

Caracterización físico-química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. extraído a macro escala en distintos tiempos utilizando el método de destilación por arrastre de vapor

Miguel Martínez¹, Claudia Mancuello¹, Claudia Pereira¹, Fidelina González¹, Bonifacia Benítez¹, Francisco Ferreira², César Sena³

¹ Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales – Departamento de Biología – Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – Universidad Nacional de Asunción.

² Laboratorio de Análisis Instrumental – Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – Universidad Nacional de Asunción.

³ Agroindustria Kokué Poty S.A

E mail del autor: miguelangelquimi@hotmail.com

Extracción y caracterización físico-química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. extraído en diferentes tiempos. Se estudió la composición química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. —nueva variedad introducida en Paraguay— extraído a las 2, 4 y 6 horas del proceso respectivamente, por el método de destilación por arrastre de vapor de agua, a partir de hojas previamente desecadas. Se llevaron a cabo la identificación botánica y el análisis morfoanatómico de la especie vegetal en estudio con el propósito de comprobar su autenticidad, paso fundamental para el inicio de la investigación. La caracterización química del aceite esencial se realizó por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS); la cual reveló que el aceite está constituido mayoritariamente por carvacrol en porcentajes de 19,2; 11,9 y 19,5% correspondientes a las 2, 4 y 6 horas de extracción, además de la variedad de otros compuestos en menor proporción, apareciendo algunos particulares en los diferentes periodos de extracción. Se determinaron además la densidad, el índice de refracción, el pH, la solubilidad y el espectro UV como parámetros adicionales de caracterización. El rendimiento del aceite esencial fue del 1,71% al final del proceso de extracción, expresado en base seca.

Palabras Claves: *Origanum syriacum*, Aceite esencial, Carvacrol, destilación por arrastre de vapor de agua

Extraction and physicochemical characterization of *Origanum syriacum* L. essential oil extracted at different times through steam distillation. This research studied the chemical composition of the essential oil of *Origanum syriacum* L. —a new variety introduced in Paraguay— extracted at 2, 4 and 6 hours of processing respectively, by the method of steam distillation from dried leaves. Botanical identification and morpho-anatomical analysis of the plant species under study were conducted in order to check its authenticity, an essential step in the initiation of the investigation. Gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) revealed that the essential oil is mainly constituted by carvacrol in percentages of 19.2, 11.9 and 19.5% corresponding to the 2, 4 and 6 hours of extraction respectively; as well as a variety of other compounds in lower amounts, a few particular ones appearing in the different extraction periods. The density, refractive index, pH, solubility, and UV spectra were also determined as additional characterization parameters. The essential oil yield was 1.71% on a dry base.

Keywords: *Origanum syriacum*, essential oil, carvacrol, steam distillation

INTRODUCCIÓN

Los principales tipos de orégano de importancia económica en el mundo son: el

orégano turco (*Origanum onites* L.); griego (*Origanum vulgare* ssp.); español (*Coridohymus capitatus* L.) y el orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Shauer) (Aranda 2009). El orégano es una hierba introducida en Paraguay. Fue encontrada en forma silvestre en el desierto de Sinai y Egipto (Chishti, Kaloo and Sultan, 2013). El *Origanum syriacum* L. es una variedad introducida en Paraguay desde la ciudad de Tarija de la República Pluricultural de Bolivia. La Agroindustria Kokué Poty S.A. es la segunda en cultivarla en nuestro país y la que posee mayor extensión de cultivo abarcando actualmente casi 4 hectáreas (Figura 1).



Figura 1: Cultivo de *Origanum syriacum* L. en Colonia Independencia Departamento de Guairá-Paraguay

El orégano como el *Origanum vulgare* fue utilizado desde tiempos arcaicos por sus propiedades tónicas y amargas (USAID 2008; Fundación Integra 2014). En la “Fito-terapia” Vademécum de prescripción (1992), se indica su acción farmacológica a nivel interno como tónico general, digestivo, espasmolítico, carminativo, expectorante, anti-séptico de las vías respiratorias y emenago-

go; a nivel externo actúa como analgésico, cicatrizante y antiséptico (USAID 2008).

Uno de los usos más comunes del orégano (*Origanum vulgare*) es como condimento en el preparado de platos típicos de cada país, sin embargo, en los últimos años se han dado nuevas aplicaciones en diferentes ámbitos, como antimicrobiano y antioxidante en los alimentos (Zheng 2001). Esto se debe a que de sus hojas se extrae aceite esencial, cuyos componentes químicos principales son carvacrol y timol (Figura 2), que confieren al orégano sus características anti-sépticas, tónicas, diuréticas, entre otras (Alvarez 1999).

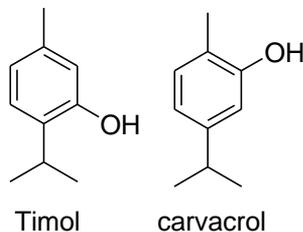


Figura 2: Estructura química del timol y del carvacrol (IK=1296)

En la actualidad, el aceite esencial de orégano (*Origanum syriacum* L.) es producido en Paraguay por la Agroindustria Kokué Poty S.A, siendo la mencionada empresa la primera en producirla dentro del territorio nacional. La Agroindustria Kokué Poty S.A ha realizado una alianza estratégica con la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción para realizar todos los ensayos correspondientes al control de calidad y toxicidad de aceites esenciales extraídos de especies vegetales aromáticas, principalmente orégano de la especie *Origanum syriacum* L., ya que hay buenas perspectivas de exportarlo al mercado de la República de China como materia prima para preparados farmacéuti-

Steviana, Vol. 6. 2014. Martínez et al. Caracterización físico-química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. extraído a macro escala en distintos tiempos utilizando el método de destilación por arrastre de vapor

cos (cápsulas blandas). Ya que el aceite esencial posee actividad antifúngica, antibacteriana, es buen antihistamínico y muy eficaz contra problemas digestivos y respiratorios, apuntando además a otros mercados internacionales, ya que éstos lo cotizan en altos precios (Unión Europea-Perú 2004).

