

Instituto Politécnico Nacional

**Centro Interdisciplinario de
Investigación para el Desarrollo
Integral Regional de Oaxaca**



**Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento
de Recursos Naturales**

(Ingeniería de Procesos)

**“Hidrodestilación y caracterización del aceite esencial de plantas
medicinales de Santa María Huitepec, Oaxaca”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

M A E S T R A E N C I E N C I A S

P R E S E N T A

ALEJANDRA ROJAS OLIVOS

Directores:

Dra. Lucita Lagunez Rivera

Dr. Rodolfo Solano Gómez

Oaxaca de Juárez, Oax. Julio 2009



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACION Y POSGRADO

ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez siendo las 13:00 horas del día 03 del mes de julio del 2009 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca (CIIDIR-OAXACA)** para examinar la tesis de grado titulada: **“Hidrodestilación y caracterización del aceite esencial de plantas medicinales de Santa María Huitepec, Oaxaca”**.

Presentada por la alumna:

Rojas Apellido paterno	Olivos materno	Alejandra nombre(s)
		Con registro: B 0 7 1 1 2 7

aspirante al grado de: **MAESTRO EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Directores de tesis:

 _____ Dra. Lucita Lagunes Rivera	 _____ Dr. Aniceto Rodolfo Salano Gómez
 _____ Dr. Manuel Jiménez Estrada	 _____ Dr. Juan Rodríguez Ramírez

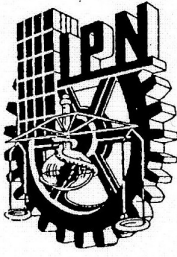
Dra. Mirna Patricia Santiago Gómez

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

Dr. Juan Rodríguez Ramírez



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CIIDIR-UNIDAD-OAXACA



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez el día 03 del mes Julio del año 2009, el (la) que suscribe Rojas Olivos Alejandra alumno (a) del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES con número de registro B071127, adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del los Drs. Luicita Lagunez Rivera y Aniceto Rodolfo Solano Gómez y cede los derechos del trabajo titulado: **“Hidrodestilación y caracterización del aceite esencial de plantas medicinales de Santa María Huitepec, Oaxaca,”** al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **Calle Hornos 1003, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca**, e-mail: posgradoax@ipn.mx ó rojasolivos@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


Rojas Olivos Alejandra



Resumen

Las plantas han sido usadas como fuente de medicina a través de la historia y continúan siendo la base de muchos fármacos empleados actualmente, contienen una gran cantidad de compuestos bioactivos como lípidos, fitoquímicos, saborizantes, fragancias y pigmentos. La comunidad de Santa María Huitepec, pertenece al Municipio de Totontepec Villa de Morelos, esta ubicada al Noreste del estado de Oaxaca y pertenece a la región Mixe, los tipos de vegetación más comunes en los terrenos de la comunidad son, en orden de extensión, bosque de pino-encino, bosque de neblina, selva mediana perennifolia y bosque de coníferas. La hidrodestilación es el método convencional empleado para la obtención de aceites esenciales de plantas, flores, fragancias y pigmentos antes del análisis por cromatografía de gases. La energía de microondas, por otra parte reduce considerablemente el tiempo de calentamiento. Conocer la composición química de los aceites esenciales ha permitido atribuirles propiedades a un gran número de especies vegetales aromáticas. Considerando las ventajas de la extracción por hidrodestilación y la aplicación de la energía de microondas, este trabajo pretende utilizar como método de extracción del aceite esencial de plantas medicinales, la hidrodestilación por microondas, para posteriormente caracterizarlo y así conocer la composición de los aceites esenciales del material vegetal seleccionado (*Arracacia* sp., *Baccharis heterophylla*, *Clinopodium laevigatum*, *Peperomia obtusifolia*, *Persea americana*, *Salvia elegans*) de la comunidad de Santa María Huitepec, Oaxaca.

PALABRAS CLAVE: aceite esencial, hidrodestilación, GC-MS , hidrodestilación asistida por microondas.

Abstract

Plants have been used as a source of medicine throughout history and continue to serve as the basis for many pharmaceuticals used today. Plants contain a broad range of bioactive compounds such as lipids, phytochemicals, flavors, fragrances and pigments. Hydrodistillation is routinely used by analysts for the isolation of essential oils from herbs, flowers and spices prior to gas chromatography analysis. Microwave technology has become very important in synthesis and it's reasonable to assert that there are now very few areas of synthetic organic chemistry that have been shown to be enhanced using microwave heating. It has become recognized that many chemical reactions which required heat are likely to proceed more rapidly using this different form of heat, like a new technique extraction that can use microwaves as auxiliary energy to accelerated process. In this work was investigated the effectiveness of microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from fresh and dry *Arracacia* sp., *Baccharis heterophylla*, *Clinopodium laevigatum*, *Peperomia obtusifolia*, *Persea American* and *Salvia elegans* leaves, using an ordinary household microwaves oven and irradiation duration every 10 minutes during 1 hour until the level of essential oil was constant. To demonstrate its feasibility, the microwave-assisted hydrodistillation was compared with the conventional technique (hydrodistillation). The microwave method offers important advantages over traditional alternatives, namely: shorter isolation times, environmental impact (energy cost) and cleaner features (as no organic solvent uses only water) to introduce this advantageous alternative in the analytical or production of essential oils in food, cosmetic and pharmaceutical industry.

PALABRAS CLAVE: essential oil, hydrodistillation, GC-MS , microwave-assisted hydrodistillation.

Contenido	Página
Planteamiento del problema	4
Justificación	5
Objetivo general	6
Objetivos específicos	6
Hipótesis	7
1. Antecedentes	8
1.1 Uso medicinal de las especies	8
1.2 Hidrodestilación convencional	9
1.3 Obtención de aceite esencial asistida por microondas	10
2. Marco Teórico	12
2.1 Plantas medicinales	12
2.2 Principios activos de plantas medicinales	14
2.2.1 Aceites esenciales	15
2.2.2 Composición química	16
2.2.3 Terpenos	16
2.2.4 Compuestos aromáticos	17
2.3 Métodos de extracción de sustancias naturales	18
2.3.1 Extracción asistida por microondas	18
2.3.1.1 Ventajas y desventajas de la extracción asistida por microondas	20
2.3.2 Hidrodestilación	21
3. Materiales y métodos	23
3.1 Zona de estudio	23
3.2 Selección de especies	24
3.3 Tratamientos previos a la hidrodestilación	25

3.4 Cinéticas de Hidrodestilación convencional para muestras en estado fresco	26
3.5 Cinéticas de Hidrodestilación convencional para muestras en estado seco	27
3.6 Cinéticas de Hidrodestilación asistida por microondas para muestras en estado seco.	28
3.7 Caracterización del aceite esencial por Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas	29
4. Resultados	30
4.1 Especies seleccionadas	30
4.2 Resultados obtenidos de las cinéticas de hidrodestilación convencional para muestras en estado fresco	31
4.2.1 <i>Arracacia</i> sp. Familia Apiaceae	
4.2.2 <i>Baccharis heterophylla</i> Familia Compositae	
4.2.3 <i>Clinopodium laevigatum</i> Familia Lamiaceae	
4.2.4 <i>Peperomia obtusifolia</i> Familia Piperaceae	
4.2.5 <i>Persea americana</i> Familia Lauraceae	
4.3 Cinéticas de hidrodestilación convencional y asistida por microondas para muestras en estado seco	
4.3.1 <i>Arracacia</i> sp. Familia Apiaceae	31
4.3.2 <i>Baccharis heterophylla</i> Familia Compositae	32
4.3.3 <i>Clinopodium laevigatum</i> Familia Lamiaceae	33
4.3.4 <i>Peperomia obtusifolia</i> Familia Piperaceae	34
4.3.5 <i>Persea americana</i> Familia Lauraceae	35
4.4 Caracterización del aceite esencial de las especies seleccionadas	38
5. Discusión	56
Referencias	59

Figura 1. Esquema del mecanismo de extracción de aceites esenciales por hidrodestilación (Tomado de Lagunez, 2006). E.O.: aceite esencial, W: agua, S: sólido, L: líquido, V: vapor.

Figura 2. Localización de la zona de estudio

Figura 3. Dispositivo montado en el laboratorio para la hidrodestilación sin recirculación de aguas aromáticas

Figura 4. Secador empleado para deshidratar el material vegetal

Figura 5. Dispositivo montado en el laboratorio para realizar las hidrodestilaciones convencionales con recirculación de aguas aromáticas.

Figura 6. Dispositivo montado en el laboratorio para realizar hidrodestilaciones asistidas por microondas con recirculación de aguas aromáticas

Figura 7. *Arracacia* sp

Figura 8. *Baccharis heterophylla*

Figura 9. *Clinopodium laevigatum*

Figura 10. *Peperomia obtusifolia*

Figura 11. *Persea americana*

Figura 12. *Salvia elegans*

Figura 13. Gráfica de la cinética de hidrodestilación convencional y asistida por microondas de *Arracacia* sp.

Figura 14. Gráfica de las cinéticas de hidrodestilación convencional y asistida por microondas de *Baccharis heterophylla*.

Figura 15. Gráfica de las cinéticas de hidrodestilación convencional *Clinopodium laevigatum*.

Figura 16. Gráfica de las cinéticas de hidrodestilación convencional *Peperomia obtusifolia*.

Figura 17. Gráfica de las cinéticas de hidrodestilación convencional para las muestras en estado fresco [PRHCF(10)] y seco [PRHCS(10)] de la especie *Persea americana*.

Figura 18. Gráfica de las cinéticas de hidrodestilación convencional para las muestras en estado fresco [SRHCF(10)] y seco [SRHCS(10)] de la especie *Salvia elegans*.

Figura 19. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Arracacia* sp.

Figura 20. Cromatograma del aceite esencial obtenido de la especie *Baccharis heterophylla* en estado fresco

Figura 21. Cromatograma del aceite esencial obtenido de la especie *Baccharis heterophylla* en estado seco

Figura 22. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Clinopodium laevigatum* en estado seco

Figura 23. Cromatograma del aceite esencial obtenido por hidrodestilación asistida por microondas de la especie *Clinopodium laevigatum* en estado fresco

Figura 24. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Peperomia obtusifolia* en estado fresco

Figura 25. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Peperomia obtusifolia* en estado seco

Figura 26. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Persea americana* en estado fresco

Figura 27. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Persea americana* en estado seco

Figura 28. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Salvia elegans* en estado fresco

Figura 29. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Salvia elegans* en estado seco

Planteamiento del problema

En los últimos años el uso de la medicina tradicional se ha vuelto nuevamente un factor predominante en el tratamiento de enfermedades comunes del ser humano (gripe, disentería, fiebre, etc.). Sin embargo, los conocimientos aportados por los médicos tradicionales y curanderos sólo se basan en el conocimiento empírico del uso de las plantas medicinales usadas por generaciones, cuya dosificación proviene de la experimentación. Por tal motivo, no siempre es posible que estos tratamientos cuenten con una base científica para probar su aplicación farmacológica. Mediante la caracterización de los aceites esenciales de las plantas medicinales podemos conocer los principios activos que las componen, su concentración e identificar también usos alternativos. La eficacia de los aceites esenciales contra distintos padecimientos puede ser evaluada realizando pruebas *in vivo*.

Justificación

Oaxaca es una de las regiones de México con mayor tradición etnobotánica, hasta ahora se han registrado unas 490 especies útiles de plantas vasculares cuyos principales usos para estas plantas son el medicinal y el comestible; Oaxaca, por otro lado, es una de las regiones del país donde la interacción entre la población humana y los recursos vegetales es de las más antiguas (García, 2004), la cuál puede constituir una base importante para la conservación de la biodiversidad global y para su uso sustentable (Canales, 2006;Frei, 1998). En este contexto, las plantas curativas son el recurso terapéutico por excelencia de la medicina tradicional, que en gran parte es aún rescatable y puede constituir un elemento importante para implementar nuevos planes de salud, que combinen el conocimiento popular con el científico (Argueta, 1994; Canales, 2006). Sin embargo, la disponibilidad de plantas medicinales se ha visto reducida por la pérdida de la vegetación original y su conversión a bosques secundarios y campos agrícolas (Bermúdez, 2005). Debido a la demanda en el consumo de productos naturales, el abuso de sustancias tóxicas en alimentos y el incremento en la resistencia de microorganismos patógenos a ciertos antibióticos, se considera que la obtención de compuestos naturales de las plantas es una fuente prometedora de sustancias benéficas para la salud (Bendahou, 2007; Burt, 2004). Entre estos compuestos están los aceites esenciales que son multicomponentes químicos producidos durante el metabolismo secundario de la planta (Masango, 2004). La composición química de estos depende, entre otras variables, del método de extracción que se emplee, ya que unos favorecen su volatilidad y solubilidad (Quintero, 2004). La hidrodestilación es uno de los métodos más usados en la obtención de aceites esenciales, pero consume mucho tiempo, debido a un prolongado calentamiento y ebullición del agua. La energía de microondas, por otra parte reduce considerablemente el tiempo de calentamiento (Ferhat, 2005). Considerando las ventajas de la extracción por hidrodestilación y la aplicación de la energía de microondas, este trabajo pretende utilizar como método de extracción del aceite esencial de plantas medicinales, la hidrodestilación por microondas, para posteriormente caracterizarlo y así conocer la composición de los aceites esenciales del material vegetal seleccionado.

Objetivo general

Hidrodestilar y caracterizar el aceite esencial de plantas con potencial de uso medicinal que crecen en la comunidad de Santa María Huitepec, Oaxaca.

Objetivos específicos

- 1) Realizar una selección de plantas medicinales de Santa María Huitepec, Oaxaca, con base en testimonios de habitantes de la comunidad, disponibilidad y usos de las especies de plantas curativas.
- 2) Analizar el uso, dosificación y efectos biológicos para las plantas seleccionadas de Santa María Huitepec, Oaxaca.
- 3) Obtener el aceite esencial de las plantas medicinales seleccionadas y evaluar el método de hidrodestilación asistido por microondas para la extracción de los principio activos.
- 4) Caracterizar la composición del aceite esencial obtenido de las plantas medicinales seleccionadas.

Hipótesis

- 1) La hidrodestilación por microondas disminuye el tiempo de extracción del aceite esencial de las plantas medicinales.

- 2) La caracterización del aceite esencial permite conocer el potencial terapéutico y/o biológico de los principios activos de las plantas medicinales seleccionadas

1. Antecedentes

1.1 Uso medicinal de las especies vegetales

Las comunidades indígenas poseen un profundo entendimiento de su medio ambiente y su ecología (Caballero y Cortés, 2001; Leonti et al., 2003). Saben de numerosos usos que se les pueden dar a las plantas por ejemplo como medicinas- (Ankli et al., 2002, Frei et al., 1998). De acuerdo al reciente inventario realizado por el Instituto Nacional Indigenista existen mas de 3015 especies de plantas medicinales usadas para el tratamiento de enfermedades comunes en México (Argueta et al., 1994).

Las plantas de la familia *Apiaceae* han sido usadas como especies y de uso medicinal, particularmente debido a sus aceites esenciales. Un buen número de especies botánicas de esta familia son descritas en algunas farmacopeias, como antiséptico, expectorante, diurético, vasodilatador, o con acciones espasmolíticas (Ekiert, 2000; Tavares, 2008.). Trabajos previos (Fabián et al., 2006; Fabio et al., 2007, Hernández et al., 2007.) han sugerido que varios aceites esenciales tienen potencial terapéutico para enfermedades provocadas por hongos, tales como cutáneas y del tracto respiratorio. *Arracacia tolucensis* var. *multifida* es una de las 38 especies del género *Arracacia* distribuidas en las montañas de la Sierra Madre de México a una altitud de 2250 a 2950 sobre el nivel del mar, en los estados de Durango, Hidalgo y Oaxaca, su nombre náhuatl es "acocotli" o bien en español es llamada "comino rústico", "hierba del oso" y "neldo". Los frutos y parte aérea de esta planta han sido usados como carminativos y estimulante digestivo (Figuroa et al., 2007; Martinez, 1989.). También ha sido empleada para el tratamiento de gonorrea y fiebre (Argueta, 1994; Figuroa et al., 2007). Los frutos han sido empleados como condimentos y consumo humano (Bois, 1904; Figuroa et al., 2007). *Baccharis* (Asteraceae) es un género con cerca de 400 especies distribuidas en México y Sudamérica mayormente en Brasil, Argentina, Colombia y Chile (Giuliano, 2001; Lago et al., 2008). Plantas encontradas en este género han sido usadas en medicina tradicional para dolores de cabeza, diabetes, desordenes hepatobiliares (Gené et al., 1996; He et al., 1996).

El género *Piper* (Piperaceae) es ampliamente distribuido en regiones tropicales y subtropicales del mundo. Algunas especies de *Piper* son utilizadas en la medicina tradicional como analgésico para el dolor de dientes (Gatti, 1985).

El aguacatillo (*Persea americana*) es una de las plantas más ampliamente usadas en medicina tradicional. El hueso, fruto y hoja son usados en la medicina tradicional en Sudamérica, el oeste de India y África como remedio de diversas enfermedades, el fruto es usado para el tratamiento de la disentería, el jugo de la hoja tiene actividad antibiótica, el extracto acuoso de la hoja tiene un prolongado efecto hipertensivo, mientras que la decocción de la hoja es usada como remedio para la diarrea, dolor de garganta, hemorragias y para regular la menstruación (Morton, 1987).

Las especies de *Salvia* son usadas en medicina tradicional en varios países del mundo debido a sus propiedades antibacterianas (Lin et al., 1989), antioxidantes (Dobrynin et al., 1976), antidiabéticas (Hitikato et al., 1980) y antitumorales (Ulubelen et al., 1992).

1.2 Hidrodestilación convencional

Bendahou (2007) realiza su proceso de hidrodestilación durante 3 horas colocando las hojas secas en un aparato tipo Clevenger obteniendo 4.8 % de aceite esencial, colocandolo en un secador con sulfato de sodio anhidro y almacenado a 4°C hasta su utilización. Quintero (2004) proporciona más detalles del proceso de hidrodestilación realizado en su trabajo, mencionando que hizo pasar vapor de agua a una temperatura de 100-105°C durante 2 horas sobre un matraz balón de 5 litros que contenía 500 g de hojas frescas de *Hyptis umbrosa*. La muestra agua-aceite fue condensada y luego separada empleando un embudo de decantación, el aceite obtenido se secó con sulfato de sodio anhidro. Ríos (2007) estudió relaciones de mezcla semilla de cardamomo/agua de 30g/300 mL y 20g/300 mL y dos tamaños de partícula: semillas entre 8 y 14 mallas y semillas de diámetro inferior a 14 mallas, realizando el proceso de hidrodestilación utilizando un matraz balón de 500 mL, un condensador y una bureta recolectora conectados en serie.

