

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN
PROGRAMA UNIVERSITARIO DE INVESTIGACIÓN INDUSTRIAL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**INFORME FINAL
PROYECTO**

**ACEITES ESENCIALES DE NUEVE PLANTAS NATIVAS DE
GUATEMALA, FAMILIAS VERBENACEAE Y LAURACEAE.**

Coordinador:
M.Sc. Pedro Guillermo Jayes Reyes

Investigadores:
Dr. Jorge Luis de León Arana
Licda. Rosa Patricia Navas
Lic. Juan Francisco Pérez Sabino

Auxiliares de investigación:
Max Samuel Mérida Reyes
Christian Farfán

Período del estudio: 2006

Índice general,

Resumen	3
Introducción	4
Antecedentes	6
Justificación	11
Objetivos	12
Referente teórico	13
Metodología	15
Resultados y discusión de resultados	19
Conclusiones	27
Recomendaciones	28
Bibliografía	29

Índice de cuadros,

Cuadro 1 Rendimientos extracción primera colecta	19
Cuadro 2 Rendimientos extracción segunda colecta	20
Cuadro 3 Composición volátiles <i>L. dulcis</i>	21
Cuadro 4 Composición volátiles <i>L. graveolens</i>	23
Cuadro 5 Composición volátiles <i>L. graveolens</i>	24
Cuadro 6 Composición volátiles <i>L. controversa</i>	25
Cuadro 7 Composición volátiles <i>L. graveolens</i>	26

Índice de figuras

Figura 1 cromatograma de <i>L. dulcis</i>	31
Figura 2 Cromatograma de <i>L. graveolens</i>	31
Figura 3 Cromatograma de <i>L. graveolens</i>	32
Figura 4 Cromatograma de <i>L. controversa</i>	32
Figura 5 Cromatograma de <i>L. graveolens</i>	33

1. Resumen

Se estudió el contenido y composición de aceites esenciales de nueve plantas nativas de Guatemala de las familias Verbenaceae y Lauraceae, géneros *Lippia* y *Litsea* respectivamente, siendo estas: *Lippia cardiostegia*, *L. chiapasensis*, *L. dulcis*, *L. graveolens*, *L. myriocephala*, *L. controversa* e *L. substrigosa* y *Litsea glauscescens*, *L. guatemalensis*. Se localizarán por lo menos tres procedencias de las plantas a estudiar, para evaluar la existencia de quimiotipos y los que presentan mejores características de rendimiento y composición de aceite esencial, para su producción.

El rendimiento de extracción del aceite esencial fue obtenido por hidrodestilación mientras que la composición del aceite esencial se analizará por cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, a partir de aceites esenciales extraídos por hidrodestilación con aparato Neoclevenger y destilación-extracción con aparato de Likens-Nickerson para evitar transformaciones del aceite durante el proceso de extracción.

Se hicieron pruebas de oxidación de los aceites esenciales obtenidos para en conjunto con la información de los componentes principales, evaluar los posibles usos en las industrias que utilizan aceites esenciales (cosmética, alimentos, química, medicina, entre otras).

Como información complementaria se realizará un tamizaje fotoquímico de las plantas a estudiar.

A partir de los resultados, se evaluó el potencial de económico de la producción de aceite esencial de las plantas a estudiar y las procedencias que presentan las mejores características.

El estudio fue realizado en la Unidad de Análisis Instrumental –UAI-, el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales –LIPRONAT- y el Departamento de Toxicología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

2. Introducción

Guatemala es un país que cuenta con una gama muy amplia de recursos naturales que utilizados racionalmente podrían contribuir al desarrollo sostenible del país. Entre esos recursos se encuentran diferentes plantas nativas, algunas de las cuales se utilizan en la medicina popular, para tratar enfermedades de diferente tipo, mientras que otras no han sido investigadas y corren el riesgo de desaparecer, al no protegerse o utilizarse, lo que puede representar la pérdida de oportunidades de desarrollo económico para el país.

Entre las plantas nativas con potencial para su cultivo se encuentran varias verbenaceas y lauraceas. Algunas son cultivadas en forma artesanal y son comercializadas en mercados municipales, sin conocerse todas las posibilidades de uso que pueden poseer, en vista del desconocimiento sobre la variedad de principios activos y en general sobre su composición química. Entre estas plantas, se pueden mencionar el orégano (*Lippia graveolens*), el oroquí (*Lippia dulcis*) y el laurel (*Litsea glauscecens*), las cuales son usadas para condimentar alimentos o bien, para el tratamiento de algunas enfermedades a partir de sus infusiones.

En cuanto a las plantas que no tienen usos conocidos se encuentran la *Lippia substrigosa*, la *Lippia chiapasensis*, *Lippia myriocephala* y la *Lippia cardiostegia*, las cuales representaron mucha dificultad para su localización en estudios recientes, presumiéndose que existe peligro de que desaparezcan en un mediano plazo, sin someterse a una evaluación sobre su potencial de cultivo y aprovechamiento.

Es conocida la generación de aceites esenciales por plantas de las verbenaceas y lauraceas, conociéndose que *L. graveolens*, *L. dulcis* y *L. glauscecens* presentan altos rendimientos y se conocen las composiciones de los aceites esenciales extraídos por hidrodestilación por aparato neoclevenger. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que durante el proceso de hidrodestilación ocurren reacciones que modifican la composición química del aceite esencial, al facilitarse diferentes oxidaciones, por lo que al analizarse el aceite esencial extraído, por cromatografía de gases, se obtiene información inexacta sobre su composición. Esto ha ocurrido en la mayor parte de los estudios sobre composición de aceites esenciales hechos a la echa, por lo cual el desconocimiento de la composición exacta del aceite esencial puede llevar a errores en la evaluación de su potencial de uso y comercialización.

Por otra parte, en cuanto a las plantas que no han sido estudiadas en extensión, recientes estudios con pequeñas poblaciones han demostrado que presentan aceites esenciales con buen rendimiento por hidrodestilación, sin embargo, hace falta información para determinación de las variaciones de la composición del aceite esencial con respecto a la estación de colecta, así como a la ubicación geográfica de la población, de manera de permitir evaluar su potencial y recomendar cuales poblaciones serían las mejores para utilizarse en cultivos para la extracción y posible comercialización del aceite esencial.}Este desconocimiento representa un costo de no utilización de los recursos para el país y la posible pérdida de especies que podrían ser fuentes alternativas de desarrollo económico para pequeños y medianos agricultores.

Resumiendo, el problema consiste en el desconocimiento del potencia económico de estas plantas nativas de Guatemala, y la posible pérdida de algunas de estas especies, por el avance de la frontera agrícola y la no utilización de estos recursos, con posible potencial económico, para las industrias de alimentos, cosméticos y medicina.

3. Antecedentes

Aceites esenciales

Los aceites esenciales son usados en muchas industrias para proporcionar aromas y olores especiales a productos como perfumes, cosméticos, jabones, condimentos, dulces, etc. Otros usos consisten en enmascarar olores desagradables en ambientes de trabajo e instalaciones sanitarias, así como su uso como solventes y como insumos en productos de las industrias de plásticos, tintas, caucho, insecticidas y otras.

Muchos aceites constituyen compuestos de partida para síntesis de otras sustancias útiles en las industrias química y farmacéutica. Otros componentes tienen propiedades farmacológicas y son usados como antibacterianos, analgésicos, sedantes, expectorantes, estimulantes y estomáquicos en la composición de medicamentos.

Para que un aceite esencial nuevo sea introducido en el mercado internacional, presenta diferentes niveles de dificultad, según la industria para la que se destine, así por ejemplo, para su aceptación en la industria de aromas debe cumplir con patrones complejos y rígidos, exigiendo una calidad uniforme. Por esta razón, generalmente existe un gran interés en esta industria por la investigación de nuevas fuentes de aceites esenciales. En el caso de la industria química, en la cual los aceites esenciales son utilizados como solventes, o bien, como insumos, la aceptación del nuevo producto no presenta las mismas restricciones.

Aragão et al (1981), seleccionaron varias plantas con posibilidades económicas en cuanto a su cultivo, basándose en los siguientes criterios:

- a) abundancia de la planta en la región
- b) rendimiento de aceite esencial elevado, igual o mayor que 0.5%
- c) un componente principal económicamente importante en concentración superior a 30%
- d) un componente secundario de alto valor económico

En dicho estudio, Aragón obtuvo resultados de análisis químico de 82 Aceites esenciales de plantas del Noreste de Brasil, de 14 familias botánicas diferentes. Los resultados más importantes de dicho estudio fueron los cromatogramas correspondientes a cada aceite y la relación de los constituyentes químicos identificados, así como sus fuentes alternativas. Previo a su análisis, los aceites estudiados fueron obtenidos extracción por arrastre con vapor de agua, a partir de materiales colectados en el campo y transportados al laboratorio en vehículo, manteniéndolas a baja temperatura. Existen otras técnicas de extracción antiguas, como la extracción con grasa fría o grasa caliente, que no serán utilizadas en el proyecto, al ser de bajo rendimiento (Guenther, 1948). Como aporte final, el autor presentó once monografías de los aceites esenciales seleccionados por la importancia de sus posibilidades económicas, en las cuales se hicieron sugerencias sobre la necesidad de investigación agronómica para su aprovechamiento agroindustrial en el noreste de Brasil.