La Agroindustria Kokué Poty, por medio del cultivo de *Origanum syriacum* L. genera fuente de trabajo para cierto número de habitantes (250 personas equivalente a 50 familias aproximadamente.) de Colonia Independencia del Departamento del Guairá y comercializa el producto final en el mercado local, compitiendo fuertemente con otros productores que producen otra variedad de orégano como el *Origanum vulgare* (USAID 2008).

El orégano es una especia con importante demanda a nivel mundial y del MERCOSUR a nivel regional (USAID 2008). Los volúmenes producidos en los países productores, no llegan a cubrir la demanda de importadores mayoristas, industria agroalimentaria y consumidor detallista (USAID 2008). En tal sentido, existe una oportunidad de mercado para un producto no tradicional. Los precios de los alimentos están en constante crecimiento y el del orégano en especial va completando una curva de crecimiento sostenida, lo que redondea la oportunidad de mercado existente (USAID 2008).

En Paraguay no se han reportado datos recientes de la producción por hectárea del orégano para demostrar la sustentabilidad de este recurso, ni mucho menos la capacidad productora de aceites esenciales, lo que le daría un potencial valor agregado. Por todo lo mencionado con anterioridad se planteó el presente trabajo con el objetivo de caracterizar el aceite esencial *Origanum vulgare* var. *Maru* de la compañía Mayor Cué del distrito

Colonia Independencia del Departamento del Guairá a 200 km. de la capital de República del Paraguay.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales área Química Orgánica de los Productos Naturales del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción.

Material de estudio

Equipos

Espectrofotómetro UV-Vis modelo SHIMADZU serie 160 A. Cromatógrafo gaseoso acoplado a espectrometría de masas de la marca SHIMADZU modelo 2010. Microscopio óptico marca OLYMPUS serie BH2. Cámara digital MOTICAM 352. Refractómetro BAUSCH y LOMB, pHmetro METROHM serie 69, Equipo de destilación por arrastre de vapor marca CHIYUNG modelo ST2-2X3

Reactivos químicos

Acetona grado Cromatografía Gaseosa (GC) y hexano grado pro-análisis, ambos de la línea Merck.

Colecta del espécimen vegetal en estudio

La especie vegetal estudiada fue colectada en la compañía Mayor Cue del Distrito Colonia Independencia del Departamento del Guairá con coordenadas geográficas latitud 25°51'0,59"S y longitud 56°9'36,39"O, durante la estación de verano, en fecha 07 de marzo del año 2014.

Steviana, Vol. 6. 2014. Martínez et al. Caracterización físico-química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. extraído a macro escala en distintos tiempos utilizando el método de destilación por arrastre de vapor

Preparación de especímenes "voucher" como material de herbario

El secado, envenenado y montaje del ejemplar fue realizado según metodología convencional para tratamiento de especímenes. El espécimen testigo (MM, 8) fue depositado en el Herbario FACEN, de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción.

Identificación taxonómica y descripción del espécimen vegetal

La identificación del material vegetal, realizado por un botánico (Bonifacia Benítez de Bertoni), es un paso indispensable antes del estudio fitoquímico, farmacológico y/o toxicológico, para garantizar la autenticidad de la especie utilizada en la investigación (Hostettmann K. et. al. 2008).

Para la determinación taxonómica y la resolución de la problemática nomenclatural se utilizaron la Base de Datos del Missouri Botanical Garden, Tropicos (2014) y The Plant List (2013)

El material testigo de la especie vegetal en estudio quedó depositado como muestra (MMN°:08) permanente en el Herbario FACEN del Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción.

Caracterización morfológica de la especie vegetal

La morfo-anatomía vegetal constituye un campo de estudio de gran importancia para el reconocimiento preciso de las especies vegetales, desde el punto de vista del proceso de desarrollo de tejidos y órganos. La

caracterización botánica es el primer paso para la verificación de la autenticidad del espécimen vegetal con el que se trabaja, en este sentido es muy importante disponer de patrones micrográficos como referencia (World Health Organization 1998), en todo trabajo relacionado a productos naturales de origen vegetal. Con referencia a lo mencionado por la OMS, es relevante la caracterización morfológica de la especie *Origanum syriacum* L., para lo cual se siguió la metodología convencional de caracterización morfológica, con observación directa y al microscopio estereoscópico (Argüeso 1986).

Caracterización anatómica foliar y caulinar

El material fue hidratado con agua destilada por 4 horas. Se realizaron cortes transversales a mano alzada de hojas, se diafaniizaron con disolución de hipoclorito de sodio al 2,5% y posteriormente se aplicó tinción directa con disolución de safranina al 1%. Las láminas fueron montadas con la técnica gelatina-glicerina (Argüeso op. cit.) y depositadas en el Herbario FACEN (CP, 12). Las microfotografías fueron tomadas con cámara digital MOTICAM 352 incorporada al microscopio óptico y editadas con el software Motic Images Plus 2.0 (Motic China Group, 2006).

