

COMPARACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br., OBTENIDOS VARIANDO LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN Y SECADO

RESUMEN

Se compararon la composición química y la actividad biológica de aceites esenciales (AEs) de *Lippia alba*, obtenidos bajo diferentes condiciones de extracción (hidrodestilación asistida por la radiación de microondas, MWHD) y secado de la planta (a la sombra). Los AEs fueron caracterizados por GC-MS. Los resultados mostraron similitudes cualitativas entre los aceites evaluados y diferencias cuantitativas significativas, en términos de su composición química y rendimiento (% p/p). El aceite esencial que presentó el mayor rendimiento y contenido de limoneno y carvona (componentes principales) fue el obtenido después de 4 días de secado y un tiempo de extracción de 45 min. El AE que presentó la más alta toxicidad contra *Artemia franciscana* fue el obtenido después de 3 días de secado y un tiempo de extracción de 60 minutos.

PALABRAS CLAVES: *Lippia alba*, aceite esencial, secado, tiempo de extracción, actividad biológica, MWHD.

ABSTRACT

A comparison was made between the chemical composition and biological activity of Lippia alba essential oils, obtained by microwave-assisted hydrodistillation, MWHD under different extraction times and plant drying (in the shade) levels. The essential oils were analyzed by GC-MS. Although the oils were qualitatively similar, quantitative differences in the composition and significant oil yield differences were observed. The oil with the highest yield (2.2 % w/w) and limonene and carvone content was obtained after 45 min extraction from plant material dried for 4 days. The highest toxicity against Artemia franciscana was shown by the oil obtained after 60 min extraction from plant material dried for 3 days.

KEYWORDS: *Lippia alba*, essential oil, dried plants, extraction time, biological activity, MWHD.

1. INTRODUCCIÓN

La composición de los AEs se ve afectada por numerosas variables, entre las cuales se encuentran el tratamiento postcosecha y el método de extracción. Particularmente, el secado de las plantas es un proceso benéfico y rentable, pues en varios casos permite que éstas sean almacenadas por un largo tiempo sin menoscabo y pérdida de analitos de interés [1-6]

Lippia alba (Mill.) N.E Brown, conocida también por su nombre popular "Pronto alivio", es un arbusto de la familia Verbenaceae, que se caracteriza por su intenso olor y contiene de 0.2 a 0.6 % de aceite esencial sobre material fresco [7, 8]; además se distingue por su alto contenido de carvona (40-50%) [7], compuesto ampliamente utilizado en las industrias cosmética, de alimentos y farmacéutica [9].

GERMÁN AUGUSTO GÓMEZ

Estudiante de pregrado en Química
Universidad Industrial de Santander.

DIEGO CAMILO DURÁN G.

Químico, Est. de Maestría en Química
Universidad Industrial de Santander.

JAIRO RENÉ MARTÍNEZ

Químico, Ph. D.
Director Laboratorio de Cromatografía
Universidad Industrial de Santander.

ELENA E. STASHENKO

Química, Ph. D.
Directora CENIVAM
Directora Laboratorio de Cromatografía
Universidad Industrial de Santander,
elena@tucan.uis.edu.co

JESÚS OLIVERO VERBEL

Químico, Ph.D.
Director del Grupo de Química
Ambiental y Computacional,
Universidad de Cartagena
jesusolivero@yahoo.com

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Material vegetal

Las plantas empleadas en el estudio fueron cosechadas en la Unidad Experimental del Complejo Piloto de la Cadena Productiva de Aceites Esenciales de CENIVAM, en Bucaramanga. La identificación taxonómica fue realizada por el doctor J. L. Fernández del Herbario Nacional Colombiano, así: *Lippia alba* (Mill) N.E. Br. (N° COL 480750).

2.2 Materiales y reactivos

Se utilizó *n*-tetradecano (99%, *Sigma-Aldrich*) como patrón interno (*std*) y diclorometano (*ACS*, *Riedel de Haën*), en la preparación de los AEs para su análisis cromatográfico. Gases especiales para cromatografía se obtuvieron de *AGA-Fano S.A.* (Bucaramanga, Colombia).

2.3. Secado material vegetal

Las plantas provenientes del cultivo experimental fueron secadas a la sombra durante 1, 2, 3 y 4 días, bajo condiciones de sombra y temperatura ambiente. Se tomaron grupos de plantas ca. 15 kg en forma de ramilletes, los cuales fueron colgados a una distancia de 20 cm uno de otro para el secado. Se dispuso de un toldillo en la parte inferior para recoger las hojas que se desprendían.

2.4. Extracción MWHD

La extracción de los aceites esenciales se realizó a partir de 250 g de material vegetal (hojas y tallos). La extracción se realizó según el procedimiento descrito por Stashenko *et al* [7]. Los tiempos de extracción empleados para los experimentos, donde se varió el porcentaje de secado, fueron 15, 30, 45, 60 y 75 min.

2.5. Análisis cromatográfico

La identificación de los componentes presentes en los AEs de *Lippia alba* se llevó a cabo por GC-MS, empleando un cromatógrafo *Agilent Technologies 6890 Plus* (HP, Palo Alto, California, USA) acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies MSD 5973*. Se utilizó una columna capilar apolar de sílice fundida DB-5MS (60 m x 0.25 mm, D.I x 0.25 μ m, d_i).

2.6. Actividad biológica

En la Tabla 1 se reportan los resultados de los ensayos de toxicidad aguda frente a *Artemia franciscana* para los

AEs obtenidos en cantidades cuantificables, siguiendo la metodología descrita por De S Luna *et al.* [10], Finney [11], Masseur y Nshimo [12], Awal *et al.*, [13], Sleet y Brendel [14].