En cuanto a las técnicas de extracción, las más conocidas son el arrastre con vapor de agua, la hidrodestilación y la extracción con solventes. Para propósitos analíticos es la hidrodestilación con aparato Neo-clevenger la más utilizada (Pereira, et al, 2000), sin embargo, esta técnica provoca reacciones de oxidación en varios componentes del aceite esencial, debido a la presencia de agua y la alta temperatura, por lo que la composición del aceite se altera antes del análisis cromatográfico. Por esta razón, se ha utilizado recientemente la destilación extracción por tres horas, utilizando el aparato de Likens-Nickerson, para la extracción del aceite con fines puramente analíticos (Pereira et al., 2003), que es la técnica que se propone en el presente estudio. Además, recientemente se ha utilizado la técnica de Microextracción en Fase Sólida, que permite la extracción del aceite esencial a partir de material fresco y su inyección inmediata en el cromatógrafo de gases, lo cual evita el uso de solventes y permite un análisis más inmediato de la composición del aceite esencial estudiado.

Polimorfismo químico

Diferentes estudios de plantas ricas en aceite esencial han demostrado en los últimos años, la existencia de polimorfismo químico entre plantas de la misma especie, es decir, existen plantas de una misma especie que producen aceites esenciales con composiciones diferentes, debido a la diferencia en condiciones climáticas donde crecen. Estas plantas pueden agruparse de acuerdo a orígenes comunes de acuerdo a quimiotipos (Pereira et al, 2003), de manera que puede seleccionarse la procedencia que producirá los mejores resultados en cuanto a composición y a rendimiento.

Plantas a estudiar:

Con respecto a las plantas investigadas en el presente estudio, a continuación se presenta la principal información encontrada en la literatura revisada

Lippia chiapasensis

Arbusto o árbol débil de hasta 4 m de altura, con hojas de 2-6 m de longitud de 1.5-4.5 cm de ancho, usualmente agudas (Stanley, Williams, 1970). Se encuentra en bosques húmedos o secos, frecuentemente rocosos o en prados, entre 1,500 y 3,000 msnm. Se encuentra en los departamentos de Baja Verapaz, Huehuetenango, San Marcos, Sololá, Totonicapán. También se encuentra en México. No se encontraron usos medicinales en la revisión de literatura efectuada. Un estudio reciente, en que se colectó muestra de una población reveló que la planta presenta aceite esencial, habiéndose obtenido un rendimiento de extracción por hidrodestilación con aparato Neo-Clevenger de 0.6% (Pérez et al, 2004).

Lippia substrigosa

Arbusto o árbol de hasta 7 metros de altura, con hojas de 5 a 24 cm de longitud y 2.5-12 cm de ancho. Se encuentra en bosques secos, algunas veces en pendientes abiertas y rocosas, entre 1,200 y 2,800 msnm. En Guatemala crece en los departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Guatemala, Huehuetenango, Jalapa, Quetzaltenango, El Quiché, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Sololá e Zacapa.

Se encuentra también en el sur de México (Standley, Williams, 1970). En la revisión de literatura no se encontraron reportes sobre usos medicinales reportados para esta planta. En un muestra colectada en las faldas del Volcán de Fuego, se obtuvo un rendimiento promedio de 0.7% de aceite esencial, extraído por hidrodestilación con aparato Neo-Clevenger (Pérez et al, 2004)

Lippia myriocephala

Arbustos o árboles de hasta 12 m de altura, con hojas de 5-15 cm de longitud por 1-5 de ancho. Crece en bosques rocosos, húmedos o secos, frecuentemente en laderas, pendientes de bosques nubosos, entre 300 a 2,700 msnm. Se encuentra en los departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Guatemala, Izabal, Petén, El Progreso, Quetzaltenango, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, y en México, Honduras Británica, y de Honduras a Costa Rica.

En un estudio reciente efectuado en Costa Rica se reportaron 59 compuestos en el aceite esencial de *L. myriocephala* Schltdl. et Cham, correspondientes al 92% de la composición del aceite esencial, analizado por cromatografía de gases. Los componentes mayoritarios encontrados fueron: beta-cariofileno (16.1%), germacreno D (11.2%) beta-cubebeno (8.1%), geranilacetona (7.3%) y alfa-copaeno (6.26) (Vila R et al., 2004).

Lippia graveolens

Crece en forma de arbustos finos de hasta 3 m de altura. Posee hojas de 2-4 cm de longitud. Las hojas aromáticas, secas o frescas, son usadas en Centro América para dar sabor a comidas, y secas, son vendidas en el mercado ((Standley, Williams, 1970). Se encuentra en los departamentos de Petén y Zacapa en Guatemala, y en México y Nicaragua.

Fischer et al (1993), estudiaron la variabilidad del aceite esencial de la planta, analizando la composición de los aceites esenciales de muestras de cinco lugares en regiones subtropicales áridas y suelo rocoso (Subinal, Oreganal, Agua Caliente, Buena Vista e San Jacinto). Fueron reportados rendimientos entre 1.24 e 3.56% (w/w), realizando la extracción por hidrodestilación con aparato Neo-Clevenger. En ese estudio se identificaron tres diferentes quimiotipos identificados, siendo tipo timol, tipo carvacrol y tipo mixto. La muestra correspondiente a Agua Caliente presentó aceite esencial tipo timol: 80.6%, lo cual es único para *L. graveolens*, ya que no se había reportado en estudios anteriores. Los aceites presentaron Timol en concentraciones de 6.8%-80.6%, al analizarse por cromatografía de gases

Por su parte, Salgueiro y colaboradores (2003) reportaron composiciones para dos muestras de *L. graveolens* de Guatemala. En ese estudio se encontraron concentraciones diferentes para los dos aceites estudiados, siendo así: Carvacrol (0.2 vs 44.8%); timol: (18.1 vs 7.4%), p-cimeno (6.8 vs 21.8%). Dos aceites esenciales presentaron actividad importante contra bacterias gram positivas e gram negativas. El aceite con mayor contenido de carvacrol fue más activo.

Senatore y Rigano(2001) estudiaron muestras de *Lippia alba* e *L. Graveolens*, de Guatemala. Encontraron rendimientos de extracción por hidrodestilación de 0.22% para *L. alba* e de 0.26% para *L. graveolens* (v/w), base seca. La composición fue analizada por GC e GC-MS. 5 muestras de *L. graveolens* de 4 departamentos fueron estudiadas. En tres muestras el timol fue el componente más importante (timol: 56.6-80.6%; carvacrol: 1.1-4.4%); En una muestra el carvacrol fue el componente más importante (45.2%; timol: 0.4-0.7%). En la muestra 5 (Subinal) no hubo compuesto dominante: timol: 6.8%; carvacrol: 1.1%, 4-terpineol: 7.3%, cariofileno: 8.7%; a-humuleno: 5.7%. Otros compuestos encontrados en las 5 muestras: mirceno, p-cimeno (2.7-6.9%), limoneno, 1,8-cineol, borneol, germacreno-D, óxido de cariofileno.

Por su parte, Cáceres (1998) informa sobre la composición del aceite esencial de *L. graveolens* de esta forma : timol (40-60%), p-cimeno (7.7-9.2%), 1,8-cineol (4.5-4.8%), carvacrol (3.1-21%), g-terpineno (3.1-3.9%), metil-timol (2.4-3.8%), mirceno (0.9-2.5%), cariofileno (0.8-1.2%), linalool (0.7-1.3%), y otros 35 compuestos en cantidades menores (Lawrence, 1984).

Lippia dulcis

Crece en suelos de bosques, márgenes de pantanos, o en pastos, desde el nivel del mar hasta 1,800 m. Se encuentra en los departamentos de Alta Verapaz, Chiquimula, Guatemala, Petén, Retalhuleu, Sacatepéquez, Santa Rosa, Sololá, en la República de Guatemala y en México, así como de Honduras Británica hasta Panamá. Son plantas perennes, raras veces mayores de 40 cm. Presenta hojas de 1-6 cm de longitud, que son muy aromáticas. Esta planta es utilizada en la medicina doméstica. La raíz cuando es masticada presenta sabor de licor, por lo cual es conocida como "orozús" en América Central (Standley, Williams, 1970).

En estudios efectuados en Guatemala se han obtenido rendimientos de extracción por hidrodestilación de muestras de San Juan Sacatepéquez y de Chimaltenango (0.5 y 0.9%).

