

Influencia del estado fenológico en la actividad antioxidante del aceite esencial de *Thymus mastichina* (L.) L.

José Blanco Salas ¹, Trinidad Ruiz Téllez ², Francisco María Vázquez Pardo ¹, María de los Ángeles Cases Capdevila ³, María José Pérez Alonso ⁴ & Cristina Gervasini Rodríguez ⁵

¹ Grupo HABITAT, Departamento de Producción Forestal y Pastos, Centro de Investigación Finca La Orden – Valdesequera. Consejería de Empleo, Empresa e Innovación, Gobierno de Extremadura,. Km. 372. 06187 Guadajira (Badajoz), Spain. E-mail: pepebsalas@yahoo.es

² Grupo de Investigación en Biología de la Conservación. Área de Botánica. Facultad de Ciencias. Universidad de Extremadura. Avda. de Elvas s/n. 06071 Badajoz, Spain. E-mail: truíz@unex.es

³ Departamento de Medio Ambiente, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Crta. de la Coruña, km. 7.5, 28040 Madrid, Spain. E-mail: acases@inia.es

⁴ Departamento de Biología Vegetal I. Universidad Complutense 28071 Madrid, Spain. E-mail: mjpa32@bio.ucm.es

⁵ Farmacia Rodríguez y Gervasini, Ctra. Corte de Pelea, 33. 06009 Badajoz, Spain. E-mail: cristinagervasini@gmail.com

Resumen:

En este trabajo se presenta un estudio sobre la actividad antioxidante del aceite esencial de *Thymus mastichina* (L.) L para siete poblaciones silvestres del Suroeste de la Península Ibérica, en los que se encontraron diferencias significativas de actividad entre los estados de floración y fructificación. Para el estado de floración, los valores de actividad antioxidante estuvieron entre 0,037–0,106 mmol Trolox/L (TEAC, Trolox equivalent antioxidant activity) y para el de fructificación entre 0,046-0,122 mmol Trolox/L.

Blanco, J.; Ruiz, T.; Vázquez, F.M.; Cases, M.A.; Pérez-Alonso, M.J. & Gervasini, C. 2012. Influencia del estado fenológico en la actividad antioxidante del aceite esencial de *Thymus mastichina* (L.) L. *Folia Bot. Extremadurensis* 6: 29-37.

Palabras clave: Actividad antioxidante, aceite esencial, composición química, Lamiaceae, Península Ibérica, recurso fitogenético, TEAC, *Thymus mastichina*.

Summary:

We studied the antioxidant activity of the essential oil of seven wild populations of *Thymus mastichina* (L.) L in the Southwest of Iberian Peninsula during flowering and fruiting stage. The values of antioxidant activity were in the range 0,037–0,106 mmol Trolox/L (TEAC, Trolox equivalent antioxidant activity) in the flowering stage and 0,046-0,122 mmol Trolox/L in the fruiting stage. Statistical analysis showed significant differences between the antioxidant activity of flowering and fruiting stages.

Blanco, J.; Ruiz, T.; Vázquez, F.M.; Cases, M.A.; Pérez-Alonso, M.J. & Gervasini, C. 2012. Influence of phenological stage on the antioxidant activity of essential oil of *Thymus mastichina* (L.) L. *Folia Bot. Extremadurensis* 6: 29-37.

Key words: antioxidant activity, chemical composition, essential oil, Iberian Peninsula, Lamiaceae, phylogenetic resource, TEAC, *Thymus mastichina*.

Introducción

Thymus mastichina (L.) L., llamado tomillo blanco o mejorana entre otros muchos nombres, es un endemismo peninsular que se encuentra ampliamente distribuido por dicho territorio. Es una especie indiferente al suelo entre los 10 y los 1800 m.s.m. que suele comportarse como una especie colonizadora de segundo orden. Se trata de un subarbutusto de hasta 80 cm de longitud, erecto y ramificado (Blanco & al. 2007; Morales, 2010). Este tomillo es bien conocido en el ámbito rural ibérico, como planta útil, con aplicaciones tanto culinarias como medicinales (Vázquez, 2008). El principal elemento responsable de estas propiedades es el aceite esencial que posee, por lo que ha sido caracterizado por muchos autores, con material procedente tanto de España como de Portugal (Blanco, 2005; Figueiredo & al. 2008).

Las especies cuya actividad biológica ha sido constatada primero a través de un uso popular, y después con su correspondiente análisis químico y experimental, llegan a constituir materias primas, sobre cuyo valor y producción es interesante realizar estudios aplicados. Un objetivo común es conocer si la actividad biológica varía con el momento fenológico en el que se obtiene dicha materia prima. Para el caso de los aceites esenciales, se sabe que los componentes químicos de los mismos, dependen en cuanto a su proporción, de varios factores. En primer lugar el origen botánico, ya que cada especie posee una composición química y dentro de ella pueden encontrarse razas químicas (quimiotipos). Otros factores son las condiciones medioambientales en las que se hallan las poblaciones de las que se extraen y la fase del ciclo vegetativo en que se encuentren los individuos en el momento de la extracción (Bruneton, 2001).