Preparación del material vegetal para la extracción del aceite esencial

El material vegetal utilizado en este trabajo fue secado a temperatura ambiente, con escasa aireación y bajo sombra, para evitar la acción del oxígeno, la luz, la temperatura y microorganismos; factores que podrían transformar los compuestos originales en

Steviana, Vol. 6. 2014. Martínez et al. Caracterización físico-química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. extraído a macro escala en distintos tiempos utilizando el método de destilación por arrastre de vapor

artefactos (Hostettmann et al. 2008). Las hojas secas fueron utilizadas en el proceso de extracción del aceite esencial

Extracción y características físicas del aceite esencial

Hojas del material vegetal previamente desecadas (35 kg), fueron sometidas a destilación por arrastre de vapor de agua durante un periodo de seis horas, muestreando el aceite obtenido con frecuencia de dos horas ($M_1= 2$ horas.; $M_2= 4$ horas y $M_3= 6$ (horas). El residuo acuoso del aceite se eliminó con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) y el producto final se almacenó en recipientes de color ámbar para protegerlo de la luz, además, fue refrigerado a 4°C hasta el momento del ensayo analítico.

Al aceite esencial se le determinó los siguientes parámetros físicos: color, olor, densidad, índice de refracción, solubilidad en éter de petróleo, diclorometano, hexano, acetato de etilo, etanol, metanol, agua y tween (Murillo, 2004). Adicionalmente se calculó el rendimiento y el espectro ultravioleta (UV), utilizando hexano como disolvente.

Análisis de la composición química del aceite esencial por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

El aceite esencial de *Origanum syriacum* L. (50 μL) se disolvió en 1mL de acetona grado GC, de esta solución resultante (extracto final), se inyectó un volumen de (1 μL) en el cromatógrafo de gases acoplado a masas.

Parámetros analíticos del GC-MS: Temperatura del horno (190°C), Rampa de temperatura (80°C por 2 min.; de 80 a 160°C a

$8^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$. y a 160°C por 4 min.; Rastreo m/z de 50 a 280 uma; Inyector: 200°C ; Detector: 240°C ; Interface : 220°C ; Volumen de inyección: 1 μL ; Tiempo muerto: 3 min.; Modo de inyección: splitless; Columna: SPB-5 y flujo en columna 0,56 $\text{mL}.\text{min}^{-1}$.

Los compuestos fueron identificados por comparación de los espectros de masas de cada componente resultante en la GC-MS, con los estándares de las bases de datos NIST 2012.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación y descripción taxonómica de del espécimen vegetal Origanum syriacum L.

Herbácea, perenne. Tallo erecto, ramificado, con densa pubescencia. Hojas simples, opuestas, densamente pubescentes tanto en el haz como en el envés, con 4 a 5 nervaduras que parten desde la base de la hoja, con peciolo cortos, de formas elípticas a oblongas, 1,5 x 0,8 cm. Inflorescencia en verticilastro, terminal, con brácteas y bractéolas. Flores hermafroditas, cigomorfas. Perianto pentámero, cáliz formado por sépalos soldados, pubescente en el dorso, corola con 5 pétalos soldados, bilabiada, blanca y muy aromática. Androceo didínamo, con estambres pegados al tubo de la corola. Fruto núcula (Figura 3).

Caracterización anatómica de Origanum syriacum L.

Caracterización anatómica foliar

La epidermis es uniestratificada, con estomas anomocíticos en la epidermis abaxial, caracterizando a la hoja como hipostomática. La nervadura central es más prominente

hacia el envés, el haz vascular es colateral (Figura 4A).

El mesófilo (Figura 4B) es bifacial con simetría dorsiventral, constituido por dos tipos de parénquima, en empalizada y esponjoso. El primero está localizado hacia la cara adaxial, compuesta de una a dos capas de células alargadas. El parénquima esponjoso se localiza hacia la cara abaxial, compuesta por tres a cuatro capas de células con formas irregulares y grandes espacios intercelulares.

Están presentes en ambas caras de las hojas dos tipos de tricomas, eglandulares y glandulares. Los tricomas glandulares son uniseriados con pie corto y cabeza secretora unicelular oval (Figura 4C). Los tricomas eglandulares son uniseriados, erectos, largos, pluricelulares, papilosos (Figura 4D). Estos tipos de pelos fueron observados también en *Origanum vulgare* L. (Corrêa et. al. 2009) y coinciden con lo mencionado por Metcalfe & Chalk (1988).

Caracterización anatómica caulinar

El tallo en sección transversal es subcuadrangular, con ángulos redondeados y lados convexos (Figura 5A). La epidermis es uniestratificada, con dos tipos de tricomas, eglandulares y glandulares. Los tricomas eglandulares, uniseriados, erectos, largos, pluricelulares, papilosos (Figura 5D); y tricomas glandulares con pie corto, uniseriado y cabeza oval.

Por debajo de la epidermis, se encuentra la corteza, constituida por bandas continuas de colénquima, seguido de parénquima. En la parte central del tallo, rodeado por los haces vasculares se encuentra la médula compuesta por células parenquimáticas (Figuras 5B).



Figura 3: Planta de *Origanum syriacum* L.