En plantas colectadas de *Lippia dulcis* colectadas en Puerto Rico (SoutoBachiller et al, 1997), se encontró una alta proporción de sesquiterpenoides (79%). Entre los principales compuestos se encontraron: el sesquiterpenoide intensamente dulce (+)-hernandulcina (36%) y (-)-epi-hernandulcina (22%). Alcanfor no fue determinado (<<0.01%). En un trabajo previo en México, *L. Dulcis*, presentó solamente cantidades traza de hernandulcina (40 ppm peso/peso, peso seco), mientras que el aceite esencial extraído por destilación por arrastre con vapor, presentó principalmente monoterpenoides (86%), alcanfor (53%). De acuerdo con esto se tendrían dos quimiotipos, tipo hernandulcina y tipo alcanfor.

Kaneda (1992), identificó un nuevo sesquiterpeno dulce, de las flores hojas de *Lippia dulcis* colectada en Panamá, (+)-4-beta-hidroxihernandulcina, que fue aislado con (+)-hernandulcina, (-)-epihernandulcin, y 6-metil-5-hepten-2-ona. Acteoside (verbascoside), un glicósido fenilpropanoide fue aislado de las flores de *L. dulcis*. La estructura de la (+)-4-beta-hidroxihernandulcina se estableció por la interpretación de los datos espectrales.

Cáceres (1998) informa el siguiente contenido del aceite esencial de *L. dulcis*: lippiol, monoterpenos (cánfora, borneol, canfeno, limoneno, linalool, mirceno, a- e b-pineno, terpinoleno, a-terpineol); sesquiterpenos: d-cadineno, 6-metil-5-hepten-2-ona, a-copaeno, b-cariofileno e otros desconocidos) (Standely, 1970).

L. cardiostegia

Arbusto de 3 metros de altura, con hojas de 2-7 cm de longitud y 1-3 cm de ancho. Esta especie es extremadamente variable, especialmente en el tamaño de hojas y longitud de pedúnculos (Stanley, Williams, 1970). Crece en planicies y laderas húmedas o secas, frecuentemente rocosas o con arbustos. Algunas veces en bosques mixtos abiertos entre 150 y 1,500 msnm. En Guatemala se encuentra en los departamentos de Alta Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Jutiapa, el Quiché, Sacatepéquez, Santa rosa. También en el sur de México, El Salvador, Honduras, Nicaragua y en Costa rica. No se encontró información sobre estudios de aceites esenciales en esta planta ni se reportan usos medicinales conocidos.

Litsea guatemalensis

Arbusto o árbol pequeño, a veces mayor de 6 metros de altura, con ramas finas y hojas coriáceas de 8 cm de longitud y 2.5 cm de ancho. Crece en bosques mixtos densos, húmedos y frecuentemente en bosques abiertos de pino, entre 1,500 y 3,150 msnm. Es endémica de los departamentos de Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango y Sololá. (Standley, Steyermark, 1970). En reciente prueba en el laboratorio se obtuvo un rendimiento de extracción de aceite esencial de 0.6 %, por hidrodestilación.

***Litsea glaucescens*:**

Cáceres también reporta el siguiente contenido de aceite esencial en plantas de México 1,8-cineol (22%), sabineno (13%), terpineno-4-ol (10%), g-terpineno (9%), acetato de a-terpinilo (7%), acetato de nerilo (7%) a-pineno (5%), sabineno (4%) e b-pineno (4%)

4. Justificación

La determinación de la composición y rendimiento de aceites esenciales de X plantas nativas de Guatemala, de diferentes procedencias geográficas y en diferentes épocas del año, permitirá evaluar el potencial económico del aceite esencial como posible fuente alternativa para el aprovechamiento de los recursos naturales de Guatemala.

La identificación de las poblaciones que presentan mejores rendimientos y composiciones con mayor potencial para la comercialización, permitirá elaborar recomendaciones sobre qué plantas y cuales procedencias podrían cultivarse y utilizarse en la industria.

Por otra parte, la determinación de la composición química de los aceites esenciales extraídos por medio de procedimientos que no la modifican, permitirá evaluar en mejor forma los usos potenciales de los aceites de las plantas estudiadas, para lo cual se harán análisis complementarios de potencial antioxidante, a partir de lo cual se podrán recomendar los aceites esenciales con base en las industrias en que podrían ser utilizados. Existen reportes sobre la composición del aceite esencial de *L graveolens* y *L dulcis*, sin embargo, la extracción fue realizada por hidrodestilación con aparato Neo-clevenger, la cual provoca la oxidación de componentes, por lo que es necesario realizar análisis en aceites esenciales extraídos según procedimientos que no modifique su composición.

Además, el proyecto será de utilidad para realizar una actualización de las áreas geográficas en que se encuentran las plantas nativas estudiadas, ya que recientemente se ha experimentado dificultad para encontrar algunas de estas plantas en los lugares reportados por la literatura, como la Flora de Guatemala, por ejemplo (Standley, Steyermark, 1970) , lo que podría ser indicativo de que se encuentren en proceso de extinción, debido al avance de la frontera agrícola y al desuso de estas plantas en la alimentación y la medicina popular de Guatemala.

Por último, la ejecución del proyecto permitirá desarrollar metodología para la extracción de aceites esenciales a partir de material vegetal, sin modificaciones en la composición de los aceites esenciales, y optimizar la metodología de análisis cromatográfico.

5. Objetivos

1. General:

Evaluar el potencial económico del aceite esencial de nueve plantas nativas de Guatemala de las familias Verbanaceae y Lauraceae (*Lippia cardiostegia*, *L. chiapasensis*, *L. dulcis*, *L. graveolens*, *L. myriocephala*, *L. salamensis*, *L. substrigosa*, *Litsea glauscescens*, y *L. guatemalensis*).

2. Específicos:

2.1 Determinar la composición química de los aceites esenciales de nueve plantas nativas de Guatemala de las familias Verbanaceae y Lauraceae.

2.2 Establecer los posibles usos del aceite esencial de las plantas nativas estudiadas, con base en su composición química.

2.3 Determinar la actividad antioxidante de los aceites esenciales de las plantas nativas estudiadas.

2.4 Determinar las variaciones estacionales en el rendimiento de extracción de aceites esenciales de las plantas nativas estudiadas.

2.5 Establecer las plantas nativas con mayor potencial económico para la producción de aceite esencial y las procedencias con mejores rendimientos cualitativos y cuantitativos.

2.6 Desarrollar metodología analítica que permita la determinación rápida y confiable de los componentes de aceites esenciales.

2.7 Determinar la línea base sobre las condiciones actuales de las especies a analizar en el proyecto.

6. Referente teórico

Aceites esenciales

Los aceites esenciales son usados en muchas industrias para proporcionar aromas y olores especiales a productos como perfumes, cosméticos, jabones, condimentos, dulces, etc. Otros usos consisten en enmascarar olores desagradables en ambientes de trabajo e instalaciones sanitarias, así como su uso como solventes y como insumos en productos de las industrias de plásticos, tintas, caucho, insecticidas y otras.

Muchos aceites constituyen compuestos de partida para síntesis de otras sustancias útiles en las industrias química y farmacéutica. Otros componentes tienen propiedades farmacológicas y son usados como antibacterianos, analgésicos, sedantes, expectorantes, estimulantes y estomáquicos en la composición de medicamentos.

Para que un aceite esencial nuevo sea introducido en el mercado internacional, presenta diferentes niveles de dificultad, según la industria para la que se destine, así por ejemplo, para su aceptación en la industria de aromas debe cumplir con patrones complejos y rígidos, exigiendo una calidad uniforme. Por esta razón, generalmente existe un gran interés en esta industria por la investigación de nuevas fuentes de aceites esenciales. En el caso de la industria química, en la cual los aceites esenciales son utilizados como solventes, o bien, como insumos, la aceptación del nuevo producto no presenta las mismas restricciones.

Aragão et al (1981), seleccionaron varias plantas con posibilidades económicas en cuanto a su cultivo, basándose en los siguientes criterios:

- e) abundancia de la planta en la región
- f) rendimiento de aceite esencial elevado, igual o mayor que 0.5%
- g) un componente principal económicamente importante en concentración superior a 30%
- h) un componente secundario de alto valor económico

En dicho estudio, Aragón obtuvo resultados de análisis químico de 82 Aceites esenciales de plantas del Noreste de Brasil, de 14 familias botánicas diferentes. Los resultados más importantes de dicho estudio fueron los cromatogramas correspondientes a cada aceite y la relación de los constituyentes químicos identificados, así como sus fuentes alternativas. Previo a su análisis, los aceites estudiados fueron obtenidos extracción por arrastre con vapor de agua, a partir de materiales colectados en el campo y transportados al laboratorio en vehículo, manteniéndolas a baja temperatura. Existen otras técnicas de extracción antiguas, como la extracción con grasa fría o grasa caliente, que no serán utilizadas en el proyecto, al ser de bajo rendimiento (Guenther, 1948). Como aporte final, el autor presentó once monografías de los aceites esenciales seleccionados por la importancia de sus posibilidades económicas, en las cuales se hicieron sugerencias sobre la necesidad de investigación agronómica para su aprovechamiento agroindustrial en el noreste de Brasil.