La semilla de *Elettaria cardamomum* se depositó en el matraz balón junto con la cantidad de agua determinada llevándola a ebullición, los vapores generados se hacen pasar por el condensador y se recogen en la bureta, el proceso fue detenido después de media hora, demostrando que el tamaño de partícula tiene un efecto evidente en la obtención del aceite esencial. Trabajos realizados por Byramoglu et al. (2008) utilizan una relación 1:10 (w/v) usando 50 gramos de hojas secas de *Origanum vulgare* durante un tiempo de 3 horas obteniendo un rendimiento de 4.8%. Relaciones w/v de 1:10 también son utilizadas en trabajos realizados por Ferhat et al. (2005), Kosar et al. (2005) y Lucchesi et al. (2006) quienes obtuvieron un rendimiento de 0.39% en *Citrus sinensis*, 0.4% en *Coriandrum sativum*, 2.8% en *Elleteria cardamomum* respectivamente.

1.3 Obtención de aceite esencial asistida por microondas

Wang (2006) menciona que Ericsson (2000) introdujo un sistema dinámico de extracción asistida por microondas, demostrando la disminución en el tiempo de extracción en comparación con el método de Soxhlet (Wang 2006). La energía de la radiación por microondas equivale a 0.000012 eV que no produce daño en la materia orgánica, las propiedades de las que depende la penetración de las microondas son las propiedades físicas y dieléctricas, así como el grado de penetración de las microondas en los materiales.

La rapidez del calentamiento es la principal ventaja de las microondas, su aplicación en alimentos se realiza a las frecuencias de 2450 MHz y 915MHz, con el fin de evitar la interferencia con las ondas de radar. Las microondas penetran a los alimentos provocando que las moléculas polares en este caso el agua, las proteínas y otras tiendan a alinearse en el campo electromagnético producido, este se invierte 915 a 2450 millones de veces por segundo, las moléculas tratan de alinearse y oscilan a estas frecuencias generando la fricción intermolecular que provoca el calentamiento, a medida que se genera el calor éste se transmite por conducción en los sólidos y por convección en los líquidos, lo que ayuda a uniformizar la temperatura (Jiménez, 2001).

Deng et al. (2005) desarrollaron la combinación de dos métodos: microextracción en fase sólida con destilación por microondas, desarrollando un método rápido de análisis para los componentes del aceite esencial de *Artemisia selengensis*, planta utilizada en la medicina tradicional china, concluyendo que la combinación de estos métodos tuvo un desempeño exitoso demostrando que es una metodología simple, rápida y sin la utilización de solventes para determinar aceites esenciales en plantas frescas. Bayramoglu et al. (2008) evaluaron 50 gramos de hojas secas prehidratadas de *Origanum vulgare* en 700 mL de agua durante 1 hora, obteniendo un rendimiento de 5.4% y un tiempo de extracción de 60 minutos.

Flamini et al. (2007) evaluaron 30 gramos de hojas secas de *Laurus nobilis* con 650 mL de agua obteniendo un rendimiento de 0.813% durante un tiempo de extracción de 60 minutos. Ferhat et al. (2005) evaluaron 200 g de *Citrus sinensis* en estado fresco a una potencia de 1000 W obteniendo un rendimiento de 0.42% durante un tiempo de extracción de 30 minutos. De manera similar Wang (2005) realizó una extracción asistida por microondas y libre de solventes de *Cuminum cyminum* usando como medio sólido de absorción polvos de hierro carvonilo, ambos coinciden en que la reducción en el tiempo de extracción en comparación con el método convencional de hidrodestilación es la ventaja mas importante al utilizar un método combinado de extracción asistida por microondas.

2. Marco teórico

2.1 Plantas medicinales

Las plantas son fundamentales en el desarrollo de la medicina moderna, producen metabolitos primarios durante la fotosíntesis y la respiración, los componentes orgánicos producidos durante estos procesos son llamados metabolitos primarios y se clasifican en cuatro grupos distintivos: carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Adicionalmente, las plantas usan algunos de estos metabolitos primarios para llevar a cabo un proceso adicional llamado metabolismo secundario, que no es vital para las plantas, comprendiendo una gran variedad de compuestos químicos denominados de manera general como principios activos, dentro de los cuales se encuentran los aceites esenciales, taninos, coumarinas, flavonoides, saponinas, alcaloides, glucósidos y poliaminas (Svuoboda, 2003).

El tratamiento de muchas enfermedades a través del uso de las plantas medicinales está asumiendo un alto valor económico en el mundo. Más del 80% de la población mundial depende de las plantas silvestres para la atención de enfermedades, por ello el programa de Medicina Tradicional de la Organización Mundial de la Salud (OMS) otorga suma importancia a la medicina herbolaria en países desarrollados y no desarrollados (González, 2004).

Al buscar datos sobre la flora medicinal mexicana se presenta un problema fundamental: existen en México 2 niveles de difusión de la información. El primero tiene lugar en el ámbito académico-científico que desafortunadamente, además de escaso, circula solo en revistas y libros especializados cuyo tiraje es reducido y su lenguaje está dirigido a un público limitado. El otro nivel, por el contrario, está dirigido al público en general y en ediciones de carácter popular, pero la calidad y sobre todo la veracidad de la información de estas publicaciones es deficiente, además los nombres populares varían en cada región y un mismo nombre puede abarcar diferentes plantas. Algunas personas usan las plantas medicinales para enfermedades leves que no representan

ningún problema mayor, hay quienes las usan cuando el medicamento que les receto el médico no les dio resultado, por lo que buscan otras opciones. Otras más las usan para controlar los efectos secundarios producidos por los medicamentos farmacéuticos. Algunos mezclan los remedios tradicionales con los productos farmacéuticos, hecho que cada día se generaliza más. Un núcleo muy amplio de la población mexicana usa sólo plantas medicinales y remedios caseros, por no tener recursos económicos ni posibilidad de acceso a la medicina institucional (Linares, 1996).

La etnofarmacología comprende la interacción de la etnografía médica y estudios biológicos de acción terapéutica (Etnik y Elisabetsky, 2005). Desde una perspectiva etnofarmacológica es importante comprender que la herbolaria mexicana es una interfase de la medicina convencional y los tratamientos tradicionales. Sin embargo, la disponibilidad de plantas medicinales se ha visto reducida por la degradación de los bosques y su conversión a bosques secundarios y campos agrícolas (Bermúdez, 2005); por otro lado las comunidades indígenas no cuentan con el apoyo necesario para implementar programas de cultivo masivo de plantas curativas por la falta del reconocimiento científico de sus principios activos. La demanda en el consumo de productos naturales, el abuso de sustancias tóxicas en alimentos y el incremento en la resistencia de microorganismos patógenos a ciertos antibióticos, son razones importantes para considerar que la obtención de compuestos naturales de las plantas es una fuente prometedora de sustancias benéficas para la salud (Bendahou, 2007; Burt, 2004).

2.2 Principios activos de las plantas medicinales

El estudio de las sustancias de origen natural que poseen una virtud medicinal se llama farmacognosia y su efecto en el organismo se estudia en farmacología. La fitoquímica por su parte, permite la detección e identificación de este tipo de sustancias presentes en las plantas, llamadas principios activos, los cuáles se han aislado y purificado para elucidar su estructura química. En algunos casos, esa estructura ha sido copiada o duplicada de manera artificial, obteniéndose compuestos sintéticos que constituyen la base de los medicamentos comerciales. El uso de los principios activos puros, aislados de la planta o sintetizados, presenta la ventaja de facilitar su dosificación y administración, no obstante, en ocasiones resulta menos efectiva que el de la planta o sus partes, ya que la interacción con otros componentes de ésta potencian sus efectos terapéuticos o agiliza su absorción. Es necesario destacar que una vez descubierto un principio activo, sus propiedades y su comportamiento en el organismo humano, la síntesis química no siempre puede ser exitosa (González, 2004; Sarukhán, 1996).

Por su estructura química, los principios activos pueden agruparse en tres categorías principales: alcaloides, glucósidos y aceites esenciales. Algunos otros compuestos como ésteres, ácidos grasos, coumarinas, quinonas, sesquiterpenlactonas, lignanos y taninos, también actúan como principios activos. Las sustancias antibióticas son principios activos de composición muy diversa y su detección e identificación es importante por las siguientes razones:

- a) Permite corroborar o rechazar las propiedades atribuidas a las plantas
- b) Admite detectar aplicaciones nuevas
- c) Permite una elección más racional de las especies a estudiar y facilita el descubrimiento de nuevos productos medicinales
- d) Facilita las investigaciones sobre dosificación, farmacología, toxicología y posibles efectos secundarios.
- f) Es la base para la síntesis de nuevos fármacos

2.2.1 Aceites esenciales

Los aceites esenciales son productos obtenidos a partir de materias primas naturales por destilación con agua, los de frutas cítricas son obtenidos por procesos mecánicos, los cuáles son separados de la fase acuosa por procesos físicos (Lagunez, 2006; Peyron y Richard, 1992). Los aceites esenciales son compuestos complejos, naturales y volátiles caracterizados por un fuerte olor y son producidos por las plantas aromáticas como metabolitos secundarios (Bakkali, 2007). Representa la fracción aromática más importante del vegetal; esta constituido por una mezcla principalmente de terpenos, alcoholes, cetonas, fenoles, ácidos, aldehídos y ésteres, se solubiliza parcialmente en etanol, en cloroformo y en aceites fijos y es insoluble en agua (Badui, 1999). Pueden ser sintetizados en todos los órganos de la planta, flores, hojas, semillas, frutos, raíces y almacenados en tejidos finos secretorios especializados y se dividen en dos grandes grupos: aquellos que se encuentran en la superficie de la planta y secretan directamente las sustancias fuera de la planta (secreción exógena) y otros que se encuentran en el interior del cuerpo de la planta y secretan sustancias hacia el espacio intracelular de la planta (secreción endógena). La secreción es una característica común de las plantas y puede contener sales, grasas, ceras y/o principios activos (Svoboda, 2003).

Los aceites esenciales tienen un papel importante en la protección de las plantas como antibacteriales, antivirales, antifúngicos, insecticidas y también contra herbívoros para reducir su apetito por algunas plantas, aunque también pueden atraer algunos insectos para favorecer la dispersión de polen o semillas (Bakkali, 2007). Las moléculas producidas por la glándula y el líquido que almacenan reciben el nombre de *esencia* y es llamada así mientras se encuentra dentro de la planta (Grace, 2001). La mayoría de las moléculas aromáticas se basan en la estructura terpénica compuesta de cadenas de isopreno de 5 carbonos, hay muy pocas moléculas aromáticas de más de 20 carbonos. A través del proceso de oxidación (agregando $-OH$) y reducción (quitando $+H$) se forman alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, lactonas y ácidos. Aunque los aceites esenciales no son solubles en agua, existen algunas partículas que son más solubles que otras. Entre mayor sea el proceso de

oxidación, la partícula se vuelve más soluble en agua y menos en grasa, esto significa que dentro de los aceites esenciales los terpenos poseen estas características. Esta estructura de solubilidad se relaciona a la vía y velocidad de absorción a través de la piel y la respiración. Hasta hoy se conocen aproximadamente 3000 aceites esenciales, de los cuáles 300 son de importancia comercial para la industria farmacéutica, agronómica, alimentaria, sanitaria, cosmética y perfumería. Además, los aceites esenciales son usados en masajes como mezclas con aceite vegetal usados frecuentemente en aromaterapia (Bakkali, 2007; Silva, 2003).

2.2.2 Composición química

Los aceites esenciales son mezclas naturales complejas las cuáles pueden contener cerca de 20-60 componentes en diferente concentración. Son caracterizados por 2 o 3 de sus componentes mayoritarios equivalente a su alta concentración (20-70 %). El grupo principal está compuesto de terpenos y terpenoides, el resto de constituyentes aromáticos, todos caracterizados por su bajo peso molecular (Bakkali, 2007). Conocer la composición química de los aceites esenciales ha permitido atribuirles propiedades antimicrobianas de interés para la industria alimenticia, tal es el caso de los trabajos realizados Kim et al. (1995) evaluaron el efecto del eugenol y geraniol contra *Escherichia coli*, *Salmonella thymurium* y *Listeria monocytogenes* a concentraciones entre 0.5 y 1.0 $\mu\text{l/ml}$.

2.2.3 Terpenos

Los terpenos tienen forma estructural y funcionalidad de diferentes clases, pueden estar formados de la combinación de varias unidades de isopreno (C_5). La biosíntesis de terpenos consiste en la síntesis de isopentil difosfato (IPP) como precursor, la adición repetitiva de IPPs forman prenildifosfato precedente de varias clases de terpenos y la modificación del prenildifosfato arílico por síntesis específica de terpenos para formar esqueletos de terpenos y finalmente, la modificación enzimática secundaria (reacciones redox) del esqueleto atribuye las propiedades funcionales de los diferentes terpenos. La mayoría de los terpenos son los monoterpenos (C_{10}) y sesquiterpenos (C_{15}), pero también

existen hemiterpenos (C_5), diterpenos (C_{20}), triterpenos (C_{30}) y tetraterpenos (C_{40}). Un terpeno conteniendo oxígeno en su estructura es llamado terpenoide. Los monoterpenos están formados por dos unidades de isopreno (C_{10}), son las moléculas más representativas constituyendo el 90% de los aceites esenciales junto con una gran variedad de estructuras. Los sesquiterpenos están formados por tres unidades de isopreno (C_{15}), esta extensión incrementa el número de ciclizaciones las cuáles crean una gran variedad de estructuras. La estructura y función de los sesquiterpenos es similar a la de los monoterpenos (Bakkali, 2007).

2.2.4 Compuestos aromáticos

Son derivados del fenilpropano, los compuestos aromáticos están presentes con menor frecuencia que los terpenos. La ruta biosintética con respecto a terpenos y derivados fenilpropanicos, generalmente está separada en la planta pero puede coexistir. Los compuestos aromáticos comprenden:

Aldehídos: ej. Cinnamaldehído

Alcohol: ej. Alcohol cinámico

Fenoles: ej. Chavicol, eugenol

Derivados metoxi: acetol, elemicina, estragol, metileugenol

Compuestos dioxy metileno: ej. Apiol, miristicina, safrol

Algunas plantas que contienen en grandes cantidades estos compuestos son anís, canela, clavo, hinojo, nuez moscada, perejil, sazafrán, anís estrella, estragón y algunas de las siguientes familias botánicas como Apiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae y Rutaceae (Bakkali, 2007).

2.3 Métodos de extracción de sustancias naturales

Las plantas contienen un amplio rango de componentes bioactivos como lípidos, fitoquímicos, farmacéuticos, sabores, fragancias y pigmentos. Los extractos vegetales son ampliamente usados en la alimentación e industria farmacéutica. Las técnicas de extracción han sido ampliamente estudiadas para obtener tales componentes naturales de plantas de gran valor para su comercialización. El método tradicional de extracción Soxhlet, el cual ha sido usado por muchas décadas, es muy prolongado y requiere relativamente grandes cantidades de solventes. Existe un incremento en la demanda de nuevas técnicas de extracción con tiempos reducidos y disminución del uso de solventes orgánicos. Métodos novedosos de extracción incluyen la extracción asistida por ultrasonido, extracción asistida por microondas, extracción por fluidos supercríticos y extracción acelerada por solventes, los cuáles son técnicas rápidas y eficientes para usarlas en la extracción de los componentes químicos de las plantas (Wang, 2006). En general, un procedimiento analítico para aceites esenciales y aromas de plantas o especias comprende dos pasos: extracción (destilación por arrastre de vapor, hidrodestilación, extracción por Soxhlet, extracción asistida por ultrasonido, extracción asistida por microondas, etc.) y análisis (cromatografía de gases, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas) (Chemat et al, 2005).

2.3.1 Extracción asistida por microondas

El método de extracción asistida por microondas recientemente ha resultado atractivo debido al rápido calentamiento de muestras acuosas (Flamini, 2007). El tratamiento de la muestra de la planta con microondas antes y/o durante el proceso de extracción puede resultar en un aumento en la recuperación de metabolitos secundarios y componentes aromáticos. El calentamiento forzado del agua en el núcleo del material puede provocar que el vapor inducido rompa las paredes del material de la planta, hinchando la matriz de la muestra se provoca una extracción exitosa de metabolitos secundarios. Los componentes extraídos son rodeados por un medio conveniente que facilita la separación del material remanente de las plantas. Este medio que los rodea puede ser un

líquido o un gas. En el caso de un líquido, es necesario un paso de separación más elaborado para obtener los componentes puros, mientras que en el caso de un gas, solamente una simple condensación es suficiente. La elección final depende en gran parte de la facilidad de volatilización de los componentes deseados (Starmans, 1996). En el método de extracción asistida por microondas, la planta es colocada en un aparato tipo Clevenger, donde es calentada en el interior de un horno de microondas por un corto periodo de tiempo para extraer el aceite esencial. El calor producido por la energía de microondas provoca que la muestra alcance su punto de ebullición rápidamente, ocasionando tiempos cortos de hidrodestilación o de extracción con material fresco (Simoneau et al., 2000; Kosar, 2005). Es posible también conseguir una destilación con el agua interna del material (Kosar et al., 2005). Hay dos tipos de sistemas de extracción asistida por microondas comercialmente disponibles:

a).- Extracción bajo temperatura y presión controladas en un vaso cerrado

Este sistema es usado generalmente para extracciones bajo condiciones drásticas, como extracción a temperaturas altas. La presión en el vaso depende esencialmente del volumen y el punto de ebullición de los solventes.

b).-Extracción a presión atmosférica

Este sistema puede operar a la temperatura máxima determinada por el punto de ebullición de los solventes a la presión atmosférica (Wang, 2006).

Existen además dos maneras de realizar la extracción asistida por microondas: con solvente (EMS) o sin solvente (EMSS). La extracción asistida por microondas libre de solventes es una nueva técnica, la cual combina el calentamiento por microondas con la destilación seca a presión atmosférica para obtención de los aceites esenciales en muestras frescas, en este método de extracción no es necesario añadir algún solvente si la planta utilizada es fresca pero si la muestra se encuentra en estado seco debe prehidratarse, remojándola en agua por algún tiempo y entonces desechar el exceso de agua (Bayramoglu et al., 2008).

2.3.1.1 Ventajas y desventajas de la extracción asistida por microondas

La extracción asistida por microondas ha sido considerada una alternativa potencial del método tradicional de extracción sólido-líquido para la obtención de metabolitos de las plantas. Ha sido usada para la extracción de nutraceuticos por varias razones:

- 1).- Reduce el tiempo de extracción.
- 2).- Reduce el uso de solventes.
- 3).- Mejora el rendimiento de la extracción.