Para el caso de los tomillos, se ha estudiado cómo la composición química de sus aceites esenciales varía con el estado fenológico (Senatore 1996; Boira & Blanquer, 1998; Hudaid & al. 2002), y se sabe que ésta influye en la capacidad antioxidante del extracto. Sin embargo no se han realizado hasta la fecha estudios específicos que evalúen actividad antioxidante frente al estado fenológico de las plantas que constituyen la materia prima. Dado el interés de este conocimiento, justificado por la utilización de estos productos naturales en función de su capacidad antioxidante, realizamos el presente trabajo, centrándolo en la especie que con mayor frecuencia se utiliza en el occidente peninsular desde el punto de vista etnobotánico, *Thymus mastichina* (L.) L.

Material y métodos

Material vegetal

Se recolectó material vegetal de 7 poblaciones silvestres de *Thymus mastichina* (L.) L. del SO de España, concretamente en la Comunidad Autónoma de Extremadura (Apéndice 1). El material se segó en el estado de floración y después en el de fructificación. El material recolectado se secó en una habitación aireada en oscuridad. Posteriormente se conservó durante 2 meses en bolsas de papel. Se prepararon pliegos de herbario de cada una de las poblaciones estudiadas, los cuales se depositaron en el Herbario del Centro de Investigación La Orden (HSS), perteneciente al Gobierno de Extremadura.

Extracción del aceite esencial

La extracción del aceite esencial se llevó a cabo mediante hidrodestilación de acuerdo con la metodología propuesta por la Farmacopea Europea (Council of Europe, 1996). La muestra de aceite obtenida se usó para estimar el rendimiento en aceite esencial y para determinar los componentes y sus porcentajes respecto al total. Para cada muestra se llevaron a cabo dos extracciones, una con la planta entera (PE) y otra con flores y hojas (FH).

Cromatografía de gases (CG)

La CG se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases Varian 3300 equipado con una columna capilar de metil silicona DB-1 (50 m x 0.25 mm, 0.25 μ m de espesor de película). La temperatura se programó desde 95 °C hasta 240 °C a 4 °C min⁻¹. La inyección se realizó a 250 °C en modo Split (1:100). Como gas portador se empleó nitrógeno (1.5 mL min⁻¹). Se usó un detector de ionización de llama (FID) a 300°C. El volumen de inyección en todas las muestras fue de 0.1 μ L de aceite puro.

Cromatografía de gases – espectrometría de masas (CG - EM)

La CG-EM fue realizada en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 5890 con una columna de tubo capilar de sílice de SE-30 (50 m x 0.22 mm, 0.25 μ m grosor de película), conectado a un detector selectivo de masas CV 5971A. La temperatura de columna fue programada de 70 °C a 220 °C en 4 °C minuto¹, y el helio fue el gas portador usado. Los espectros de masa fueron registrados en el modo de exploración a 70 eV.

Análisis cualitativo

La mayor parte de componentes fueron provisionalmente identificados por CG mediante la comparación de sus índices de retención obtenidos con aquellos estándares auténticos y publicados en bibliografía (Adams, 2001; Joulain & König, 1998; Swigar & Silverstein, 1981). Los modelos de fragmentación espectrales de masas fueron comparados con aquellos almacenados en la base de datos de espectrómetro (Wiley biblioteca incorporada).

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se evaluó mediante el método propuesto por Arnao & al. (2000) y Cano & al. (2000), y empleado para la actividad de aceites esenciales (Blanco & al. 2010). El método está basado en la reducción de ABTS⁺ por antioxidantes. La mezcla de reacción contuvo 0,01 gr. ABTS, 12,5 μ l agua oxigenada y 20 μ l peróxido de hidrógeno en etanol acidificado, en un volumen total de 1 ml. La reacción fue monitorizada a 730 nm hasta que la absorbancia se estabilizó. Como patrón antioxidante se empleó Trolox, el cual fue añadido en cantidades diferentes a la mezcla estabilizada, y se determinó la disminución de absorbancia. Cada ensayo tuvo una duración de 20 minutos a partir del momento en el que se añade el antioxidante a la mezcla estabilizada. La disminución de absorbancia fue determinada por la diferencia entre los valores antes y después de la adición de antioxidante.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en este estudio se analizaron estadísticamente usando los tests de Kruskal Wallis y Wilcoxon (IBM SPSS Statistics 19).

Resultados y discusión

Los rendimientos de las poblaciones estudiadas oscilaron entre 1,11 y 5,24 % para planta entera (PE) y entre 4,52 y 9,52 % para flores y hojas (FH) (Tabla 1). Como se puede ver es mucho más ventajoso la extracción de flores y hojas (FL) que en toda la planta (PE). Para un proceso de extracción industrial parece lógico que se utilice toda la planta, debido a que la separación de las flores y las hojas consume muchas horas de trabajo y de maquinaria en las fábricas, si bien un procedimiento ágil y barato podría ser aconsejable en ciertos casos ya que el volumen de planta a destilar sería mucho menor.

No se observaron diferencias significativas entre los rendimientos obtenidos en el estado de floración y en el estado de fructificación (Test de Wilcoxon, (PE), $n = 7$, ns, $p = 0,176$; (FH), $n = 7$, ns, $p = 0,310$). Por lo tanto, es indiferente que se realice la recolección del material en uno u otro momento del ciclo de la planta en lo que se refiere al rendimiento, si bien habría que tener en cuenta la pérdida considerable de hojas que se produce en el estado de fructificación y que ocasiona una bajada importante en la producción de la cosecha.