En cuanto a las técnicas de extracción, las más conocidas son el arrastre con vapor de agua, la hidrodestilación y la extracción con solventes. Para propósitos analíticos es la hidrodestilación con aparato Neo-clevenger la más utilizada (Pereira, et al, 2000), sin embargo, esta técnica provoca reacciones de oxidación en varios componentes del aceite esencial, debido a la presencia de agua y la alta temperatura, por lo que la composición del aceite se altera antes del análisis cromatográfico. Por esta razón, se ha utilizado recientemente la destilación extracción por tres horas, utilizando el aparato de Likens-Nickerson, para la extracción del aceite con fines puramente analíticos (Pereira et al., 2003), que es la técnica que se propone en el presente estudio. Además, recientemente se ha utilizado la técnica de Microextracción en Fase Sólida, que permite la extracción del aceite esencial a partir de material fresco y su inyección inmediata en el cromatógrafo de gases, lo cual evita el uso de solventes y permite un análisis más inmediato de la composición del aceite esencial estudiado.

Polimorfismo químico

Diferentes estudios de plantas ricas en aceite esencial han demostrado en los últimos años, la existencia de polimorfismo químico entre plantas de la misma especie, es decir, existen plantas de una misma especie que producen aceites esenciales con composiciones diferentes, debido a la diferencia en condiciones climáticas donde crecen. Estas plantas pueden agruparse de acuerdo a orígenes comunes de acuerdo a quimiotipos (Pereira et al, 2003), de manera que puede seleccionarse la procedencia que producirá los mejores resultados en cuanto a composición y a rendimiento.

7. Metodología

Hipótesis: (si procede)

4.1.1 Por lo menos tres especies de las plantas *Lippia cardiostegia*, *L. chiapasensis*, *L. dulcis*, *L. graveolens*, *L. myriocephala*, *L. salamensis* e *L. substrigosa* y *Litsea glauscescens*, *L. guatemalensis*, presentan quimiotipos con buenas características para la producción de aceite esencial.

El criterio utilizado para considerar adecuadas o no, es el recomendado por Aragão en 1981, en cuanto a que una planta presenta potencial económico para su extracción de aceite esencial si su contenido de aceite es mayor que 0.5% y presenta componentes mayoritarios de valor económico.

Metodología:

1. Universo de trabajo

Las plantas nativas que serán investigadas son las siguientes:

VERBENACEAE: *Lippia cardiostegia*, *L. chiapasensis*, *L. dulcis*, *L. graveolens*, *L. myriocephala*, *L. controversa* y *L. substrigosa*.

LAURACEAE: *Litsea glauscescens*, *L. guatemalensis*.

2. Muestreo

Con base en la información de la Flora Guatemalteca, se realizaron viajes de campo para la localización de las especies a estudiar. Se buscaron por lo menos tres procedencias distintas, para cada planta. Se realizaron tres colectas en el período de un año, correspondiendo a los bimestres: marzo-abril (época seca), julio-agosto (época lluviosa), octubre-noviembre (época fría). Se colectaron dos ejemplares de cada población para herborizar, depositándose una en el herbario de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. A cada muestra se le asignó un código, iniciando por dos letras que identifiquen la localidad seguido de seis dígitos correspondientes a la fecha de muestreo. Se realizó una lectura con el sistema de posicionamiento geográfico (GPS) para referenciar el lugar.

Se colectó por lo menos 2 Kg de partes aéreas de cada planta y será transportada a la ciudad de Guatemala para su procesamiento.

3. Preparación de la muestra:

Se separaron las hojas y los troncos suaves del material vegetal y eliminaron el resto, se mezcló el material vegetal y se secó a temperatura ambiente, dejando una fracción de 25 gramos para determinaciones de humedad. Se herborizaron dos ejemplares para depositar en herbario.

Se dividió cada muestra en tres submuestras de masa aproximadamente igual.

A partir de cada submuestra realizar las determinaciones que se explican a continuación.

4. Determinación de Humedad:

Se pesaron con exactitud 10.00 g de material vegetal recién cortado (submuestra 1) y colocarla en una cápsula de porcelana.

Se colocó la muestra en el horno de convección y dejarla a 95°C por 20 horas.

Se pesó la muestra en balanza analítica, determinando el contenido de humedad por diferencia con el peso original.

5. Determinación de contenido de cenizas:

Se pesó con exactitud en una balanza analítica, 4 g de material vegetal húmedo en un crisol de porcelana.

Se calcinó la muestra en una mufla a 550°C por 14 horas, o hasta obtener cenizas blancas.

Se pesaron las cenizas en balanza analítica luego de la calcinación.

Se obtuvo el contenido de cenizas, relacionando el peso de las cenizas con el peso original de la muestra.

6. Extracción de aceites esenciales por hidrodestilación con aparato Neoclevenger

Pesar 50 g de material vegetal en un balón de 250 mL, 24/40.

Agregar agua hasta pasar levemente el nivel de la mitad del balón.

Acoplar el balón con el aparato de extracción, y encender la estufa y la circulación del agua a través del refrigerante del aparato de destilación.

Destilar el aceite esencial por 3 horas, contadas a partir de la hora en que se inicia la destilación. Apagar el aparato.

El aceite se colecta en n-pentano y es concentrado en rotavapor. Se mide luego la masa del aceite destilado y se almacena en un vial de 2 mL en refrigeración.

Almacenar la muestra en la refrigeradora, para su posterior análisis cromatográfico.

7. Extracción de metabolitos secundarios por maceración con etanol

Colocar 100 g de material vegetal fresco y el equivalente de material seco, en un percolador de 1 L.

Agregar etanol al 95% al percolador, hasta cubrir completamente la muestra.

Dejar reposar la muestra con etanol por 48 horas.

Filtrar y coleccionar la solución etanólica en un recipiente de vidrio.

Agregar una nueva cantidad de etanol al 95% al material vegetal restante en el percolador.

Dejar reposar la muestra por 48 horas.

Filtrar y coleccionar la solución etanólica. Si ésta aún presenta coloración, repetir los dos pasos anteriores, hasta obtener soluciones sin coloración o coloración muy débil.

Mezclar los diferentes extractos obtenidos con la muestra.

Dividir los extractos en dos partes, una para análisis de aceite esencial y la otra para el tamizaje fitoquímico.

Concentrar los extractos para análisis de aceite esencial en un rotavapor. Pesar y disolver una fracción, la cual se pesa, en 3 mL de etanol.

La muestra está lista para análisis cromatográfico.
Los extractos para tamizaje fitoquímico se utilizan directamente o se concentran, dependiendo de la prueba específica.

8. Análisis cromatográfico de los aceites esenciales

Se realizó de acuerdo con el método cromatográfico desarrollado en la Unidad de Análisis Instrumental, inyectando 0.2 μ L.

9. Tamizaje fitoquímico

Se realizaron pruebas de tamizaje fitoquímico para determinar la presencia de los siguientes compuestos que son considerados como principios activos: alcaloides, taninos, fenólicos, principios amargos, antraquinonas, cumarinas y saponinas. Las pruebas se realizaron siguiendo los procedimientos de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos (Medinilla, 1996).

10. Actividad Antioxidante

Se realizaron pruebas de actividad antioxidante en muestras de aceite de algodón sin aditivos, en comparación con preservantes como BHT, BHA y TBHQ, siguiendo el método de termoxidación (Almeida-Doria, Regitano-Dárcey, 2000) del radical picrilato.

11. Análisis de los resultados

Se compararon las diferencias entre presencia de principios activos y cantidad y composición del aceite esencial correspondiente a cada planta, dependiendo si se utilizó material vegetal seco o húmedo, así como si la cosecha se realiza en época lluviosa o seca.

Se realizaron extracciones y análisis cromatográfico por triplicado, de cada población muestreada.

Para la evaluación de las diferencias significativas entre los rendimientos de extracción entre poblaciones diferentes de plantas de la misma especie, se realizará un análisis de varianza de una vía.

A partir de la composición de los aceites esenciales, se realizó un análisis de conglomerados a partir de muestras de por lo menos tres procedencias, para evaluar las similitudes y determinación de quimiotipos entre las especies a estudiar. Se elaboró un dendrograma para identificar quimiotipos.

Técnicas a utilizar en el proceso de la investigación:

Muestreo

Se localizaron los lugares en que existen poblaciones de las plantas a estudiar, y se realizaron colectas en tres diferentes periodos: marzo-abril, julio-agosto y octubre-noviembre. Se colectarán 2 Kg de partes aéreas.

Análisis de datos

Para el análisis de resultados y comparación de las características entre las diferentes poblaciones de una especie, se utilizará el análisis de varianza de una vía. Para la determinación de quimiotipos se realizará un análisis de conglomerados.

Las muestras serán codificadas, a partir del muestreo. Una hoja de registro será utilizada para identificar las características principales del lugar de muestreo, ubicación y de la planta.

Se considera que una planta presenta potencial económico para su extracción de aceite esencial si su contenido de aceite es mayor que 0.5% y presenta componentes mayoritarios de valor económico.

El departamento de Biometría de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia colaborara con los análisis de los resultados mediante uso de paquete estadístico.