Por consideraciones económicas y aspectos prácticos, la extracción asistida por microondas es una técnica de extracción fuertemente novedosa para la obtención de nutraceuticos. Sin embargo, es necesario realizar una centrifugación o filtración adicional después del proceso de extracción para remover los residuos sólidos. Además la eficiencia de las microondas puede ser muy pobre cuando alguno de los componentes del blanco o los solventes son no polares, o cuando son muy volátiles (Wang, 2006). En la hidrodestilación asistida por microondas el tiempo de destilación es más corto que en el método clásico de hidrodestilación y también la muestra alcanza su punto de ebullición mas rápidamente (Kosar et al., 2005). En algunos casos la hidrodestilación asistida por microondas puede favorecer más la obtención de compuestos oxigenados que de terpenos hidrocarbonados, esta es una gran ventaja en la producción de aceites del encantador mundo de los aromas (Kosar et al., 2005).

2.3.2 Hidrodestilación

La hidrodestilación es el método convencional más usado para extraer el material de la planta en aceite esencial. En este método se pasa vapor de agua a través del material vegetal, para extraer las moléculas aromáticas volátiles, las cuáles son llevadas a través de un serpentín refrigerante hasta un recipiente donde se separa el vapor enfriado (agua) del aceite esencial. Así, dentro de la planta se encuentra la "esencia", y después de la destilación y el proceso, "el aceite esencial". La composición de la esencia no es la misma que la del aceite esencial, sino que cambia al presentarse las reacciones químicas durante el procesamiento general de la planta. El calor, agua y oxígeno influyen sobre las esencias y cambian su estructura. Algunas de las partículas más volátiles desaparecen y a veces surgen nuevos compuestos durante el proceso de destilación (Grace, 2001).

Desde hace muchas décadas se asume que el proceso de hidrodestilación está regido por la vaporización del aceite esencial "libre" o disponible en la superficie de las hojas o flores, cuando una corriente de vapor saturado atraviesa un lecho conformado por este material vegetal. Al ser la vaporización el fenómeno que controla el proceso, se asume un equilibrio termodinámico entre el aceite esencial y el agua, controlante del rendimiento. Sin embargo la velocidad de obtención del aceite disminuye más rápidamente conforme el tiempo transcurre. Existen por lo menos tres fenómenos controlantes del proceso: El primero, una vaporización instantánea del aceite esencial, en la interfase de la película formada en la superficie del material vegetal y el vapor circundante; el segundo, la difusión del aceite vaporizado al seno de la corriente del vapor circundante, debido a la convección que ejerce el vapor en su lecho y su inmediato transporte al exterior del equipo; el tercero, una exudación (o excreción) del aceite esencial desde el interior de los tricomas glandulares, a través de su cutícula, a la película superficial del material vegetal (Cerpa, 2007).

La hidrodestilación para obtener aceite esencial de las plantas ha sido un recurso dominado por muchos años, en esta técnica de extracción un empaque poroso conteniendo el material de la planta (hojas y/o flores) es constantemente lavado con vapor. Los componentes volátiles presentes en el material de la planta son tomados por el vapor debido a su baja presión parcial de vapor, por lo tanto los componentes arrastrados son fácilmente separados por decremento de solubilidad. Esto se lleva a cabo por la disminución de la temperatura del torrente de vapor por condensación forzada en una unidad de intercambio de calor. La mezcla líquida resultante es inducida al separador donde ocurre la separación de las fases acuosa y oleosa (Starmans, 1996). En 1993, Ganou (figura 1) propone una descripción esquemática del proceso de hidrodestilación.

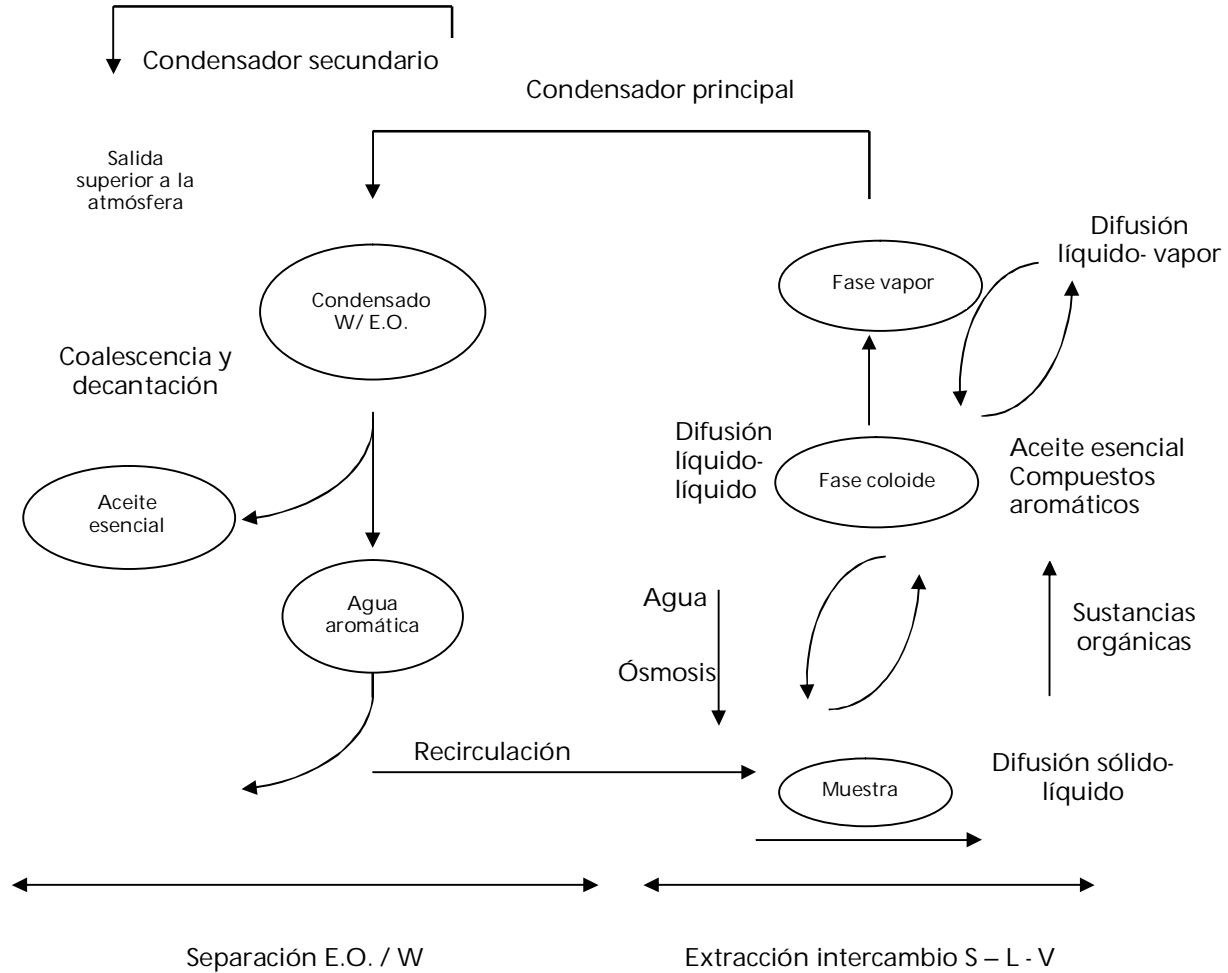


Figura 1. Esquema del mecanismo de extracción de aceites esenciales por hidrodestilación (Tomado de Lagunez, 2006). E.O.: aceite esencial, W: agua, S: sólido, L: líquido, V: vapor.

3. Materiales y métodos

3.1.1 Zona de estudio

La comunidad de Santa María Huitepec (figura 2), pertenece al Municipio de Totontepec Villa de Morelos, esta ubicada al Noreste del estado de Oaxaca y pertenece a la región Mixe.

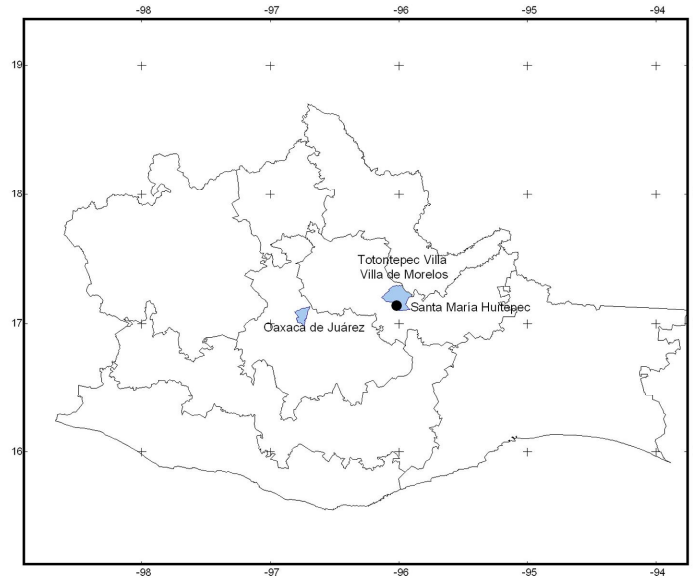


Figura 2. Localización de la zona de estudio

Los tipos de vegetación más comunes en los terrenos de la comunidad son, en orden de extensión, bosque de pino-encino, bosque de neblina, selva mediana perennifolia y bosque de coníferas. En el bosque de pino-encino crecen *Quercus candicans*, *Q. castanea*, *Q. crassifolia*, *Q. magniliifolia*, *Q. martinezii*, *Q. obtusata*, *Q. rugosa*, *Q. ocoticifolia*, *Q. laurina* y varias especies de *Pinus* (entre ellas *Pinus. Oocarpa* y *P. leiophylla*). En el bosque de neblina se encuentran *Licaria*, *Litsea*, *Quercus candicans*, *Liquidambar styraciflua*, *Pinus* sp., helechos arborescentes, *Cycas* y *Chamaedora*. Las especies más representativas del bosque de coníferas son *Abies religiosa*, *Cupressus lindleyi*, *Juniperus* sp. y *Pinus*.sp. También se llega a presentar bosque de galería a lo largo de los arroyos y ríos permanentes, donde el árbol más abundante es *Platanus* sp. En los terrenos desmontados y los de cultivo que se abandonan están *Bidens pilosa*, *Dyssodia tagetiflora* y *Zinnia* sp.

Los climas que se presentan en los terrenos de la comunidad son templado subhúmedo con lluvias todo el año, C(w2)(w), en las zonas de mayor altitud, donde la temperatura mínima llega a ser de -1°C y la máxima de 18°C, precipitación anual media de 1600 mm la mayor parte presentándose de mayo a octubre. En las zonas más bajas, "tierra caliente", el clima es semicálido húmedo con lluvias en verano, (A)C(w1)(w), donde la temperatura máxima promedio llega a ser de 27°C. En zonas intermedias se llegan a presentar climas de tipo templado semicálido-subhúmedo con lluvias intensas en verano, (A)C(m), Clima semicálido húmedo con lluvias en verano, (A)C(w1)(w). En toda la zona de estudio durante la mayor parte del año los vientos alisios provenientes del Golfo de México aportan una cantidad considerable de humedad en forma de neblina (Solano-Gómez, 2007).

3.1.2 Selección de las especies

Se realizó una selección de plantas aromáticas que fueron colectadas en estado fresco en la comunidad de Santa María Huitepec, de acuerdo a sus propiedades aromáticas, disponibilidad, frecuencia de uso y cuestionarios realizados a los habitantes (Ver anexo 1). Se colectó solamente la parte aérea de las plantas, empacando el material vegetal en bolsas de papel y transportándolo en cajas de cartón debidamente rotuladas, las especies fueron identificadas taxonómicamente, preparando un ejemplar de respaldo que fue depositado en el Herbario OAX del CIIDIR- IPN Unidad Oaxaca. Para cada especie muestreada se evaluó la presencia de aceite esencial utilizando un sistema de hidrodestilación convencional a presión atmosférica sin recirculación de aguas aromáticas (Figura 3).

3.1.3 Tratamientos previos a la hidrodestilación

El material colectado de cada especie seleccionada fue dividido en dos partes, una fue trabajada en estado seco y la otra fue deshidratada (Figura 4). El material en estado fresco de cada especie fue dividido en rectángulos de aproximadamente 2 cm de ancho por el largo de la hoja de la especie. El

material deshidratado de cada especie fue rehidratado durante 45 minutos antes de ser sometido a hidrodestilación



Figura 3. Dispositivo montado en el laboratorio para la hidrodestilación sin recirculación de aguas aromáticas



Figura 4. Secador empleado para deshidratar el material vegetal

3.1.4 Cinéticas de Hidrodestilación convencional para muestras en estado fresco

Las especies seleccionadas fueron sometidas a hidrodestilación convencional en un sistema con recirculación de aguas aromáticas (Figura 5), el cuál esta avalado por la farmacopeia francesa para evaluar el rendimiento y el tiempo de extracción del aceite esencial. Para ello se realizaron cinéticas de hidrodestilación utilizando 800 gramos de material vegetal fresco de cada especie en 3200 ml de agua (w/v 1:4). También se realizaron extracciones empleando una relación 1:10 con 300 gramos de muestra fresca, cada experimento se realizó por triplicado.

3.1.5 Cinéticas de Hidrodestilación convencional para muestras en estado seco

Debido a la poca cantidad de material vegetal en estado seco, se decidió utilizar una relación peso/volumen de 1:10 a partir de una base seca de 300 gramos, pues se observó que en las hidrodestilaciones para el material en estado fresco se obtuvieron los mejores rendimientos para todas las especies evaluadas, se aplicó el mismo tiempo de rehidratación (45 minutos) y se utilizó el sistema de hidrodestilación convencional con recirculación de aguas aromáticas (Figura 5).



Figura 5. Dispositivo montado en el laboratorio para realizar las hidrodestilaciones convencionales con recirculación de aguas aromáticas.

3.1.6 Cinéticas de Hidrodestilación asistida por microondas para las muestras en estado seco

Se llevaron a cabo empleando la misma cantidad de materia prima y solvente utilizados en las hidrodestilaciones convencionales para las muestras en estado seco, pero en este caso la fuente de calentamiento fue un horno de microondas convencional modificado marca Samsung modelo MW1235WB de 1.1 pies³ de capacidad, salida de frecuencia de 2450 MHz y potencia de 1000 W (Figura 6).



Figura 6. Dispositivo montado en el laboratorio para realizar hidrodestilaciones asistidas por microondas con recirculación de aguas aromáticas

3.1.7 Caracterización del aceite esencial por medio del Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas

El aceite esencial obtenido de cada muestra fue analizado en un Cromatógrafo de gases (AGILENT TECHNOLOGIES modelo 6890 N) acoplado a un espectrómetro de masas (JEOL-JMS-GC MATE III). Se utilizó una columna HP5 de 30 m de longitud, con un diámetro interno de 0.32 mm, un grosor de 0.25 μm . La temperatura inicial del horno fue de 30° C, la cual se elevó hasta 300° C a una velocidad de 8° C/min. La temperatura del inyector y del detector fue de 300° C, se utilizó helio como gas de arrastre, inyectando 1 μl de muestra.

4. Resultados

4.1 Especies seleccionadas

La tabla 4.1 muestra las especies seleccionadas en este trabajo de acuerdo a los criterios considerados para la elección de plantas aromáticas.



Figura 7. *Arracacia* sp.



Figura 8. *Baccharis heterophylla*



Figura 9. *Clinopodium laevigatum*



Figura 10. *Peperomia obtusifolia*



Figura 11. *Persea americana*



Figura 12. *Salvia elegans*

Tabla 4.1 Especies aromáticas seleccionadas

Nombre científico	Familia	Nombre común	Usos en medicina tradicional	Compuestos
<i>Arracacia</i> sp. (Figura 7)	Apiaceae	Took (mixe)	<i>Pimpinella anisum</i> (Apiaceae) la cocción de semillas en agua caliente es usada como carminativa, antiséptica, diurética, digestiva, remedio de insomnio y constipación (Bisset, 1994), desordenes digestivos, ginecológicos y anticonvulsivos (Abobrahim et al., 1970). Los frutos y la parte aérea de <i>Arracacia toluensis</i> han sido usados como carminativos y estimulante digestivo junto con <i>Arracacia atropurpurea</i> (Martínez, 1989). La especie <i>Arracacia</i> sp. no tiene uso conocido por los habitantes de la zona de estudio.	Las especies de <i>Arracacia vaginata</i> y <i>Arracacia nelsonii</i> obtuvieron compuestos tales como: piranocoumarinas, fenilpropanoides y monoterpenoides (Calderón y Ríos, 1975; Delgado y Garduño, 1987; Figueroa et al., 2007). El aceite esencial de <i>Arracacia toluensis</i> obtenido por hidrodestilación de la parte aérea de la planta en el trabajo realizado por Figueroa et al. (2007), fue analizado por GC-MS, obteniendo los siguientes compuestos mayoritarios osthol, suberosina, alcohol bencílico, termine-4-ol, y α -cadineno y demostrando su actividad espasmolítica, esta propiedad puede ser útil para regular desordenes gastrointestinales asociados con indigestión o anomalías en el movimiento gastrointestinal.
<i>Baccharis heterophylla</i> (Figura 8)	Compositae	Chamizo, Kuxoox (mixe)	Las plantas de esta familia han sido usadas para dolores de cabeza, diabetes y desordenes hepatobiliares (Lago et al., 2008). La especie <i>Baccharis heterophylla</i> es empleada en la zona de estudio para calmar dolores dentales.	Varias especies <i>Baccharis</i> fueron investigadas químicamente de acuerdo a la diversidad de metabolitos como sesquiterpenos, flavonoides y cromenos (Verdi et al., 2005). Diversos terpenoides, mayormente monosésquiterpenos y sesquiterpenos han sido detectados en el aceite esencial de las especies <i>Baccharis articulata</i> (Agostini et al., 2005), <i>Baccharis caprarillia</i> (Ferracini et al., 1995), <i>Baccharis cognata</i> (Agostini et al., 2005),

Hidrodestilación y caracterización del aceite esencial de plantas medicinales de Santa María Huitepec, Oaxaca.

