

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES DE *Lippia alba* PROVENIENTES DE DIFERENTES REGIONES DE COLOMBIA, Y EFECTO DEL TIEMPO DE DESTILACIÓN SOBRE LA COMPOSICIÓN DEL ACEITE

RESUMEN

Se compararon las composiciones químicas de los aceites esenciales (AEs) de plantas de *Lippia alba* recolectadas en 15 regiones de Colombia. Los AEs fueron obtenidos por hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHd) y analizados por GC-MS. Adicionalmente, se evaluó el efecto del estado de madurez de las hojas, el tiempo de destilación y el tipo del material del destilador (cobre y acero) sobre el rendimiento y composición química del AE. El análisis comparativo de los AEs reveló la existencia de 3 "quimiotipos", uno rico en carvona (ca. 41%), otro rico en citral (neral + geranial ca. 55%) y el tercero, un quimiotipo híbrido, compuesto por carvona (25%), limoneno (22%) y citral (21%).

PALABRAS CLAVES: Aceite esencial, *Lippia alba*, hidrodestilación, quimiotipo.

ABSTRACT

Microwave-assisted hydrodistillation (MWHd) was used to obtain the essential oils of Lippia alba plants collected in 16 Colombian locations. The composition of these oils was determined by GC-MS, based on chromatographic and spectroscopic criteria. The effects of leaf ripeness, distillation time, and the manufacturing material of the stills (copper and steel stainless) on chemical composition and extraction yield were evaluated.

KEYWORDS: Essential oil, *Lippia alba*, hydrodistillation, chemotype.

1. INTRODUCCIÓN

La planta *L. alba* Mill N.E. Brown ex Britton & Wills. (familia *Verbenaceae*), un subarbusto muy aromático, es ampliamente distribuida y crece espontáneamente en América Central y del Sur [1]. Se caracteriza por presentar cambios en la composición química de sus AEs dependiendo del estado de desarrollo de la planta, la parte empleada para la extracción, la ubicación geográfica, las características fisicoquímicas del suelo y el clima (humedad, concentración de oxígeno e intensidad lumínica) donde se desarrolla la planta, entre otras. Esta variabilidad en la composición química de *L. alba* se ve reflejada en diversos estudios sobre esta especie cultivada en diferentes regiones del mundo. Así, el limoneno (44%) y la piperitona (31%) fueron componentes mayoritarios en aceite de *L. alba* originaria de Guatemala [2]; el linalool fue el principal compuesto en esencias destiladas en India (65%) [3, 4], Uruguay (55%) [5] y Brasil [6]. El aceite esencial de *L. alba*, que crece en Santander (Colombia), fue rico en dos compuestos, a saber: el limoneno (33%) y la carvona (51%) [7]; el último es un ingrediente de alto valor agregado, que se usa en muchos artículos cosméticos, perfumes y productos de uso personal (jabones, pastas dentífricas, etc.) [8].

DIEGO CAMILO DURÁN G.

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

LUZ ADRIANA MONSALVE

Estudiante pregrado 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

2. EXPERIMENTAL

2.1. Material vegetal

Las plantas (hojas y tallos) de *L. alba* empleadas en el estudio fueron recolectadas por personal adscrito al Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM, en diferentes lugares de Colombia, a saber: Cundinamarca (Anolaima), Tolima (Flandes y Venadillo), Boyacá (Cubará), Santander (Bucaramanga, Suaita y Bolívar), Antioquia (Puerto Berrío), Arauca (Saravena), Bolívar (Turbaco y Colorado), Valle del Cauca (Cali y Palmira), Quindío (Armenia) y Cesar (San Martín).

La identificación taxonómica de las muestras botánicas, se llevó a cabo en el Instituto de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia (Bogotá). Los pliegos testigos de cada planta quedaron depositados como muestra permanente en el Herbario Nacional Colombiano (COL, Bogotá) de la siguiente manera: *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. Las plantas fueron clasificadas por el doctor José Luís Fernández.