Interpretación de los datos

Los datos serán interpretados de acuerdo con la evaluación estadística de los resultados, aplicando criterios de análisis de varianza de una vía.

8. Resultados y discusión de resultados

8.1 Rendimientos de aceites esenciales en las plantas estudiadas.

El cuadro 1 presenta los resultados de rendimientos de extracción de los aceites de las plantas estudiadas. De estas plantas, se había estudiado con anterioridad la *L. graveolens* (orégano mexicano), en diferentes estudios, en los cuales había presentado rendimientos superiores al 2 %. En el presente estudio, se obtuvieron rendimientos superiores a un 5 % inclusive, en las tres colectas. Esto puede deberse a que al usarse cantidades pequeñas de material vegetal seco (10 g), se incrementa la eficiencia de extracción del aparato tipo Clevenger utilizado en el estudio.

Cuadro 1

Rendimientos de extracción de aceites esenciales de plantas estudiadas, correspondientes a la primera colecta, realizada en de 2006.

Especie	% de rendimiento del aceite esencial	% de humedad valores promediados
<i>Lippia myriocephala</i>	0.05	50.26
<i>Lippia substrigosa</i>	0.36	55.0
<i>Lippia dulcis</i> (Santa Rosa)	0.50	46.98
<i>Lippia cardiostegia</i>	0.33	41.45
<i>Lippia controversa</i>	0.10	38.65
<i>Lippia chiapasensis</i> 1	0.80	51.57
<i>Lippia chiapasensis</i> 2 (alcanforado)	0.40	69.70
<i>Lippia chiapasensis</i> 3	0.80	61.11
<i>Lippia graveolens</i> (El carrizal 1)	2.50	25.51
<i>Lippia graveolens</i> (El carrizal 2)	5.24	13.07
<i>Lippia graveolens</i> (San José)	4.59	55.35
<i>Lippia graveolens</i> (km 93 ½ Mario veliz ... 1)	6.79	49
<i>Lippia graveolens</i> (km 93 ½ Mario veliz ... 2)	5.55	60
<i>Lippia graveolens</i> (Casas de pinto)	2.60	40.0
<i>Lippia graveolens</i> (El oreganal 1)	6.82	66.42
<i>Lippia graveolens</i> (El oreganal 2)	4.78	69.71

<i>Litsea guatemalensis</i> (yepocapa)	0.64	45.47
<i>Litsea guatemalensis</i> (Funcedescri)	1.11	62.19
<i>Litsea guatemalensis</i> (El Hato)	1.37	54.52
<i>Lippia dulcis</i> (gronomía)	0.85	52.44

Como puede observarse en el cuadro 1, 2 y 3, las plantas *Lippia chiapasensis* y *Lippia dulcis*, presentan rendimientos aceptables de extracción del aceite esencial usando el aparato tipo Clevenger, presentando rendimientos entre 0.4 y 1 %. En vista que estas plantas crecen en forma silvestre en Guatemala, estos rendimientos sugieren que dichas plantas podrían ser cultivadas sistemáticamente a efecto de mejorar los rendimientos y poder comercializar el aceite esencial.

Cuadro 2

Rendimientos de extracción de aceites esenciales de plantas estudiadas, correspondientes a la segunda colecta realizada en de 2006.

Especie	% de rendimiento del aceite esencial	% de humedad valores promediados
<i>Lippia myriocephala</i>	0.11	56.35
<i>Lippia substrigosa</i>	0.20	61.25
<i>Lippia dulcis</i> (Santa Rosa)	0.60	50.65
<i>Lippia cardiostegia</i> El Cerro	0.22	48.38
<i>Lippia cardiostegia</i> El camino	0.15	47.98
<i>Lippia controversa</i>	0.24	42.65
<i>Lippia chiapasensis</i> 1	0.78	53.65
<i>Lippia chiapasensis</i> 2 (alcanforado)	0.30	72.45
<i>Lippia chiapasensis</i> 3	0.33	63.35
<i>Lippia graveolens</i> (El carrizal 1)	4.65	35.80
<i>Lippia graveolens</i> (El carrizal 2)	3.70	26.24
<i>Lippia graveolens</i> (San José)	4.42	60.23

Lippia graveolens (km 93 ½ Mario veliz ... 1)	5.80	58.65
Lippia graveolens (km 93 ½ Mario veliz ... 2)	5.55	73.45
Lippia graveolens (Casas de pinto)	5.03	43.65
Lippia graveolens (El oreganal 3)	Planta cortada por los pobladores	65.78
Lippia graveolens (El oreganal 4)	2.90	62.56
<i>Litsea</i> <i>guatemalensis</i> (yepocapa)	0.62	55.65
<i>Litsea</i> <i>guatemalensis</i> (Funcedescr)	1.11	68.56
<i>Lippia graveolens</i> (Ipala, La Tuna 2)	1.81	54.65

Por otra parte, las plantas *Lippia controversa*, *Lippia substrigosa*, *Lippia cardiostegia* y *Lippia myriocephalla*, presentan rendimientos menores a 0.5% (ver cuadros 1, 2 y 3), por lo que para obtener cantidades importantes de dicho aceite es necesario procesar volúmenes elevados de material vegetal. Estas plantas presentan por lo general follaje abundante y hojas latifoliadas, que permiten la colecta de suficiente material para la extracción del aceite esencial en volúmenes cuantificables.

En cuanto a los resultados de humedad, se observaron diferencias notables en el porcentaje de humedad entre la primera colecta, realizada en estación seca, y la segunda y tercera colectas, realizadas en estación lluviosa, presentando estas dos últimas, porcentajes de humedad mucho mayores, debido al mayor contenido de humedad de los suelos por efecto de las lluvias. Es importante mencionar, que no se observaron diferencias notables en los rendimientos de extracción del aceite esencial de las plantas estudiadas, entre las diferentes colectas realizadas. De esta forma se concluye, que si se analizara el rendimiento de extracción del aceite esencial en base húmeda, se encontrarían mayores rendimientos en estación seca.

Cuadro 3

Rendimientos de extracción de aceites esenciales de plantas estudiadas, correspondientes a la tercera colecta realizada en el 2006.

Especie	% de rendimiento del aceite esencial	% de humedad valores promediados
<i>Lippia myriocephala</i>	0.085	55.20
<i>Lippia substrigosa</i>	0.25	62.45
<i>Lippia dulcis</i> (Santa Rosa)	0.54	51.23
<i>Lippia cardiostegia</i> El carro	0.22	49.56
<i>Lippia controversa</i>	0.047	43.23
<i>Lippia chiapasensis</i> 1	1.17	52.56
<i>Lippia chiapasensis</i> 2 (alcanforado)	0.36	70.56
<i>Lippia chiapasensis</i> 3	0.45	62.45
<i>Lippia graveolens</i> (km 93 ½ Mario veliz ... 1)		58.58
<i>Lippia graveolens</i> Ipala, La Tuna 2)	3.39	56.45
<i>Lippia graveolens</i> (El carrizal 1)	4.46	36.56
<i>Lippia graveolens</i> (El carrizal 2)	3.32	26.45
<i>Litsea guatemalensis</i> (yepocapa)	0.50	69.56
<i>Litsea guatemalensis</i> (Funcedescri)	0.53	67.56

8.2 Composición de sustancias volátiles en las plantas estudiadas.

En cuanto a la composición del aceite esencial de las plantas estudiadas, determinada por Microextracción en Fase Sólida (SPME) y Cromatografía de Gases con detector de masas, el Cuadro 4 presenta la composición de sustancias volátiles en *L. dulcis*, conocida popularmente como orozú. Las componentes volátiles fueron extraídos a partir del material vegetal fresco, por lo que la posibilidad de pérdida de monoterpenos en el proceso de extracción es mínima. La planta presentó una mayor proporción de sesquiterpenos, como puede observarse también en la Figura 1, que representa el cromatograma obtenido. Tanto el α -copaeno como el b-cariofileno se presentaron en concentraciones mayores a un 10%.

Cuadro 4.

Composición de sustancias volátiles en *Lippia dulcis*, extraídas por SPME. Análisis efectuado por Cromatografía de Gases acoplada a espectrometría de masas.