				<i>Baccharis cordobensis</i> (Zunino et al., 2000). En un estudio fitoquímico y farmacológico de las hojas de <i>Baccharis decusata</i> se han detectado flavonoides, saponinas, triterpenos y compuestos fenólicos en el extracto alcohólico el cual demostró actividad antiinflamatoria (Salama et al., 1989). Jakupovic et al. (1990), analizaron por HPLC el extracto metanólico de <i>Baccharis heterophylla</i> encontrando los siguientes compuestos: squaleno, D-germacreno, cariofileno, epóxido de cariofileno, 4á-hidroxisgermacre-1 (10)E, 5 E-diene, fitol, espatulenol, maniladiol y ácido oleanólico.
<i>Clinopodium laevigatum</i> (Figura 9)	Lamiaceae	Hierba de borracho, poleo, Yuujkxaky (mixe)	En Bulgaria la especie <i>Clinopodium vulgare</i> es empleada para curar lesiones y tratar verrugas causadas por infecciones virales (Dzhambazov, 2002). El uso de la especie <i>Clinopodium laevigatum</i> por los habitantes de la comunidad es para enfermedades del estómago, resaca y para condimentar de alimentos.	Las especies del género <i>Clinopodium</i> contienen triterpenos y saponinas triterpenoides también conocidas como sustancias bioactivas, <i>Clinopodium vulgare</i> de los cuáles el hidrocarburo saturado hentriacontano (C ₁₆ H ₆₄), extraído con cloroformo, ha sido comprobada su actividad antitumoral cuando fue evaluado en células tumorales de pulmón (Balik,2002).Por otra parte, Pérez-Pacheco et al. (1994) ha utilizado el extracto acuoso de <i>Clinopodium laevigatum</i> para evaluar su actividad larvicida contra el mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i> .
<i>Peperomia obtusifolia</i> (Figura 10)	Piperaceae	No conocido	Algunas especies de <i>Piper</i> son utilizadas en la medicina tradicional como analgésico para el dolor de dientes (Gatti, 1985). En la zona de estudio la especie <i>Peperomia</i>	Parmar et al. (1997) reportan que se ha detectado cantidades significativas de safrol, dilapiol y miristicina en especies de este género. Algunas especies de

Hidrodestilación y caracterización del aceite esencial de plantas medicinales de Santa María Huitepec, Oaxaca.

			<p><i>obtusifolia</i> es usada por los habitantes como cicatrizante de heridas y quemaduras.</p>	<p><i>Peperomia</i> han sido usadas en medicina tradicional por ejemplo, <i>Peperomia japonica</i> Makino ha sido reportada para el tratamiento de tumores malignos (Dictionary of Chinese Herbal Drugs, 1978). Las especies de <i>Peperomia</i> son también conocidas como plantas ornamentales teniendo importantes aplicaciones para el tratamiento de inflamación, asma, úlcera gástrica, como analgésico y agente antibacterial (Arrigon-Blank et al, 2004; Felipe et al.,2007). Estudios químicos han demostrado que el género <i>Piper</i> tiene muchos compuestos incluyendo amidas insaturadas, flavonoides, lignanos, terpenos, esteroides, propenilfenoles, y alcaloides, (Facundo et al., 2005; Parmar et al., 1997; Navickiene et al., 2000). Las especies de este género han sido extensivamente investigadas como una fuente natural de nuevos productos naturales con potencial antimicrobiano, antitumoral y actividad insecticida (Konishi et al., 2005; Sachetti et al., 2005, Velozo et al., 2005). En contraste con los estudios extensivos de los compuestos del género <i>Piper</i>, sólo han sido reportados pocos estudios fitoquímicos acerca de especies de <i>Peperomia</i>, como los que reportan investigaciones previas de algunas especies donde se ha demostrado la presencia de flavonoides (Aqil et al.,1993), derivados del benzopirano (Salazar et al.,2005), secolignanos (Govindachari et al.,1998), terpenos,</p>
--	--	--	--	---

Hidrodestilación y caracterización del aceite esencial de plantas medicinales de Santa María Huitepec, Oaxaca.

				<p>arilpropanoides, compuestos fenólicos (Li et al.,2003) y aceites esenciales (Zoghbi et al.,2005). De los metabolitos secundarios que han sido aislados de las especies de <i>Peperomia</i> se encuentran por ejemplo los secoliganos de <i>Peperomia glabella</i> (Monache y Compagnone, 1996) y <i>Peperomia dindigulensis</i> (Govandachari et al, 1998), ciclobutano de <i>Peperomia pellucida</i> (Bayma et al., 2000). Junto con estos compuestos, también se han caracterizado componentes fenólicos y de acilfluoroglucinol con cadenas alifáticas que han sido aislados de especies tales como <i>Peperomia clusifolia</i> (Seeram et al.,1998), <i>Peperomia vulcanica</i> (Mbah et al.,2002), <i>Peperomia obtusifolia</i> (Tanaka et al., 1998), <i>Peperomia galiodes</i> (Mahiou et al.,1996) y <i>Peperomia proctorii</i> (Seeram et al.,2000).</p>
<p><i>Persea americana</i> (Figura 11)</p>	Lauraceae	<p>Aguacatillo, Xiits áá (mixe)</p>	<p>El aguacatillo (<i>Persea americana</i>) es una de las plantas más ampliamente usadas en medicina tradicional. El hueso, fruto y hoja son usados en la medicina tradicional en Sudamérica, el oeste de India y África como remedio de diversas enfermedades, el fruto es usado para el tratamiento de la disentería, el jugo de la hoja tiene actividad antibiótica, el extracto acuoso de la hoja tiene un prolongado efecto hipertensivo, mientras que la decocción de la hoja es usada como remedio para la diarrea, dolor de garganta, hemorragias y para regular la menstruación (Morton, 1987).</p>	<p>Se ha demostrado que el extracto de la hoja de <i>Persea americana</i> tiene actividad antiviral contra el Herpes simple tipo I (De Almeida et al.,1998), virus de inmunodeficiencia humana I (Wigg et al., 1996) y adenovirus (De Almeida et al.,1998), tiene efectos antiinflamatorios (Adeyemi et al.,1992; Guevarra et al., 1998) y antihipertensivos (Adeboye et al.,1999, Girow et al., 1999). Estudios experimentales y epidemiológicos han demostrado que elevados niveles de colesterol en la sangre constituye un factor de alto riesgo para provocar enfermedades coronarias del corazón (Watts et al., 1994; Castelli, 1988).</p>

Hidrodestilación y caracterización del aceite esencial de plantas medicinales de Santa María Huitepec, Oaxaca.

				<p>Muchandi (2005). Por esta razón Brai (2007) evaluó el efecto del extracto acuoso y metanólico de las hojas de <i>Persea americana</i> en los niveles de glucosa y lípidos en la sangre de ratas albinas macho, estableciendo 4 grupos de evaluación de 6 ratas cada uno, dos de ellos, observando que el extracto acuoso tiene mayor efecto en la disminución de glucosa y colesterol en la sangre que el extracto metanólico, la dosis administrada de ambos extractos fue de 10 mg/kg de peso de la rata, estos resultados comparados con los obtenidos del trabajo de Muchandi (2005) son mas optimistas ya que el último autor realizó su experimentación usando una dosis de 200 mg/kg de peso de la rata, se debe tomar en cuenta que esta dosis fue obtenida de una maceración y la dosis de Brai (2007) era producto de una extracción soxhlet, ambos autores obtienen el mismo efecto que es la disminución de los niveles de glucosa en la sangre de las ratas por medio del extracto acuoso de las hojas de <i>Persea americana</i> además de su efecto adicional en la disminución de los niveles de colesterol en las sangre.</p>
<p><i>Salvia elegans</i> (Figura 12)</p>	<p>Labiatae</p>	<p>Mirto, Papuuk (mixe)</p>	<p>Uso medicinal no reportado en la comunidad, solo las flores de intenso color rojo eran empleadas por las mujeres para maquillarse.</p>	<p>Estudios realizados a la especie en <i>Salvia syriaca</i> (Ulubelen et al.,2000) demostraron su actividad cardiovascular benéfica al evaluar los diterpenoides: ferruginol, 4-dehydrosalvilimbinol, viridona, candidisol y salvisiarianona.</p>

Hidrodestilación y caracterización del aceite esencial de plantas medicinales de Santa María Huitepec, Oaxaca.

				<p>Adicionalmente reportes previos confieren actividad biológica antioxidante en <i>Salvia</i> nativas de la flora de Turquía, confirmando que este género tiene gran potencial en sistemas antioxidantes para la industria cosmética y de alimentos. En la medicina tradicional mexicana una infusión preparada de hojas y flores de <i>Salvia elegans</i> (Martínez, 1979), conocida comúnmente como "mirto", es empleada para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central. Esta planta constituye una de las especies más usadas en México para el tratamiento de la ansiedad y el insomnio (Aguilar et al., 1994; Herrera-Ruiz, 2006), 28 constituyentes aromáticos fueron identificados en el aceite esencial de <i>Salvia elegans</i>, mono y sesquiterpenoides como el trans-ocimene, linalool, β-cariopileno, germacreno D y espatulenol, así como los alcoholes alifáticos como el 2-propanol, 3-octanol y trans 3-hexenal (Makino et al., 1996).</p>
--	--	--	--	---

4.2 Cinéticas de hidrodestilación convencional para muestras en estado fresco y seco

4.2.1 *Arracacia* sp. Familia Apiaceae:

Los resultados obtenidos de las cinéticas de hidrodestilaciones convencionales y asistida por microondas en estado fresco y seco de *Arracacia* sp. se presentan en la tabla 4.2.

Tabla 4.2 Resultados obtenidos de las cinéticas de hidrodestilación convencional y asistida por microondas de la especie *Arracacia* sp.

Método de hidrodestilación	W(g) muestra	(%) Humedad	t (min) extracción	W (g) aceite esencial	Rendimiento % (base seca)
Convencional (F)	300.00	89.00	30	0.8	2.42
Convencional (S)	35.26	6.85	60	0	0
Asistida por microondas (S)	100.00	6.85	60	0	0

(g): gramos, (%):porcentaje,(min):minutos,(F):muestra en estado fresco,(S):muestra en estado seco.

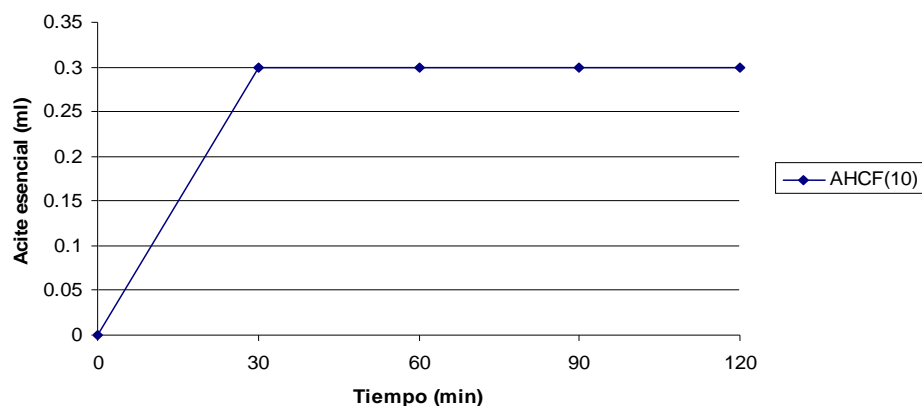


Figura 13. Gráfica de la cinética de hidrodestilación convencional y asistida por microondas para la muestra en estado fresco de la especie *Arracacia* sp.

4.2.2 *Baccharis heterophylla* Familia Compositae:

Tabla 4.3 Resultados obtenidos de las cinéticas de hidrodestilación convencional y asistida por microondas de la especie *Baccharis heterophylla*

Método de hidrodestilación	W(g) muestra	(%) Humedad	t (min) extracción	W (g) aceite esencial	Rendimiento % (base seca)
Convencional (F)	300.00	73.50	150	0.70	0.88
Convencional (S)	85.2	7.16	60	0.063	0.22
Asistida por microondas (S)	100.00	7.16	40	0.11	0.11

(g): gramos,(%):porcentaje,(min):minutos,(F):muestra en estado fresco,(S):muestra en estado seco.

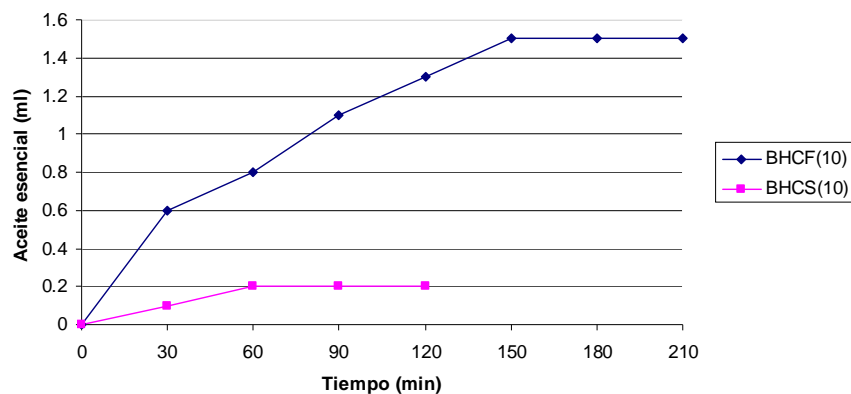


Figura 14. Gráfica de las cinéticas de hidrodestilación convencional para las muestras en estado fresco [BHCF(10)] y seco [BHCS(10)] de la especie *Baccharis heterophylla*.

4.2.3 *Clinopodium laevigatum* Familia Lamiaceae:

Tabla 4.4 Resultados obtenidos de las cinéticas de hidrodestilación convencional y asistida por microondas de la especie *Clinopodium laevigatum*

Método de hidrodestilación	W(g) muestra	(%) Humedad	t (min) extracción	W (g) aceite esencial	Rendimiento % (base seca)
Convencional (F)	300.00	72.40	60	1.29	1.55
Convencional (S)	90.37	7.16	90	0.59	0.66
Asistida por microondas (F)	100.00	72.4	30	0.42	1.52
Asistida por microondas (S)	100.00	7.16	20	0.72	0.72

(g): gramos,(%):porcentaje,(min):minutos,(F):muestra en estado fresco,(S):muestra en estado seco.

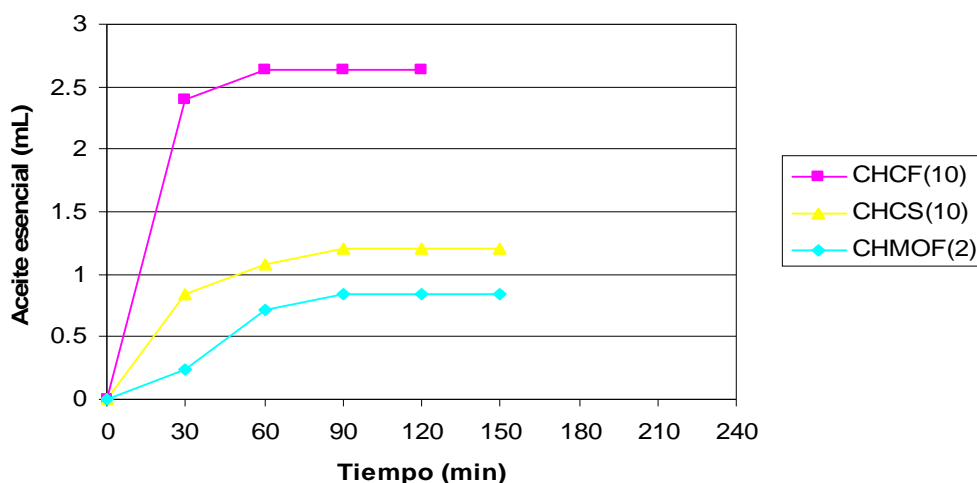


Figura 15. Gráfica de las cinéticas de hidrodestilación convencional para las muestras en estado fresco [CHCF(10)], seco [CHCS(10)] y asistida por microondas [CHMO(2)] de la especie *Clinopodium laevigatum*.

4.2.4 *Peperomia obtusifolia* Familia Piperaceae:

Tabla 4.5 Resultados obtenidos de las cinéticas de hidrodestilación convencional y asistida por microondas de la especie *Peperomia obtusifolia*

Método de hidrodestilación	W(g) muestra	(%) Humedad	t (min) extracción	W (g) aceite esencial	Rendimiento % (base seca)
Convencional (F)	300.00	85.50	150	0.69	1.58
Convencional (S)	47.00	8.06	120	0.39	0.76
Asistida por microondas (S)	100.00	8.06	50	0.38	0.38

(g): gramos,(%):porcentaje,(min):minutos,(F):muestra en estado fresco,(S):muestra en estado seco.

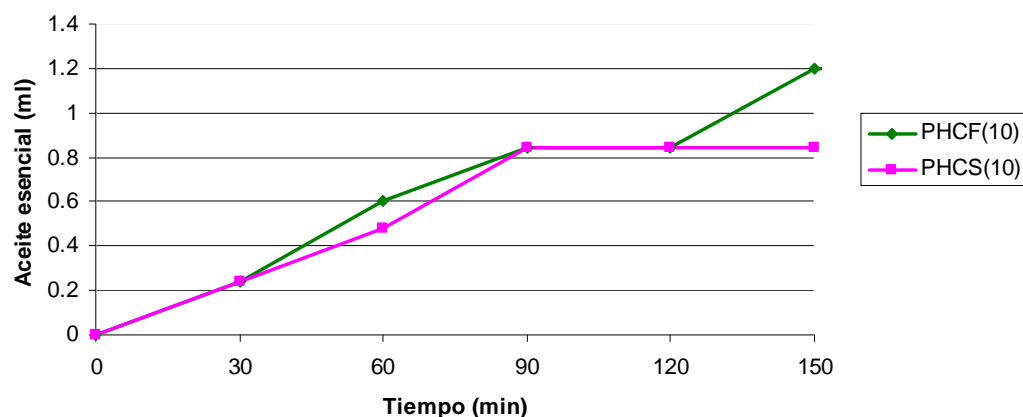


Figura 16. Gráfica de las cinéticas de hidrodestilación convencional para las muestras en estado fresco [PHCF(10)] y seco [PHCS(10)] de la especie *Peperomia obtusifolia*.

4.2.5 *Persea americana* Familia Lauraceae:

Tabla 4.6 Resultados obtenidos de las cinéticas de hidrodestilación convencional en estado fresco y seco de la especie *Persea americana*

Método de hidrodestilación	W(g) muestra	(%) Humedad	t (min) extracción	W (g) aceite esencial	Rendimiento % (base seca)
Convencional (F)	300.00	76.30	90	1.59	2.23
Convencional (S)	76.90	8.16	30	0.23	0.30
Asistida por microondas (S)	100.00	8.16	20	0.18	0.18

(g): gramos,(%):porcentaje,(min):minutos,(F):muestra en estado fresco,(S):muestra en estado seco.