2.7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se reporta la identificación de los metabolitos secundarios volátiles mayoritarios aislados por MWHD. Los componentes principales en todos los casos fueron la carvona (35-42%), el limoneno (28-36%), piperitona (2-3%), biciclosquifelandreno (8.5-12%), piperitenona (1.7-5.5%), y β -bourboneno (0.8-2.5%). El mayor rendimiento de extracción se obtuvo para plantas secadas durante 3 días y un tiempo de extracción por MWHD de 45 min.

Los AEs de *Lippia alba* presentaron toxicidad relativa en un rango de concentraciones entre 9.3 y 20.2 μ g/mL. El aceite esencial con mayor toxicidad fue el obtenido después de 3 días de secado y un tiempo de extracción de 60 min.

3. CONCLUSIONES

Tomando como criterio de calidad del AE de *Lippia alba* el contenido de carvona presente en éste, y teniendo en cuenta los rendimientos obtenidos, se aprecia que los mejores resultados se obtendrían para plantas con un secado correspondiente a una pérdida de peso del 75% y un tiempo de extracción entre 40-50 min. Los aceites obtenidos bajo estas condiciones no presentaron toxicidad frente *Artemia franciscana*

Compuesto	Concentración, [ppm] ^a													
	Peso del material vegetal, (% p/p) / Tiempo de extracción (min)*													
	100			50			36			30			25	
	15*	30*	45*	75*	30*	60*	15*	45*	75*	30*	60*	15*	45*	75*
Limóneno	11292	11058	11095	11304	10844	11101	10976	10942	10806	11229	10974	11952	11018	10909
Carvona	12595	11732	11773	11690	12262	12021	12194	11973	11551	11959	11702	10695	12158	11699
Piperitona	984	933	910	893	952	922	908	889	876	905	876	785	929	871
Timol	53	75	81	89	76	93	52	81	88	72	91	35	93	105
Piperitenona	1039	1367	1569	1662	1351	1629	988	1431	1567	1216	1495	727	1471	1472
β -Bourboneno	328	819	491	641	538	595	479	549	674	533	982	513	524	1037
Biciclosquifelandreno	1797	3129	3827	5354	2798	4993	1905	4279	4909	3686	5051	2600	4044	5241
Rendimiento (% p/p)	0.2	0.5	0.4	0.6	0.8	1.1	1.1	1.4	1.4	1.5	2.0	1.5	2.2	2.1
CL ₅₀ (24h) (μ g/mL)	ND	ND	20.2	10.3	11.1	15.8	9.3	11.5	14.7	11.4	10.8	18.8	13.9	15.1
CL ₅₀ (48h) (μ g/mL)	ND	ND	13.4	1.8	4.0	1.4	3.9	1.7	9.3	1.0	0.7	9.3	7.4	6.2
CL ₅₀ (24h)/ CL ₅₀ (48h)	ND	ND	1.5	5.6	2.8	11.6	2.4	6.7	1.6	11.4	14.5	2.0	1.9	2.4

Tabla 1. Principales componentes presentes en los aceites esenciales de *Lippia alba* obtenidos por MWHD, variando el porcentaje de humedad de la planta y el tiempo de extracción.

4. AGRADECIMIENTOS

A Colciencias por su apoyo financiero a través del Centro de Excelencia CENIVAM (Contrato RC-432-2004)

5. BIBLIOGRAFIA

[1] BANDONI A (Ed). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. 1°

edición. La Plata, Argentina. 2000. p. 29-39, 131-140, 380-382.

[2] MUÑOZ, F., Plantas medicinales y aromáticas, estudio, cultivo y procesado. Madrid: Mundi Prensa, 1987. 365p.

[3] GÜENTHER, E., The essential oils , New York: Van Nostrand, 1948. 1: 427p.

[4] JIROVETZ, L., BUCHBAUER, G. Processing, analysis and application of essential oils. Har Krishan Bhalla & Sons, Dehradun, India. New Delhi, 2005. p.p. 35-38.

[5] MUÑOZ, F., Plantas medicinales y aromáticas, estudio, cultivo y procesado. Madrid: Mundi Prensa, 1987. 365p.

[6] TAIZ L., ZEIGER, E. Plant physiology. Massachusetts: Sinauer Associates, 2002. p.p. 171-192, 285-290.

[7] STASHENKO, E., JARAMILLO, B., MARTÍNEZ, J. *J. Chromatogr A*. 2004. 1025: 93-103.

[8] GARCÍA BARRIGA, H. Flora medicinal de Colombia. Botánica médica, 2^a Ed., Tercer Mundo, Bogotá. 1992.

[9] CARVALHO Carla, MANUELA R. *Food Chem*. 2006. 95: 413-414.

[10] DE S LUNA, J., DOS SANTOS, A.F., DE LIMA, M.R., DE OMENA, M.C., DE MENDONCA, F.A., BIEBER, L.W., Y SANT'ANA, A.E. *J. Ethnopharmacol*. 2005. 97: 199-206.

[11] FINNEY, D. Probit analysis, 3rd ed. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK. London and New York. 1971. pp.76-80.

[12] MASSELE, A. Y NSHIMO, C. *East Afr. Med. J*. 1995. 72: 661-663.

[13] AWAL, M.A., NAHAR, A., S HOSSAIN, M., BARI, M.A., RAHMAN M., Y HAQUE, M.E. *J. Med. Sci*. 2004. 4 (3):188-193.

[14] SLEET, RB. Y BRENDEL, K. *Teratog. Carcinog. Mutagen*. 1985. 5: 41-54.