T retención	Compuesto	% Area
5.58	Cis-3-hexenol	0.46
5.94	1-hexenol	0.33
8.92	canfeno	0.04
9.50	2-hesanoato de metilo	0.06
9.87	sabineno	0.13
10.17	1-octen-3-ol	0.36
10.55	6-metil-5-hepten-2-ona	2.39
10.62	mirceno	0.34
12.21	p-cimeno	0.28
12.40	limoneno	0.21
13.89	3-metil-2-ciclohexen-1-ona	2.27
15.15	a-terpinoleno	0.07
15.99	linalool	2.82
16.07	nonenal	0.11
17.64	Propanoato de geranilo	0.06
22.05	l-citronellol	0.15
22.24	Timil metil eter	0.28
22.65	neral	0.22
24.08	geranial	0.28
25.39	timol	0.06
27.12	bibicloelemeno	0.63
27.76	a-cubebeno	0.58
29.37	a-copaeno	14.35
29.74	a-bourboneno	3.84
30.60	a-gurjuneno	0.78
31.52	b-cariofileno	13.15
31.75	bergamoteno	2.17
32.34	a-amorfeno	0.32
32.74	Trans-beta-farneseno	7.77
33.06	aromandreno	1.60
33.78	a-amorfeno	1.70
34.14	Germacreno D	6.11
34.63	biciclogermacreno	2.44

34.84	a-muuroleno	6.29
35.06	b-bisaboleno	3.99
35.85	a-cadineno	8.86
37.11	2-metilpentadecano	1.33
37.16	d-nerolidol	0.32
38.04	spathulenol	0.29
38.24	Oxido de cariofileno	0.75
42.31	a-bisabolol	2.25
42.37	heptadecano	0.19

El cuadro 5, presenta la composición de sustancias volátiles en *Lippia graveolens*, orégano mexicano, colectado en El Subinal, El Progreso, en el cual se aprecia que los monoterpenos constituyen la mayor proporción de las sustancias volátiles. En estudios previos se había establecido que en Guatemala existen tres diferentes tipos de orégano, dependiendo de la composición del aceite esencial, indicándose que los tres tipos correspondían según el compuesto dominante, a tipo timol, tipo carvacrol y tipo mixto. En el caso de *L. graveolens* de El Subinal, corresponde al tipo mixto, ya que no se encuentra ningún componente mayoritario, siendo los que presentan mayor concentración, el p-cimeno y el g-terpineno, superando el 10% de concentración. En esta muestra, no fueron encontrados timol y carvacrol, que son importantes en orégano de otras localidades.

La Figura 2, muestra el cromatograma correspondiente a esta muestra, el cual presenta bastante complejidad, al presentar más de ochenta sustancias.

Cuadro 5.

Componentes volátiles de Lippia graveolens de El Subinal, extraídos por SPME por 10 minutos precalentamiento, 10 minutos extracción

T retención	Compuesto	% Area
7.73	a-pineno	0.07
7.98	a-tujeno	1.07
8.22	a-pineno	0.96
8.31	a-pineno	2.16
8.86	canfeno	0.20
8.95	canfeno	0.60
9.92	sabineno	0.12
10.03	b-pineno	0.35
10.15	b-pineno	1.22
10.62	mirceno	2.23
10.71	mirceno	0.58
10.79	mirceno	3.02
11.73	d-3-careno	6.28
11.82	d-3-careno (a-pineno)	2.22
11.96	d-3-careno	1.06
11.99	d-3-careno (a-pineno)	0.97
12.06	c-3-careno (a-pineno)	3.02
12.94	1-metil-3-(1-metil-etilbenceno)	13.85
13.12	1,8-cineol	3.68
13.20	1,8-cineol	1.93
14.12	g-terpineno	14.12

14.51	Cis-hidrato de sabineno	0.40
15.12	terpinoleno	0.28
15.47	a-terpinoleno	4.37
17.99	l-terpineol	0.31
19.46	borneol	0.25
20.02	Terpinen-4-ol	3.08
20.32	p-cimen-8-ol	0.22
20.64	a-terpineol	0.59
27.73	Alfa-cubebeno	0.51
28.15	eugenol	0.05
28.79	a-ylangeno	0.47
29.15	a-copaeno	1.71
29.46	b-bourboneo	0.29
31.33	b-cariofileno	4.63
31.38	b-cariofileno	1.37
31.63	b-cubebeno	1.20
32.86	a-humuleno	3.27
33.05	aloaromandreno	1.22
33.32	a-amorfeno	2.26
34.32	b-selineno	2.46
34.66	a-muuroleno	2.56
37.10	nerolidol	0.27
38.24	Óxido de cariofileno	1.43
40.10	g-eudesmol	0.48
41.11	a-eudesmol	1.28

El cuadro 6, presenta la composición de *L. graveolens* de la localidad Aldea Magdalena, en el departamento de El Progreso, el cual muestra una lata proporción de monoterpenos, aunque sin mostrar uno dominante. El β -cariofileno, un sesquiterpeno, es el que compuesto que mostró la mayor concentración, con 15.18 %, seguido por el monoterpenoide terpinen-4-ol, con 11.08 %. No se encontraron timol ni carvacrol, por lo que la planta correspondiente a Magdalena, puede considerarse perteneciente al quimiotipo mixto.

Cuadro 6.

Componentes volátiles de *Lippia graveolens* de Aldea Magdalena, El Progreso, extraída por SPME, 10 minutos precalentamiento, 10 minutos extracción

T retención	Compuesto	% Area
7.99	a-thujeno	2.70
8.31	a-pineno	3.54
8.96	Canfeno	4.08
10.61	Mirceno	4.48
10.78	Mirceno	8.64
11.64	d-3-careno	5.23
12.50	1-metil-2-(1-metiletil)-benceno	5.52
12.66	1-metil-2-(1-metiletil)-benceno	0.74
14.15	g-terpineno	8.58
15.30	Terpinoleno	2.07
15.96	Linalool	2.60

20.08	Terpinen-4-ol	11.08
20.68	Propionato de linalilo	1.47
29.12	α -copaeno	2.69
31.41	β -cariofileno	15.18
31.62	β -cubebeno (germacreno D)	1.51
32.04	aromandreno	1.94
32.85	α -humuleno	7.00
33.59	α -amorfenol	2.15
34.25	β -selineno	3.14
34.55	α -gujuneno	2.50
38.21	Óxido de cariofileno	3.19

El Cuadro 7, presenta la composición de sustancias volátiles de la planta *Lippia controversa*, la cual no había sido estudiada previamente. Esta planta presentó una proporción bastante elevada de sesquiterpenos, presentando al β -cariofileno como el principal componente, con una concentración de 31.22%, seguido del β -selineno y el α -guaïeno con 9 y 8%, respectivamente, lo que corresponde a prácticamente el 50% de la composición de volátiles de la planta.

En vista que la planta fue extraída fresca, la pérdida de monoterpenos se redujo al mínimo previo y durante la extracción, por lo que la composición presentada en el cuadro 6 es representativa de las sustancias volátiles que la planta presenta en la naturaleza. La Figura 4 corresponde al cromatograma de las sustancias volátiles extraídas por SPME de esta planta.

Cuadro 7.

Composición de sustancias volátiles de *Lippia controversa* extraída por SPME, precalentamiento 5 min, extracción: 5 min

T retención	Compuesto	% Area
4.15	Hexanal	0.11
5.52	2-hexenal	0.47
7.97	α -thujeno	0.14
8.21	α -pineno	0.46
8.29	α -pineno	1.30
9.88	sabineno	1.00
10.13	1-octen-3-ol	2.75
10.20	1-octen-3-ol	2.67
10.39	3-octenona	0.52
12.20	p- cimeno	0.79
12.38	Limoneno	0.34
12.51	1,8-cineol	0.44
15.77	linalool	0.15
18.91	pinocarvona	0.34
19.75	Terpinen-4-ol	0.15
29.43	β -bourboneno	1.90

29.68	β -elemeno	1.45
31.22	β -cariofileno	31.22
31.60	α -amorfenol	0.21
31.92	Transbetafarneseno (nerolidol)	0.25
32.70	β -selineno	9.76
32.88	aloaromandreno	0.82
34.45	biciclogermacreno	3.33
35.12	α -amorfenol	0.39
38.09	Óxido de cariofileno	1.30
39.20	Óxido de humuleno	0.55
43.03	tetradecanal	1.72
44.36	δ -guaieno (azuleno)	8.02

El cuadro 8 presenta la composición de sustancias volátiles de la planta *L. graveolens* de El Carrizal, departamento de Chiquimula. Como puede observarse en los resultados, los compuestos p-cimeno, timol y carvacrol fueron los que presentaron mayor concentración, por lo cual pueden considerarse como responsables por el aroma que presenta el orégano de esta región. La Figura 5 presenta el cromatograma correspondiente a esta planta, en él se puede apreciar tanto el p-cimeno como el timol, como compuestos dominantes, que pueden ser de utilidad para la clasificación por quimiotipos de la planta.

Cuadro 8.

Composición de sustancias volátiles de *Lippia graveolens* de El Carrizal, Chiquimula, extraídas por SPME, t de precalentamiento: 5 min; t de extracción: 5 min.