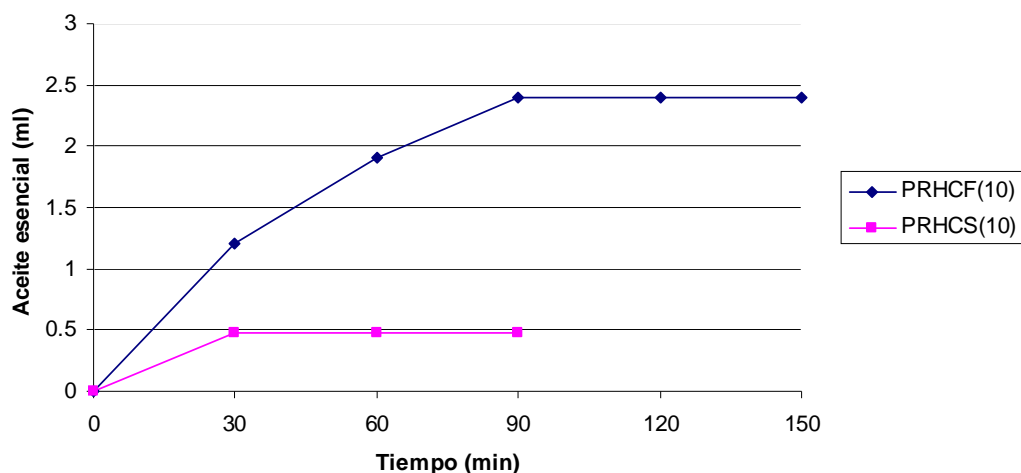


Figura 17. Gráfica de las cinéticas de hidrodestilación convencional para las muestras en estado fresco [PRHCF(10)] y seco [PRHCS(10)] de la especie *Persea americana*.

4.2.6 *Salvia elegans* Familia Labiatae:

Tabla 4.7 Resultados obtenidos de las cinéticas de hidrodestilación convencional y asistida por microondas de la especie *Salvia elegans*

Método de hidrodestilación	W(g) muestra	(%) Humedad	t (min) extracción	W (g) aceite esencial	Rendimiento % (base seca)
Convencional (F)	300.00	80.30	180	1.59	2.23
Convencional (S)	66.20	6.98	30	0.23	0.30
Asistida por microondas (S)	100.00	6.98	30	0.08	0.08

(g): gramos, (%):porcentaje, (min):minutos, (F):muestra en estado fresco, (S):muestra en estado seco.

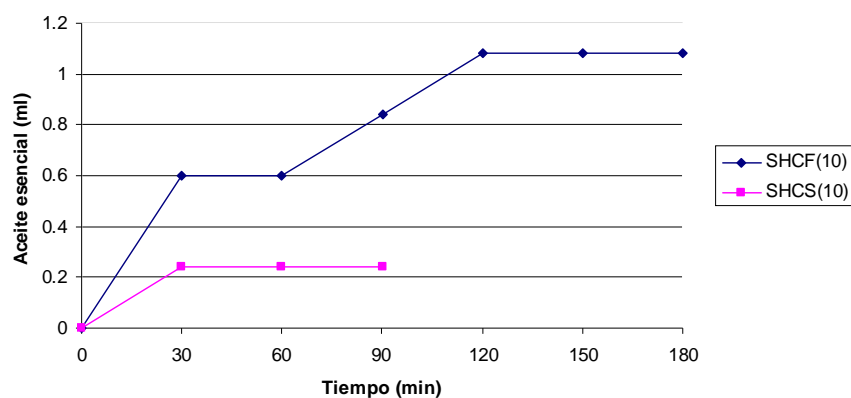


Figura 18. Gráfica de las cinéticas de hidrodestilación convencional para las muestras en estado fresco [SRHCF(10)] y seco [SRHCS(10)] de la especie *Salvia elegans*.

4.3 Caracterización del aceite esencial de las especies seleccionadas

4.3.1 *Arracacia* sp.

Tabla 4.8 Composición química del aceite esencial obtenido de la muestra en estado fresco de *Arracacia* sp. y analizado por GC-MS

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Abundancia (área del pico)	%
A-pineno	7.30	2105984	4.19
B-pineno	8.23	21558944	43.00
α -mirceno	8.43	738560	1.47
α -felandreno	9.27	16571984	33.02
2-Cyclohexen-1-one,4-(1-methylethyl)	12.32	3043824	6.06
α -cubebeno	15.64	663520	1.32
Epi-biclicosquifelandreno	15.85	1229856	2.45
Cariofileno	16.38	2948496	5.90
Ciclohexane,1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)	17.69	454096	0.90
Naphtalene,1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)	17.95	579744	1.15
1-methylene-2b-hydroxymethyl-3,3-dimethyl-4b-(3-methylbut-2-enyl)cyclohexane	18.93	281984	0.56

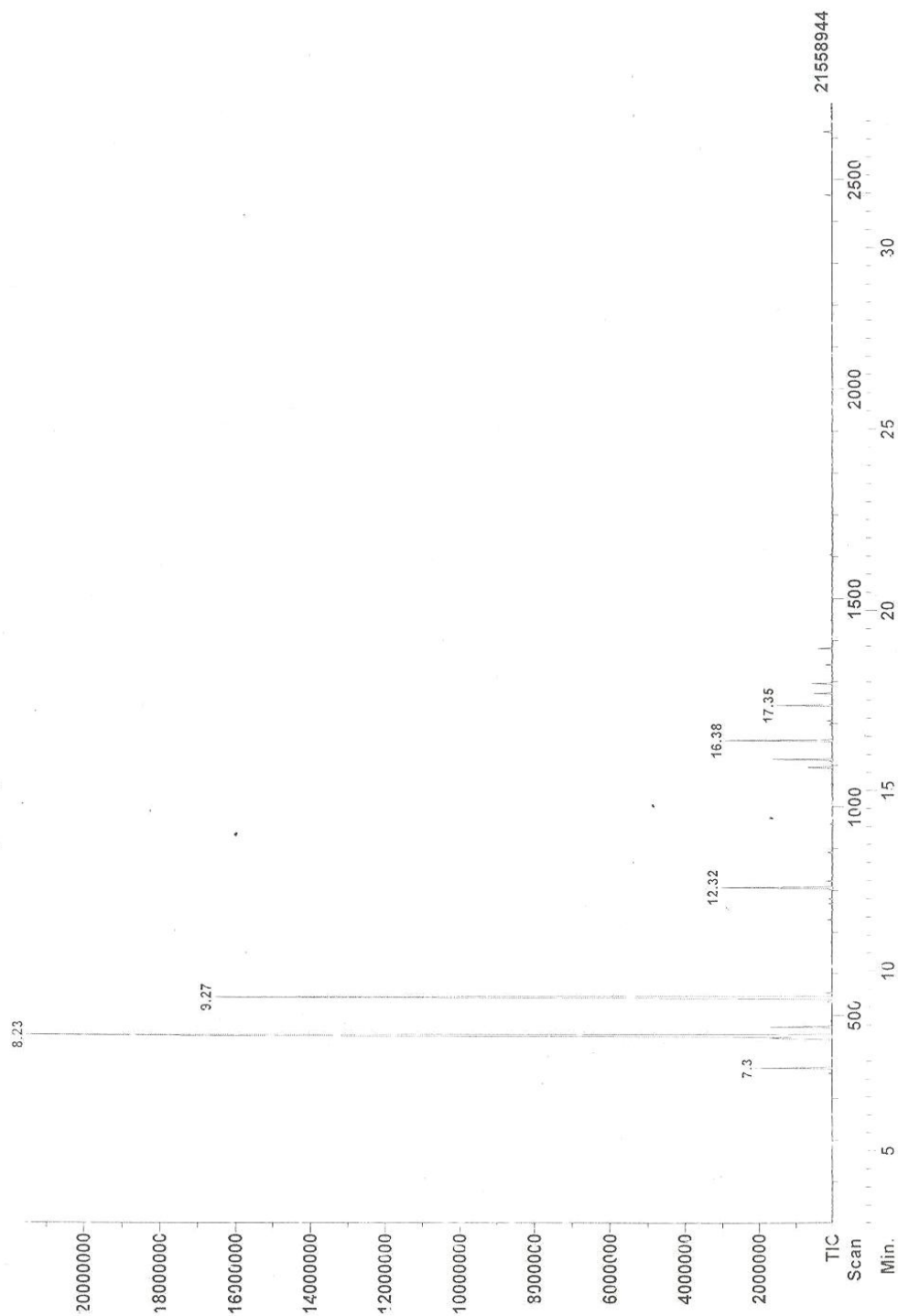


Figura 19. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Arracacia* sp.

Tabla 4.9 Composición del aceite esencial obtenido de la muestra en estado fresco de *Baccharis heterophylla* analizado por GC-MS

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Abundancia (área del pico)	%
β -pineno	8.2	15393520	28.94
α -mirceno	8.45	10196000	19.17
d-limonene	9.23	7318384	13.76
Cyclohexane, 1-ethyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1á, 2á, 4á)]-	15.87	1613504	3.03
Cariofileno	16.38	4633456	8.71
Epi-biciclosesquifelandreno	17.35	1846112	3.47
Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1á, 2á, 4á)]-	17.58	2164800	4.07
3,7-Cyclodecadiene-1-methanol, alpha, alpha, 4,8-tetramethyl-, [s-(Z,Z)]	18.34	806512	1.52
1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1ar-(1aá, 4aá, 7á, 7aá, 7bá)]-	18.84	2512992	4.72
Oxido de β -cariofileno	18.93	2435008	4.58
2-naphthalenemethanol, 2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-á, á, 4a,8-tetramethyl-, [2R-(2á, 4aá, 8á)]-	19.89	964368	1.81
2-sec butyl-4,6-dinitro phenyl 3-methyl crotonate(binapacryl)	24.67	3290160	6.19

Tabla 4.10 Composición del aceite esencial obtenido de la muestra en estado seco de *Baccharis heterophylla* analizado por GC-MS

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Abundancia (área del pico)	%
β -pineno	8.2	20271840	26.10
α -mirceno	8.44	6049296	7.80
d-limonene	9.21	6503904	8.37
Cariofileno	16.38	4253600	5.47
1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1ar-(1aá, 4aá, 7á, 7aá, 7bá)]-	18.86	22448432	28.90
Oxido de cariofileno	18.94	14520528	18.70
Cubenol	19.6	727792	0.94
2-naphthalenemethanol, decahydro-á, á, 4 ^a -trimethyl-8-methylene, [2R-(2á, 4aá, 8aá)]-	19.86	1267456	1.63
2-sec butyl-4,6-dinitro phenyl 3-ethyl crotonate(binapacryl)	24.65	1617328	2.08

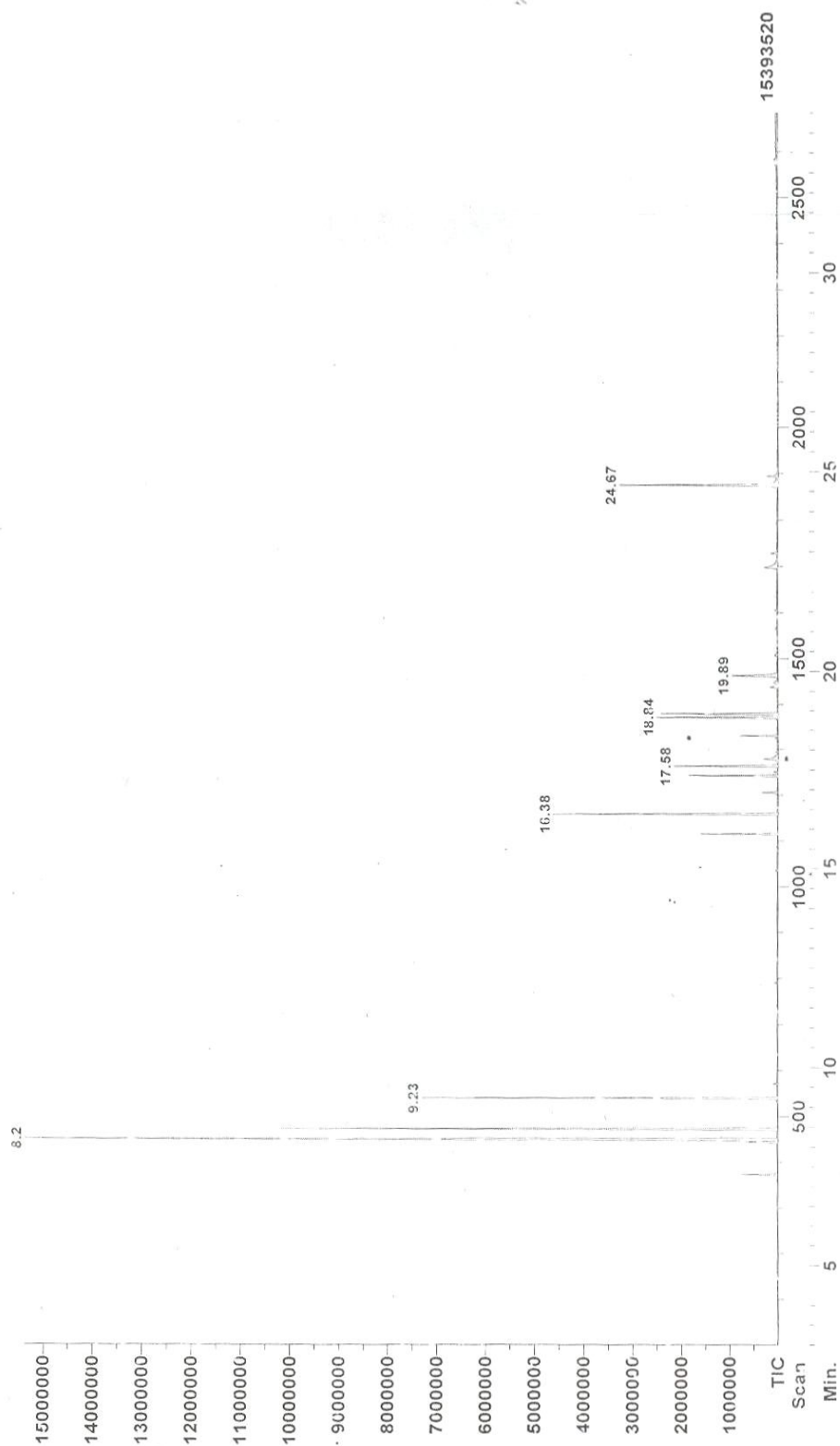


Figura 20. Cromatograma del aceite esencial obtenido de la especie *Baccharis heterophylla* en estado fresco

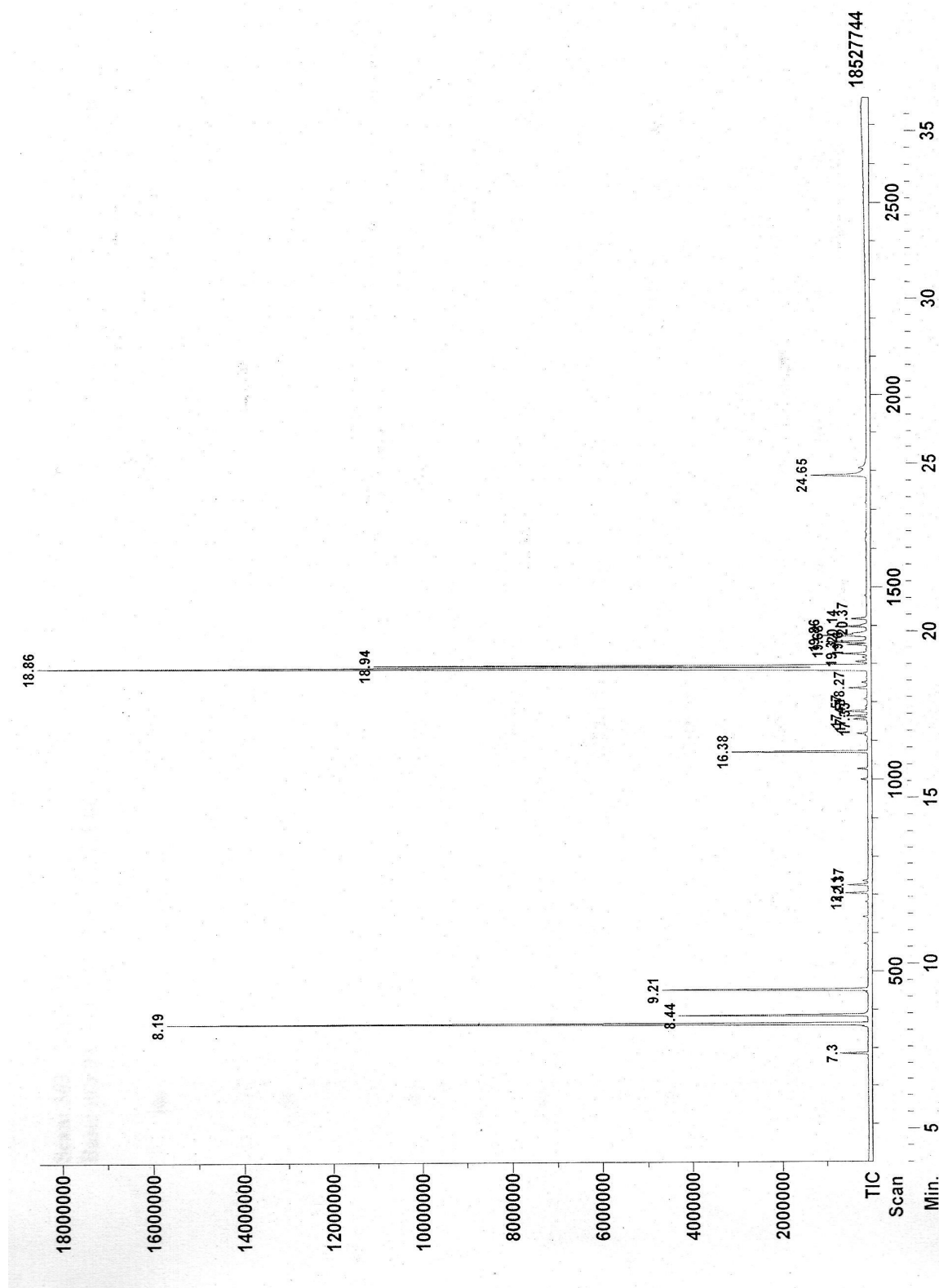


Figura 21. Cromatograma del aceite esencial obtenido de la especie *Baccharis heterophylla* en estado seco

Tabla 4.11 Composición del aceite esencial de *Clinopodium laevigatum* en estado fresco analizado por GC-MS

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Abundancia (área de pico)	%
Linalool	11.24	3661184	5.91
Acetato de octen-1-ol	11.44	4407408	7.12
Ácido ciclobutanecarboxílico, octil ester	11.67	1529216	2.47
Mentona	12.36	24270528	39.22
Isopulegona	13.91	4799680	7.75
7-Oxabicyclo[4.1.0] heptan-2-one, 6-methyl-3-(1-methylethyl)-	14.2	11300048	18.26
Ácido citronélico	17.3	8048128	13.00
Acetato de mentol	17.92	1772992	2.86
cyclohexane, 1-ethyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)	18.23	2087520	3.37