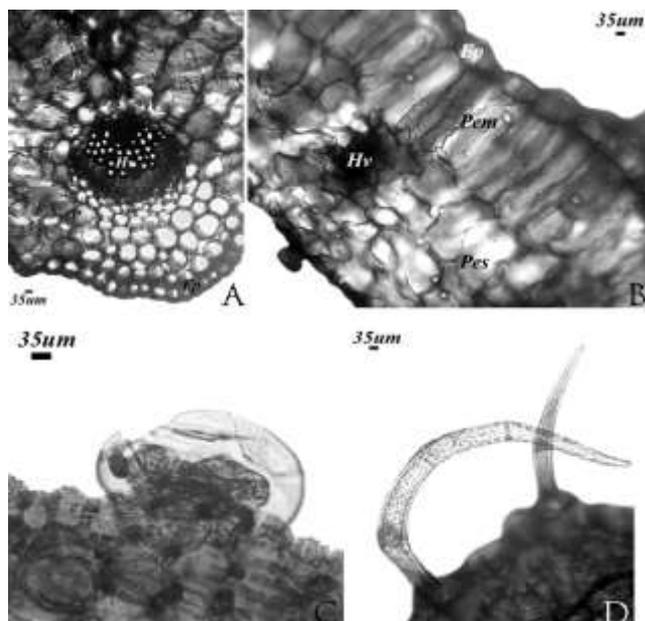


Figura 4: A. Nervadura Central. B. Mesofilo. C. Tricoma glandular. D. Tricoma eglandular de *Origanum Syriacum* L. Referencias: Ep. epidermis, Hv. haz vascular, P. parenquima, Pem. parenquima en empalizada, Pes. parenquima esponjoso.

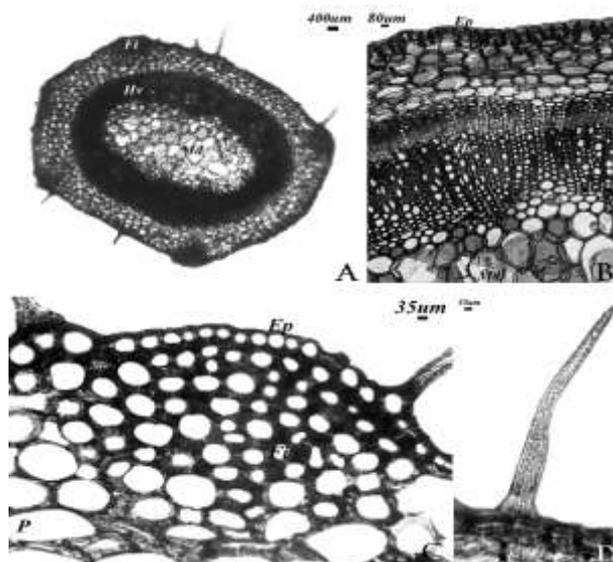


Figura 5: A, B y C. Vista del tallo en sección transversal.. D. Tricoma eglandular. Referencias: Ep. epidermis, Hv. haz vascular, Fi. fibras esclerenquimáticas, P. parénquima.

Características físicas del aceite esencial del Origanum syriacum L.

Las propiedades físicas de los aceites esenciales están relacionadas con la diversidad de sus constituyentes, convirtiéndose en un instrumento rápido de identificación y evaluación del grado de pureza o del origen del producto, puesto que se trata de su huella digital (Murillo 2004).

Los valores obtenidos experimentalmente para los parámetros físicos: Color, olor, densidad, índice de refracción y pH se resumen en las Tablas 1, 2 y 3 correspondientes a la esencia extraída a las 2, 4 y 6 horas respectivamente:

Color. Aunque la gran mayoría de los aceites esenciales de origen vegetal son incoloros, algunos presentan coloraciones modificables por el oxígeno del aire y la luz (Murillo E., 2004); lo que se observó en el caso del aceite esencial de *Origanum syriacum* L., cuyo color amarillo pálido se modificó gradualmente por los mencionados factores, lo que a su vez insinúa la presencia de compuestos alifáticos cíclicos con pocas insaturaciones como por ejemplo el trans-hidrato de sabineno (**5**); cis-hidrato de sabineno (**11**); Oxido Ledeno-(II) (**13**) o el (-)-Terpinen-4-ol (**6**) o bien compuestos aromáticos monoanulares como el 2-Isopropil-1-metoxi-4-metilbenceno (**7**) o el carvacrol (IK=1296) (**8**) (Murillo 2004).

Densidad. Las densidades de los aceites esenciales generalmente oscilan entre 0,8 y 1,2 g.mL⁻¹ (Calderón 1963). Los valores experimentales de 0,874; 0,888 y 0,877 g.mL⁻¹ correspondientes al aceite muestreado a las 2, 4 y 6 horas de extracción respectivamente, indicarían un elevado contenido de compuestos de baja masa molecular o de constituyentes tipo fenólicos como ejem-

plos: carvacrol (**8**); 2-Isopropil-1-metoxi-4-metilbenceno (**7**) y el beta-Cimeno (**3**), capaces de asociarse a través de puentes de hidrógeno, que aumentarían la masa en un volumen pequeño (Murillo 2004).

Índice de refracción. La gran mayoría de las esencias que provienen de especímenes vegetales, poseen valores de índices de refracción comprendidos entre 1,40 y 1,61 a 20 °C (Calderón 1963). Los valores obtenidos experimentalmente para la esencia en estudio se encuentran dentro de los rangos normales (Murillo 2004).

pH. Los valores de pH obtenidos informaron que la esencia presenta carácter ácido y dan indicios de la presencia de compuestos del tipo fenol (carvacrol (**8**), lo que concuerda con lo planteado en la densidad.