En la tabla 2 y en la figura 3, se presentan los resultados de actividad antioxidante lipófila (AAL) de los aceites esenciales de nuestro estudio. Los valores de AAL estuvieron en el intervalo de 0,037–0,106 mmol Trolox/L (TEAC, Trolox equivalent antioxidant activity) en el estado de floración y de 0,046–0,122 mmol·Trolox/L en el estado de fructificación.

El análisis estadístico para cada uno de los componentes de los aceites esenciales al comparar los estados de floración y fructificación (test de Kruskal-Wallis) únicamente mostró diferencias significativa en los componentes sabineno, γ -terpineno y terpinen-4-ol, no siendo ninguno de ellos componentes mayoritarios (Tabla 1). Al comparar, usando el test de Wilcoxon, los resultados de AAL en el estado de floración con los obtenidos en el estados de fructificación para cada una de las 7 poblaciones por separado (Tabla 2, $n=4$) no se observaron diferencias significativas. Sin embargo, al comparar juntos ($n=28$) los resultados de AAL de los dos estados estudiados si se observaron diferencias significativas entre ellos (test de Wilcoxon *, $p = 0,044$). Ello puede ser debido a la potencia de la capacidad antioxidante de los componentes arriba mencionados, como veremos más adelante.

C	RI	TRM	estado de floración							estado de fructificación							K-W test (n=14)
			P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	
1	923	5,07	0,2	0,2	t	t	t	0,2	t	0,2	0,6	t	t	0,6	t	0,6	ns, 0,375
2	933	5,32	5,5	4,5	4,5	4,3	4,2	2,2	4,2	3,4	4,4	4,2	4,3	5,7	3,0	4,4	ns, 0,749
3	949	5,66	4,2	2,6	3,1	2,8	2,7	2,1	3,4	1,2	1,5	2,0	1,6	2,7	1,5	1,6	*, 0,005
4	970	5,76	0,2	2,6	t	1,5	2,1	0,3	t	0,1	2,2	t	1,6	0,8	0,6	0,4	ns, 0,847
5	978	5,86	10,1	6,3	7,8	7,2	7,6	5,3	8,1	5,4	6,3	7,3	6,3	9,0	5,4	8,0	ns, 0,565
6	1001	6,19	t	t	t	t	T	t	t	t	t	t	t	t	t	t	ns, 1,000
7	1007	6,40	0,3	0,3	0,3	0,3	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,5	0,1	0,4	0,3	0,4	ns, 0,552
8	1015	6,54	0,5	0,4	0,5	0,4	0,6	0,3	0,5	0,6	0,3	0,2	0,4	0,5	0,6	0,4	ns, 0,742
9	1031	6,60	1,1	0,9	1,4	1,0	1,2	0,7	0,5	1,5	0,8	1,1	0,9	1,1	1,2	0,7	ns, 0,699
10	1031	6,60	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	ns, 1,000
11	1039	6,70	66,6	67,3	73,3	71,3	72,3	72,4	73,3	76,7	69,5	72,7	73,5	69,0	77,5	70,5	ns, 0,482
12	1045	6,91	0,1	0,2	t	t	0,1	t	t	t	0,1	0,1	t	0,1	0,1	0,2	ns, 0,404
13	1058	7,00	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	ns, 1,000
14	1060	7,17	t	0,4	t	0,5	0,5	0,5	0,5	0,7	0,7	0,6	0,6	0,7	0,7	0,9	*, 0,002
15	1066	7,34	0,2	t	t	0,1	0,1	0,1	t	0,1	0,1	t	t	t	t	0,2	ns, 0,674
16	1091	7,77	t	0,6	t	t	0,8	0,6	0,4	t	0,2	t	t	0,2	t	t	ns, 0,119
17	1096	7,82	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	ns, 1,000
18	1102	7,91	1,5	2,5	0,9	1,3	0,9	4,6	0,7	1,0	0,9	0,6	0,7	0,7	0,7	2,0	ns, 0,085
19	1148	8,88	t	2,2	t	t	t	t	t	t	1,6	t	t	t	t	t	ns, 0,917
20	1165	9,42	2,2	3,8	1,9	3,8	2,1	2,5	1,9	2,0	4,0	2,6	4,1	2,0	2,5	2,5	ns, 0,277
21	1172	9,46	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1	ns, 0,578
22	1178	9,66	0,8	0,7	0,8	0,9	t	0,8	0,8	1,4	1,2	1,1	1,0	1,0	1,1	1,4	*, 0,002
23	1193	9,93	5,8	4,0	4,9	4,5	4,2	6,7	5,2	5,1	4,7	6,3	4,3	5,1	4,3	5,3	ns, 0,848
24	1365	12,23	0,2	0,1	t	t	0,1	t	t	0,1	0,3	0,1	0,2	0,1	t	0,2	ns, 0,093
25	1372	13,40	0,1	t	t	0,1	0,1	0,1	0,2	t	0,1	t	t	t	t	t	ns, 0,467
26	1405	14,23	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	ns, 1,000
27	1423	14,98	t	t	t	0,0	t	t	t	t	0,0	0,0	t	0,0	t	t	ns, 1,000
28	1443	15,54	t	0,0	t	t	t	t	t	0,0	0,0	t	t	0,0	t	t	ns, 1,000
29	1458	15,68	0,1	t	t	t	t	0,1	t	0,1	t	0,1	t	0,1	0,1	0,1	ns, 0,122
30	1510	16,87	t	t	t	0,0	t	t	0,0	0,0	t	0,0	0,0	t	t	t	ns, 1,000
31	1542	17,53	0,2	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	t	0,1	0,2	0,1	0,2	t	0,2	0,1	ns, 0,299
32	1575	18,16	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	ns, 1,000
33	1578	18,32	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	ns, 1,000
34	1585	18,47	0,2	0,1	0,3	0,1	0,2	0,1	0,2	t	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	t	ns, 1,000
35	1649	20,41	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	ns, 1,000
36	1652	20,63	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	ns, 1,000
37	1653	20,68	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	ns, 1,000
R	PE		2,56	2,72	3,96	2,78	3,70	1,98	3,66	1,35	1,11	2,90	1,94	5,24	1,85	2,23	
	FH		6,05	6,67	9,52	7,01	7,61	4,96	6,25	4,98	7,33	8,38	6,50	6,50	6,31	4,52	