Tabla 4.12 Composición del aceite esencial de *Clinopodium laevigatum* en estado seco analizado por GC-MS

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Abundancia (área de pico)	%
Linalool	10.59	378352	3.13
Acetato de octen-1-ol	10.79	703632	5.84
Mentona	11.68	7232448	60.00
Isopulegona	13.26	360352	2.98
7-Oxabicyclo[4.1.0] heptan-2-one, 6-methyl-3-(1-methylethyl)-	13.52	3378800	28.03

Tabla 4.13 Composición del aceite esencial de *Clinopodium laevigatum* en estado seco obtenido por Hidrodestilación asistida por microondas analizado por GC-MS

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Abundancia (área de pico)	%
Linalool	11.24	3513440	5.00
Acetato de octen-1-ol	11.42	4320352	6.14
Ácido ciclobutanecarboxílico, octil ester	11.65	2228224	3.16
Mentol	12.55	24756816	35.17
Isopulegona	13.94	22938304	32.59
7-Oxabicyclo[4.1.0] heptan-2-one, 6-methyl-3-(1-methylethyl)-	14.18	9873936	14.03
cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)	18.23	2755040	3.91

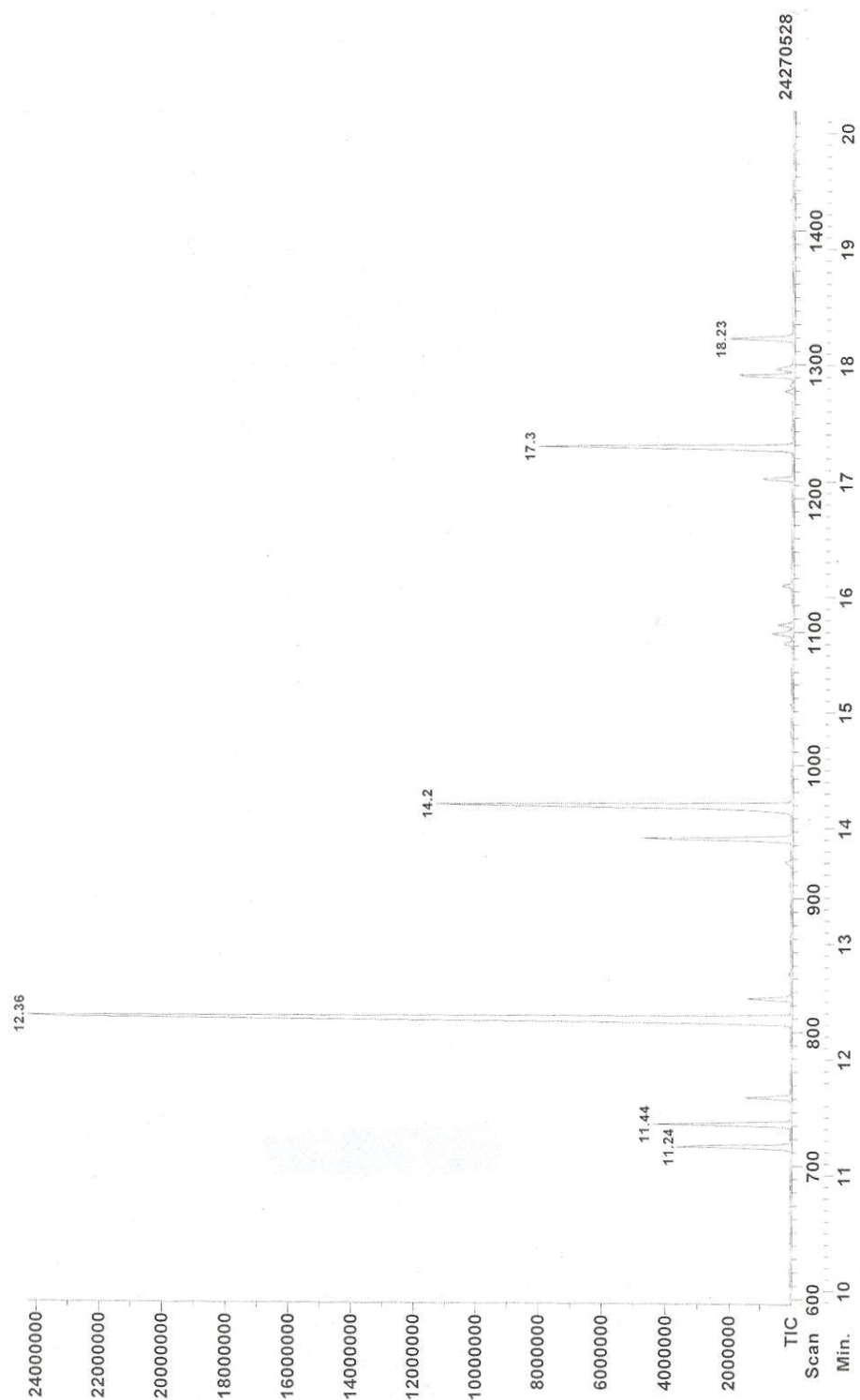


Figura 20. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Clinopodium laevigatum* en estado fresco

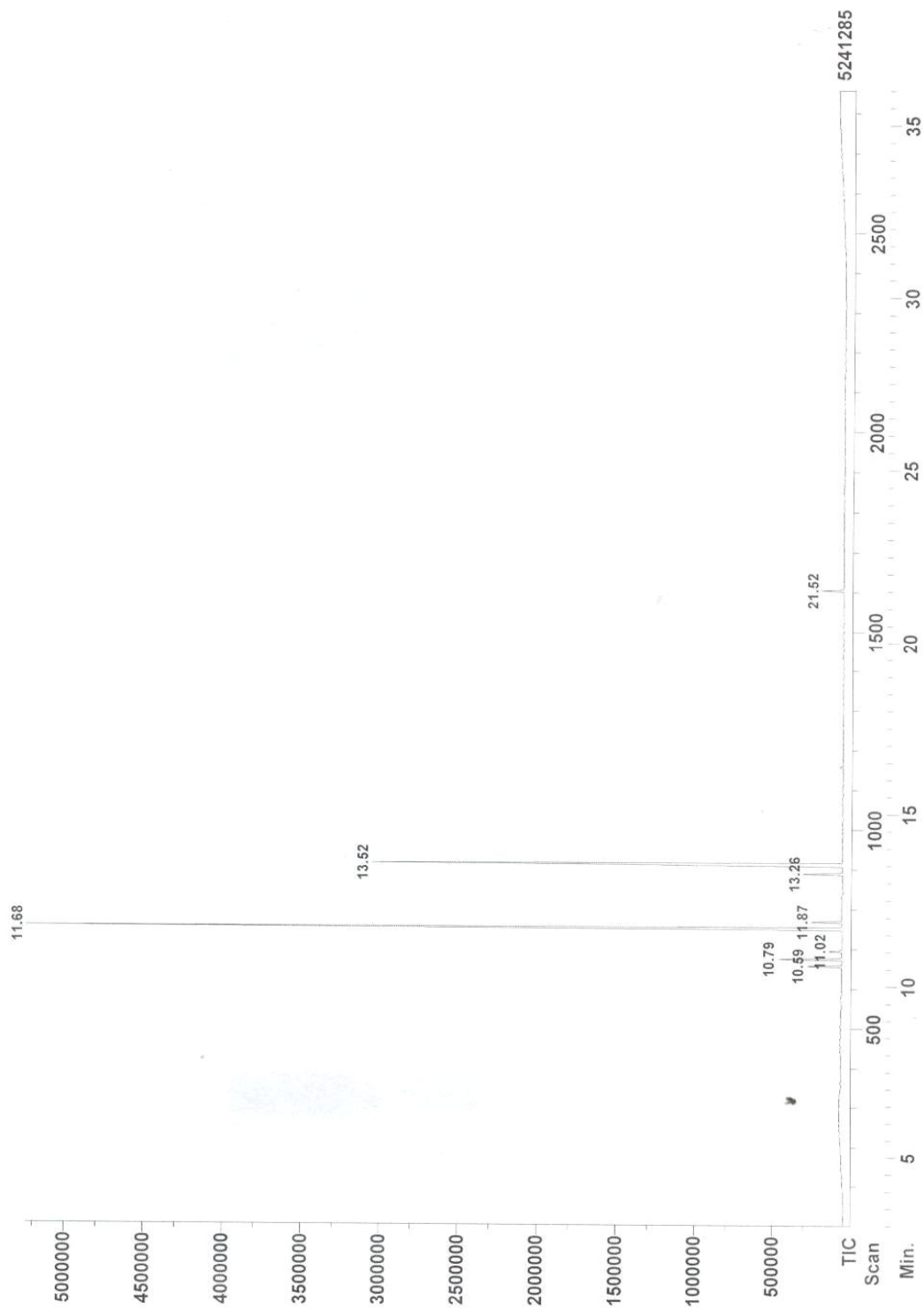


Figura 22. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Clinopodium laevigatum* en estado seco

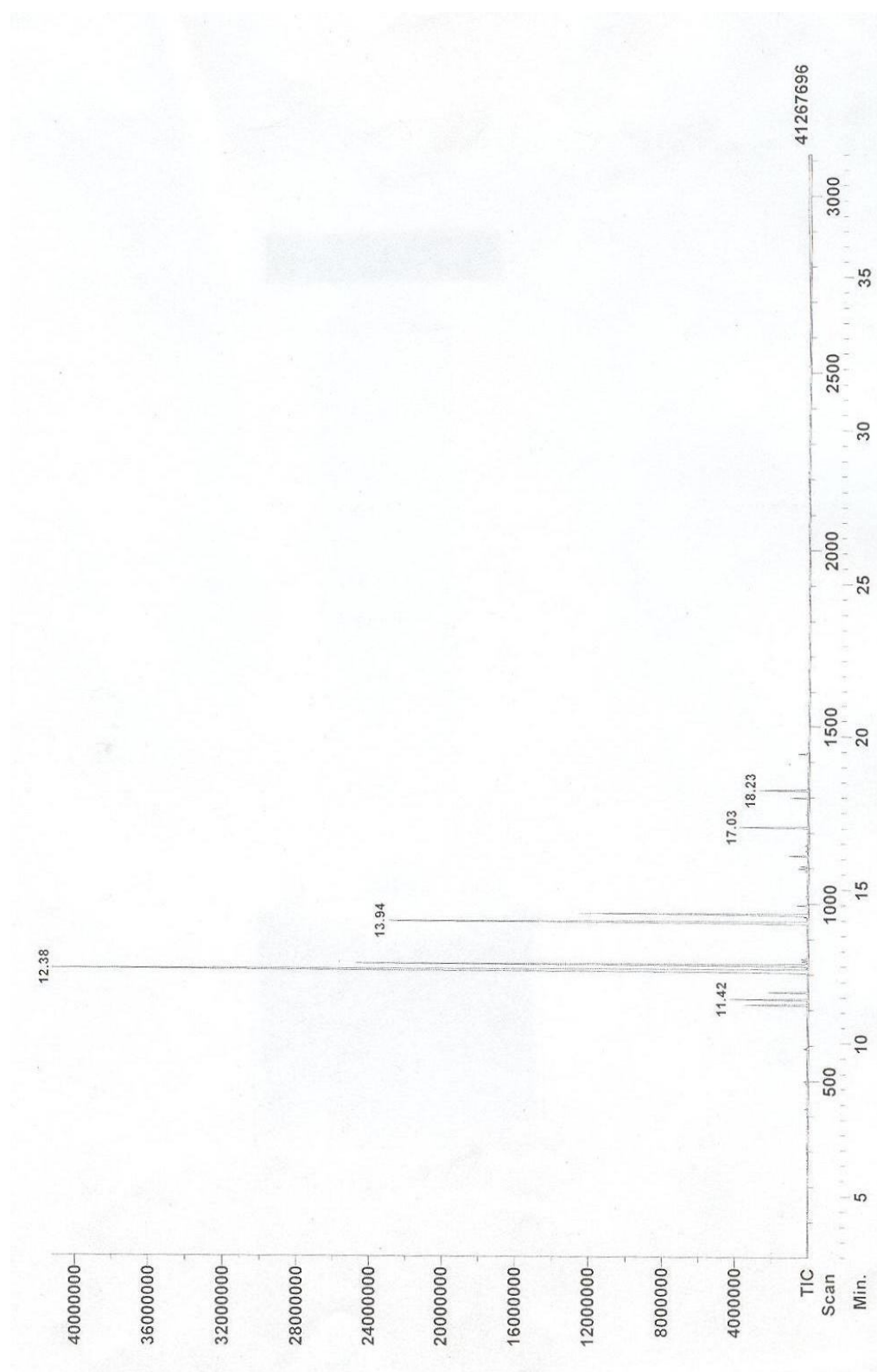


Figura 23. Cromatograma del aceite esencial obtenido por hidrodestilación asistida por microondas de la especie *Clinopodium laevigatum* en estado fresco

Tabla 4.14 Composición del aceite esencial de *Peperomia obtusifolia* en estado fresco analizado por GC-MS

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Abundancia (área del pico)	%
A-cubebeno	15.63	2628128	2.92
Cariofileno	16.40	12917456	14.34
naphtalene,1,2,3,5,6,8 ^a -haxahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl),(1S-cis)	17.95	2201568	24.65
1,6,10-dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl	18.53	24235136	26.91
1,3-Bus-(2-cylopropyl,2.methylcyclopropyl)-but-2-en-1-one	18.92	890272	0.98
Veridiflorol	19.08	8354368	9.27
2-naphtalenemethanol,1,2,3,4,4 ^a ,5,6,8 ^a -octahydro-á,á,4 ^a ,8-tetramethyl-,[2R-(2á,4aa,8aa)]-	19.94	2349248	2.61
A-bisabolol	20.39	36488768	40.51

Tabla 4.15 Composición del aceite esencial de *Peperomia obtusifolia* en estado seco analizado por GC-MS

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Abundancia (área de pico)	%
α-cubebeno	15.62	2403600	5.00
Cariofileno	16.38	10643328	22.15
1,4,7-Cycloundecatrieno,1,5,9,9-tetramethyl-,Z,Z,Z-	16.92	492368	1.02
Nanphtalene,1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-,(1á,4aa,8aa)	17.23	867248	1.80
Epizonarene	17.57	540704	1.13
naphtalene,1,2,3,5,6,8a-haxahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl),(1S-cis)	17.95	2765424	5.75
Nerolidol	18.48	5515808	11.48
Óxido de Cariofileno	18.93	10998224	22.90
Cubenol	19.53	761984	1.58
Epoxido de isoaromadendreno	19.96	3138704	6.53
Kauran-18-al,17-(acetyloxy)-,(4à)-	20.14	1282272	2.67
á-bisabolol	20.29	7774688	16.18

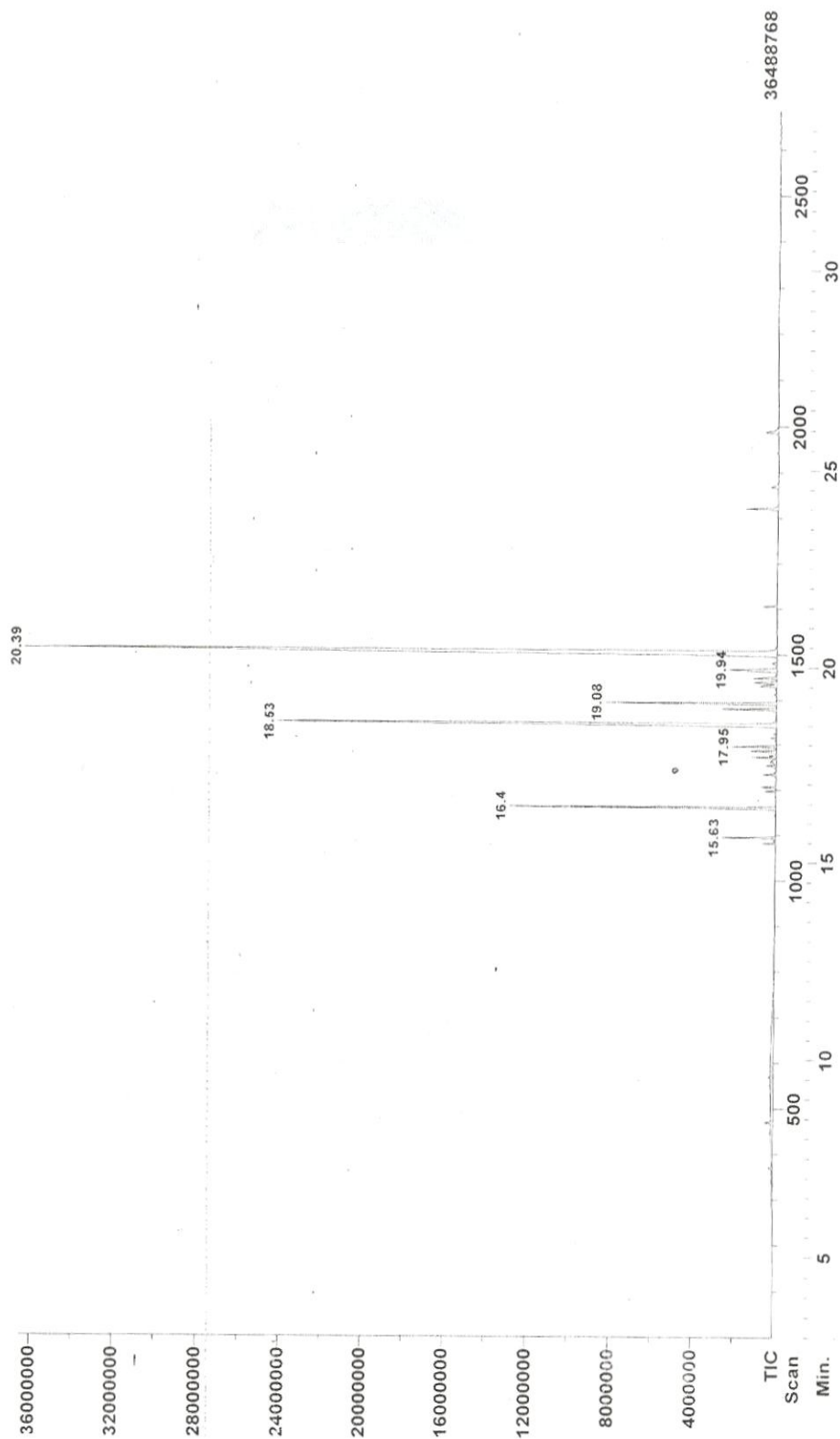


Figura 24. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Peperomia obtusifolia* en estado fresco