T retención	compuesto	% Area
7.81	β -pineno	0.11
8.10	thujeno	4.10
8.38	α -pineno	1.65
8.99	canfeno	0.35
10.21	β -pineno	0.51
10.78	mirceno	7.79
11.43	α -felandreno	0.29
11.94	α -terpineno	1.33
12.00	α -terpineno	0.48
12.48	p-cimeno	6.37
12.62	p-cimeno	3.86
12.66	1-metil-2-(1-metiletil)-benceno	1.28
12.70	1-metil-2-(1-metiletil)-benceno	1.47
13.19	p-cimeno	9.70
13.26	p-cimeno	3.13
13.56	Trans- β -ocimeno	1.02
14.31	γ -terpineno	5.25
14.45	γ -terpineno	3.52
14.68	Cishidrato de sabineno	0.25

15.35	α -terpinoleno	0.17
16.00	linalool	0.56
22.37	timilmetileter	1.60
25.01	timol	8.11
26.26	carvacrol	11.47
31.46	β -cariofileno	6.24
31.74	α -farneseno	0.92
32.92	α -humuleno	3.19
34.88	β -bisaboleno	0.57
38.20	Óxido de cariofileno	0.81

Conclusiones

La planta *Lippia graveolens* presentó rendimientos elevados (superiores a 5%) de aceite esencial, que indican un potencial económico atractivo del aceite de esta planta, para su cultivo, extracción y comercialización, con alto valor agregado.

Se encontraron los tres quimiotipos previamente reportados para la planta *L. graveolens*, considerándose el tipo timol, como el más apropiado para su comercialización.

La planta *L. controversa*, presenta baja concentración de aceite esencial, pero muestra una composición de aceite esencial interesante para su extracción, al presentar compuestos mayoritarios que pueden ser utilizados como materia prima para la industria, en vista que la planta presenta bastante follaje.

La técnica de SPME, presenta bastante utilidad para la determinación de la composición de sustancias volátiles de plantas, y para la evaluación de variedades de una misma especie.

La planta *Lippia dulcis*, presenta aceite esencial características promisorias, por su rendimiento aceptable y su composición química que presenta bastante riqueza en sustancias de amplia aplicación en la industria farmacéutica, alimenticia y cosmética.

La planta *Lippia chiapasensis* presenta un rendimiento aceptable de aceite esencial y composición interesante para su comercialización, en vista de la elevada presencia de citral.

En general, para todas las plantas estudiadas, se observó una diferencia marcada entre los niveles de humedad de la primera colecta, efectuada en estación seca, y la segunda y tercera colectas, realizadas en estación lluviosa, observándose mayores porcentaje de humedad en estas últimas colectas.

No se observaron diferencias notables en los rendimientos de extracción por hidrodestilación del aceite esencial de las plantas estudiadas, entre las tres colectas realizadas en diferentes meses del año 2006. Esto indica que el rendimiento en material vegetal seco, no se ve afectado por los cambios de estación de manera significativa debido a los factores genéticos de cada especie.

Recomendaciones

En vista de la utilidad encontrada en la técnica de microextracción en fase sólida, para la determinación de sustancias volátiles en material vegetal, se recomienda su uso en estudios de prospección de aceites esenciales y para la clasificación quimiosistemática de plantas aromáticas, al presentar rapidez en el análisis, necesidad de poca cantidad de muestra, no requerir preparación de muestra y presentar bajo costo por muestra.

Es recomendable evaluar el potencial del aceite esencial de las plantas *L. controversa*, *L. chiapasensis*, *L. substrigosa* y *L. myriocephala*, de un mayor número de procedencias, ya que por ser estas plantas perennes y presentar follaje abundante, pueden representar una alternativa para el aprovechamiento de su aceite esencial.

Bibliografía

ACS, *Bioactive Volatile Compounds from plants*. ACS, Washington 1993. 309 pp.

Aguilar, L. Confirmación de la actividad antibacteriana in vitro de extractos de cuatro plantas obtenidos con solventes de diferente polaridad. Tesis Ad gradum. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1990.

Aragão, A. *Oleos Essenciais de Plantas do Nordeste*. Edicoes UFC. Fortaleza, Brasil, 1981.

Ayala, N.E. *Demostación de la Inhibición de C.albicans por extractos de ocho vegetales que tienen acción antibacteriana*. Tesis Ad gradum, Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia 1992.

Cáceres (1998) Cáceres, A. *Plantas de Uso Medicinal en Guatemala*. Colección Monografías, Vol. 1 Editorial Universitaria, Guatemala, 1996.

Almeida-Doria, R.F., Regitano-Dárcey, A.B. Antioxidant of Rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, Campinas 20(2): 197-203. 2000.

Fischer, U., Franz, Ch., López, R., Poll, E. *Proc. 27 Intl. Sympo. Ess. Oils*, Vienna, 1996, 266-269

Girón, L. *Investigación de la Inhibición*. Tesis Ad gradum. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1983.

Guenther, E. *The Essential Oils*. Van Nostrand Company, New York. 1948. Vol. 1. P.189-200.

Kaneda, J. P. *JOURNAL OF NATURAL PRODUCTS* 55 (8): 1136-1141 AUG 1992

Manrique, S. *Acción antimicobacteriana in vitro de seis plantas medicinales usadas en el tratamiento de tuberculosis*. Tesis Ad gradum. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1992.

Medinilla, B. *Manual de Laboratorio de Farmacognosia*. USAC, Guatemala, 1996

Pereira, S.I., Santos, P.A.G., Barroso, J.G., Figueiredo, A.C., Pedro, L.G., Salguero, L.R., Deans, S.G., Scheffer, J.J.C. Chemical Polymorphism of the Essential Oils from Populations of *Thymus caespitius* Grown on the Islands Pico, Faial and Graciosa (Azores). *Phytochemical Analysis*, 14, 228-231 (2003)

Pereira, S.I., Santos, P.A.G., Barroso, J.G., Figueiredo, A.C., Pedro, L.G., Salgueiro, L.R., Deans, S.G., Scheffer, J.J.C. Chemical Polymorphism of the Essential Oils from Populations of *Thymus caespitius* Grown on the island S. Jorge (Azores). *Phytochemistry*, 55 (2000) 241-246.

Pérez, J.F., Mérida, M., Ribeiro da Silva, A.J. Composição do óleo essencial da planta *Lippia chiapasensis* de uma população da Guatemala. Livro de Resumos, XXVIII Reunião Anual Sociedade Brasileira de Química, 2005.

Pérez, J.F., Mérida, M., Ribeiro da Silva, A.J. Óleos essenciais de *Lippia graveolens* HBK (orégano mexicano) de oito localidades da Guatemala. Livro de Resumos, XXVIII Reunião Anual Sociedade Brasileira de Química, 2005.

Salgueiro, L.R. Santos, P.A.G., Barroso, J.G., Figueiredo. PLANTA MEDICA 69 (1): 80-83 JAN 2003

Senatore, L., Rigano, F. FLAVOUR AND FRAGRANCE JOURNAL 16 (3): 169-171 MAY-JUN 2001

SoutoBachiller et al PHYTOCHEMISTRY 44 (6): 1077-1086 MAR 1997

Standley, P. Steyermark, 1970. Flora de Guatemala, part IX. Fieldiana: Botany, USA. 1970, vol. 24. 209-211.

Vila R, Iglesias J, Canigüeral S, Ciccio JF (JOURNAL OF ESSENTIAL OIL RESEARCH 16 (3): 177-179 MAY-JUN 2004),

Windholz, M. *The Index Merck*. Merck & Co. 10 ed. New Jersey, USA. 1983.

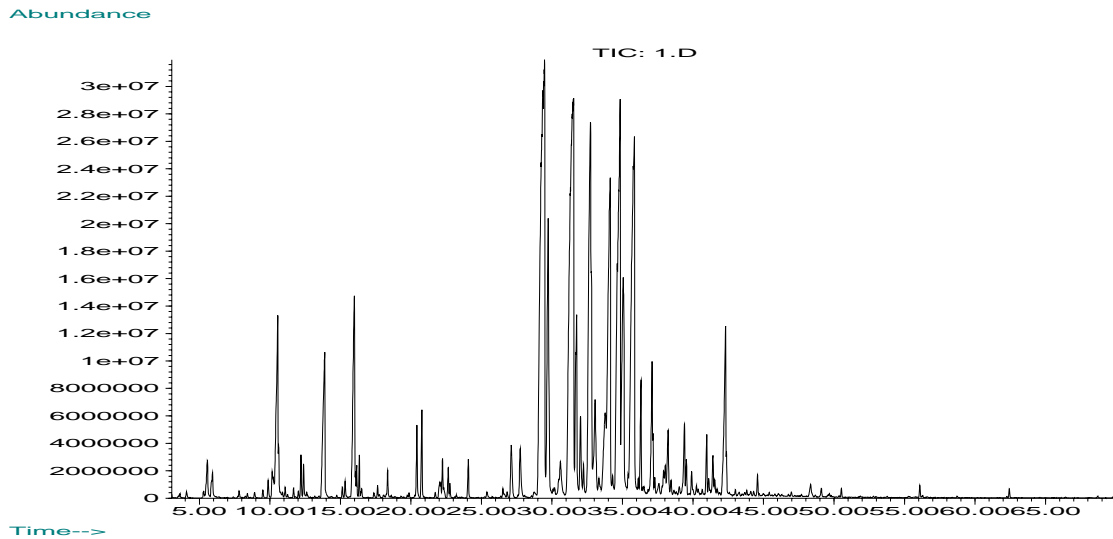


Figura 1. Cromatograma de componentes volátiles de *Lippia dulcis*, extraído por SPME, con fibra de polidimetilsiloxano, por 1 minuto de precalentamiento y 15 minutos de extracción.