Componentes: 1) α -pineno; 2) canfeno; 3) sabineno; 4) β -pineno; 5) β -mirceno; 6) α -felandreno; 7) α -terpineno; 8) p -cimeno; 9) limoneno; 10) β -felandreno; 11) 1,8-cineol; 12) (Z)- β -ocimeno; 13) (E)- β -ocimeno; 14) γ -terpineno; 15) cis-hidrato de sabineno; 16) terpinoleno; 17) trans-hidrato de sabineno; 18) linalol; 19) alcanfor; 20) trans-dihidro- α -terpineol; 21) borneol; 22) terpinen-4-ol; 23) α -terpineol; 24) acetato de timol; 25) acetato de carvacrol; 26) β -bourboneno; 27) (E)-cariofileno; 28) γ -elemeno; 29) α -humuleno; 30) γ -cadineno; 31) elemol; 32) spatulenol; 33) óxido de cariofileno; 34) viridiflorol; 35) β -eudesmol; 36) α -eudesmol; α -cadinol.

Tabla 1. - Composición química y rendimiento del aceite esencial de 7 poblaciones (P) de *Thymus mastichina*. Nivel de significación para el test de Kruskal-Wallis (K-W test) al comparar los resultados de cada uno de los componentes del aceite esencial en el estado de floración con los obtenidos en el estado de fructificación. C = Componentes; IR = Índice de retención de acuerdo con n-parafinas en columna DB-1; RTM = Tiempo de retención en GLC-MS; t = traza (< 0.1%) R = Rendimiento en aceite esencial. PE = Planta Entera. FH = Flores y Hojas. ns: no significativo ($P > 0.05$). *** $P \leq 0.001$; ** $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$.

Población	Estado	R	A 730nm inicial	A730nm 20 min	ΔA 730nm	mmol Trolox/L (TEAC)	Media	Desviación típica	Nivel de significación: test de Wilcoxon (n=4)
Alconera	estado de floración	R1	1.142	0.828	0.314	0,047	0,057	0,010	0,456
		R2	1.147	0.695	0.452	0,068			
		R3	1.143	0.718	0.425	0,064			
		R4	1.142	0.806	0.336	0,05			
Alconera	estado de fructificación	R1	1.136	0.792	0.344	0,051	0,053	0,002	
		R2	1.134	0.767	0.367	0,055			
		R3	1.129	0.774	0.355	0,053			
		R4	1.132	0.781	0.351	0,053			
Aliseda	estado de floración	R1	1.144	0.849	0.295	0,044	0,046	0,002	
		R2	1.138	0.811	0.327	0,049			
		R3	1.140	0.838	0.302	0,045			
		R4	1.143	0.833	0.310	0,046			
Aliseda	estado de fructificación	R1	1.127	0.767	0.360	0,054	0,051	0,002	
		R2	1.133	0.807	0.326	0,049			
		R3	1.132	0.807	0.325	0,049			
		R4	1.124	0.781	0.343	0,051			
Badajoz	estado de floración	R1	1.127	0.764	0.363	0,054	0,053	0,001	
		R2	1.124	0.782	0.342	0,051			
		R3	1.124	0.767	0.357	0,053			
		R4	1.122	0.775	0.347	0,052			
Badajoz	estado de fructificación	R1	1.104	0.534	0.570	0,085	0,086	0,001	
		R2	1.101	0.532	0.569	0,085			
		R3	1.101	0.528	0.573	0,086			
		R4	1.101	0.517	0.584	0,087			
El Portanchito	estado de floración	R1	1.129	0.830	0.299	0,045	0,043	0,004	
		R2	1.128	0.865	0.263	0,039			
		R3	1.127	0.809	0.318	0,048			
		R4	1.125	0.853	0.272	0,041			
El Portanchito	estado de fructificación	R1	1.100	0.759	0.341	0,051	0,051	0,001	
		R2	1.105	0.767	0.338	0,051			
		R3	1.106	0.773	0.333	0,05			
		R4	1.105	0.762	0.343	0,051			
Santo Domingo	estado de floración	R1	1.176	0.863	0.313	0,047	0,046	0,006	
		R2	1.166	0.917	0.249	0,037			
		R3	1.164	0.822	0.342	0,051			
		R4	1.173	0.856	0.317	0,047			
Santo Domingo	estado de fructificación	R1	1.100	0.596	0.504	0,075	0,072	0,003	
		R2	1.107	0.615	0.492	0,074			
		R3	1.106	0.639	0.467	0,07			
		R4	1.103	0.632	0.471	0,07			
Los Santos Maimona	estado de floración	R1	1.113	0.458	0.655	0,098	0,103	0,004	
		R2	1.118	0.410	0.708	0,106			
		R3	1.112	0.418	0.694	0,104			
		R4	1.113	0.413	0.700	0,105			
Los Santos Maimona	estado de fructificación	R1	1.111	0.302	0.809	0,121	0,121	0,005	
		R2	1.109	0.292	0.817	0,122			
		R3	1.108	0.337	0.771	0,115			
		R4	1.108	0.267	0.841	0,126			
Villafranca de los Barros	estado de floración	R1	1.183	0.653	0.530	0,079	0,076	0,006	
		R2	1.190	0.678	0.512	0,077			
		R3	1.171	0.657	0.514	0,068			
		R4	1.169	0.625	0.544	0,081			
Villafranca de los Barros	estado de fructificación	R1	1.123	0.809	0.314	0,047	0,047	0,001	
		R2	1.122	0.810	0.312	0,047			
		R3	1.121	0.815	0.306	0,046			
		R4	1.121	0.814	0.307	0,046			