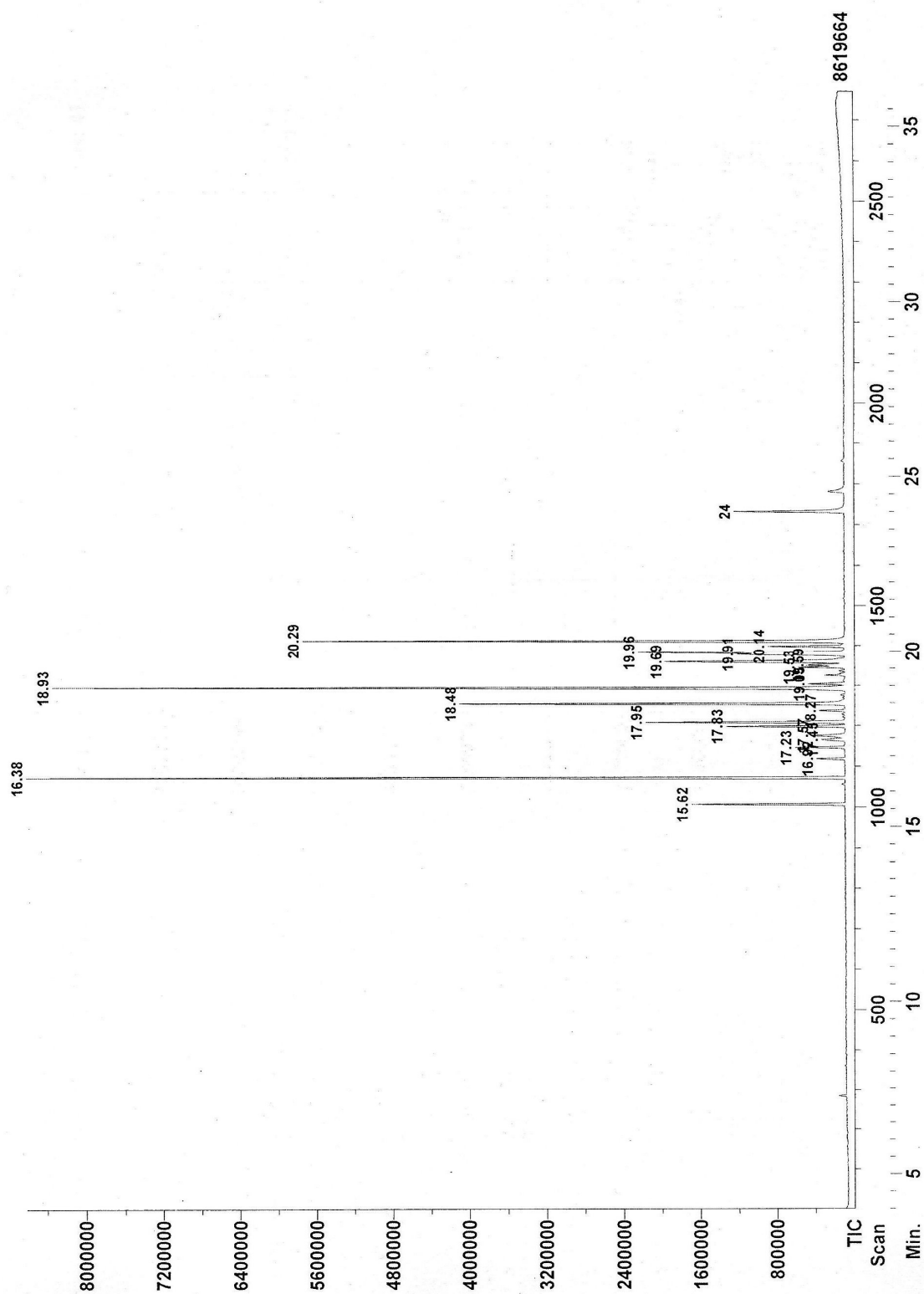


Figura 25. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Peperomia obtusifolia* en estado seco

Tabla 4.16 Composición del aceite esencial de *Persea americana* en estado fresco analizado por GC-MS

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Abundancia (área del pico)	%
Estragol	12.55	36756016	99.6

Tabla 4.17 Composición del aceite esencial de *Persea americana* en estado seco analizado por GC-MS

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Abundancia (área del pico)	%
Estragol	12.5	1260512	99.7

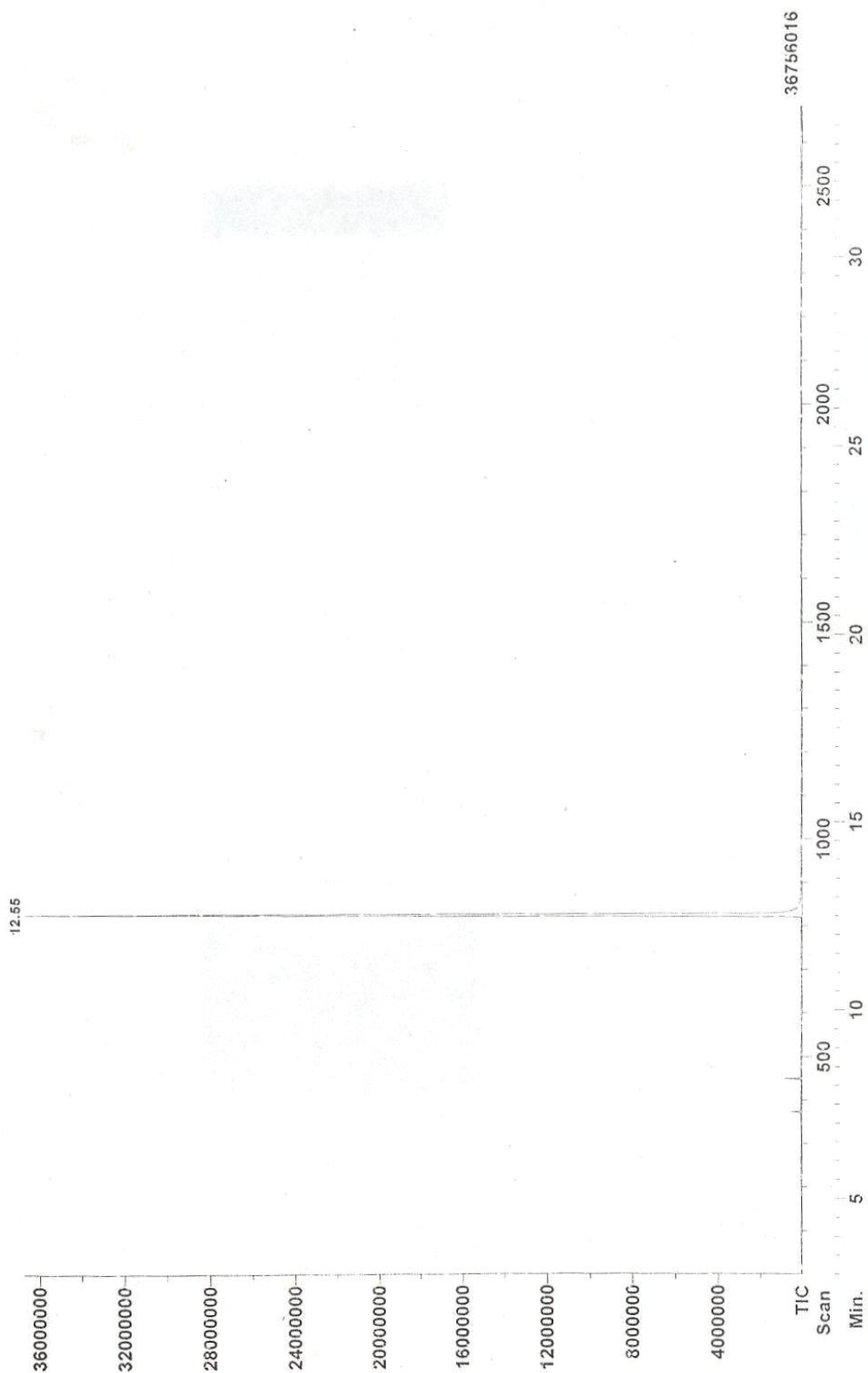


Figura 26. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Persea americana* en estado fresco

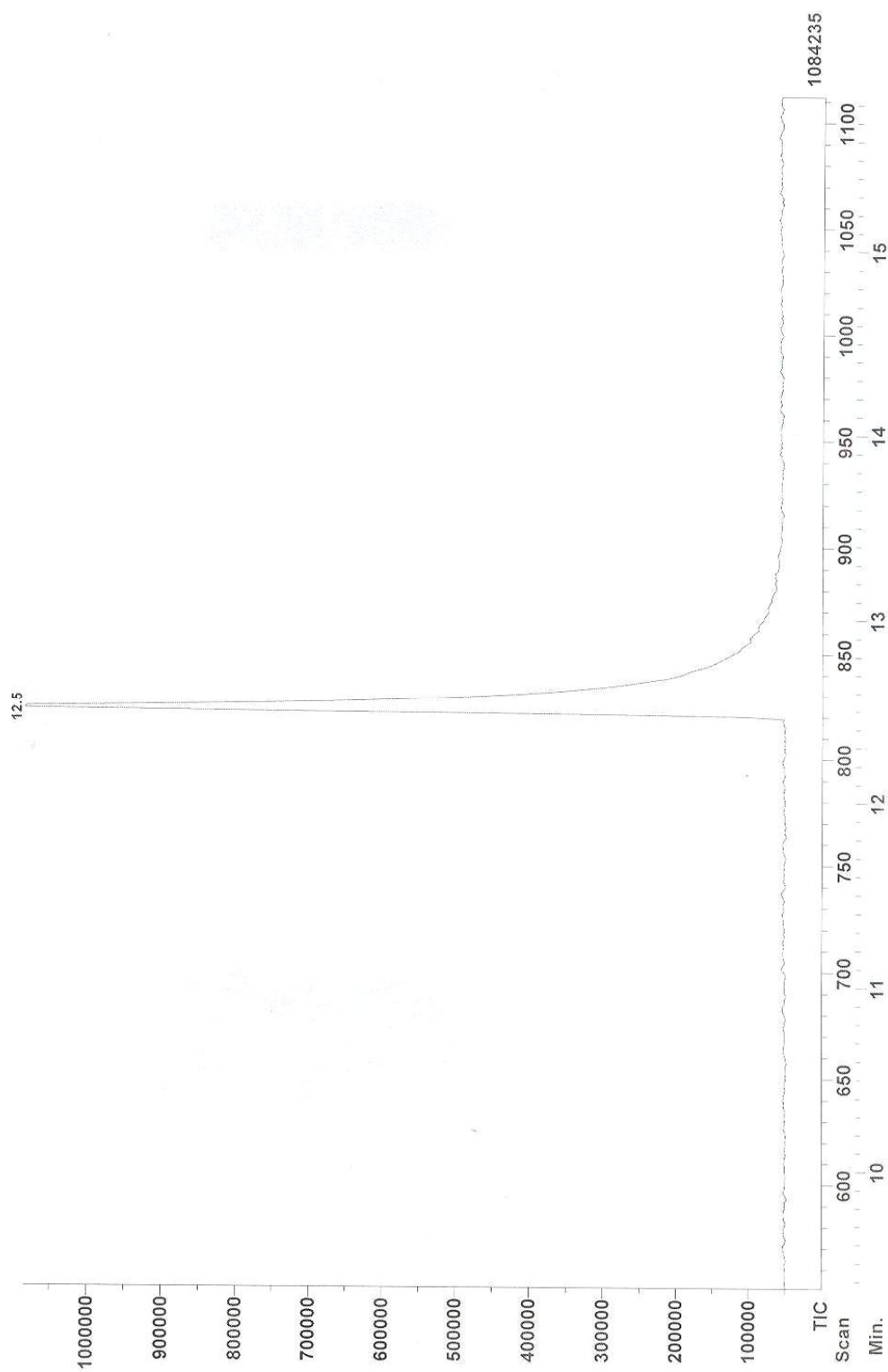


Figura 27. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Persea americana* en estado seco

Tabla 4.18 Composición del aceite esencial de *Salvia elegans* en estado fresco analizado por GC-MS

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Abundancia (área de pico)	%
2-Furancarboxylic acid,cyclobutyl ester	11.92	674048	3.76
Globulol	18.93	10619856	59.23
Guaiol	19.06	4202544	23.44
2-naphtalenemethanol, 2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-á,á,4a,8-tetramethyl-,[2R-(2á,4aá,8á)]-	19.88	2434384	13.58

Tabla 4.19 Composición del aceite esencial de *Salvia elegans* en estado seco analizado por GC-MS

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Abundancia (área de pico)	%
Linalool	10.59	2366192	23.40
Epi-biciclosesquifelandreno	17.23	256800	2.54
1-Hydroxy-1,7-dimethyl-4-isopropyl-2,7-cyclodecadiene	17.54	2980560	29.47
Selina-6-en-4-ol	17.86	1846096	18.26
Oxido de cariofileno	18.91	1598960	15.81
2-naphtalenemethanol, 1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydro-á,á,4a,8-tetramethyl-	19.58	765216	7.57
2-naphtalenemethanol, 2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-á,á,4a,8-tetramethyl-,[2R-(2á,4aá,8á)]-	19.89	2985712	29.52

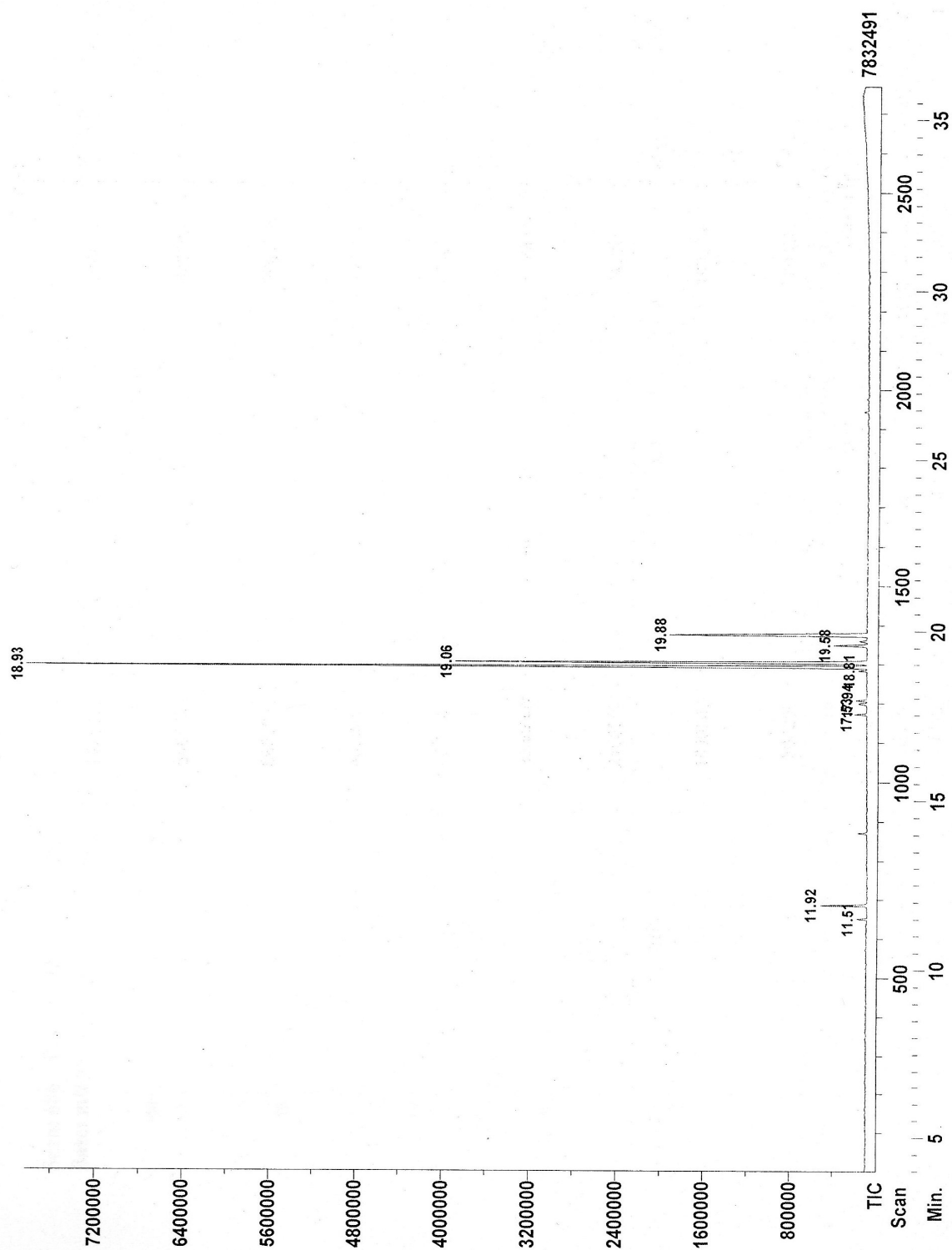


Figura 28. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Salvia elegans* en estado fresco

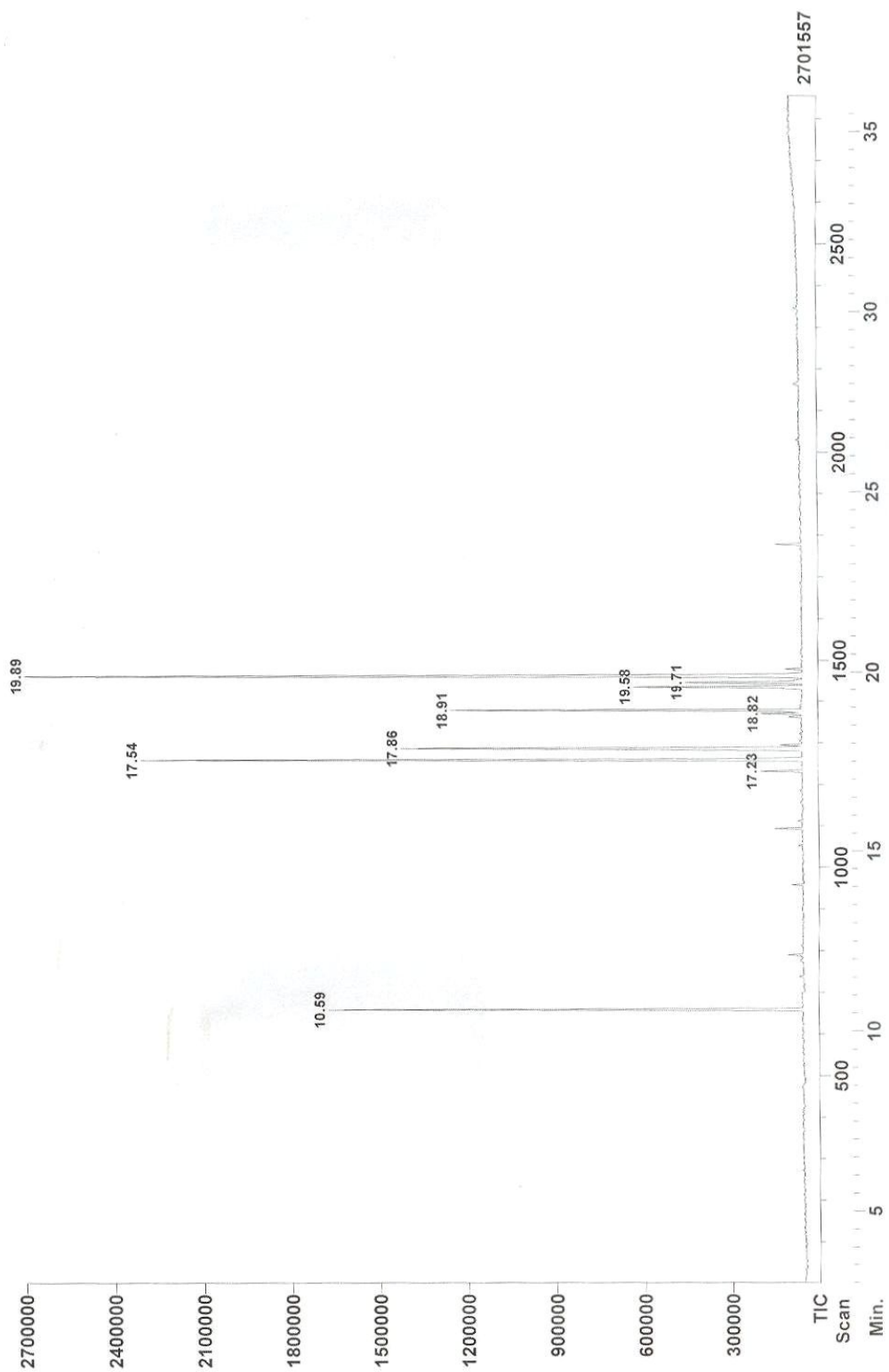


Figura 29. Cromatograma del aceite esencial de la especie *Salvia elegans* en estado seco

5. Discusión de resultados

Los resultados obtenidos de las hidrodestilaciones convencionales realizados en las muestras en estado y fresco de cada una de las especies seleccionadas demuestran que el mayor rendimiento de aceite esencial para todos los casos se obtiene de muestras en estado fresco, esto debido a la cantidad de material vegetal empleado.

