuarta edición. Ed. McGraw-Hill. Madrid, pp. 696-711 y 746-764.
130. McNair, H.M.; Miller, J.M. Basic Gas Chromatography. **1998**, Ed. John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 3, 134-141.
131. Prats, S.M.; Jiménez, A. Essential oils analysis by gas chromatography. Tomado de Cazes, J. Encyclopedia of Chromatography. **2004**. Marcel Dekker, Inc., New York.
132. Kitson, F.G.; Larsen, B.S.; McEwen, C.N. Gas chromatography and mass spectrometry: A practical guide. **1996**. Ed. Academic Press, San Diego. pp. 3, 37-38.
133. Scott, R.P.W. Gas chromatography – Mass spectrometry systems. Tomado de Cazes, **2002**, Marcel Dekker, Inc., New York.
134. Krull, U.J.; Thompson, M. Analytical Chemistry. Tomado de Meyers, R. (Ed.). Encyclopedia of Physical Science and Technology. **2004**. Química Analítica. Tercera edición. pp. 455-472.
135. Oehme, M. Practical Introduction to GC-MS analysis with quadrupoles. **1998**, Hüthig, Heidelberg. pp. 19-65.
136. Crews, P.; Rodríguez, J.; Jaspars, Marcel. Organic structure analysis. **1998**, Oxford University Press, New York, pp. 229-237.
137. Kalemba, D.; Kunicka, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, **2003**, 10, pp.813-829.
138. Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*. **2004**, 94, pp. 223– 253.
139. Antolovich, M.; Prenzler, P.D.; Patsalides, E.; McDonald, S.; and Robards, K. Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst*. **2002**, 127, pp. 183-198.

140. Pokorny, J.; Yanishlieva, N.; Gordon, M. (Eds), Antioxidants in food: practical applications. **2001**, CRC Press, Boca Raton, pp. 17.
141. Arnao, M.B.; Acosta, M.; Cano, A. Antioxidant activity: An adaptation for measurement by HPLC. Tomado de: Cazes, J. (Ed.) Encyclopedia of Chromatography. **2002**, Marcel Dekker, Inc., New York.
142. Rice-Evans, C. E.; Miller, N. J. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods in Enzymology*. **1994**, 234, pp. 279-293.
143. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.P.; Yang, M.; and Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS⁺ radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, **1999**, 26, (9), pp. 1231-1237.
144. González, D.V. **2003**. Los Productos Naturales No Maderables (PNNM): Estado del arte de la investigación y otros aspectos. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, Colombia, pp. 12-18.
145. http://www.wcoomd.org/ie/En/Topics_Issues/topics_issues.html, consultada el mayo 20 de 2007.
146. Biocomercio Sostenible, **2003**. Estudio de mercado nacional de aceites esenciales. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia, 109 p
147. Díaz J., A.; Avila L., M.; Oyola, J. **2002**. Análisis del mercado internacional de aceites esenciales y aceites vegetales. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia, 45 p.
148. CBI. Natural Ingredients for Cosmetics. EU Market Survey. ProFound, **2005**. pp. 32-52.
149. CBI. Natural Ingredients for Pharmaceuticals. EU Market Survey. ProFound, **2005**. pp. 34-51.
150. CBI. Food Ingredients for Industrial Use. EU Market Survey. ProFound, **2004**. pp.46-72.

151. disponible en la Internet:
<http://www.med.uchile.cl/noticias/2006/agosto/cienciometria.html>,
consultad: el 26 de julio de 2007.
152. ADAMS, R.P., Identification of essential oil components by gas chromatography/quadropole mass spectroscopy, Allured Publishing, Carol Stream, IL, **2007**, 804 p.
153. Norma ISO 279: **1998**(E). Essential oils. Determination of relative density at 20⁰C.
154. Norma ISO 875: **1999**(E). Essential oils. Evaluation of miscibility in ethanol
155. Norma ISO 280: **1998**(E). Essential oils. Determination of refractive index.
156. De Feo, V.; Della Pota, G.; Soria, E.U.; Soria, R.U.; and Senatore, F. Composition of essential oil of *Tagetes filifolia* Lag. *Flavour and Fragrance Journal*, **1998**, 13, (3), pp.145-147.
157. Zygadlo, J.A.; Lamarque, A.L.; Maestri, D.M.; Guzman, C.A.; and Grosso, N.R. Composition of the inflorescence oils of some *Tagetes* species from Argentina. *Journal of Essential Oil Research*, **1993**, 5, (6), pp. 679-681.
158. Eggers, M.D.; Sinnwell, V.; Stahl-Biskup, E. (-)-Spirolepechinene, a spirosesquiterpene from *Lepechinia bullata* (Lamiaceae). *Phytochemistry*, **1999**, 51, pp. 987-990.
159. Jonathan, L.T.; Che, C.T.; Pezzuto, J.M.; Fong, H.H.S.; and Farnsworth, N.R. 7-O-Methylhorminone and other cytotoxic diterpene quinones from *Lepechinia bullata*. *Journal of Natural Products*, **1989**, 52, (3), pp. 571-575.
160. Stashenko, E.E.; Cervantes, M.; Combariza, M.Y. "HRGC FID and HRGC MSD análisis of the Secondary Metabolites Obtained by Different Extraction Methods from *Lepechinia Schiedeana*, and in Vitro Evaluation of its Antioxidant Activity". *Journal High Resolution Chromatography*, **1999**, 22, pp.343-349.

161. Ramirez, J.; Palacios, M.; Gutierrez, O. Estudio del efecto antihipertensivo de la Salvia scutellarioides en un modelo de ratas hipertensas. *Colombia Médica*, **2006**, 37, (1), pp. 53-60.
162. Burdock, G.A., Fenaroli's handbook of flavor ingredients, CRS Press, 5^a Ed., Boca Ratón, **2005**, 507 p.
163. Knight, D.W. Feverfew: Chemistry and biological activity. *Natural Product Reports*, **1995**, 12, (3), pp. 271-276.
164. Akpulat, H., A.; Tepe, B.; Sokmen, A.; Daferera, D.; and Polissiou, M. Compositions of essential oils of *Tanacetum argyrophyllum* (C. Koch) Tzvel. var *argyrophyllum* and *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. (Asteraceae) from Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*. **2005**, 33, (5), pp.511-516.
165. Branchio, E.; Zygadlo, J., Valladares, G.R. Quantitative variations in the essential oil of *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb, in response to insects with different feeding habits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2005**, 53, pp. 6903-6906
166. Pino, J.A; Rosado, A and Fuentes V. Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, **1996**, 8, (3), pp. 295-296.
167. Agnihatri, V.K; Agarcual, S.G; Dhar, P.L; Thappa, R.K; Baleshwar; Kapahi, B.K; Saxena, R.K and Qazi, G.N. Essential oil composition of *Mentha pulegium* L. growing wild in the Nort-Western Himalayas India. *Flavour and Fragrance Journal*. **2005**, 20, (6), pp. 607-610.
168. Sivropoulou, A; Kokkini, S; Lanaras, T and Arsenakis M. Antimicrobial activity of mint essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **1995**, 43, pp. 2384-2388.
169. Kawamura, Y. Citral. Japón, Unep Publications, 2001. pp. 1-130.
170. Santos-Gomes, P.C.; Fernandes-Ferreira, M.; Vicente, A.M.S. Composition of the essential oils from flowers and leaves of vervain [*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton] grown in Portugal. *Journal of Essential Oil Research*. **2005**, 17, (1), pp. 73-78.

171. Disponible en la Internet, página web: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/tagetes-filifolia/fichas/pagina1.htm>, consultado: 7 de diciembre de 2007.
172. Serrato, M.A; Reyes, B; Ortega, A; Gómez, A.G. Anisillo (*Tagetes filifolia* Lag.): Recurso genético Mexicano para controlar la mosquita blanca (*Bemisia* sp. y *Trialurodes* sp.). *Revista del Jardín Botánico Nacional*. **1998**, 13, (3), pp. 145-147.
173. Jirovetz, L. Chemical composition, antimicrobial activities and odor descriptions of some essential oils with characteristic floral-rosy scent. *Recent Research. Development Agronomy and Horticulture*. **2006**, 2, pp. 1-12.
174. Disponible en la Internet, página Web: <http://www.flavornet.org>, consultado: 13 de diciembre de 2007.
175. Kanko, C.; Sawaliho, B.E.H.; Kone, S.; Kouhoua, G.; and N'Guessan, Y.T. Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. *Comptes Rendus Chimie*, **2004**, 7, pp. 1039-1042.
176. Lewinsohn, E.; Dudai, N.; Tadmor, Y.; Katzir, I.; Ravid, U.; Putievsky, E.; and Joel, D.M. Histochemical localization of citral accumulation in Lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., Poaceae). *Annals of Botany*, **1998**, 81, pp. 35-39.
177. Mantle, D.; Anderton, J.G.; Falkous, G.; Barnes, M.; Jones, P.; and Perry, E.K. Comparison of methods for determination of total antioxidant status: application to analysis of medicinal plants essential oils. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. **1998**, 121, pp. 385-391.
178. Puertas, M.M.A. Desarrollo de un método analítico para la determinación de compuestos volátiles y evaluación de la posible actividad antioxidante *in vitro* de algunos productos naturales y

sintéticos. Tesis de Doctorado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, **2002**.

179. Sánchez-Moreno, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science Techenology International*. **2002**, 8, (3), pp. 121-137.
180. Rojas, J.; Ochoa, V.; Ocampo S.; Muñoz J. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. **2006**, 6, (2), pp. 1-6.

ANEXOS

Anexo 1. Ubicación geográfica de las 53 parcelas cultivadas y su correspondiente número de parcela.

Anexo 1–Tabla 1. Ubicación geográfica de las parcelas cultivadas.

No. de parcela	Beneficiario	m.s.n.m	Vereda	Municipio
1	Ana Cepeda	2550	Peña Negra	Bolivar
3	Emelina Barrera	2530	Peña Negra	Bolivar
4	Luz Viela Ayala	2550	Peña Negra	Bolivar
5	Irma Herreño	2540	Peña Negra	Bolivar
6	Inés Ayala	2550	Peña Negra	Bolivar
7	Gloria Vargas	2353	Horta	Bolivar
8	Ana Rosa Mendoza	2373	Horta	Bolivar
9	Silvia Mogollón	2355	Horta	Bolivar
12	C.D.R	2000	Guamal	Bolivar
13	Saturia Quiroga	2309	Guamal	Bolivar
14	Liliana Hurtado	2367	Guamal	Bolivar
15	Cecilia Quiroga	2590	Boqueron	Bolivar
16	Claudia Páez	2575	Boqueron	Bolivar
17	Brígida Sanabria	2515	Lagunitas	Bolivar
18	Albeiro Sanabria	2620	Lagunitas	Bolivar
20	Felicidad Castañeda	2500	Guamal	Bolivar
21	Blanca Moreno	2510	Alto Nogales	Bolivar
22	Edilia Mateus	2688	Alto Nogales	Bolivar
23	Martha Santamaría	2612	Alto Nogales	Bolivar
24	Gladys Reyes	3622	Alto Nogales	Bolivar
25	Leonardo Vargas	2637	Alto Nogales	Bolivar
27	Fossion Nieves	1900	Helechal y Mesa	Guavatá
28	Elibardo Otero	2000	Helechal y Mesa	Guavatá
29	Elver Peña	1800	Helechal y Mesa	Guavatá
30	Euclides Sanchez	1900	Hato Santa Bárbara	Guavatá
31	Ernesto Velazco	2100	Mata Redonda	Guavatá
32	Maria Ardila	1990	Tres esquinas	Guavatá
34	Esperanza Romero	2093	San Antonio	Guavatá
35	Ana González	2000	Siempre viva	Guavatá
36	Fredy Pinzón	2500	Agua Fría	El Peñon
37	Emilsen González	2272	Guamal	Bolivar
38	Orfilia Serrano	2500	Agua Fría	El Peñon
39	Edilia Mogollón	2512	Casco Urbano	El Peñon
40	María Dolly Moncada	2520	Hondura	El Peñon
41	Veronica Sanchez	2540	Casco Urbano	El Peñon
42	Colegio Antoinio Ricaurte	2510	Casco Urbano	El Peñon
43	Mariela Ruíz	2650	Cruces	El Peñon
44	Daniel Franco	2540	Boquerón	Bolivar
45	Urbano Ariza	2570	San pablo	El Peñon
46	Nemecia Galeano	2550	Ojo de Agua	El Peñon
47	Rebeca Díaz	2321	Ojo de Agua	El Peñon
48	Rosalba Quintero	2428	Ojo de Agua	El Peñon
49	Bernarda Ruíz	2550	Ojo de Agua	El Peñon
50	Bertha Serrano	2550	Ojo de Agua	El Peñon
51	Inocencio Florez	2570	Ojo de Agua	El Peñon
52	Cecilia Quintero	2515	Casco Urbano	El Peñon

Anexo 1–Tabla 1. Continuación.