Tabla 1. Aceite esencial extraído a las 2 horas

Características	Valoración
Olor	característico
Color	amarillo pálido
pH	3,54
Densidad	0,874 g.mL ⁻¹
Índice de refracción	1,4750 a 26 °C
Rendimiento	0,583%

Tabla 2. Aceite esencial extraído a las 4 horas

Características	Valoración
Olor	característico,
Color	amarillo pálido
pH	3,78
Densidad	0,888 g.mL ⁻¹
Índice de refracción	1,4835 a 26 °C
Rendimiento	0,720%

Tabla 3. Aceite esencial extraído a las 6 horas

Características	Valoración
Olor	característico,
Color	amarillo pálido
pH	3,87
Densidad	0,877 g.mL ⁻¹
Índice de refracción	1,4755 a 26 °C
Rendimiento	1,71 %

Solubilidad. Los resultados se expresan en las Tablas 1, 2 y 3 que corresponden a la esencia extraída a las 2, 4 y 6 horas del proceso respectivamente. Como es de esperarse, el aceite resulta soluble en solventes de naturaleza orgánica e insoluble en agua; sin embargo, el agua adquiere el olor y sabor de la esencia al mezclarse con ésta, lo que se explica por la presencia de ciertos compuestos dentro de la esencia capaces de formar puentes de hidrógeno con el agua o bien moléculas lo suficientemente pequeñas para solubilizarse en el agua.

Tabla 4. Aceite esencial extraído a las 2 horas

Solvente	Solubilidad
Éter de petróleo	S
Cloroformo	S
Diclorometano	S
Acetato de etilo	S
Etanol	S
Metanol	S
Agua	IS
Tween	S

Tabla 5. Aceite esencial extraído a las 4 horas

Solvente	Solubilidad
Éter de petróleo	S
Cloroformo	S
Diclorometano	S
Acetato de etilo	S
Etanol	S
Metanol	IS
Agua	S
Tween	S

Tabla 6. Aceite esencial extraído a las 6 horas

Solvente	Solubilidad
Éter de petróleo	S
Cloroformo	S
Diclorometano	S
Acetato de etilo	S
Etanol	S
Metanol	IS
Agua	S
Tween	S

Referencias: S: soluble; IS: insoluble.

Rendimiento: A partir de 35 kg de *Origanum syriacum* L. seco, se obtuvieron volúmenes de 186, 248 y 186 mL de aceite esencial correspondientes a las 2 (t₁), 4(t₂) y 6(t₃) horas de extracción (Figura 6). Para t₁ el rendimiento fue del 0,531% (31,1% de proceso global), para t₂ el 0,708% (41,4% del proceso global) y para t₃ el 0,474% (27,7% del proceso global).

La sumatoria de los mencionados valores de porcentaje generó el 1,71% de rendimiento correspondiente al proceso global, que correspondería a un volumen de 600 mL de aceite esencial obtenido al término del proceso de destilación. Como puede percibirse el mayor porcentaje de aceite esencial se obtuvo a las 4 horas de extracción (Figura 7), lo que significa que al cumplirse ese tiempo, ya se obtuvo el 72,5% de la totalidad de la esencia contenida en 35 kg del espécimen vegetal en estudio.

Características espectroscópicas UV

El espectro UV del aceite esencial extraído a las 2 horas del proceso de extracción y disuelto en etanol absoluto mostró bandas a 273 nm, (A: 0,465) y 209 nm (A: 1,732), la esencia extraída a las 4 horas presentó bandas a 274 nm (A: 0,891) y 218 nm (A:

2,343) y la esencia muestreada a las 6 horas mostró bandas a 273 nm (A: 0,710) y 215 nm (A: 2,112). Las bandas de absorción de 215 y 218 nm indican la presencia de compuestos insaturados como por ejemplo el germacreno D (10); gamma-Terpineno o el beta-

bisaboleno (12) y las de 273 y 274 nm la presencia de compuestos aromáticos como por ejemplos: carvacrol (IK=1296) (8); 2-Isopropil-1-metoxi-4-metilbenceno (7) y el beta-Cimeno (3) (Fuentes C., 2001)

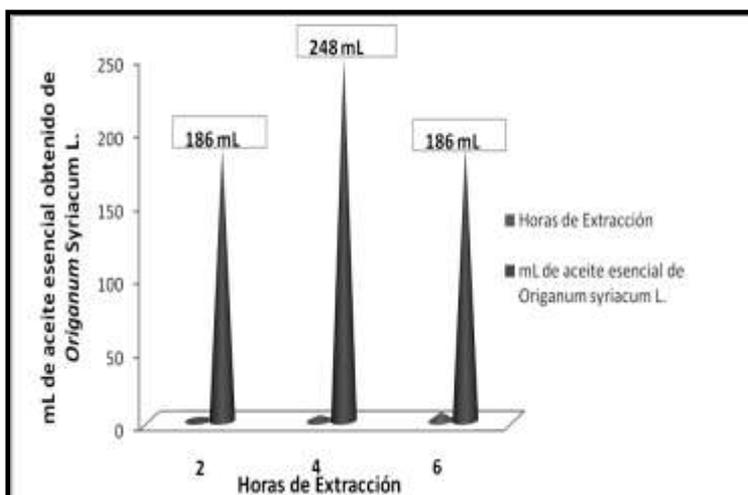


Figura 6: mililitros (mL) de aceite esencial obtenidos en distintos tiempos del proceso de extracción