Sin embargo en la composición química del aceite esencial de las especies evaluadas en fresco y en seco se presentan variaciones importantes que deberán tomarse en cuenta para la selección del estado de la materia prima, tales como:

Para la especie de *Arracacia* sp. sólo fue posible obtener aceite esencial en estado fresco de acuerdo a las condiciones de trabajo establecidas, la composición química de este aceite presenta como compuestos mayoritarios según la tabla 3.9 al β -pineno (43%) y α -felandreno (33.02%) de los cuáles el compuesto α -felandreno es un monoterpeno hidrogenado que tiene actividad larvicida contra *Aedes albopictus* (Cheng et al., 2008) conocido como mosquito tigre transmisor de enfermedades como la fiebre amarilla y el dengue empleando una concentración de 192.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$. En el caso de la especie *Baccharis heterophylla* se obtuvieron diferencias importantes en los compuestos mayoritarios caracterizados en estado fresco se obtuvieron los siguientes: β -pineno (28.94%), α -mircenol (19.17%) y d-limoneno (13.76%), en estado seco los compuestos mayoritarios son β -pineno (26.10%), 1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1a-1á,4aá,7aá,7bá]- (28.9%), óxido de cariofileno (18.70%).

Los compuestos caracterizados del aceite esencial de la especie *Clinopodium laevigatum* de la muestra en estado fresco de acuerdo a la tabla 3.12 presenta los siguientes compuestos mayoritarios: mentona (39.22 %), 7-Oxabicyclo [4.1.0] heptan-2-one, 6-methyl-3-(1-methylethyl)- (18.26%) y ácido citronílico (13.00%), en estado seco esta composición mayoritaria varía desapareciendo algunos compuestos y favoreciendo la presencia de otros según la tabla 3.13: Mentona (60%) y 7-Oxabicyclo [4.1.0] heptan-2-one, 6-methyl-3-(1-methylethyl) (28.03%).

La aplicación de hidrodestilación asistida por microondas para la muestra en estado fresco de esta especie (*Clinopodium laevigatum*) favorece la obtención de dos compuestos: mentol (35.17%) e isopulegona (32.59%) de los cuáles el mentol tiene uso importante en perfumería, cosméticos y como saborizante (Bathia et al., 2008). Isopulegona y Mentona son cetonas monoterpénicas constituyentes del aceite esencial de *Mentha pulegium*, cuyos trabajos de Mahboubi y Haghi (2008) demostraron su actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, *Salmonella typhimorium*, causantes de enfermedades estomacales; comprobando así el uso medicinal de esta especie. En el caso de la especie *Peperomia obtusifolia* de acuerdo a la tabla 3.15 y 3.16 los compuestos mayoritarios del aceite esencial de las muestras evaluadas en estado fresco y seco respectivamente son las siguientes: Cariofileno (14.34%), naphtalene,1,2,3,5,6,8a-haxahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl),(1S-cis) (24.65%),1,6,10-dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl (26.91%) y á-bisabolol (40.51%). En estado seco: Cariofileno (22.15%), nerolidol (11.48%), óxido de cariofileno (22.90%), á-bisabolol (16.18%). De los cuáles á-bisabolol es un compuesto presente en la *Matricaria chamomilla* de importante aplicación en cosmetología (Perbellini et al., 2004). De la especie *Persea americana* se obtiene el compuesto estragol, caracterizado como compuesto único presente en el aceite esencial de las muestras en estado fresco y seco de esta especie, este compuesto se encuentra también en especies como *Ocimum basilicum* (20-43%), *Pimpinella anisum* (1-5%), *Artemisa drancuculus* (60-75%), este compuesto es considerado con propiedades genotóxicas carcinogénicas después de una exposición crónica en dosis repetidas de 100 µg/día (Vincenzi et al., 2000). Hasta el momento el límite permitido para su uso en alimentos es de 0.05 mg/kg según acuerdo publicado por la Secretaría de Salud en el Diario Oficial de la Federación el día 17 de Julio del 2006. Para la especie *Salvia elegans* la caracterización del aceite esencial se presenta de la siguiente manera en estado fresco: Globulol (59.23%), guaiol (23.44%), 2-naphtalenemethanol,

2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-á,á,4a,8-tetramethyl-,[2R-(2á,4aá,8á)]- (13.58%); en estado seco Linalool (23.40%), 1-Hydroxy-1,7-dimethyl-4-isopropyl-2,7-cyclodecadiene (29.47%), Selina-6-en-4-ol (18.26%), óxido de cariofileno (15.81%), 2-naphtalenemethanol,2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-á,á,4a,8-tetramethyl-,[2R-(2á,4aá,8á)] (29.52%).

Referencias

- Aboabrahim, Z., 1970. Zakhirah Kharazmshahi, vol. 2, Nacional Works Publications, Teheran, p. 141. In: Boskabady, M.H., Ramazani-Assari, M., 2001. Relaxant effect of *Pimpinella anisum* on isolated guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s). *Journal of Ethnopharmacology* 74, pp. 83–88.
- Arabshahi, S, Vishalaleshi, D, 2005, Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability, *Food Chemistry*, no. 100, pp. 1100-1105.
- Arellano, M, L, 1993, 'Composición química de seis plantas no convencionales del estado de Oaxaca, como recursos potenciales de la alimentación animal', *Archivos latinoamericanos de nutrición*, vol. 43, no.3, pp. 264 - 268.
- Argueta, A., 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana, vol.1. Instituto Nacional Indigenista, México City, México.
- Aharoni, A, Jongsma, M, Bouwmeester, J, 2005, ' Ciencia Volátil? Ingeniería metabólica de terpenoides en plantas ', *Trends in Plant Science*, no. 12
- Arroyo, J, Prashad, M, 2005, 'Actividad citotóxica *in vitro* de la mezcla de *Annona muricata* y *Krameria lappacea* sobre células cancerosas de glándula mamaria, pulmón y sistema nervioso central', *Revista peruana de medicina experimental en salud pública*, vol.22, no. 4, pp. 247-253.
- Arzani, A, Zeinali, H, 2007, Iron and magnesium concentration of mint accessions (*Mentha* spp.), 45, 323-329.
- Badui, S, 1993, *Química de los alimentos*, Pearson Education, México.

- Bayramoglu, B, Sahin, S, Summu, G, 2008, ' Extracción asistida por microondas libre de solventes del aceite esencial del oregano', *Journal of Food Engineering*, in Press.
- Bakkali F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar M., Biological effects of Essentials oils-A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475.
- Bisset, N.G. (Ed.), 1994. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. CRC Press, *Medpharm*, Stuttgart, pp. 73-75.
- Bendahou, M, Muselli, A, 2007, □Actividad antimicrobiana y composición química de *Origanum glandulosum* Desf., aceite esencial y extracto obtenido por extracción con microondas: Comparación con Hidrodestilación', *Food Chemistry*, no.106, pp. 132-139.
- Bermúdez, A, Oliveira, M, Velásquez, D, 2005, 'La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales', *Red de revistas científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 8, 453-459.
- Canales, M, Hernández, T, Caballero, J, 2006, □Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional de las plantas medicinales en San Rafael, Coxcatlán, valle de Tehuacan-Cuicatlán, Puebla, México', *Acta Botánica Mexicana*, 75, 21-43.
- Champy, P., Féger, J., 2005, 'Annonacina, inhibidor del complejo mitocondrial I como inductor de la neurodegeneración en ratas', *Journal of Neurochemistry*, 88, 63-69.
- Carvalho, C., Fonseca, M., 2005, Carvone: why and how one bother to produce this terpene, *Food Chemistry*, 95, 413-422.

Castillo-Juárez, I., Rivero-Cruz, F., 2007, Anti-*Helicobacter pylori* activity of anacardian acids from *Aphipterygium adstringens*', *Journal of ethnopharmacology*, 114, 72-77.

Cerpa, M, 2007, ' Hidrodestilación de aceites esenciales: Modelado y caracterización', Presentado en Abril, 2007 por la Universidad de Valladolid.??????

Chemat, F., Lucchesi M.E., Smadja J., 2005, Microwave accelerated steam distillation of Essentials oil from lavender: A rapid, clean and environmental friendly approach, *Analytica Chimica Acta*, 555, 157-160.

Chemat S., Hamid A., Ahcene L., Esveld D., 2005, Microwave assisted extraction kinetics of terpenes from caraway seeds, *Chemical Engineering and Processing*, 44, 1320-1326.

Connor, E., Rott, A., Zeder, M., 2008, ¹³C-labelling patterns of green leaf volatiles indicating different dynamics of precursors in *Brassicaa* leaves, *Phytochemistry*, 69, 1304 – 1312.

Costa, E., Teixeira, S., Marques, F., Duarte, M., Delarmelina, C., Pinheiro, M., Trigo, J., Sales, B., 2008, Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of the Amazon *Guatterioopsis* species, *Phytochemistry*, in Press.

Delazar, A., Biglari, F., Esnaashari, S., Nazemiyeh, H., Talebpour, A., Nahar, L., GC-MS análisis of the Essentials oils, and the isolation of phenylpropanoid derivates from the aerial parts of *Pimpinella aurea*', *Phytochemistry*, 67, 2176-2181.

Deng, C, Xiuqin, X, 2005, Rapid determination of Essentials oil compounds in *Artemisia Selengensis* Turcz by gas chromatography-mass spectrometry with microwave distillation and simultaneous solid-phase microextraction, *Analytica Chimica Acta*, 556, 289-294.

Dzhambazov, B., Daskalova, S., Monteva, A., Popov, N., 2002, In vitro screening for Antitumor Activity of *Clinopodium vulgare* L. (Lamiaceae) Extracts, *Biological Pharmacology*, 25 (4), 499-504.

Ekiert, H., 2000. Medicinal plant biotechnology: the Apiaceae family as the example of rapid development. *Pharmazie* 55 (8), 561-567.

Fabian, D., Sabol, M., Domaracká, K.,Bojnaková, D.,2006. Essential oils- their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. *Toxicology in vitro* 20, 1435-1445.

Fabio, A., Cermelli, C., Fabio, G., Nicoletti, P., Quaglio, P., 2007. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on microorganisms responsible for respiratory infections. *Phytoterapy Research* 21, 374-377.

Ferhat, M, Meklati, B, Smadja, J, Chemat, F, 2005, □Mejoramiento del sistema de Clevenger con microondas, utilizado para la destilación del aceite esencial de cáscara de naranja', *Journal of Chromatography*, in Press.

Figueroa, M., Rivero-Cruz, I., Rivero-Cruz, B., Bye, R., Navarrete, A., Mata, R. 2007, Constituents, biological activities and quality control parameters of the crude extract and essential oil from *Arracacia toluencis* var. multifida, *Journal of ethnopharmacology* 113, 125-131.

Flamini, G., Tebano, M., Cioni, P., 2007, Comparison between the convencional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven', *Journal of Chromatography*, 1143,36-40.

García, M, Ordoñez, M & Briones, M, 2004, *Biodiversidad de Oaxaca*, UNAM, México.

González, E, López, L, González, M, Tena, J, 2004, *Plantas medicinales del estado de Durango y zonas aledañas*, CIIDIR-IPN Unidad Durango.

Grace, U, 2001, *Aromaterapia para practicantes*, Grupo Editorial Tomo, México.

Hernández, T., Canales, M., Teran, B., Avila, O., Duran, A., García, A.M., Hernández, H., Angeles-López, O., Fernández- Araiza, M., Avila, G., 2007. Antimicrobial activity of the Essentials oil and extracts of *Cordia curassavica* (Boraginaceae). *Journal of ethnopharmacology* 111, 137-141.

Herrera-Ruiz, M., García-Beltrán, Y., Mora, S., Díaz-Véliz, G., Viana, G., Tortoriello, J., Ramírez, G., 2006, Antidepressant and anxiolytic effects of hydroalcoholic extract from *Salvia elegans*, *Journal of Ethnopharmacology*, 107, 53-58.

Jacques, R., Santos, J., Dariva, C., Oliveira, V., Caramao, E., 2007, GC-MS characterization of mate tea leaves extracts obtained from high-pressure CO₂ extraction, *The Journal of Supercritical Fluids*, 40, 354-359.

Jakupovic, J., Schuster, A., Ganzer, U., Bohlmann, F., Boldt, P.E., 1990, Sesqui -and diterpenes from *Baccharis* species, *Phytochemistry*, 29, 2217-2222.

Jalali, M., Sereshti, H., 2007, Determination of essential oil components of *Artemisia haussknechtii* Boiss using simultaneous hydrodistillation-static headspace liquid phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry, *Journal of Chromatography*, 1160, 81-89.

Jiménez, M., Aguilar, M., Zambrano, M., 2001, Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas, *Revista de la Sociedad Química de México*, 2, 89-92.

Kosar, M., Ozek, T., Cogur, F., Kürkcüoglu, M., Hüsnü Can, K., 2005, Comparison of microwave-assisted hydrodistillation and hydrodistillation methods for the analysis of volatile secondary metabolites, *Pharmaceutical Biology*, 6, 491-495.

Lago, J., Romoff, P., Fávero, O., Souza, F., Soares, M., Baraldi, P., Corrêa, A., 2008, Chemical composition of male and female *Baccharis trimera* (Less.) D.C: (Asteraceae) essential oils, *Biochemical Systematics and Ecology*, 36, 737-740.

Lagunez, L., 2006, Estudio de la extracción de metabolitos secundarios de diferentes materias vegetales en un reactor por inducción termomagnética

directa, Presentado el 11 de Julio del 2006 en el Instituto Politécnico Nacional de Toulouse.

Lucchesi, M., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W., Chemat, F., 2006, Solvent free microawave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil, *Journal of Food Engineering*, 79, 1079-1086.

Masango, P., 2004, Cleaner production of Essentials oils by steam distillation, *Journal of Cleaner Production*, 13, 833-835.

Martin, G., 2000, *Etnobotánica*, Nordan Comunidad, Reino Unido.

Martínez, M., 1979, *Catalogo de nombres vulgares y científicos plantas mexicanas*, Fondo de Cultura Económica, México.

Martínez, M., 1989, *Las plantas medicinales de México*, Editorial Botas, sixth ed., Mexico City, México.

Pérez-Pacheco, R., Rodríguez-Hernández, C., Lara-Reyna, J., 1994, Toxicidad de Aceites, esencias, y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus*, *Acta Zoologica Mexicana*, 20, 141-152.

Phutdhawong, W., Kawaree, R., Sanjaiya, S., 2007, Microwave –assisted isolation of essential oil of *Cinnamomum iners* Reinw.: Comparison with conventional hydrodistillation, *Journal of molecules*, 12, 868-877.

Quintero, A., González, N., 2004, Aceite esencial de las hojas de *Hyptis umbrosa* Salzm, extraído por diferentes técnicas, *Acta Científica Venezolana*, 55, 181-187.

Ramanadhan, B., 2005, Extracción asistida por microondas del aceite esencial de pimienta y cilantro, presentado en Octubre del 2005 de la Universidad de Saskatoon, Canada.

Ríos, L., Lopera, G., 2007, Extracción y caracterización de aceite de *Elettaria cardamomum*, *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 74, 151, 47-52.

Rojas, G, Levaro, J, 2000, 'Evaluación antimicrobiana de ciertas plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de enfermedades respiratorias', *Journal of ethnopharmacology*, vol. 74, no. 1, pp. 97-101.

Svoboda K, Greenaway R, 2003, 'Investigación de aceites volátiles de glándulas de *Satureja hortensis* L. y comparación fitoquímica de las diferentes variedades', *Journal of Aromatherapy*, vol.13, no. 4, pp. 196-202.

Skoog, A., & Leary, J., 1994, *Análisis Instrumental*, McGraw-Hill, Madrid.

Starmans, D., Nijhuis, H., 1996, Extraction of secondary metabolites from plant material: A review, *Food Science & Technology*, 7, 191-196.

Tavares, A., Goncalves, M., Cavaleiro C., Cruz, M., Lopes, M., Canhoto, J., Ribeiro, L., 2008, Essential oil of *Daucus carota* subsp. *halophilus*: Composition, antifungal activity and cytotoxicity, *Journal of ethnopharmacology* 119, 129-134.

Tung, Y., Chua, M., Wang, S., Chang, S., 2008, Anti-inflammation activities of essential oil and its constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) twigs, *Biosurce Technology*, 99, 3908-3913.

Wang, L., Weller, C., 2006, Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, *Food Science & Technology*, 20, 1-13.