Tabla 2. Resultados del estudio espectrofotométrico del aceite esencial de las poblaciones estudiadas de *Th. mastichina* (L.) L. en los estados de floración y fructificación (Ver Material y Métodos). R = réplica. Niveles de significación estadísticos del test de Wilcoxon, para la comparación de los resultados de actividad antioxidante, entre los estados de floración y fructificación. ns: no significativo ($P > 0.05$). *** $P \leq 0.001$; ** $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$.

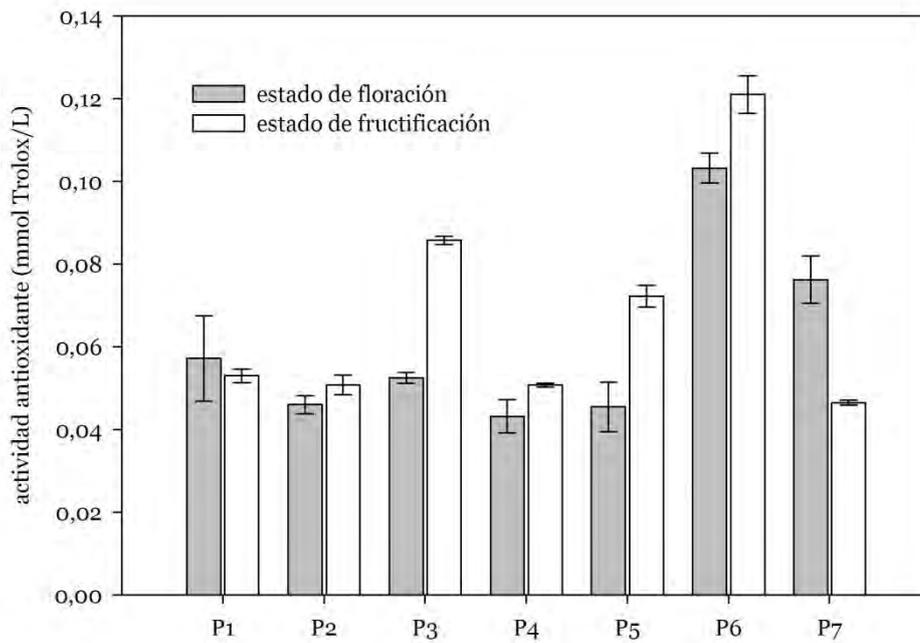


Figura 1. Actividad antioxidante del aceite esencial de las poblaciones estudiadas de *Thymus mastichina* (L.) L. (PE) en los estados de floración y fructificación. Promedio de las 4 replicas por muestra.