53	Leimar Ardila	1800	Helechal y Mesa	Guavatá
54	José Epifanio Peña	1850	Helechal y Mesa	Guavatá
55	Rosalba Jerez	2570	Hondura	El Peñon
56	Rosana Galeano	2570	Hondura	El Peñon
58	Mercedes Patiño	2432	Ojo de Agua	El Peñon
59	Arnulfo Moreno	2428	Ojo de Agua	El Peñon
60	ASOMUJERES		A BISINIA	

Anexo 2. Distribución de las especies cultivadas en cada una de las parcelas.

Anexo 2–Tabla 1. Cultivo asignado a cada una de las parcelas.

No. de parcela	<i>Lippia alba</i>	<i>Lippia dulcis</i>	<i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Tagetes lucida</i>	<i>Ocimum basilicum</i>	<i>Rosmarinus officinalis L</i>
1		x				
3				x		
4						x
5		x				
6		x				
7				x		
8				x		
9						x
12	x					
13		x				
14						x
15			x			
16				x		
17						x
18			x			
20					x	
21	x					
22		x				
23	x					
24		x				
25		x				
27			x			
28*	x					x
29				x		
30					x	
31						x
32			x			
34			x			
35						x
36				x		
37						x
38				x		
39			x			
40			x			
41				x		
42			x			
43						x
44			x			
45						x
46						x
47				x		
48					x	
49						x
50				x		

Anexo 2–Tabla 1. Continuación.

51						x
52	x					
53		x				
54				x		
55		x				
56						x
58	x					
59				x		
60						x

* La parcela 28 tenia cultivadas dos especies vegetales *Lippia alba* y *Rosmarinus officinalis*.

Anexo 3. Fichas técnicas de las especies nativas colectadas en la subregión de Vélez.

CÓDIGO DE COLECTA: 001-M

NOMBRE CIENTÍFICO
Lepechinia bullata (Kunth) Epl



SINÓNIMOS

▪ *Sideritis bullata* Kunth

NOMBRE VULGAR: Salvión, Orégano orejón.

FAMILIA: Lamiaceae

LUGAR DE COLECTA: Vereda el Guamal, Bolívar, Santander. 2656 m.s.n.m, N 05° 58.077', W 73° 47.474'.



FECHA DE COLECTA: 20-06-2006

MATERIAL COLECTADO: hojas y flores.

ESTADO ACTUAL DE LA POBLACIÓN VEGETAL EN LA ZONA:
abundante en la zona.

ANOTACIONES ECOLÓGICAS: suelos franco-arcillosos, de topografía quebrado.

DESTINACIÓN: aceite esencial.

CÓDIGO DE COLECTA: 002-M

NOMBRE CIENTÍFICO
Salvia palifolia Kunth.



SINÓNIMOS:

▪ *Salvia scutellarioides*

NOMBRE VULGAR: Mastranto, oreja de perro (Antioquia).

FAMILIA: Lamiaceae

LUGAR DE COLECTA: Vereda el Guamal, Bolívar, Santander. 2424 m.s.n.m., N 05° 58.062', W 73° 47.104'.



FECHA DE COLECTA: 20-06-2006

ANOTACIONES DESCRIPTIVAS BOTÁNICAS: planta estolonifera de 40 cm de altura, hojas opuestas agitadas, glándulas y flores color azul.

MATERIAL COLECTADO: hojas y flores.

ESTADO ACTUAL DE LA POBLACIÓN VEGETAL EN LA ZONA: abundante en la zona.

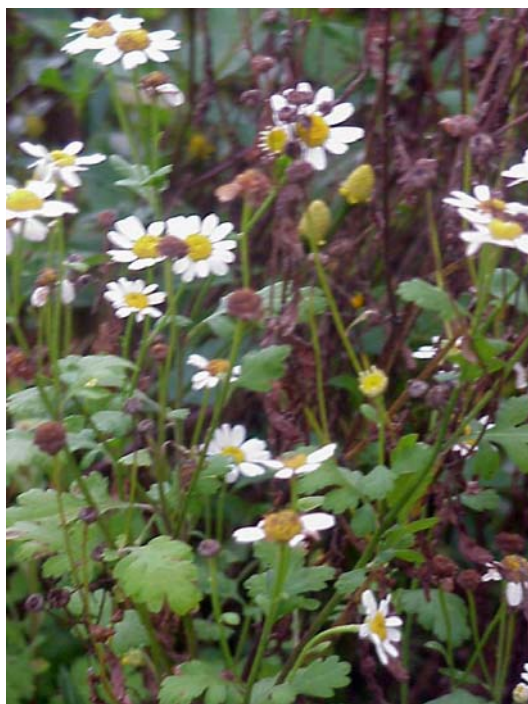
ANOTACIONES ECOLÓGICAS: suelos franco-arenosos, con pH 7-8, 60% de humedad y temperatura promedio de 19,3°C.

ANOTACIONES DE USO POTENCIAL: en el tratamiento de problemas renales.

DESTINACIÓN: aceite esencial.

CÓDIGO DE COLECTA: 003-M

NOMBRE CIENTÍFICO
Tanacetum parthenium (L) Sch. Bip.



NOMBRE VULGAR: Manzanilla matricaria.

FAMILIA: Compositae

LUGAR DE COLECTA: finca el amarillo, vereda el Guamal, Bolívar, Santander. 2384 m.s.n.m., N 05° 58.134', W 73° 46.957'.



FECHA DE COLECTA: 20-06-2006

ANOTACIONES DESCRIPTIVAS BOTÁNICAS: planta de 70 – 80 cm de altura, hojas simples alternas, médula corchosa, flores en capítulo.

MATERIAL COLECTADO: hojas y flores.

ESTADO ACTUAL DE LA POBLACIÓN VEGETAL EN LA ZONA: abundante en la zona.

ANOTACIONES ECOLÓGICAS: suelos franco-arcillosos, con pH 8, 20% de humedad y temperatura promedio de 18,9 °C.

ANOTACIONES DE USO POTENCIAL: en el tratamiento de dolor de estómago.

DESTINACIÓN: aceite esencial.

CÓDIGO DE COLECTA: 004-M

NOMBRE CIENTÍFICO
Minthostachis mollis H.B.K.



NOMBRE VULGAR: pseudo-Orégano

FAMILIA: Lamiaceae

LUGAR DE COLECTA: vereda Helechal y Mesa, Bolívar, Santander. 1983 m.s.n.m., N 05° 57.763', W 73° 44.064'.



FECHA DE COLECTA: 22-06-2006

ANOTACIONES DESCRIPTIVAS BOTÁNICAS: hierba erecta de 1,8 m de altura, tallo cuadrangular pubescente, médula hueca, hojas opuestas pubescentes mayoritariamente en el envés y borde cerrado.

MATERIAL COLECTADO: hojas, tallos y flores.

ESTADO ACTUAL DE LA POBLACIÓN VEGETAL EN LA ZONA: abundante en la zona.

ANOTACIONES ECOLÓGICAS: suelos franco-arcillosos, con pH 6, 10% de humedad y temperatura promedio de 19,8 °C.

ANOTACIONES DE USO POTENCIAL: en el tratamiento de la gripe.

DESTINACIÓN: aceite esencial.

CÓDIGO DE COLECTA: 005-M

NOMBRE CIENTÍFICO
Aloysia triphylla (L'Her) Britton



SINÓNIMOS:

- *Lippia citriodora* L.
- *Lippia triphylla* Kuntze.

NOMBRE VULGAR: Cidrón

FAMILIA: Verbenaceae

LUGAR DE COLECTA: finca casa Mora, vereda Loma Alta, Bolívar, Santander. 2360 m.s.n.m.

FECHA DE COLECTA: 23-06-2006

ANOTACIONES DESCRIPTIVAS BOTÁNICAS: planta de hasta 3 m de altura.

MATERIAL COLECTADO: hojas, tallos y flores.

ESTADO ACTUAL DE LA POBLACIÓN VEGETAL EN LA ZONA: abundante en la zona.

ANOTACIONES ECOLÓGICAS: suelo franco-arcilloso.

DESTINACIÓN: aceite esencial.

CÓDIGO DE COLECTA: 006-M

NOMBRE CIENTÍFICO

Mentha pulegium



NOMBRE VULGAR: Poleo

FAMILIA: Lamiaceae

LUGAR DE COLECTA: Finca mata de caña, vereda Loma Alta, Bolívar, Santander. 2424 m.s.n.m.

FECHA DE COLECTA: 23-06-2006

ANOTACIONES DESCRIPTIVAS BOTÁNICAS: hierba postrera estolonífera de 15 cm de altura, hojas opuestas, flores hipocrateriformes, estambres epipétalos, cáliz verde y corola violeta.

MATERIAL COLECTADO: hojas y flores.

ESTADO ACTUAL DE LA POBLACIÓN VEGETAL EN LA ZONA: escasa.

ANOTACIONES ECOLÓGICAS: suelo franco-arcilloso. Crece a la sombra.

ANOTACIONES DE USO POTENCIAL: contra la diarrea.

DESTINACIÓN: aceite esencial.

CÓDIGO DE COLECTA: 007-M y 008M

NOMBRE CIENTÍFICO

Lippia alba



NOMBRE VULGAR: Pronto alivio

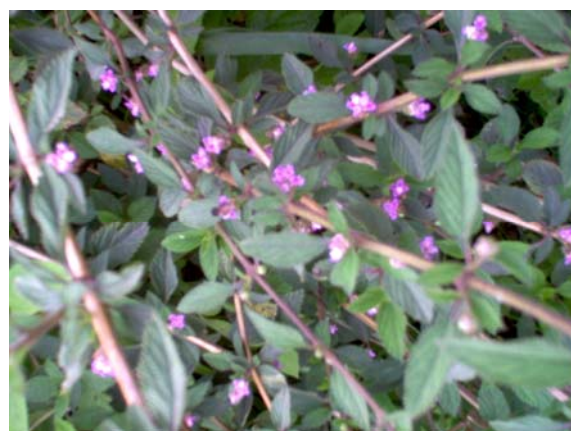
FAMILIA: Verbenaceae

LUGAR DE COLECTA 007M:

Concentración escolar de la vereda Helechal y Mesa, Bolívar, Santander. 2000 m.s.n.m.

LUGAR DE COLECTA 008M: finca casa

Mora, vereda Loma Alta, Bolívar, Santander. 2360 m.s.n.m.



FECHA DE COLECTA 007M: 22-06-2006.

FECHA DE COLECTA 008M: 23-06-2006.

MATERIAL COLECTADO: hojas, tallos y flores.

ESTADO ACTUAL DE LA POBLACIÓN VEGETAL EN LA ZONA: escasa.
Hojas muy pequeñas.

ANOTACIONES ECOLÓGICAS: suelo franco-arcilloso.

DESTINACIÓN: aceite esencial.

CÓDIGO DE COLECTA: 009-M

NOMBRE CIENTÍFICO
Tagetes filifolia



NOMBRE VULGAR: Anisillo

FAMILIA: Lamiaceae

LUGAR DE COLECTA: Finca mata de caña, vereda Loma Alta, Bolívar, Santander. 2424 m.s.n.m.