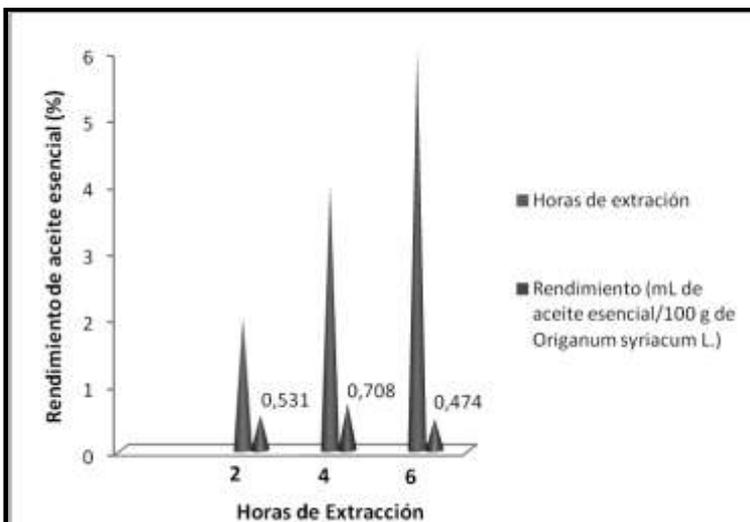


Figura 7: mL de aceite esencial obtenido por cada 100 gramos de *Origanum syriacum* L. seco en distintos tiempos del proceso de extracción

Caracterización química del aceite esencial del *Origanum syriacum* L.

En las tablas 7(A y B), 8 (A, B y C) y 9 (A, B y C) se muestran los componentes químicos del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. que corresponden a las 2, 4 y 6 horas del proceso de extracción respectivamente, así como los porcentajes correspondientes a cada compuesto.

El ensayo analítico realizado por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) reveló que el componente mayoritario de la esencia es el compuesto fenólico 2-hidroxi-p-cimeno [carvacrol (**8**)] en los tres tiempos del proceso de extracción (t_1 : 19,2%; t_2 : 11,9% y t_3 : 19,5%), con un promedio del 16,9%. La ausencia de timol (Figura 2) testada a través del método analítico GC-MS, indica que la especie vegetal *Origanum syriacum* L. es del quimiotipo eminentemente carvacrol, como lo menciona USAID 2008, La predominancia de carvacrol y la ausencia de timol en la especie vegetal mencionada, se podría explicar en el hecho de que cada compuesto precisa de enzimas específicas que dirigen su biosíntesis (D'Antuono et al., 2000; Deighton et al., 1993), lo que permite decir, que en este caso la especie vegetal *Origanum syriacum* L., carece de las enzimas involucradas en la biosíntesis del timol. El carvacrol (IK=1296) (**8**) es un fenol isomérico del timol (Figura 2) Otros componentes mayoritarios después del carvacrol (IK=1296) (**8**) son: (-)-terpinen-4-ol (**6**) (monoterpeno); 2-isopropil-1-metoxi-4-metilbenceno (**7**); gamma terpineno (**4**) (monoterpeno); cariofileno (**9**) (sesquiterpeno) y (+)-sabineno (**1**) (monoterpeno bicíclico), cuyos porcentajes promedios obtenidos de los tres tiempos son 13,6; 10,9; 9,78; 8,93; y 6,97% respectiva-

mente. La sumatoria de los porcentajes de los componentes mayoritarios recién mencionados contribuye al 67,1% de la composición total de la esencia correspondiendo un 32,9% a los restantes compuestos presentes en menor proporción. En el t_2 el aceite esencial contiene el 80% de los mismos componentes que el aceite esencial del t_1 , haciendo salvedad de que en el t_2 y t_3 no volvieron a aparecer el óxido de ledeno (II) (**13**) y (+)-2-careno (**18**), lo que significa que éstos compuestos poseen mayor volatilidad que los demás componentes y que su separación completa del espécimen vegetal podría ser suficiente en dos horas de extracción, sin embargo en t_2 aparecieron nuevos componentes como el epóxido isoaromadendreno, (+)-4-careno (**23**), 3-careno (**24**) y el alfa-bisaboleno (**21**), que no aparecieron en el t_1 . En cuanto al contenido químico del aceite esencial del t_3 se puede mencionar que el 68,2% de los compuestos coinciden con el contenido químico de la esencia del t_2 . El alfa-bisaboleno (**21**) y el 3-careno (**24**) se encontraron ausentes en la esencia del t_3 , sin embargo en el contenido químico de ésta última aparecieron nuevos compuestos como el elixeno, (-)-alfa-terpineol (**26**), tras-retinal (**28**) y copaeno (**29**), lo que significa que éstos últimos compuestos necesitarían probablemente de 6 horas para separarlos completamente del espécimen vegetal en estudio.