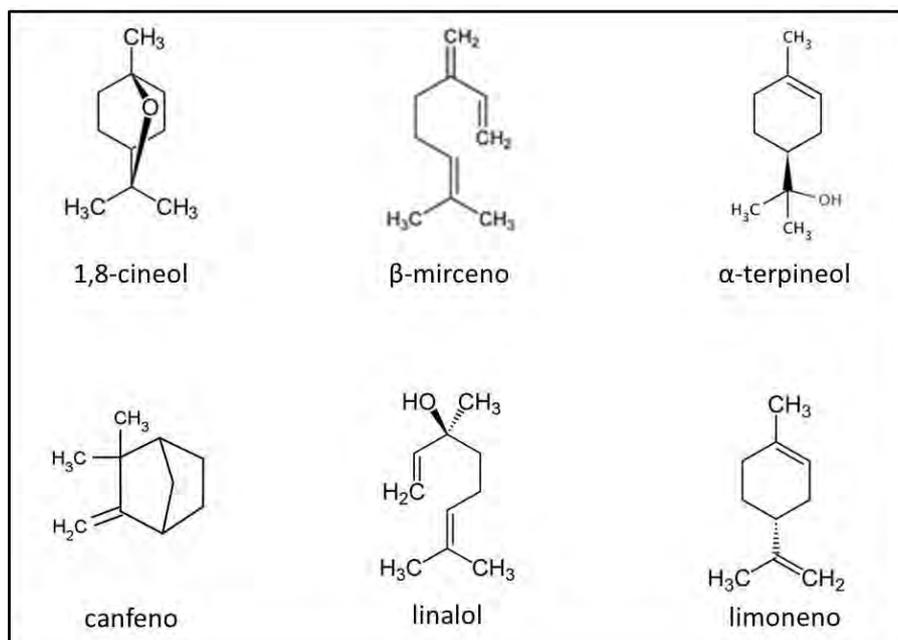


Figura 2. Fórmulas químicas de los principales componentes detectados en los aceites esenciales de las poblaciones estudiadas de *Thymus mastichina* (L.) L.

La bibliografía, describe para este tomillo tres quimiotipos: el tipo 1,8-cineol (Morales 1986; Carvalho 1994; Faleiro & al. 1999; Miguel & al. 1999a, b, 2003), el tipo linalol (Gaviña-Múgica & al. 1974; Miguel & al. 2003), y un tipo intermedio (García-Vallejo & al. 1984; Tomei & al. 1995). Las poblaciones estudiadas en el presente estudio podrían incluirse en el llamado tipo 1,8-cineol, porque el componente mayoritario encontrado ha sido éste, con unos niveles del 66,6-73,3 % en la floración y de un 69,0-77,5 % en la fructificación, lo que implica valores que se encuentran entre los más altos de los publicados para esta especie.

El componente 1,8-cineol, también llamado eucaliptol, no destaca por tener una gran capacidad antioxidante. Dorman & al. (2000) cifraron su potencialidad en 1.13 mmol/L utilizando el método TRAP, lo cual puede cifrarse como baja. Ello está en consonancia con la estructura química del compuesto (Figura 2), que carece de dobles enlaces y configuraciones que favorezcan la resonancia química, característica que suele estar relacionada con el poder antioxidante de las moléculas orgánicas. Sin embargo, es preciso destacar que este constituyente posee una importante bioactividad. Así, se ha constatado su interés por sus actividades alelopática (uso herbicida), insecticida, acaricida y antimicrobiano (Knight, 2009).

Otros componentes mayoritarios en el perfil químico analizado, cuyas fórmulas aparecen consignadas en la Figura 2, muestran configuraciones similares en cuanto a la escasez de resonancia: β -mirceol (floración: 10,1-5,3 %; fructificación: 9,0-5,4 %), α -terpineol (floración: 6,7-4,0 %; fructificación: 6,3-4,3 %), canfeno (floración: 5,5-2,2 %; fructificación: 5,7-3,0 %), *trans*-dihidro- α -terpineol (floración: 3,8-1,9 %; fructificación: 4,0-2,0 %), y limoneno (floración: 1,4-0,5 %; fructificación: 1,5-0,7 %).

Por otra parte, el linalol, tiene tan sólo una presencia de 4,6-0,7 % en floración y 2,0-0,6 % en fructificación, pero presenta una interesante actividad antioxidante (14.29 mmol/L, sec. Dorman & al. 2000, medido por el método TRAP). Niveles similares (14.76 mmol/L), tiene el sabineno, pero su presencia es muy escasa (floración: 4,2-2,1 %; fructificación: 2,7-1,2 %). Este componente, junto con el γ -terpineno y terpinen-4-ol, presentan también una actividad antioxidante de interés (7,86 y 7.62 mmol/L, respectivamente), pero en ambos casos su presencia puede considerarse residual (γ -terpineno = floración: 0,5-t %; fructificación: 0,9-0,6 %; terpinen-4-ol = floración: 0,9-t %; fructificación: 1,4-1,0 %).

En todo caso, dada la relevancia que han demostrado productos alimenticios en la prevención de enfermedades degenerativas, diferentes tipos de cánceres y otras disfunciones relacionadas con el estrés oxidativo (Schwartz, 1996; Halliwell & Gutteridge, 1999; Portari & Mancini-Filho, 2001), la demostración del carácter antioxidante de *Thymus mastichina* (L.) L. y su mayor capacidad en etapa de fructificación, ligada al aumento de linalol y sabineno principalmente (linalol = floración: 4,6-0,7 %; fructificación: 2,0-0,6 %; sabineno = floración: 4,2-2,1 %; fructificación: 2,7-1,2 %), aportan a este vegetal un interesante papel como materia prima de origen natural. A ello puede añadirse la posible utilización de esta planta y sus productos de extracción por arrastre de vapor como posible agente antibacteriano (Faleiro & al. 1999, 2003), antifúngico (Pina-Vaz & al., 2004), contra dolencias leves como tónico digestivo, resfriados y dolores de cabeza, como cosmético usado en cremas y lociones de la piel y el cabello (Ribeiro & al. 2000), como condimento para gran cantidad de comidas (carnes, pastas y pescados sobre todo azul) y dar sabor a numerosos productos de la alimentación en la dieta mediterránea, como son las aceitunas, los vinagres, los encurtidos, el aceite e incluso algunos licores (Vázquez, 2008).