FECHA DE COLECTA: 23-06-2006

ANOTACIONES DESCRIPTIVAS BOTÁNICAS: hierba de 15 cm de altura, con agradable olor anís.hojas

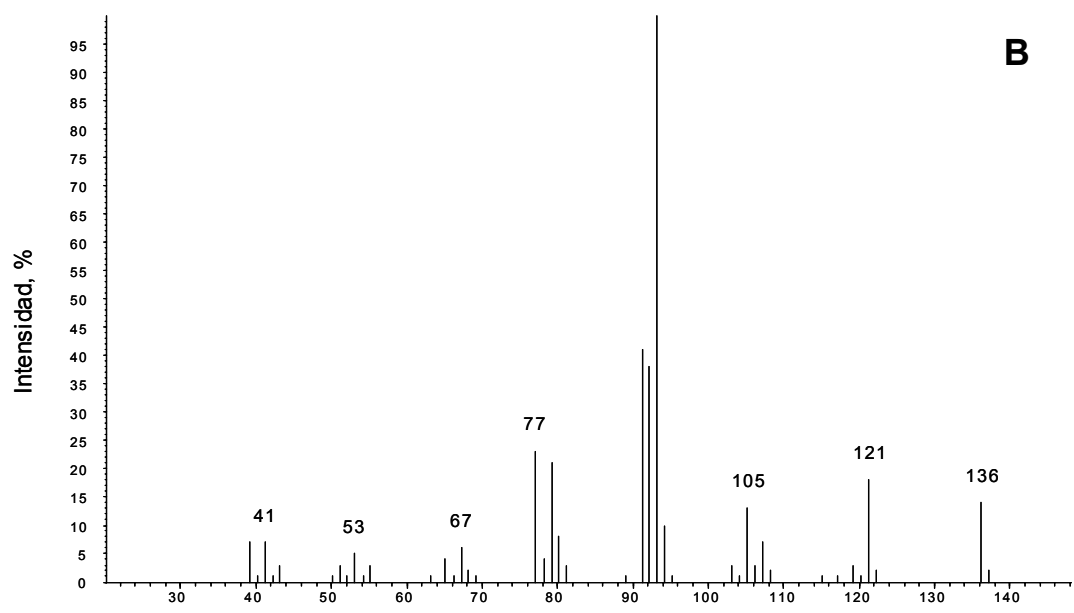
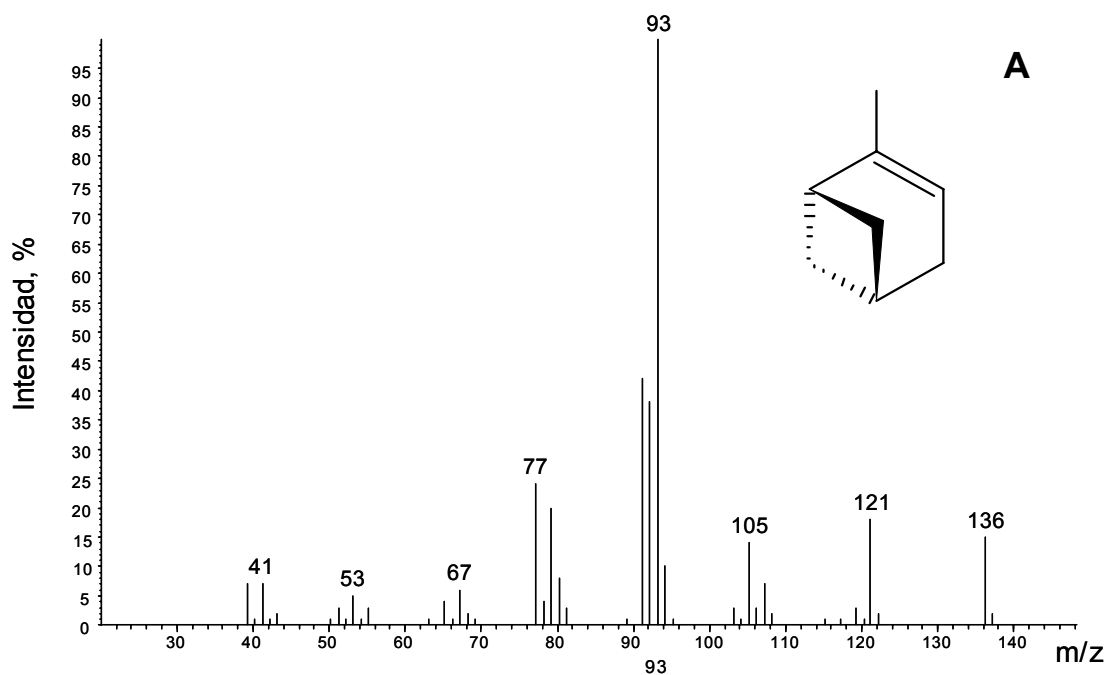
MATERIAL COLECTADO: hojas y tallos.

ESTADO ACTUAL DE LA POBLACIÓN VEGETAL EN LA ZONA:
Abundante

ANOTACIONES ECOLÓGICAS: suelo franco-arcilloso. Crece a la sombra.

DESTINACIÓN: aceite esencial.

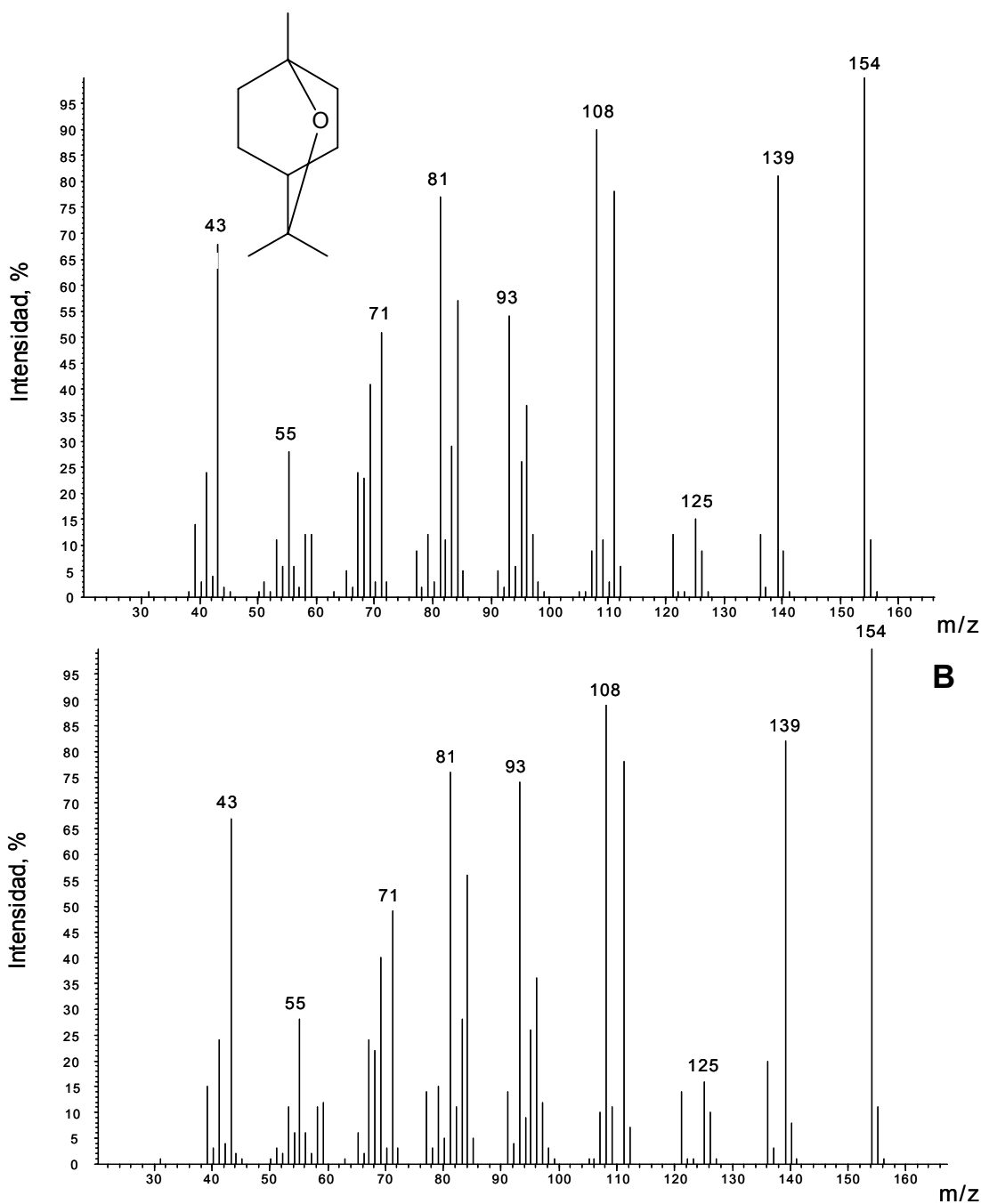
Anexo 4. MS, I_K y t_R de patrones de terpenos certificados.



Anexo 4–Figura 1. Espectro de masas de α -pineno obtenido por EI (70 eV):
A. Patrón certificado de α -pineno; **B.** MS de α -pineno presente en los AE de *Tanacetum parthenium*, *Aloysia triphylla*, *Lippia alba* y *Rosmarinus officinalis*.

Anexo 4–Tabla 1. Tiempo de retención e índices de Kovats de α -pineno.

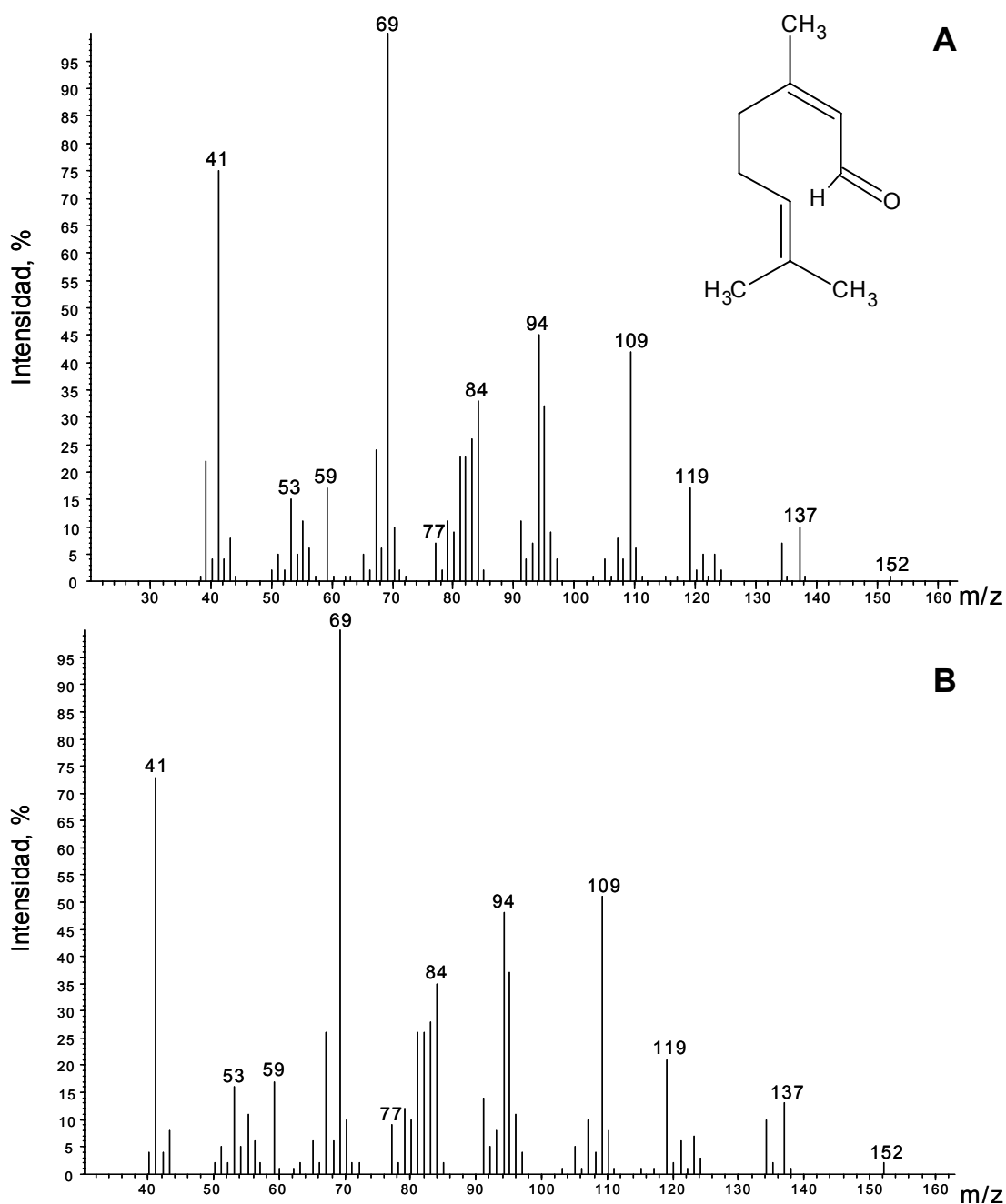
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
α -Pineno	17,43	17,46	939	935	936



Anexo 4-Figura 2. Espectro de masas del 1,8-cineol obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado de 1,8-cineol; **B.** MS del 1,8-cineol presente en los AE de *Tanacetum parthenium*, *Aloysia triphylla* y *Rosmarinus officinalis*.

Anexo 4-Tabla 2. Tiempo de retención e índices de Kovats del 1,8-cineol.