Para comparar la composición de los aceites esenciales de hojas jóvenes (<15 días) y maduras (4 meses) se tomó material vegetal de la parte más alta de la planta, de color vivo y tallos tiernos, en el caso de las hojas jóvenes y, hojas de la parte inferior de la planta, de apariencia opaca

y tallos leñosos, para el caso de las hojas más viejas. Para el estudio del efecto del tiempo de destilación sobre la composición química, se tomaron plantas en estado de floración (4 meses). En los últimos dos casos, las plantas de *L. alba* utilizadas en el estudio, fueron cultivadas en la Unidad Experimental del Complejo Piloto Agroindustrial del Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM, en la ciudad de Bucaramanga.

2.2. Materiales y reactivos

n - Tetradecano (empleado como patrón interno, *Istd*) y diclorometano, fueron comprados a Merck (Darmstadt, Alemania). Gases especiales para cromatografía se adquirieron de AGA-Fano S.A.

2.3. Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD)

Los aceites esenciales se obtuvieron a partir de hojas y tallos (300 g), provenientes del material cosechado, por MWHD. La extracción se llevó a cabo empleando un equipo de destilación tipo *Clevenger* con reservorio de destilación *Dean-Stark* y adaptación para calentamiento por radiación de microondas, a través de un horno de microondas convencional KENDO, modelo MO-124, con una potencia de salida de 800 vatios y frecuencia de radiación de 2.5 GHz. Se adicionó agua (250 mL). Cada extracción duró 40 min. Para el estudio del efecto del tiempo sobre la extracción se evaluaron 8 puntos, a saber: 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 min.

2.4. Destilación vapor/agua

Para evaluar la influencia del material del destilador, cobre y acero, sobre la composición química de los AEs, se tomaron plantas de *L. alba* (2 kg) sembradas en la zona de cultivos experimentales del CENIVAM, y se determinaron las características organolépticas y algunas propiedades fisicoquímicas, *i.e.* densidad, índice de refracción y solubilidad en etanol, de aceites obtenidos en equipos fabricados en acero y cobre.

2.5. Preparación de la muestra

Una alícuota de cada aceite esencial puro (50 μ L), junto con el patrón interno (*n*-tetradecano, 4 μ L), para su cuantificación, se disolvieron en diclorometano hasta un volumen final de 1 mL. Luego, 1 μ L de la solución se inyectó al equipo GC-MS, para su análisis cromatográfico.

2.6. Análisis cromatográfico

La identificación de los componentes presentes en los AEs de *L. 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*, usando una columna capilar apolar de sílice fundida DB-5MS (60 m x 0.25 mm, D.I x 0.25 μ m, d_f).

2.7. Análisis estadístico

Para apreciar mejor la relación entre los aceites esenciales de *Lippia alba* obtenidos por MWHD de las 15 regiones de Colombia, se realizó un análisis estadístico multivariable de componentes principales (PCA) (PCA, STATISTICA, Versión 6.0, *StatSoft Inc.*, Tulsa, Oklahoma, USA).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Metabolitos secundarios

En la Tabla 1 se registran los rendimientos y compuestos mayoritarios aislados por MWHD, de hojas y tallos de las plantas *L. alba* provenientes de las 15 regiones de Colombia, así como de las hojas clasificadas como jóvenes (HJ) y maduras (HM).

El PCA aplicado a los AEs de *L. alba* obtenidos de plantas recolectadas en diferentes regiones de Colombia indica que más del 60% de la información de la Tabla 1, puede ser representada por un subespacio de dos coordenadas (Componentes Principales), construido con base en las combinaciones lineales de las áreas relativas (%) de los componentes presentes en los diferentes AEs (Figura 1). Estos resultados muestran claramente la existencia de 3 quimiotipos; el primero (A) caracterizado por su alto contenido de carvona (41%) y limoneno (36%), en los departamentos de Cundinamarca, Tolima, Boyacá, Valle del Cauca, Santander, Antioquia, Quindío y Cesar. El segundo quimiotipo (B) en los municipios de Colorado y Turbaco (Bolívar), se destacó por su alto contenido de neral y geranial (citral, 54%) y *trans*- β -cariofileno (8%). Finalmente, se reporta un nuevo quimiotipo, denominado "híbrido" (C), rico en carvona (25%), limoneno (22%) y citral (21%), en el departamento de Arauca (Saravena).