Todo lo anterior justifica el interés por el cultivo de esta especie propia de nuestra flora autóctona.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer la ayuda y colaboración del Instituto Tecnológico y Agroalimentario de Extremadura (INTAEX) y de Jesús Sanz [Centro de Química Orgánica "Manuel Lora-Tamayo" (C.S.I.C.)]. Este trabajo ha sido financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) (RF00-019-C2-2).

Bibliografía

- Adams, R.P. 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing co., Carol Stream, IL., 464 pp.
- Arnao, M.B.; Cano, A. & Acosta, M., 2000. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry* 73, 239-244.
- Blanco, J. 2005. *Contribución al conocimiento de los recursos fitogenéticos de Extremadura: el caso de los tomillos*. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.
- Blanco, J.; Vázquez, F. M. & Ruiz Téllez, T. 2007. Revisión de los géneros *Thymra* L. y *Thymus* L. (Lamiaceae) en Extremadura (España). *Folia Botanica Extremadurensis* 1: 27-53.
- Blanco, J.; Ruiz, T.; Pérez-Alonso, M.J.; Vázquez, F.M.; Cases, M.A. & Gervasini C. 2010. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Thymra capitata* (L.) Cav. in Spain. *Acta Bot. Gallica*, 157: 55-63.
- Boira, H. & Blanquer, A. 1998. Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. *Biochem. Syst. Ecol.*, 26: 811-822.
- Bruneton, J. 2001. *Aceites esenciales. Factores de variabilidad de los aceites esenciales*. En: Farmacognosia (Bruneton J., ed). Acribia, S.A. Zaragoza. Spain. pp. 488-491.
- Cano, A.; Acosta, M. & Arnao, M. B. 2000. A method to measure antioxidant activity in organic media: Application to lipophilic vitamins. *Redox Report*, 5: 365-370.
- Carvalho, J. 1994. Qualidade fragrante e potencialidades de arbustivas espontâneas das Serras de Aire e Candeeiros. *Silva Lusitânica*, 2: 193-206.
- Council of Europe. 1996. *European Pharmacopoeia*. 3rd. Strasbourg, France, 1799 pp.