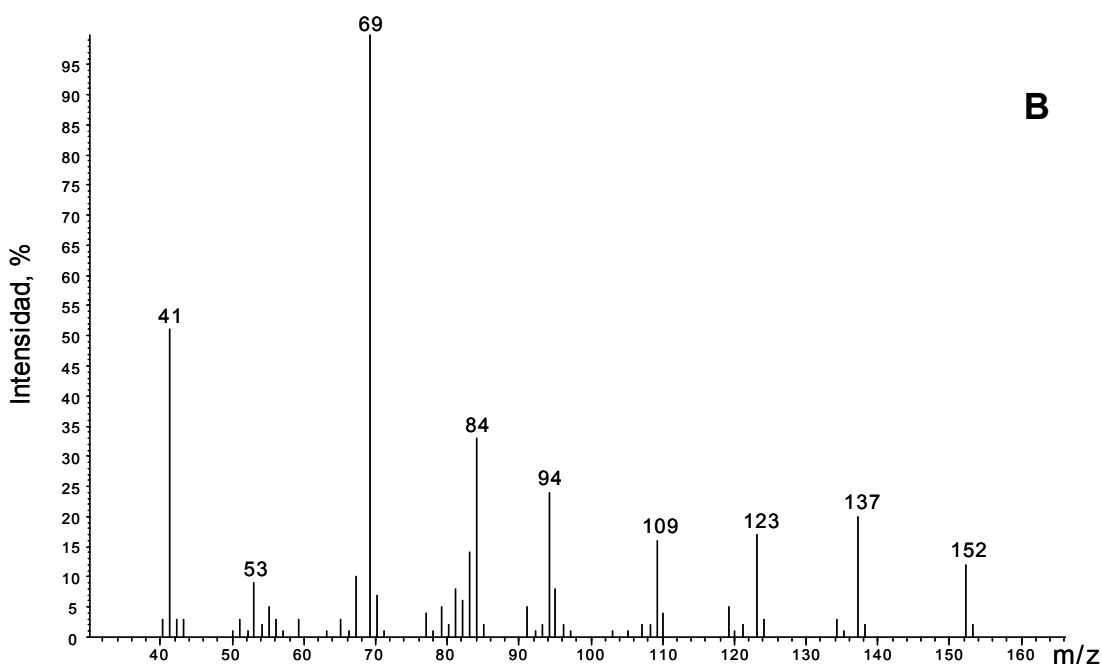
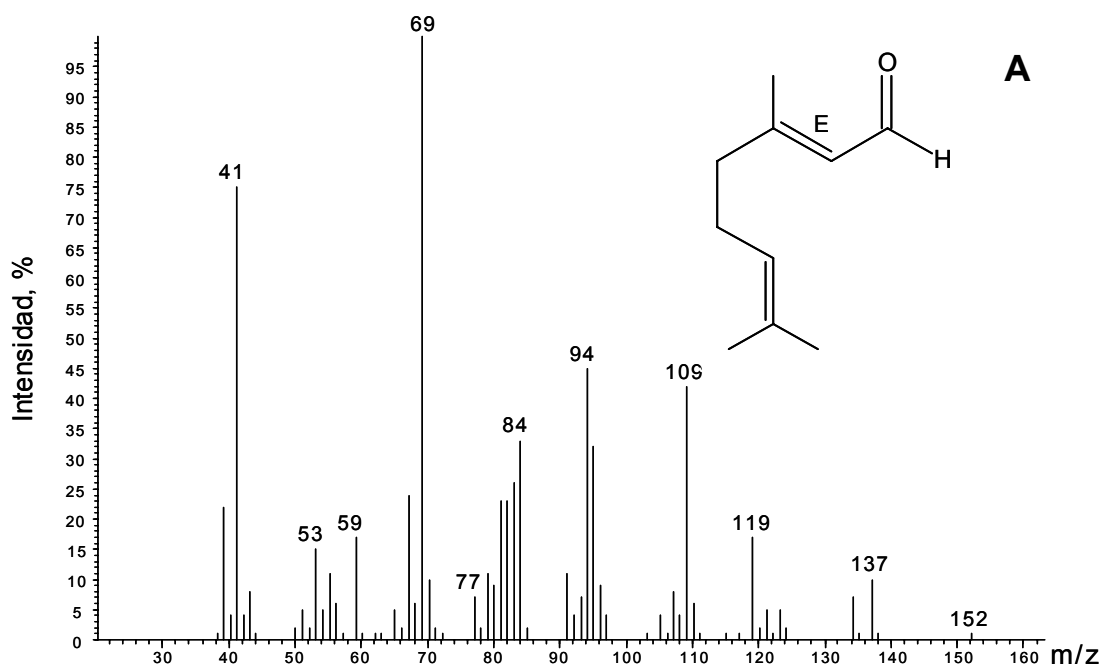
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
1,8-Cineol	21,86	21,90	1031	1039	1040



Anexo 4–Figura 3. Espectro de masas del neral obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado de neral; **B.** MS del neral presente en los AE de *Aloysia triphylla*, *Cymbopogon citratus* y *Lippia dulcis*.

Anexo 4–Tabla 3. Tiempo de retención e índices de Kováts del neral.

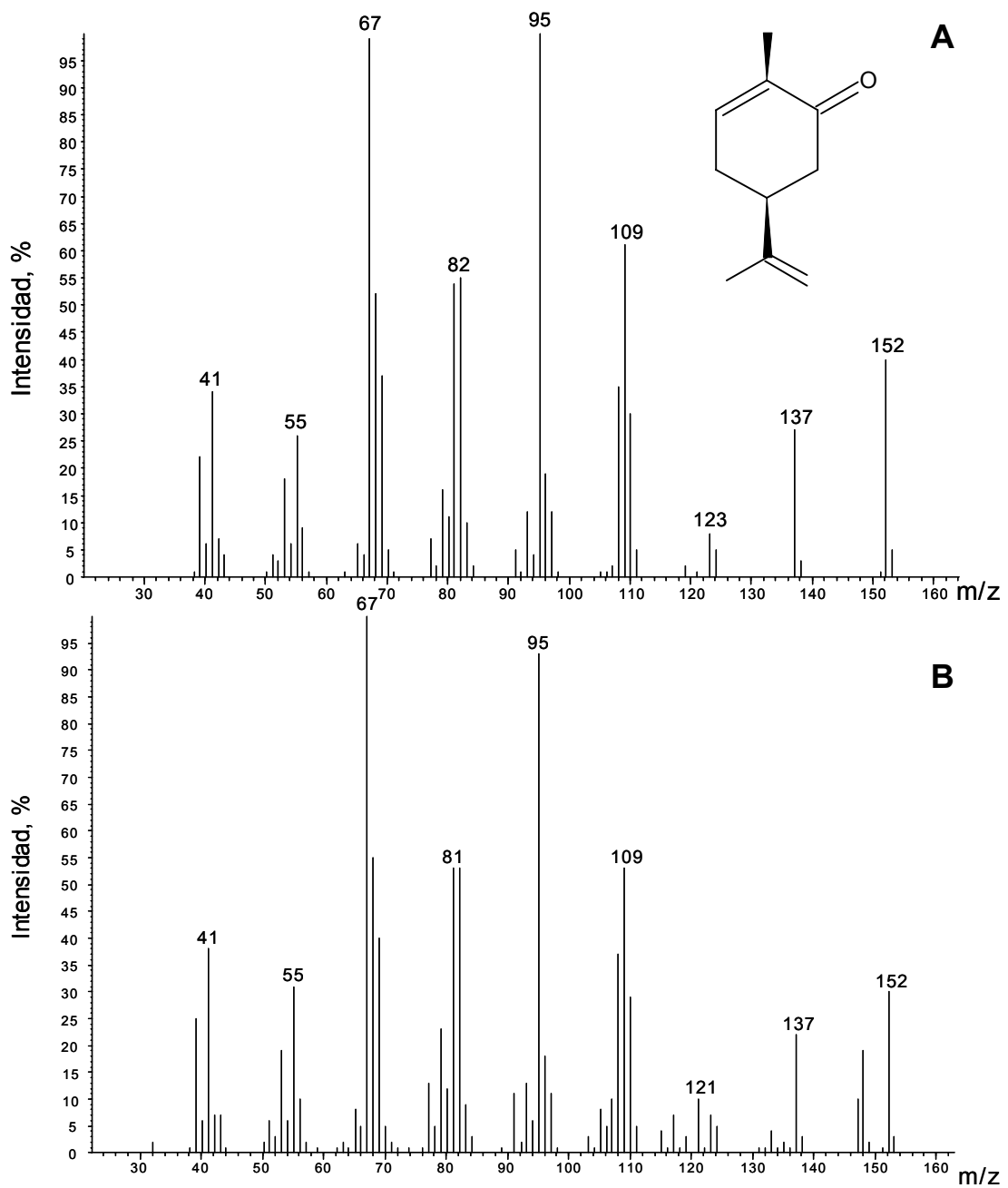
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
Neral	29,88	29,90	1238	1241	1245



Anexo 4–Figura 4. Espectro de masas del geranial obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado de geranial; **B.** MS del geranial presente en los AE de *Aloysia triphylla*, *Cymbopogon citratus* y *Lippia dulcis*.

Anexo 4–Tabla 4. Tiempo de retención e índices de Kovàts del geranial.

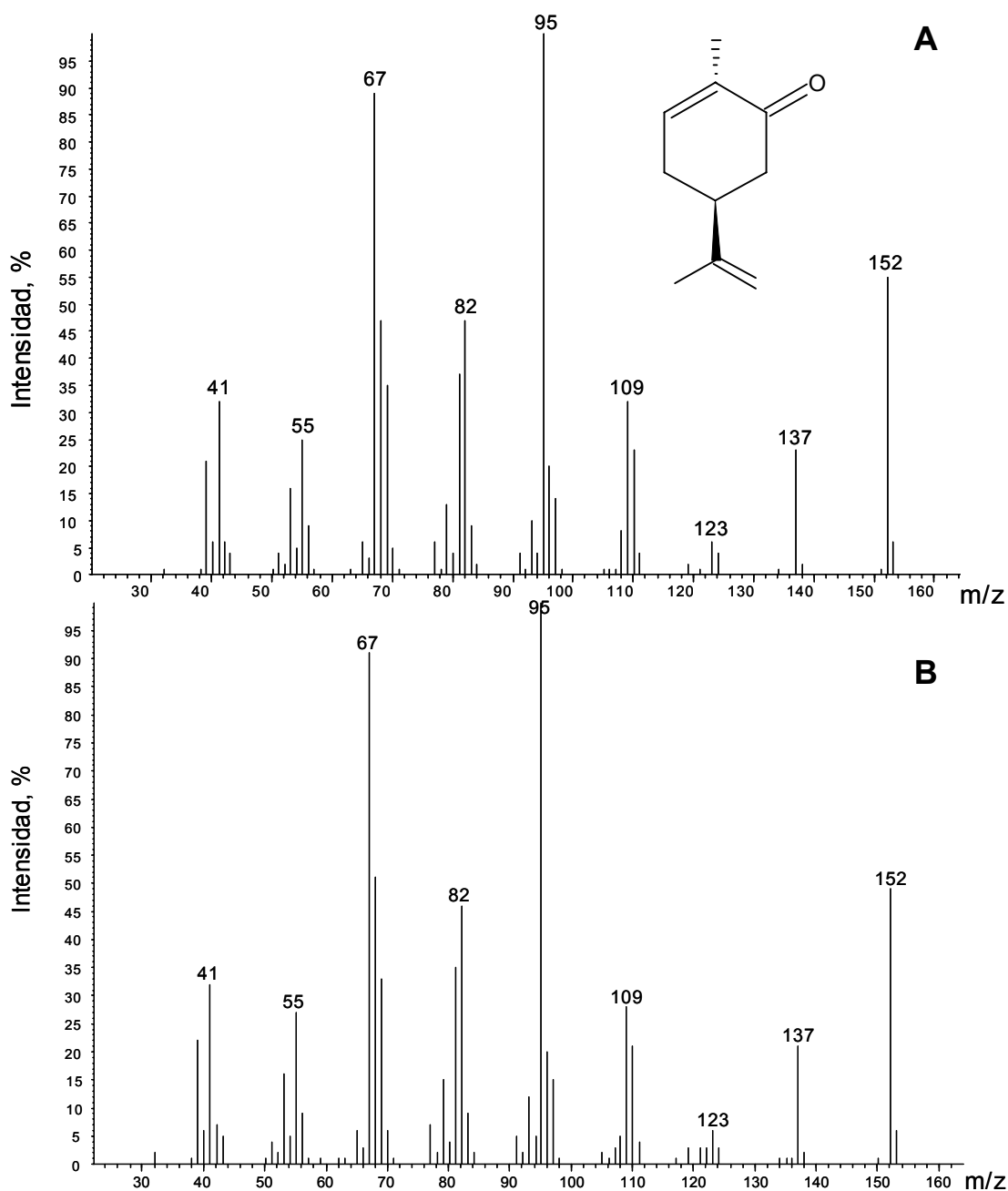
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
Geranial	30,94	30,99	1267	1270	1276



Anexo 4–Figura 5. Espectro de masas de la *cis*-dihidrocarvona obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado de la *cis*-dihidrocarvona ; **B.** MS de la *cis*-dihidrocarvona presente en el AE de *Lippia alba*.

Anexo 4–Tabla 5. Tiempo de retención e índices de Kovàts del la *cis*-dihidrocarvona.