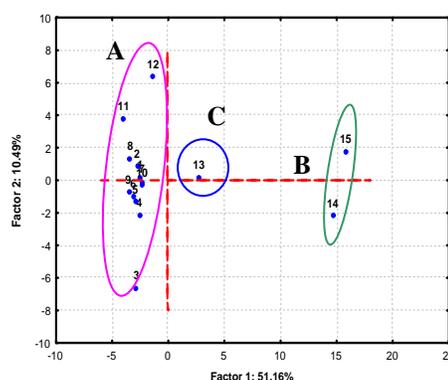


Figura 1. Representación gráfica de las composiciones químicas relativas de los aceites esenciales de *L. alba*, aislados por MWHD, de diferentes regiones de Colombia

La composición química de los AEs obtenidos de hojas jóvenes y maduras, de *Lippia alba*, fue muy similar cualitativamente; sin embargo, las cantidades de los compuestos mayoritarios presentes en los AEs, tales

como el limoneno, la carvona, la piperitenona y la piperitona, fueron superiores en las hojas maduras; mientras que el biciclosquifelandreno y el β -bourboneno, principales sesquiterpenos en los AEs, presentaron una mayor concentración en las hojas jóvenes.

3.2. Tiempo de destilación

Se evaluó el efecto del tiempo de destilación de plantas de *Lippia alba* en estado de floración (4 meses).

N°	Localidad	Compuestos mayoritarios, Cantidad relativa (%)							Rendimiento , % (p/p)
		Limoneno	Neral	Carvona	Piperitona	Geranial	Piperitenona	Biciclosquifelandreno	
1	Puerto Berrío	28.1	-	40.6	2.5	-	5.4	10.6	0.48
2	Cubará	31.2	-	41.5	2.5	-	4.5	8.6	0.78
3	Anolaima	30.3	-	35.1	3.0	-	3.1	11.4	0.51
4	Bucaramanga	31.8	-	38.3	2.6	-	4.4	9.0	0.43
5	Flandes	28.5	-	39.4	1.9	-	4.2	10.9	0.73
6	Cali	36.1	-	38.8	2.2	-	1.7	8.4	0.60
7	Palmira	34.1	-	35.4	3.5	-	4.9	8.8	0.55
8	Suaita	30.0	-	41.9	3.3	-	5.6	6.0	3.00
9	Armenia	30.2	-	34.3	2.5	-	3.7	13.6	3.20
10	Bolívar	30.9	-	38.9	3.6	-	4.2	7.7	2.50
11	San Martín	26.1	-	42.2	2.9	-	6.8	8.6	2.40
12	Venadillo	30.2	-	50.3	3.1	-	1.0	3.4	2.50
13	Saravena	22.4	10.4	25.3	1.1	10.4	2.2	8.0	0.36
14	Colorado	3.7	22.6	-	-	28.8	-	3.1	0.30
15	Turbaco	3.7	23.6	-	0.1	30.5	-	1.8	0.83
	H.J	14.6	-	49.9	2.2	-	6.8	17.5	0.53
	H.M	15.5	-	51.2	2.7	-	7.4	12.5	0.45

Tabla1. Composición química de los aceites esenciales de *Lippia alba* (quimiotipo carvona), obtenidos por MWHD, de plantas recolectadas en diferentes regiones de Colombia.

Los resultados indican que la composición química del AE de *L. alba* depende del tiempo de destilación, tal como se puede observar en la **Figura 2**, donde se aprecia que a medida que aumenta el tiempo de destilación se incrementa el contenido de carvona y biciclosquifelandreno, mientras que el contenido de limoneno disminuye.