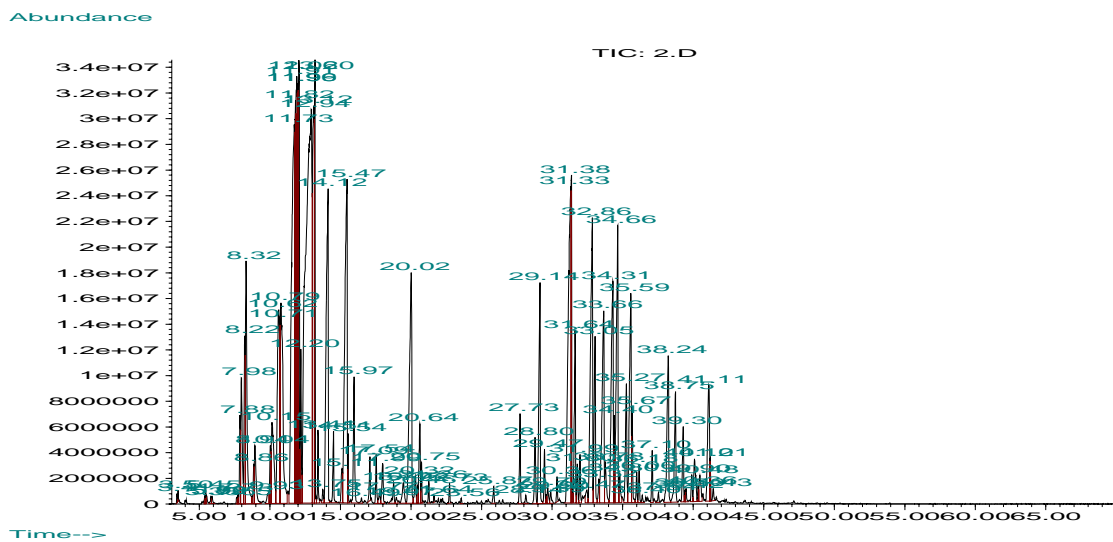


Figura 2. Cromatograma de componentes volátiles de *Lippia graveolens* de El Subinal, extraído por SPME, con fibra de polidimetilsiloxano, por 1 minuto de precalentamiento y 15 minutos de extracción.

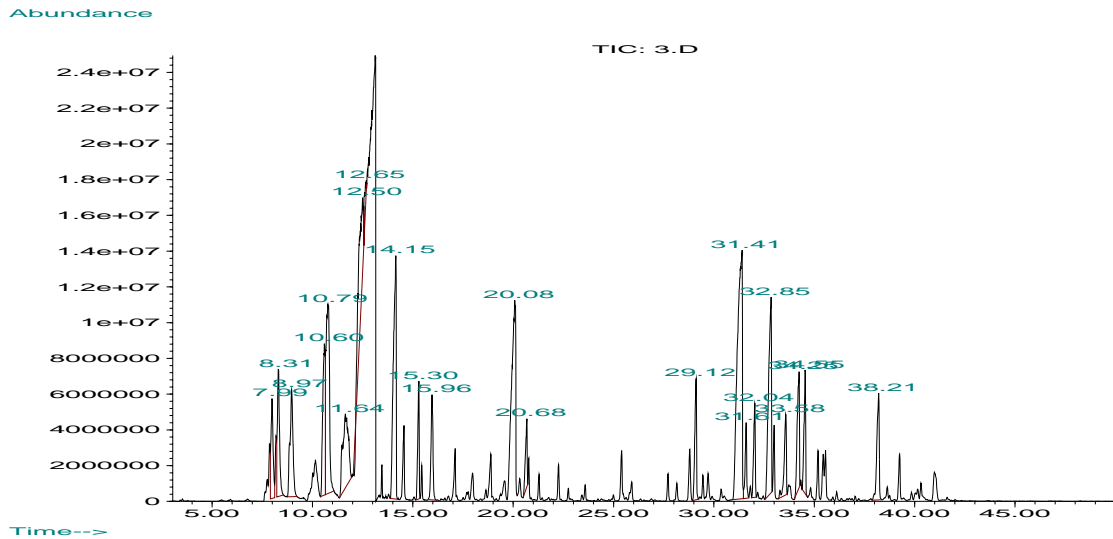


Figura 3. Cromatograma de componentes volátiles de *Lippia graveolens* de Magdalena 2, extraído por SPME, con fibra de polidimetilsiloxano, por 1 minuto de precalentamiento y 15 minutos de extracción.

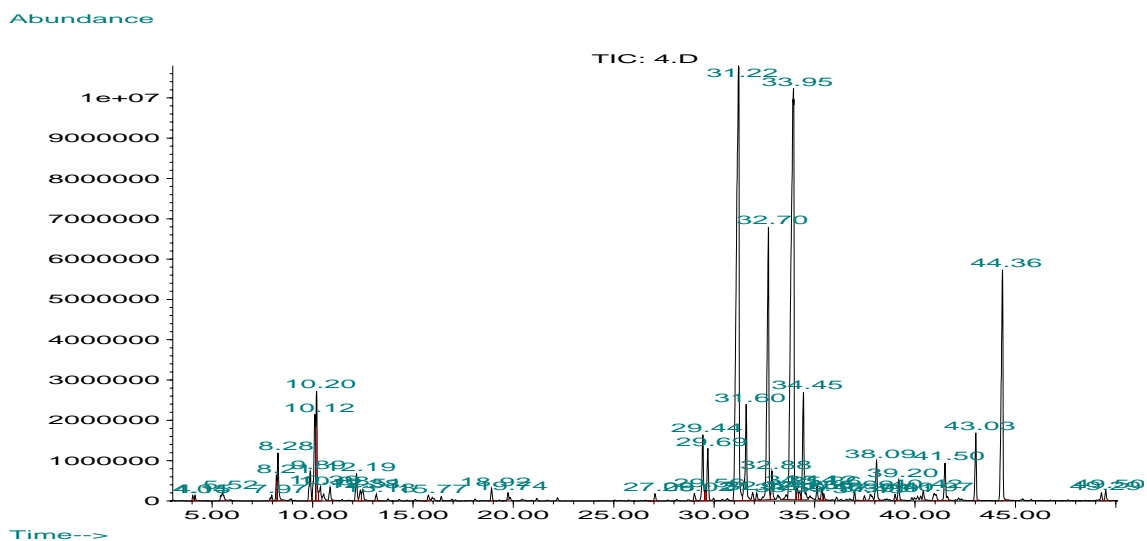


Figura 4. Cromatograma de componentes volátiles de *Lippia controversa*, extraído por SPME, con fibra de polidimetilsiloxano, por 1 minuto de precalentamiento y 15 minutos de extracción.

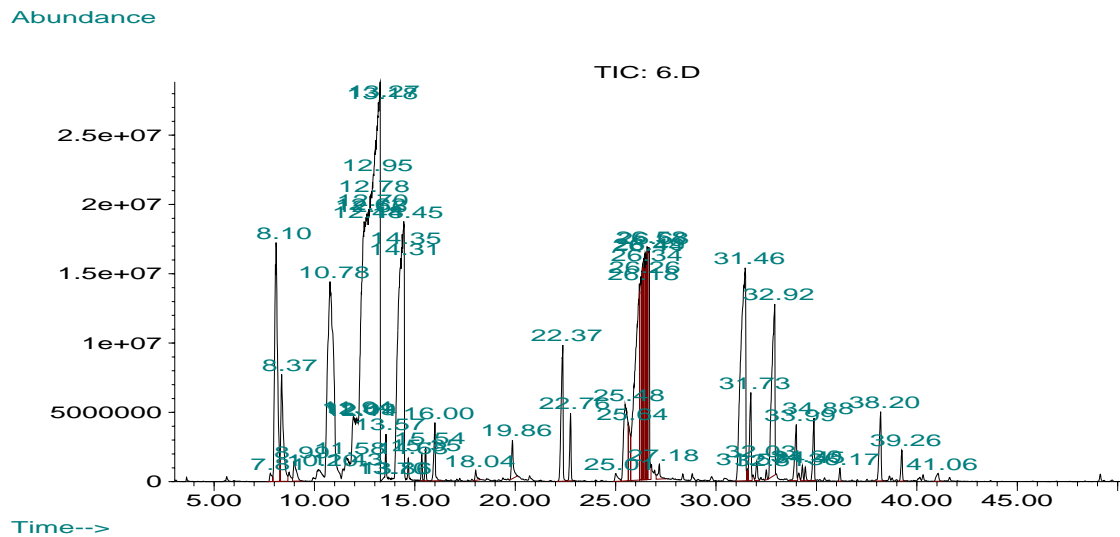


Figura 5. Cromatograma de componentes volátiles de *Lippia graveolens* de El Carrizal , extraído por SPME, con fibra de polidimetilsiloxano, por 1 minuto de precalentamiento y 15 minutos de extracción