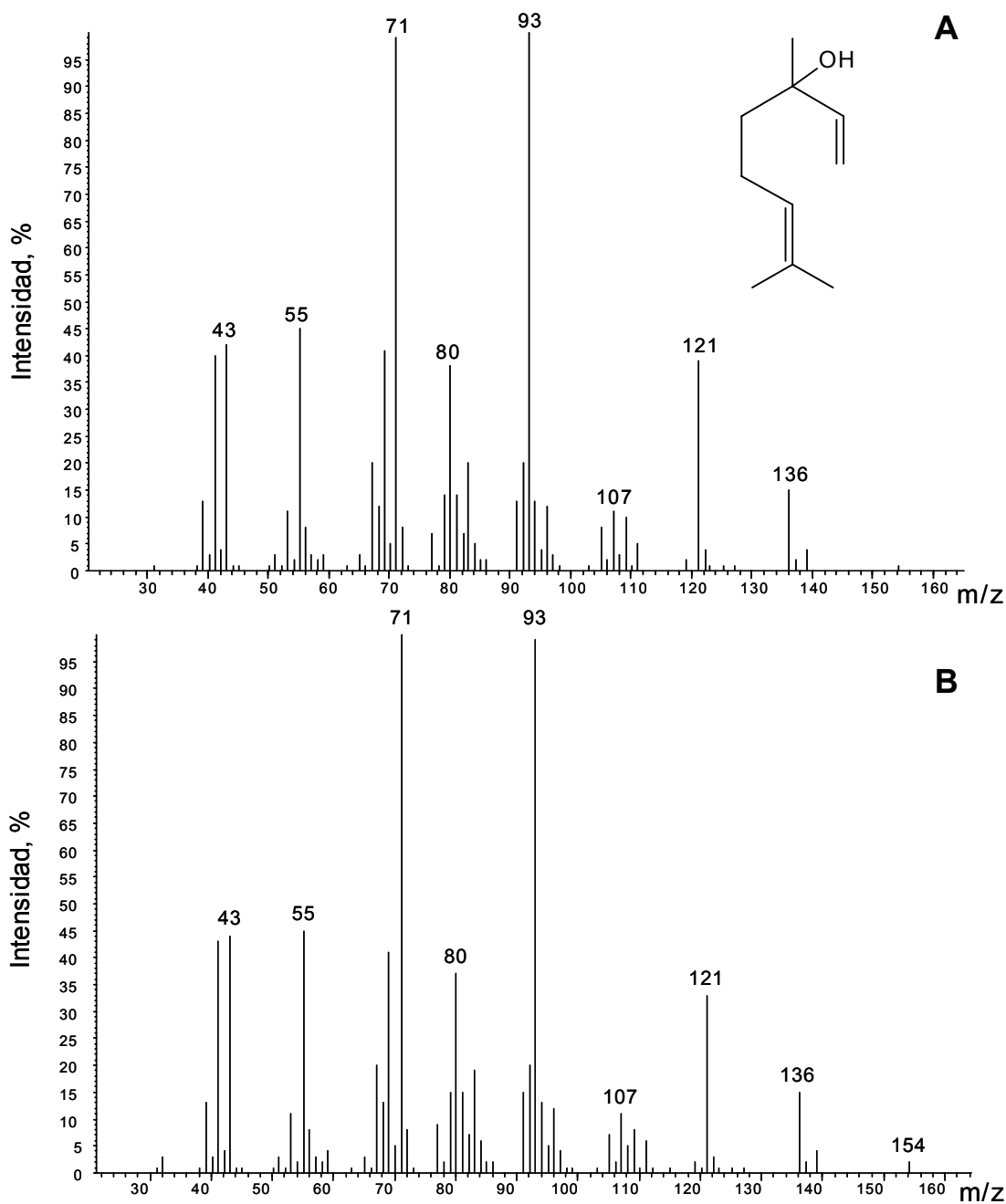
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
<i>cis</i> -Dihidrocarvona	28,59	28,52	1193	1206	1201



Anexo 4–Figura 6. Espectro de masas de la *trans*-dihidrocarvona obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado de la *trans*-dihidrocarvona; **B.** MS de la *trans*-dihidrocarvona presente en los AE de *Menthastachis mollis* y *Lippia alba*.

Anexo 4–Tabla 6. Tiempo de retención e índices de Kovats de la *trans*-dihidrocarvona

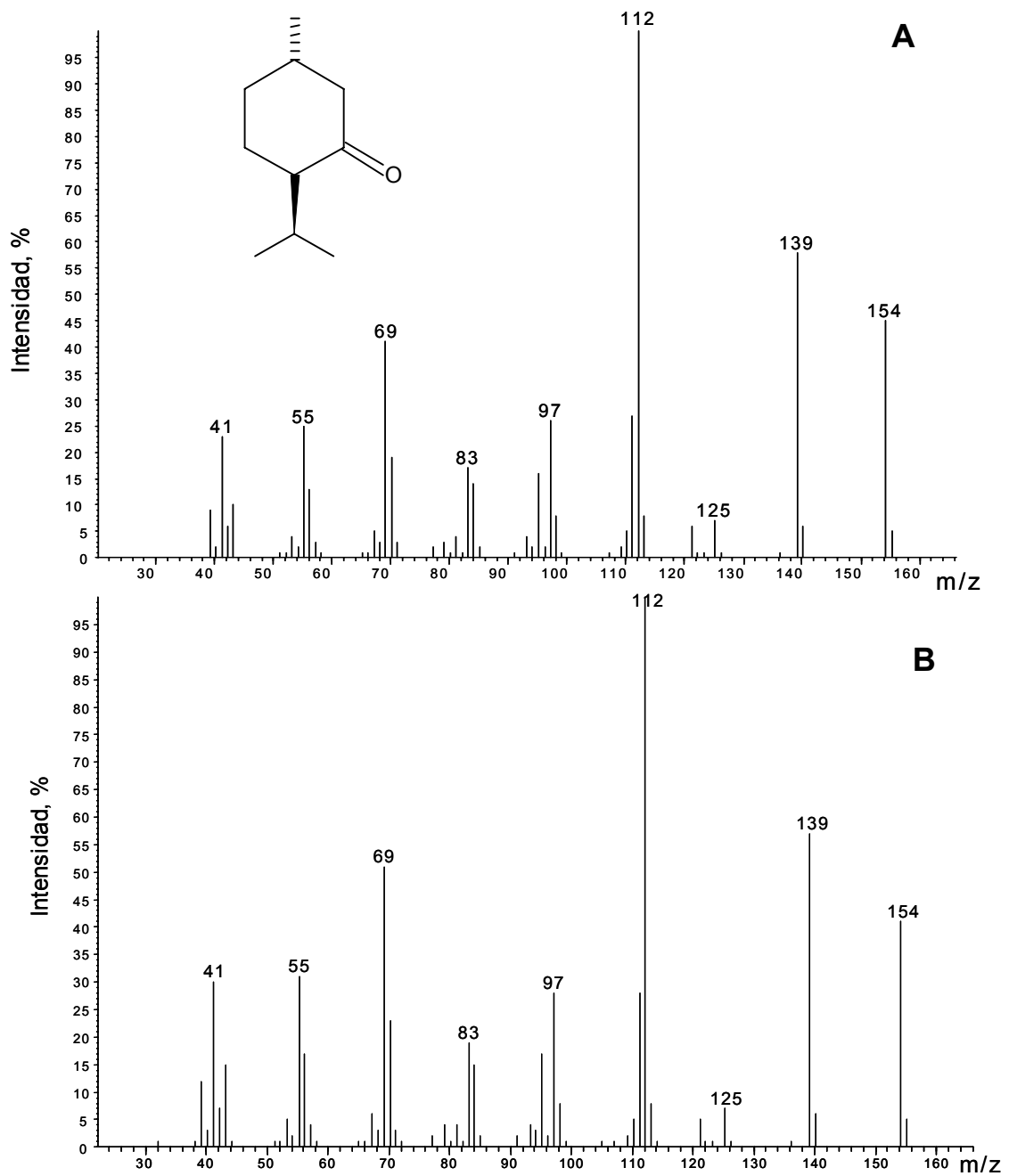
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
<i>trans</i> -Dihidrocarvona	28,82	28,80	1201	1212	1208



Anexo 4–Figura 7. Espectro de masas del linalool obtenido por EI (70 eV):
A. Patrón certificado de linalool; **B.** MS del linalool presente en los AE de *Tanacetum parthenium*, *Aloysia triphylla*, *Minthostachis mollis*, *Lippia alba*, *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratos*, *Tagetes lucida* y *Lippia dulcis*.

Anexo 4–Tabla 7. Tiempo de retención e índices de Kovàts del linalool.

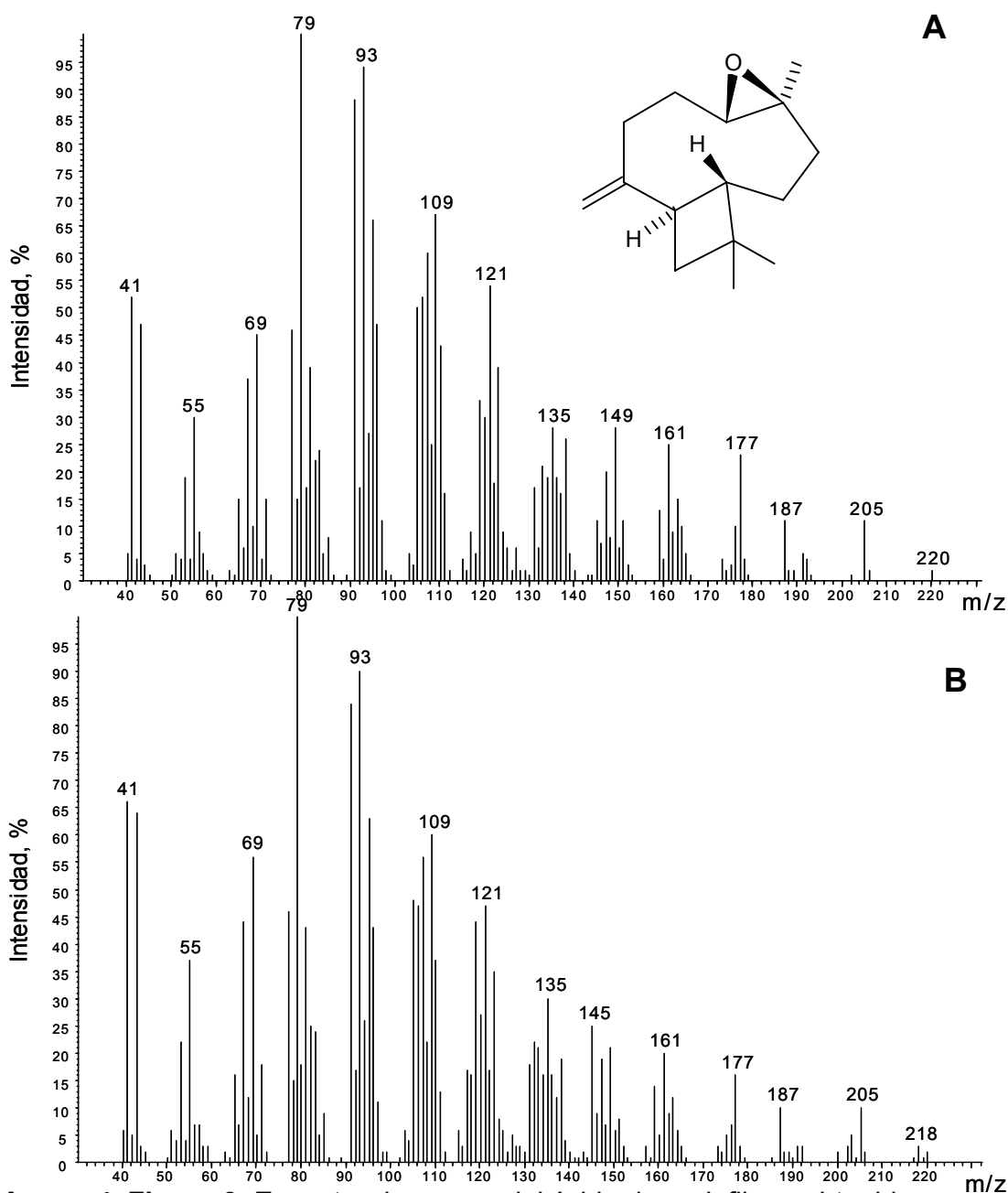
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
Linalool	24,53	24,53	1097	1103	1100



Anexo 4–Figura 8. Espectro de masas de la mentona obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado de la mentona; **B.** MS de la mentona presente en el AE de *Minthostachis mollis*.

Anexo 4–Tabla 8. Tiempo de retención e índices de Kovats de la mentona.