3.3. Material del destilador

El material de fabricación de los destiladores (cobre y acero) no afectó las propiedades fisicoquímicas de los AEs de *L. alba*, sin embargo, las características organolépticas de éstos variaron de acuerdo con el equipo de extracción empleado, especialmente, con el destilador de cobre.

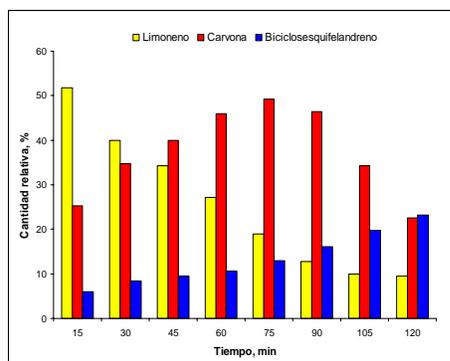


Figura 2. Comportamiento de los tres componentes mayoritarios presentes en el aceite esencial de *Lippia alba*, en función del tiempo de extracción.

4. CONCLUSIONES

Se reporta un nuevo quimiotipo de *Lippia alba*, un quimiotipo híbrido, caracterizado por el alto contenido de la carvona (25%), el limoneno (22%) y citral (20%).

Los tres quimiotipos de aceite esencial de *L. alba* reportados en Colombia, hacen de esta planta una especie aromática promisoriosa para su cultivo agroindustrial, por sus altos contenidos de carvona (ca. 50%) y citral (ca. 55%), compuestos utilizados en las industrias cosmética y de alimentos, y que pueden ser aislados del aceite esencial por métodos destilativos para su comercialización y convertir a *L. alba* en una nueva fuente de estos compuestos.

5. AGRADECIMIENTOS

A Colciencias-CENIVAM Co-RC-432-2004; Universidad Industrial de Santander; Laboratorio de Cromatografía.

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] GUPTA, M. P., 270 Plantas medicinales Iberoamericanas. Bogotá: CYTED – SECAB, 1995. 617p.

- [2] SENATORE, F., RIGANO, D. Essential oil of two *Lippia* spp. (Verbenaceae) growing wild in Guatemala, *Flavour Fragr. J.*, 2001. 16: (3), 169-171.
- [3] BAHL, J.R., GARG, S.N., SINGH, S.C., BANSAL, R.P., NAQVI, A.A., KUMAR, S. Composition of linalool-rich essential oil from *Lippia alba* grown in Indian plains, *Flav. Fragr. J.* 2000. 15: 199-200.
- [4] BAHL, J.R., SINHA, S., NAQVI, A.A., BANSAL, R.P., GUPTA, A.K., KUMAR, S. Linalool-rich essential oil quality variants obtained from irradiated stem nodes in *Lippia alba*, *Flavour Fragr. J.*, 2002. 17: 127-132.
- [5] LORENZO, D., PAZ, D., DAVIES, P., VILA, R., CAÑIGUERAL, S., DELLACASSA, E. Composition of a new essential oil type of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown from Uruguay, *Flav. Fragr. J.* 2001. 16: p.p. 356-359.
- [6] SIANI, A.; TAPPIN, M.; RAMOS, M.; MAZZEI, J.; RAMOS, M.C.; De AQUINO, F.; and FRIGHETTO, N. Linalool from *Lippia alba*: Study of the reproducibility of the essential oil profile and the enantiomeric purity. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50, p.p. 3518-3521.
- [7] STASHENKO, E., JARAMILLO, B., MARTÍNEZ, J. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its *in vitro* antioxidant activity. *J. Chromatogr. A.* 2004. 1025: 93-103.
- [8] De CARVALHO, C., and De FONSECA, M.M. Carvone: why and how should one bother to produce this terpene. *J. Food Chem.*, 2005, 95, p.p. 413-422.
- [9] CÁCERES, A., GIRON, L. Actividad antimicrobiana de plantas usadas en el tratamiento de afecciones de la piel y mucosa. *Seminario Nacional Medicina Tradicional – Mesoamericano de Etnofarmacología.* 1987, III, p.p 104-109.