CONCLUSIONES

La morfología y anatomía corresponden a la especie vegetal *Origanum syriacum* L. El aceite esencial obtenido a partir de la mencionada especie, utilizando el método de destilación por arrastre de vapor de agua presentó rendimientos del 0,531, 0,708 y

Steviana, Vol. 6. 2014. Martínez et al. Caracterización físico-química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. extraído a macro escala en distintos tiempos utilizando el método de destilación por arrastre de vapor

0,474% correspondientes a las 2, 4 y 6 horas del proceso de extracción, porcentajes que sumados generó un porcentaje del 1,71% correspondiente al proceso de extracción global. Los valores obtenidos de parámetros físicos indican que el aceite esencial presenta elevada pureza y el contenido químico determinado por el método GC-MS reveló que la esencia pertenece al quimiotipocarvacrol (IK=1296) (\bar{x} =16,9%), seguido de otros compuestos como el (-)-terpinen-4-ol (\bar{x} =13,6%); 2-isopropil-1-metoxi-4 metilbenceno (\bar{x} = 10,9%); gamma terpineno (\bar{x} = 9,78%); cariofileno (\bar{x} =8,93%) y (+)-sabineno (\bar{x} = 6,97%), máximos al UV de 209, 215, 218 y 274 nm que indican la presencia de compuestos insaturados (53,4%) y aromáticos (37,8%). Se estableció un lazo importante de colaboración entre el sector público y el privado.

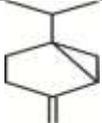
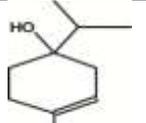
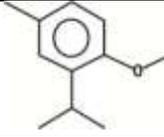
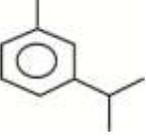
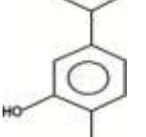
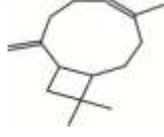
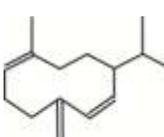
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez C. A. 1999. Determinación y cuantificación de la capacidad antimicrobiana y antioxidante de las fracciones polares del orégano (*Origanum vulgare* L.). Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Aranda J. et. al. 2009. Caracterización del aceite esencial de orégano liso (*Polio-mintha longiflora* Gray) de la localidad Infiernillo en el municipio de Higuera, N.L., Mexico. Revista Salud Pública y Nutrición, Volumen 10, número 8.
- Arcila-Lozano C., Loarca-Piña, G., Lecona-Uribe, S., y González de Mejía, E. 2004. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(1), 100-111.
- Argüeso A., D'A. 1986. Manual de Técnicas en Histología Vegetal. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur.
- Bendahou, M.; Muselli, A.; Grignon-Dubois, M.; Benyoucef, M.; Desjobert, J.-M.; Bernardini, A.-F.; Costa, J., Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. Essential
- Calderón, E. 1963. Guía para análisis de plantas y notas prácticas sobre fitoquímica. Universidad Nacional: Bogotá.
- Chishti S., Kaloo, Z., and Sultan, P. 2013. Medicinal importance of Genus *Origanum* – A review. International Journal of Advanced Research, Volume 1, Issue 8, 75-84. En: *Journal homepage: http://www.journalijar.com*. 1.07.2014 - 8:40.
- Corrêa R., Pereira J., Soares E., De Oliveira C., De Castro E., Da Silva R. 2009. Características anatómicas foliares de plantas de orégano (*Origanum vulgare* L.) submetidas a diferentes fontes e níveis de adubação orgânica. *Maringá*, v. 31 (3), 439 – 444 pp.
- D'Antuono L., Galletti G. y Bocchini, P. 2000. Variability of Essential Oil Content and Composition of *Origanum vulgare* L. Populations from a North Mediterranean Area (Liguria Region, Northern Italy), *Annals of Botany*, 86(3), 471-478.
- Deighton N. et. al. 1993. Identification by EPR spectroscopy of Carvacrol and Thymol as the major sources of free radicals in the oxidation of plant essential oils, *J. Sci. Food Agric.*, 63(2), 221-225.
- Fuertes C. et. al. 2001. Estudio comparativo del aceite esencial de *Menthostachys mollis* (Kunth) Griseb "Muña" de tres regiones peruanas por cromatografía de gases

- Steviana*, Vol. 6. 2014. Martínez et al. *Caracterización físico-química del aceite esencial de Origanum syriacum L. extraído a macro escala en distintos tiempos utilizando el método de destilación por arrastre de vapor*
- y espectrometría de masas. Ciencia e Investigación, Volumen IV (I)
- Fundación Integra. 2014. «Orégano: Características». *Región de Murcia Digital*. Accedido octubre 10.
http://www.regmurcia.com/servlet/s.Sl?sit=a,0,c,382,m,1678&r=ReP-22473-DETALLE_REPORTAJESPADRE.
- Fundación Integra. 2014. «Orégano: Presentación». *Región de Murcia Digital*. Accedido octubre 10.
http://www.regmurcia.com/servlet/s.Sl?sit=a,0,c,382,m,1678&r=ReP-22473-DETALLE_REPORTAJESPADRE.
- Hostettmann, K. 2008. Manual de estrategias para el aislamiento de productos naturales bioactivos. Bogotá-Colombia: Convenio Andrés Bello.
- Leffingwell, J., Alford, E., Leffingwell, D., et al. 2013. Identification of the Volatile Constituents of Cyprian Latakia Tobacco by Dynamic and Static Headspace Analyses.
- Metcalfe, C. and Chalk, L. 1988. Anatomy of the dicotyledons. 2 ed. Oxford: Clarendon.
- Motic China Group. 2006. Motic Images Plus versión 2.0. Software de computadora para microscopia digital.
- Murillo E. et. al. 2004. Caracterización Físico-Química del aceite esencial de albahaca. II. *Revista Colombiana de Química*, Volumen 23, Número 2. Pag. 139-148.
- Proyecto de Cooperación UE-Perú en materia de Asistencia Técnica relativa al comercio. 2004. Estudio de Factibilidad de la Producción de Orégano orgánico y sus derivados en Tacna. Perú.
- The Plant List. 2013. Version 1.1. Published on the Internet;
<http://www.theplantlist.org/> (accessed 1st January).
- Tropicos (2014). En:
www.mobot.org/Name/100234908
- USAID y Paraguay Vende. 2008. *Asistencia Técnica en el Agronegocio del Orégano*. Task Order N. 346. Dirigida a Empresas del Sector Privado Paraguayo asistidas por el Programa Paraguay Vende, Contract No. EEM - I - 346 - 07 - 00008 - 00. Asunción: United States Agency for International Development.
- World Health Organization. 1998. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva-Suiza.
- Zheng W. and Shioh Y. W. 2001. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *J. Agric. Food Chem.* 49, 5165-5170.