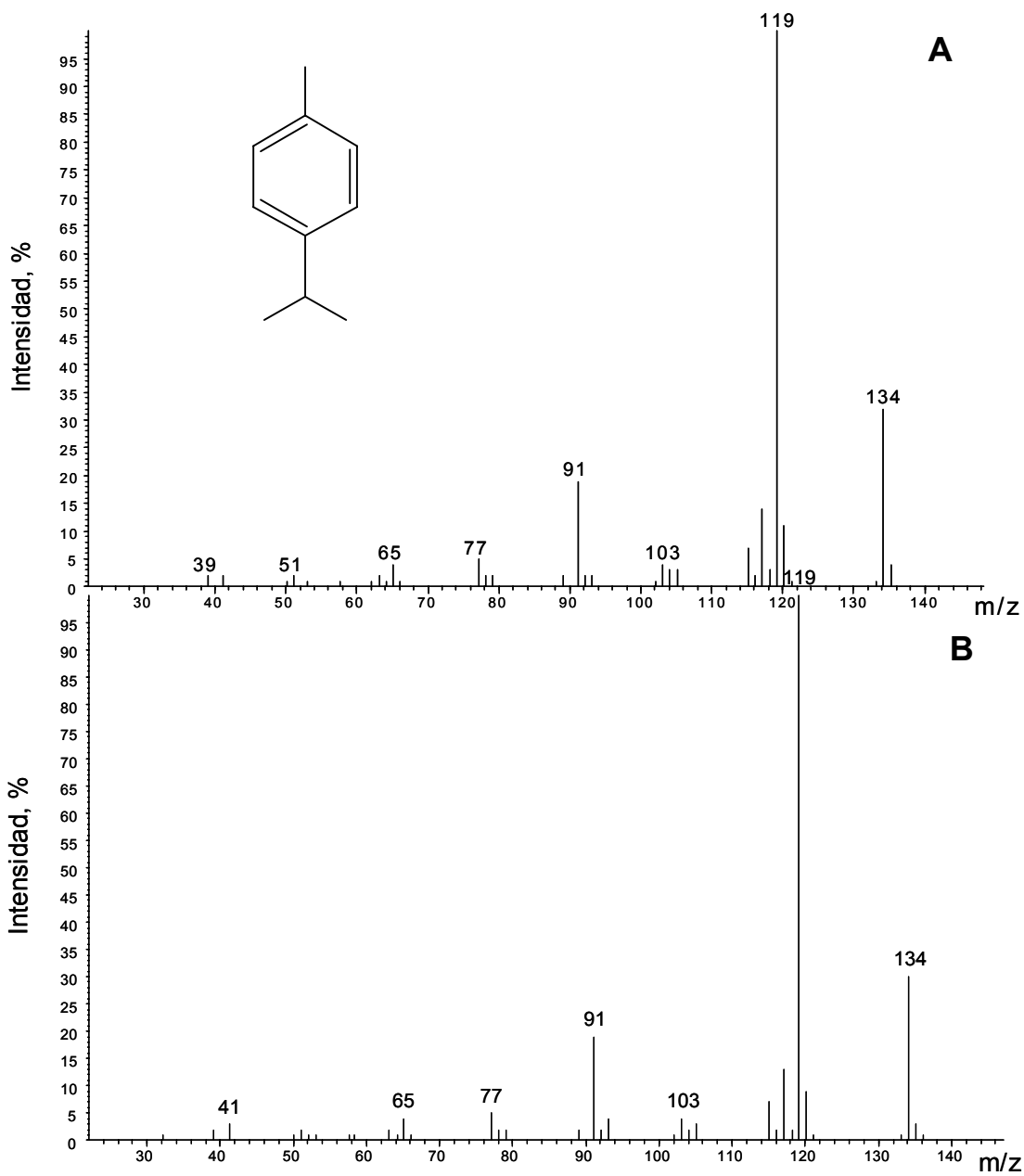
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
Mentona	27,02	26,99	1153	1166	1164



Anexo 4–Figura 9. Espectro de masas del óxido de cariofileno obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado de óxido de cariofileno; **B.** MS del óxido de cariofileno presente en los AE de *Lepechinia bullata*, *Tanacetum parthenium*, *Minthostachis mollis*, *Aloysia triphylla*, *Rosmarinus officinalis* y *Lippia dulcis*.

Anexo 4–Tabla 9. Tiempo de retención e índices de Kováts del óxido de cariofileno.

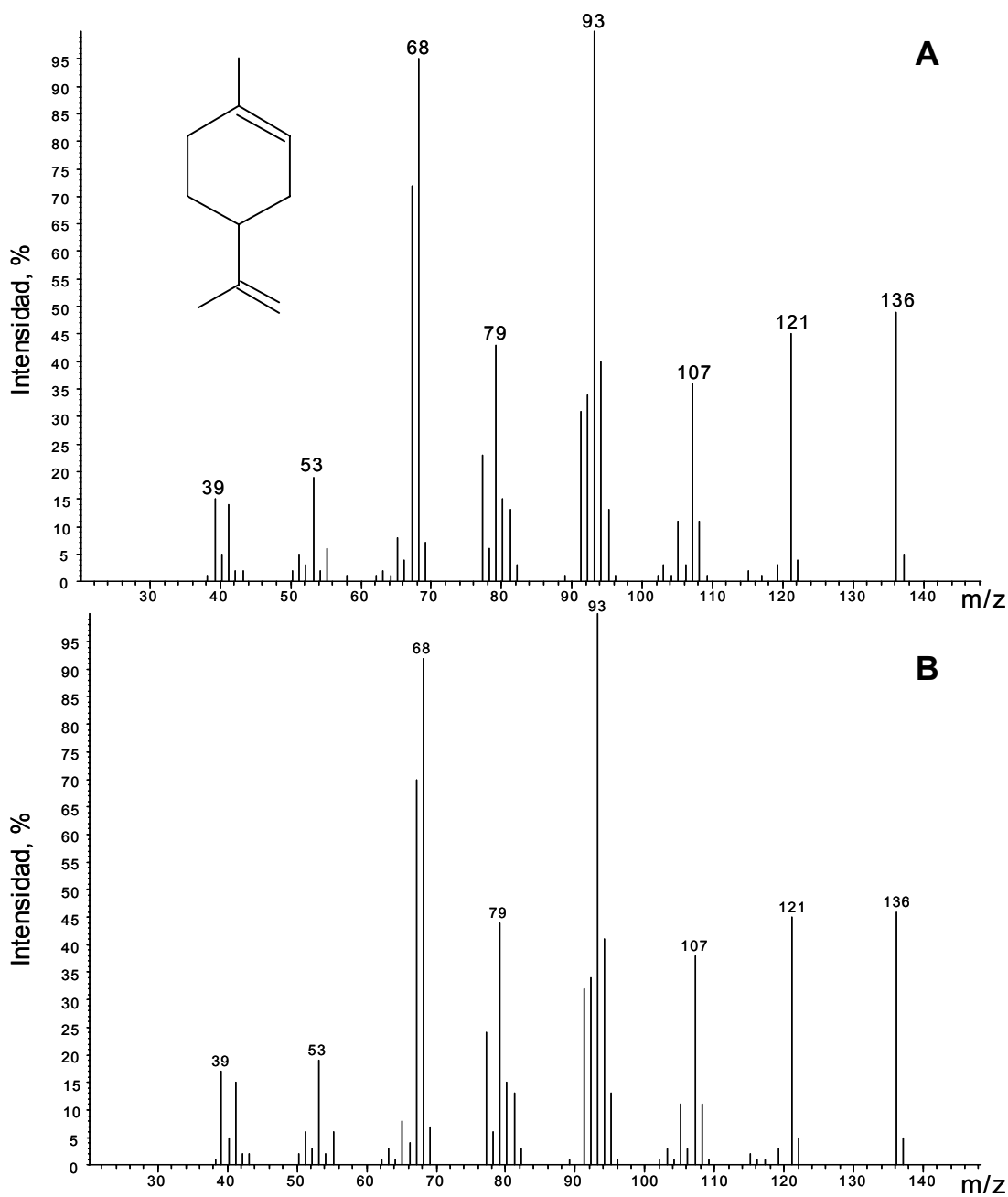
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
Oxido de cariofileno	42,40	42,38	1583	1600	1598



Anexo 4–Figura 10. Espectro de masas del *p*-cimeno obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado de *p*-cimeno; **B.** MS del *p*-cimeno presente en el AE de *Tanacetum parthenium*.

Anexo 4–Tabla 10. Tiempo de retención e índices de Kovàts del *p*-cimeno.

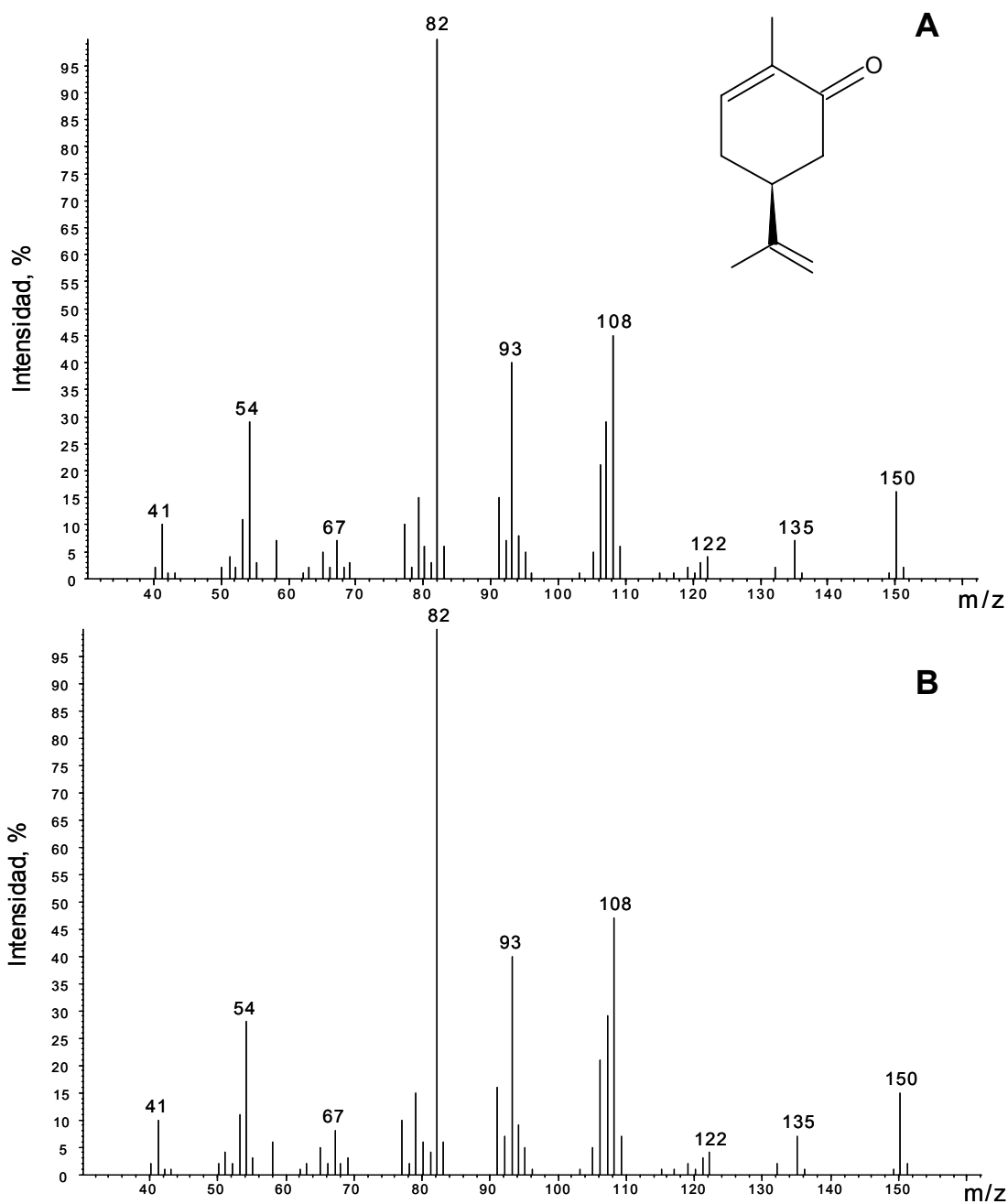
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		Literatura [152]	I_k (t° program.)	
	Patrón certificado	Aceite esencial		Patrón certificado	Aceite esencial
<i>p</i> -Cimeno	21,50	21,54	1025	1030	1030



Anexo 4–Figura 11. Espectro de masas del limoneno meno obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado de limoneno; **B.** MS del limoneno presente en los AE de *Minthostachis mollis*, *Aloysia triphylla*, *Lippia alba*, *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus* y *Lippia dulcis*.

Anexo 4–Tabla 11. Tiempo de retención e índices de Kovàts del limoneno.