- Dorman, H. J.; Surai, P. & Deans, S. G. 2000. In vitro antioxidant activity of a number of plant essential oils and phytoconstituents. *J. Essent. Oil Res.*, 12: 241-248.
- Faleiro, L.; Miguel, G. M.; Guerrero, C. A. C. & Brito, J. M. C. 1999. Antimicrobial activity of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus mastichina* (L.) L. ssp. *mastichina* and *Thymus albicans* Hoffmanns & Link. *Acta Hort.*, 501: 45-48.
- Faleiro, M. L.; Miguel, M. G.; Ladeira, F.; Venâncio, F.; Tavares, R.; Brito, J. C.; Figueiredo, A. C.; Barroso, J. G. & Pedro, L. G. 2003. Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of Thymus. *Lett Appl Microbiol* 2003; 36: 35-40.
- Figueiredo, A. C.; Barroso, J. G.; Pedro, L. G.; Salgueiro, L.; Miguel, M. G. & Faleiro, M. L. 2008. Portuguese Thymbra and Thymus species volatiles: chemical composition and biological activities. *Current Pharmaceutical Design*, 14: 3120-3140.
- García-Vallejo, M. C.; García, D. & Muñoz, F. 1984. Avance de un estudio sobre las esencias de *Thymus mastichina* L. español (majorana de España). An. *INIA /Ser. Forestal/ N.*, 8: 201-218.
- Gaviña-Múgica, M. & Tormes-Ochoa, J. 1974. *Aceites esenciales de la Provincia de Guadalajara. Aceite esencial de Thymus mastichina L. Contribución al estudio de los aceites esenciales españoles*. INIA. Spain, pp. 361-377.
- Halliwel, B. & Gutteridge, J. M. C. 1999. *Free radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press (3rd ed.). New York.
- Hudaib, M.; Speroni, E.; Di Pietra, A. M. & Cavrini, V. 2002. GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 29: 691-700.
- Joulain, D. & Köning, A.W. 1998. *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons*. E.B.-Verlag Hamburg, Germany. 658 pp.
- Knight, A. R. 2009. *Preparation and bioactivity of 1,8-cineole derivatives*. Tesis Doctoral, Murdoch University.
- Miguel, G.; Guerrero, C.; Rodrigues, H.; Brito, J.; Venâncio, F.; Tavares, R.; Martins, A. & Duarte, F. 1999a. Study of the substrate and fertilization effects on the production of essential oils by *Thymus mastichina* (L.) L. ssp. *mastichina* cultivated in pots. (D. Anaç & P. Martin-Prével Eds.) *Improved Crop. Quality by Nutrient Management*. Holland., 46: 201-204.
- Miguel, M. G.; Guerrero, C. A. C.; Brito, J. M. C.; Venâncio, F.; Tavares, R.; Martins, A. & Duarte, F. 1999b. Essential oils from *Thymus mastichina* (L.) L. ssp. *mastichina* and *Thymus albicans* Hoffmanns. & Link. *Acta Hort.*, 500: 59-63.
- Miguel, M. G.; Figueiredo, A. C.; Costa, M. M.; Martins, D.; Duarte, J.; Barroso, J. G. & Pedro, L. 2003. Effect of essential volatile oil isolated from *Thymus albicans*, *Th. mastichina*, *Th. carnosus* and *Thymbra capitata* in sunflower oil. *Nahrung.*, 47: 397-402.
- Morales, R. 1986. Estudio químico de aceites esenciales. In: R. Morales. *Taxonomía del género Thymus L. excluida la Sect. Serpyllum* (Miller) Benthem en la Península Ibérica. *Ruizia*. Spain, pp.71-91.
- Morales, R. 2010. *Thymus* L. In: Morales R., Quintanar A., Cabezas F., Pujadas A.J., Cirujano S. eds. *Flora Iberica* XII. C.S.I.C., Madrid, Spain. pp. 349-409.
- Pina-Vaz, C.; Gonçalves Rodríguez, A.; Pinto, E.; Costa de Olivera, S.; Tavares, C.; Salgueiro, L.; Cavaleiro, C.; Gonçalves, M. J. & Martínez de Olivera, J. 2004. Antifungal activity of *Thymus* oils and their major compounds. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 18 (1): 73-78.
- Portari, D. A. & Mancini-Filho, J. 2001. *Prevenção de reações oxidativas: Antioxidantes nos vegetais de consumo humano. pp. 203-211. En: Importancia de Alimentos Vegetais na Proteção da Saúde*. Fisiologia da Nutrição Protectora e Preventiva de Enfermedades Degenerativas. R. C. de Angelis. Atheneu. Sao Paulo.
- Ribeiro, J. A.; Monteiro, A. M. & Silva, M. L. F. 2000. *Etnobotânica. Plantas bravias comestíveis, condimentares e medicinais*. Azevedo J, Ed. Mirandela, Portugal.
- Schwartz, J. L. 1996. The duals roles of nutrients as antioxidants and prooxidants: their effects on tumor cell growth. *J. Nutr.*, 126: 1221-1227.
- Senatore, F. 1996. Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of thyme (*Thymus vulgaris* L.) growing wild in Campania (southern Italy). *J. Agr. Food Chem.* 44: 1327-1332.
- Swigar, A. A. & Silverstein, R. M. 1981. *Monoterpenes*. Aldrich, Milwaukee, WI., 130 pp.
- Tormo, R.; Ruiz, T. & Devesa, J. A. 1995. El Clima. En: Devesa, J. A. (ed.) *Vegetación y Flora de Extremadura*. Badajoz. Universitas Editorial, 37-48.
- Vázquez, F. M., 2008. *Lamiaceae*. In: Vázquez F. M., coord , *Plantas Medicinales en la Comunidad de Extremadura*. Diputación de Badajoz. Badajoz. Spain.279-319 pp.

APÉNDICE 1**MATERIAL ESTUDIADO ******Thymus mastichina* (L.) L.**

HS: Badajoz (Ba): Alconera. 29SQC15. Encinar adhesionado y zona de extracción de roca caliza. Mesomediterráneos. 26-VI-2002. **J. Blanco & D. Martín**. Badajoz. Ctra. Campo Maior. 29SPD70. Matorral sobre afloramiento basófilo. Mesomediterráneo. 3-VI-2002. **J. Blanco & D. Martín**; *ibidem*, 21-VIII-2002. **J. Blanco**. Los Santos de Maimona. 29SQC25. Pinar de *Pinus pinea* L. Mesomediterráneo. 13-V-2002. **J. Blanco & D. Martín**; *ibidem*, 7-VIII-2002. **J. Blanco & D. Martín**. Santo Domingo. 29SPC68. Encinar adhesionado sobre pendiente. Mesomediterráneo. 22-V-2002. **J. Blanco & D. Martín**; *ibidem*, 12-VIII-2002. **J. Blanco & J. Pozo**. Badajoz: Villafranca de los Barros. 29SQC37. Tomillar y cantuesar. Mesomediterráneo. 9-VII-2002. **J. Blanco & F.M. Vázquez**; *ibidem*, 6-IX-2002. **J. Blanco & D. Martín**.

HS: Cáceres (Cc): Aliseda. 29SPD96. Alcornocal adhesionado. Mesomediterráneo. 28-V-2002. **J. Blanco & D. Martín**; *ibidem*, 3-IX-2002. **J. Blanco & J. Pozo**. Cáceres. El Portanchito. 29SQD27. Entre olivares más o menos abandonados. Mesomediterráneo. 27-05-2002. **J. Blanco & J. Pozo**; *ibidem*, 3-IX-2002. **J. Blanco & J. Pozo**.

* Procedencia del material silvestre estudiado. Se indica provincia, localidad, coordenadas UTM, tipo de hábitat, clima (vd. Tormo & al., 1995), fecha de siega, legit. Testimonios en el Herbario HSS (Badajoz, España).