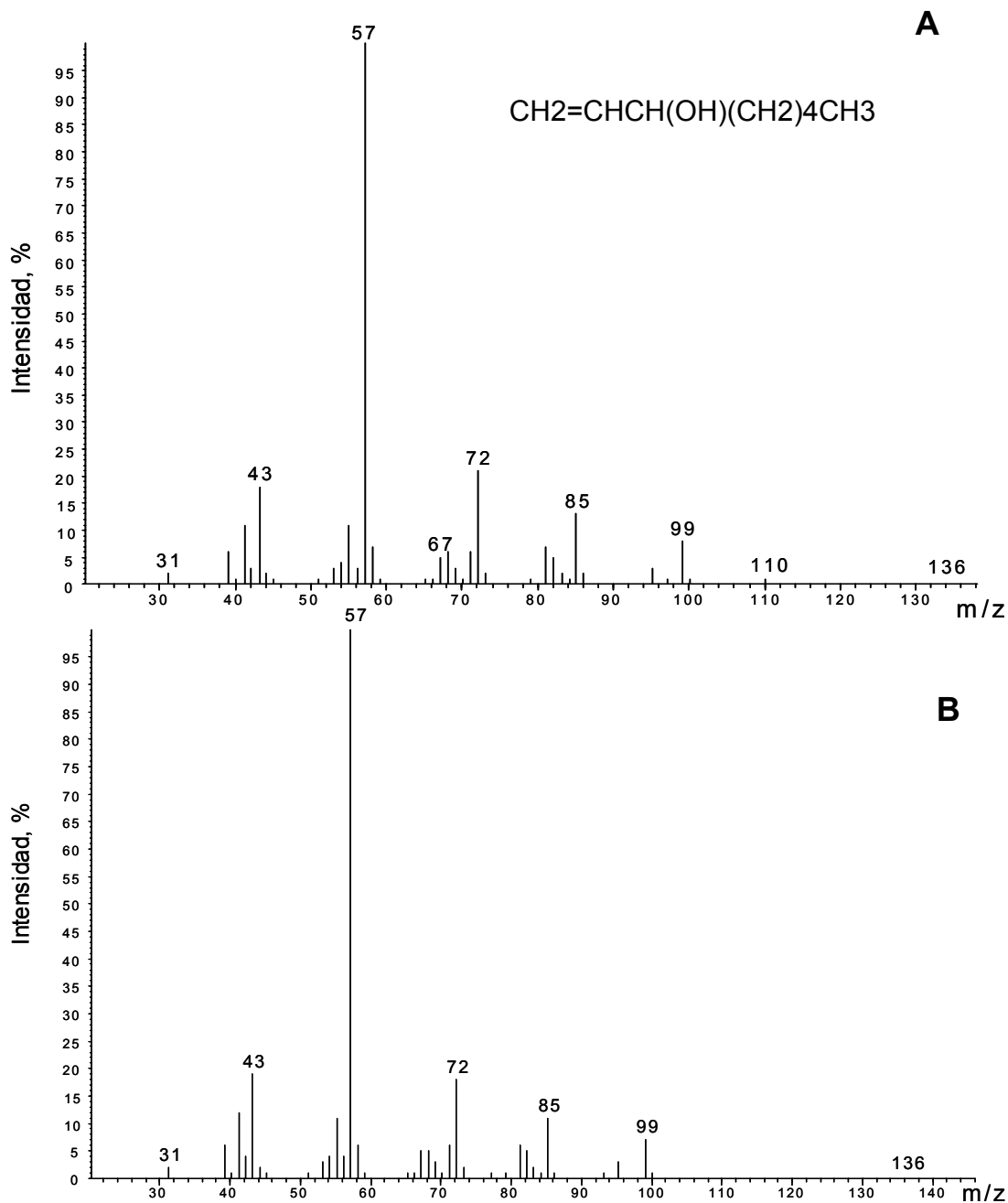
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
Limoneno	21,68	21,70	1029	1035	1036



Anexo 4–Figura 12. Espectro de masas de la carvona obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado de la carvona; **B.** MS de la carvona presente en el AE de *Lippia alba*.

Anexo 4–Tabla 12. Tiempo de retención e índices de Kovàts de la carvona.

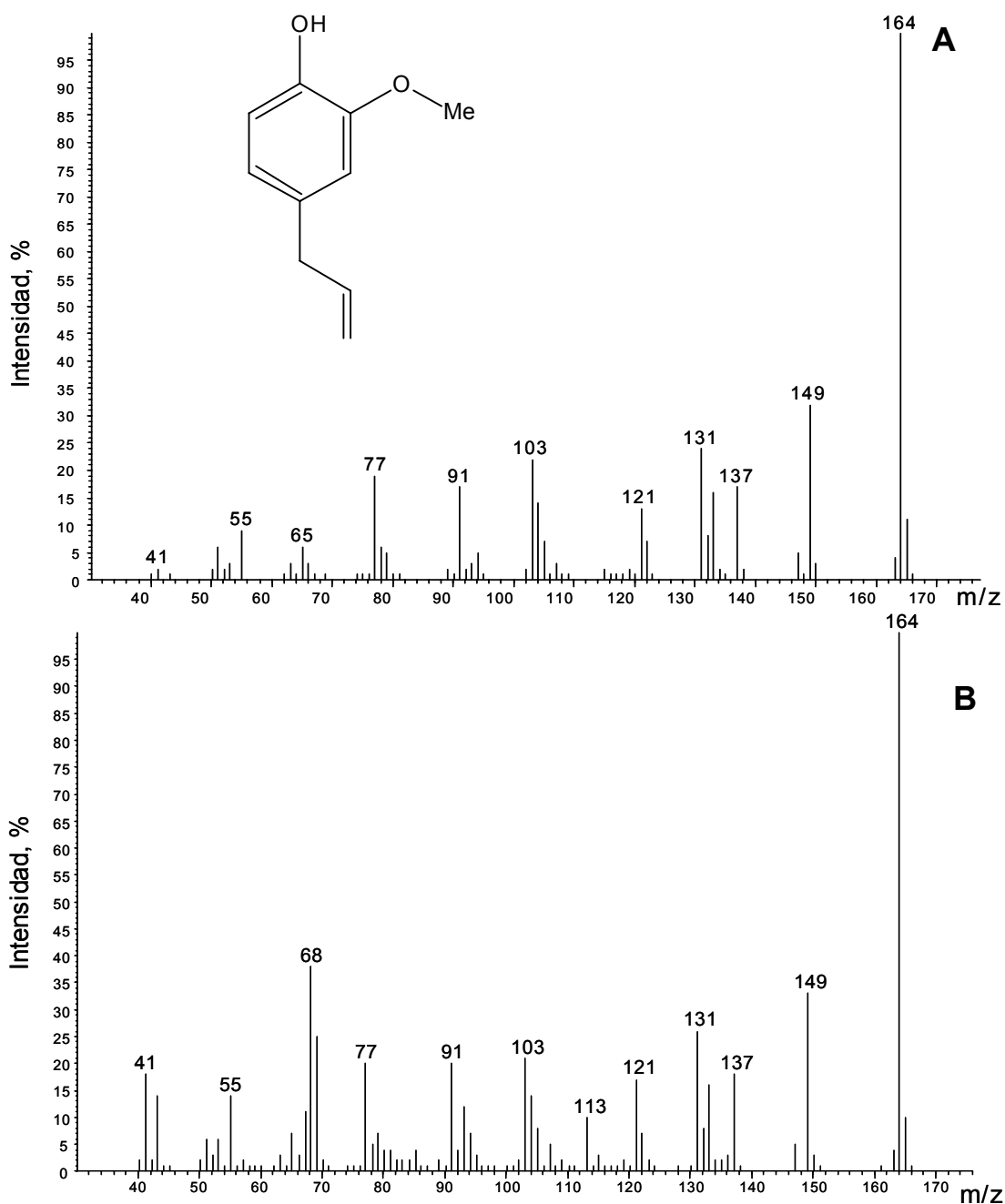
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
Carvona	30,28	30,31	1243	1252	1257



Anexo 4–Figura 13. Espectro de masas del 1-octen-3-ol obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado del 1-octen-3-ol; **B.** MS del 1-octen-3-ol presente en el AE de *Lepechinia bullata*.

Anexo 4–Tabla 13. Tiempo de retención e índices de Kovàts del 1-octen-3-ol.

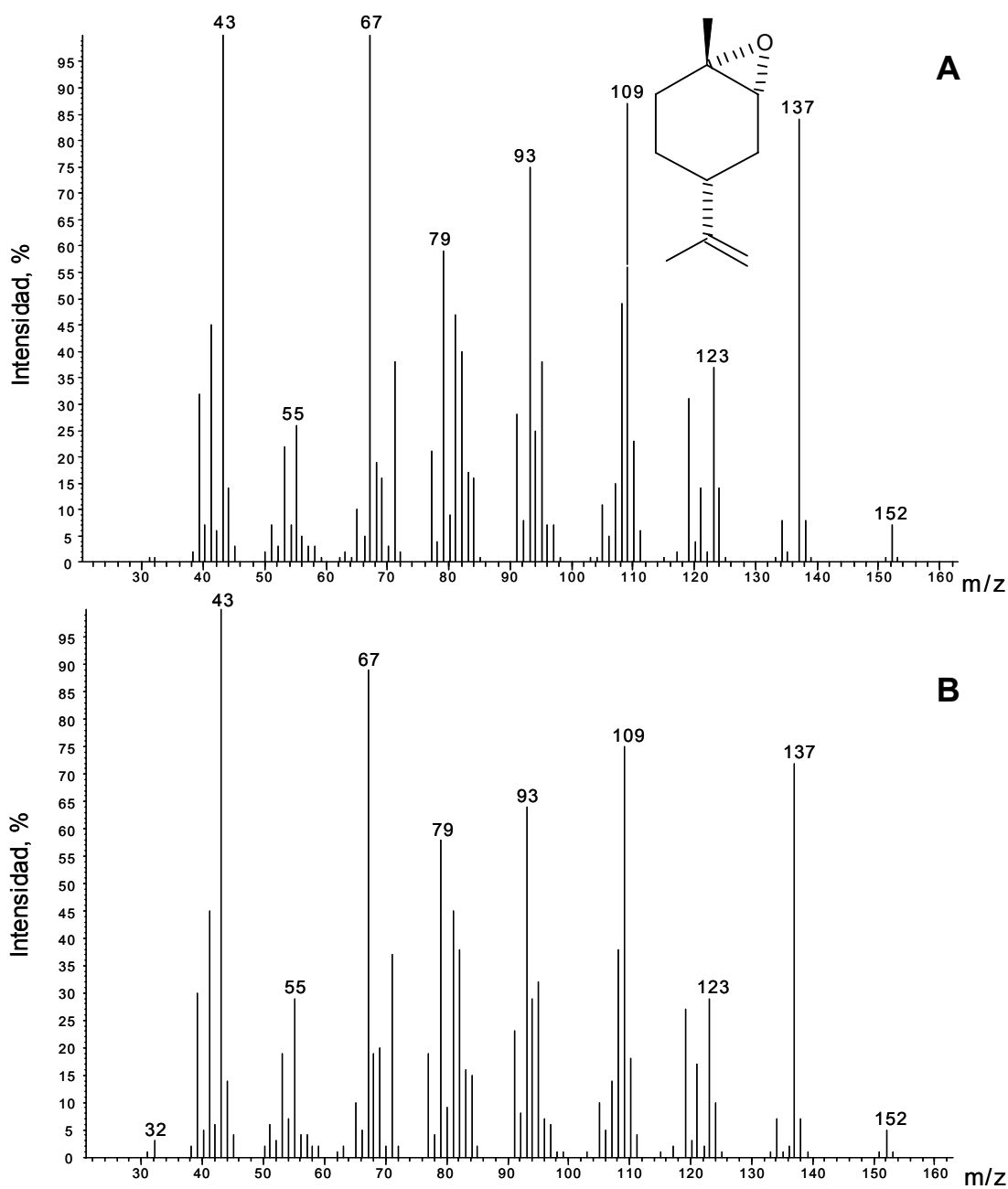
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		Literatura [152]	I_k (t° program.)	
	Patrón certificado	Aceite esencial		Patrón certificado	Aceite esencial
1-Octen-3-ol	19,47	19,44	979	977	980



Anexo 4–Figura 14. Espectro de masas del eugenol obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado del eugenol; **B.** MS del eugenol presente en los AE de *Minthostachis mollis*, *Aloysia triphylla* y *Lippia alba*.

Anexo 4–Tabla 14. Tiempo de retención e índices de Kovàts del eugenol.

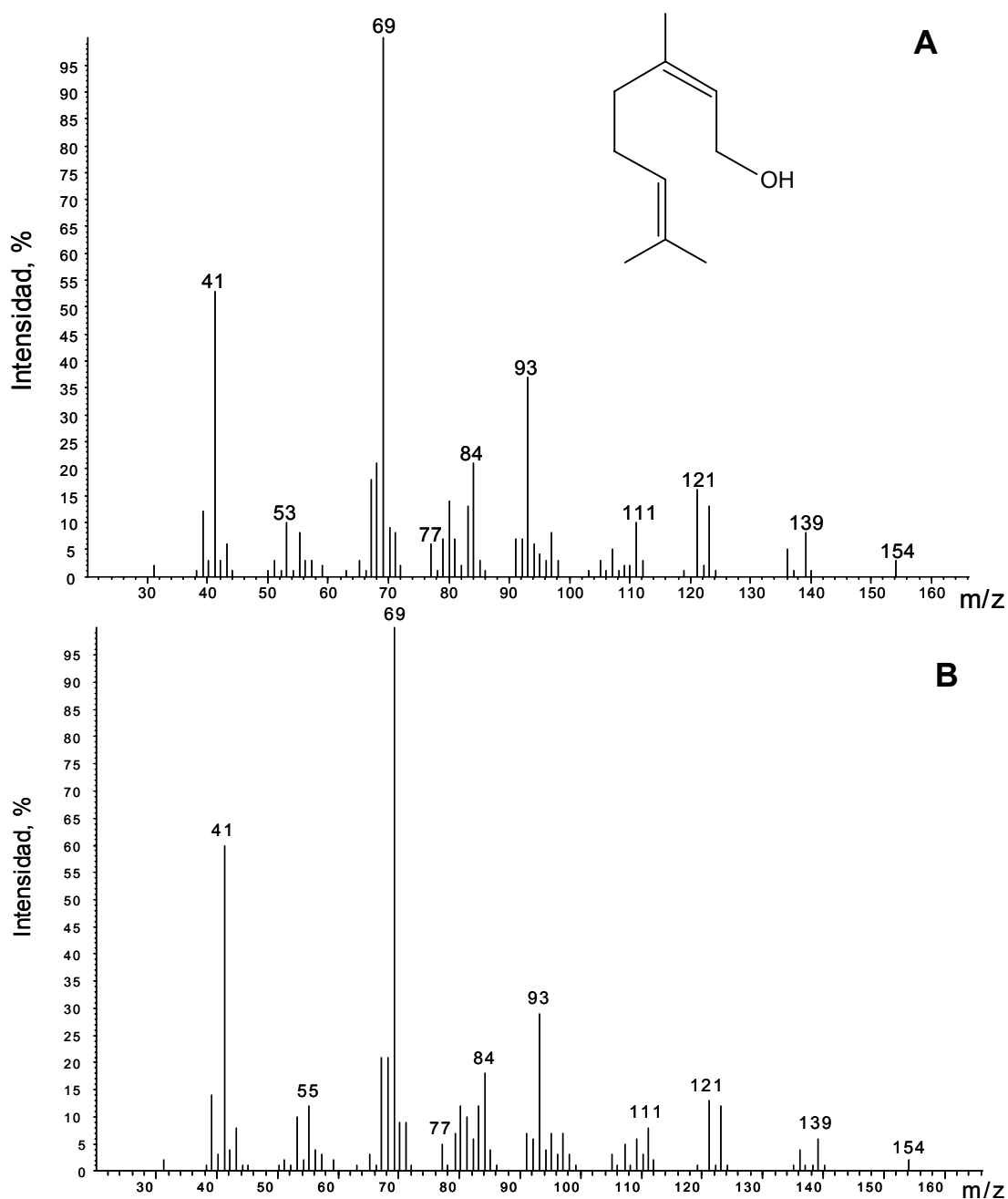
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		Literatura [152]	I_k (t° program.)	
	Patrón certificado	Aceite esencial		Patrón certificado	Aceite esencial
Eugenol	34,46	34,40	1359	1363	1358



Anexo 4–Figura 15. Espectro de masas del *cis*-óxido de limoneno obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado del *cis*-óxido de limoneno; **B.** MS del *cis*-óxido de limoneno presente en los AE de *Aloysia triphylla* y *Lippia alba*.

Anexo 4–Tabla 15. Tiempo de retención e índices de Kovàts del *cis*-óxido de limoneno.

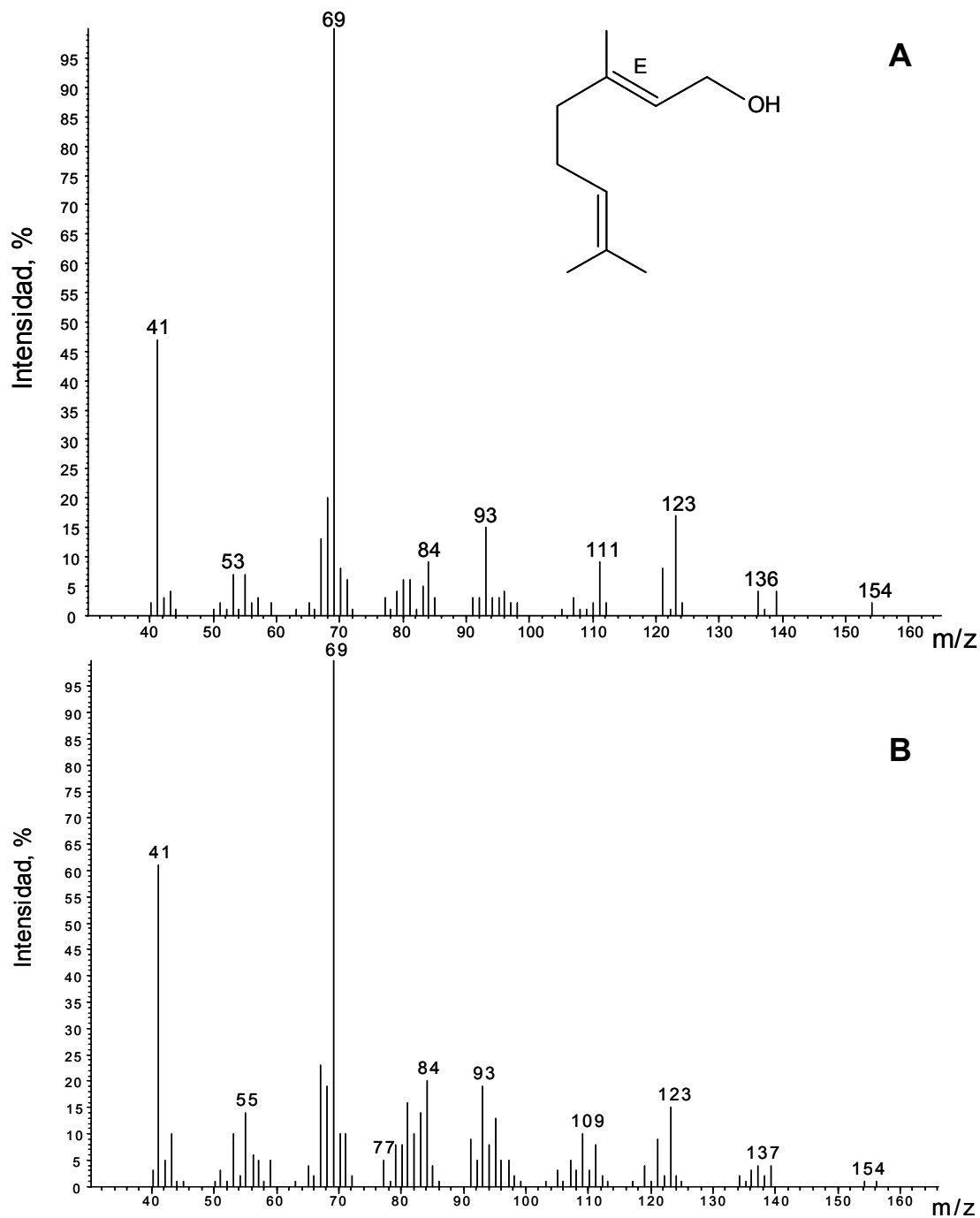
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
<i>cis</i> -Óxido de limoneno	25,95	25,95	1137	1138	1138



Anexo 4–Figura 16. Espectro de masas del nerol obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado del nerol; **B.** MS del nerol presente en los AE de *Aloysia triphylla* y *Cymbopogon citratus*.

Anexo 4–Tabla 16. Tiempo de retención e índices de Kovàts del nerol.

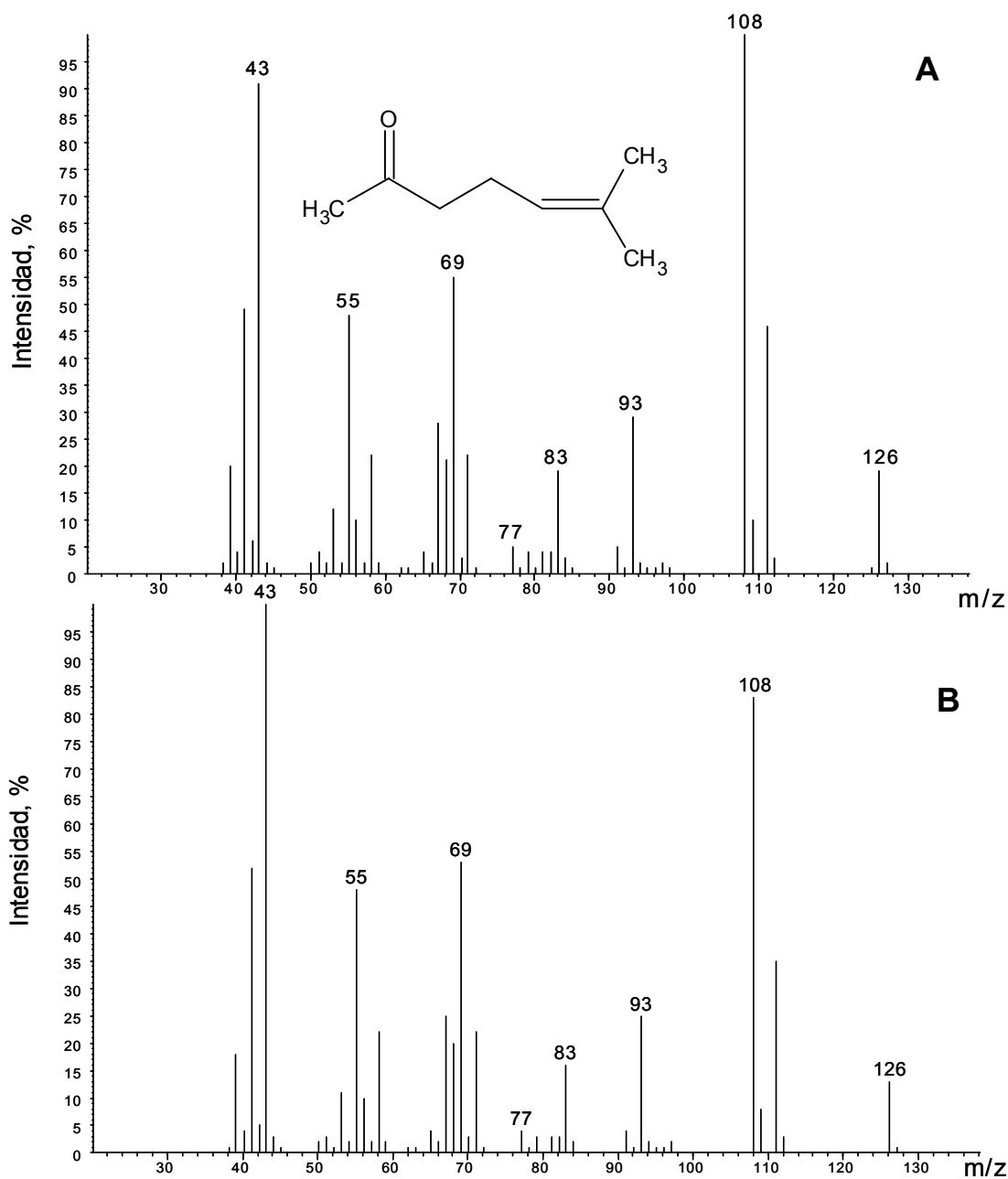
Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
Nerol	29,69	29,71	1230	1236	1233



Anexo 4–Figura 17. Espectro de masas del geraniol obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado del geraniol; **B.** MS del geraniol presente en los AE de *Aloysia triphylla* y *Cymbopogon citratus*.

Anexo 4–Tabla 17. Tiempo de retención e índices de Kovàts del geraniol.

Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (t° program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
Geraniol	30,58	30,61	1253	1260	1258



Anexo 4–Figura 18. Espectro de masas de la 6-metil-5-hepten-2-ona obtenido por EI (70 eV): **A.** Patrón certificado de la 6-metil-5-hepten-2-ona; **B.** MS de la 6-metil-5-hepten-2-ona presente en los AE de *Lippia alba* y *Cymbopogon citratus*.

Anexo 4–Tabla 18. Tiempo de retención e índices de Kovats de la 6-metil-5-hepten-2-ona.

Compuesto	t_R (DB-5, 60 m)		I_k (tº program.)		
	Patrón certificado	Aceite esencial	Literatura [152]	Patrón certificado	Aceite esencial
6-Metil-5-hepten-2-ona	19,71	19,71	986	989	986