Steviana, Vol. 6. 2014. Martínez et al. Caracterización físico-química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. extraído a macro escala en distintos tiempos utilizando el método de destilación por arrastre de vapor

Tabla 7A. Composición química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. muestreado a las 2 horas del proceso de extracción

Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)	Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)
(+)-Sabineno (1)		6,78	(-)-Terpinen-4-ol (6)		10,3
alfa-Terpineno (2)		5,61	2-Isopropil-1-metoxi-4-metilbenceno (7)		16,0
beta-Cimeno (3)		2,58	Carvacrol (Isotimol) (8)		19,2
gamma-Terpineno (4)		13,9	Cariofileno (9)		8,23
Biciclo [3.1.0] hexan-2-ol, 2-metil-5-(1-metiletil)-, (1.alfa., 2. beta., 5. alfa.) (trans-hidrato de Sabineno)(5)		6,16	Germacreno D (10)		2,0

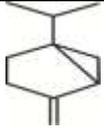
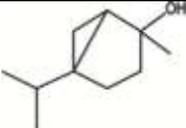
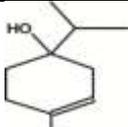
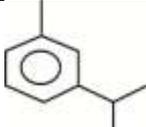
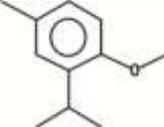
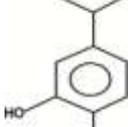
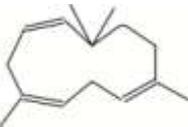
Steviana, Vol. 6. 2014. Martínez et al. Caracterización físico-química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. extraído a macro escala en distintos tiempos utilizando el método de destilación por arrastre de vapor

Tabla 7B. Composición química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. muestreado a las 2 horas del proceso de extracción

Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)	Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)
Biciclo [3.1.0] hexan-2-ol, 2-metil-5-(1-metiletil)-, (1. alfa., 2. alfa., 5. alfa.) (cis-hidrato de sabineno) (11)		2,32	Terpineno 4-acetato (16)		0,71
Beta-Bisaboleno (12)		2,71	(-)-Spatulenol (17)		0,21
Oxido Ledeno-(II) (13)		0,14	(+)-2-Careno (18)		0,08
Z,Z,Z-1,5,9-tetrametil-1,4,7-Cicoundecatrieno (14)		0,29	Germacreno B (19)		2,46
[1aR- (1a. alfa., 4a. beta., 7. alfa., 7a. beta., 7b. alfa.)-4-metileno-1,1,7-trimetil-decahidro-1H-Cicloprop[e]azuleno (15)		0,12	Delta-Cadineno (20)		0,19

Steviana, Vol. 6. 2014. Martínez et al. Caracterización físico-química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. extraído a macro escala en distintos tiempos utilizando el método de destilación por arrastre de vapor

Tabla 8A. Composición química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. muestreado a las 4 horas del proceso de extracción

Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)	Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)
(+)-Sabineno (1)		6,67	Biciclo [3.1.0] hexan-2-ol, 2-metil-5-(1-metiletil)-, (1.alfa., 2. alfa., 5. alfa.) (cis-hidrato de sabineno (11))		15,5
alfa-Terpineno (2)		5,25	(-)-Terpinen-4-ol (6)		15,4
beta-Cimeno (3)		2,46	2-Isopropil-1-metoxi-4-metilbenceno (7)		6,69
gamma-Terpineno (4)		8,02	Carvacrol (Isotimol) (8)		11,9
Z,Z,Z-1,5,9,9-tetrametil-1,4,7-Cicoundecatrieno (14)		0,48	Cariofileno (9)		9,86

Steviana, Vol. 6. 2014. Martínez et al. Caracterización físico-química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. extraído a macro escala en distintos tiempos utilizando el método de destilación por arrastre de vapor

Tabla 8B. Composición química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. muestreado a las 4 horas del proceso de extracción

Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)	Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)
Delta-Cadineno (20)		0,57	Epóxido isoaromadendreno (22)		0,44
Germacreno B (19)		3,42	(-)-Spatulenol (17)		0,70
Terpineno 4-acetato (16)		2,12	(+)-4-Careno (23)		1,72
Beta-Bisaboleno (12)		4,87	Germacreno D (10)		2,68
Alfa-Bisaboleno (21)		0,11	3-Careno (24)		0,29

Steviana, Vol. 6. 2014. Martínez et al. Caracterización físico-química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. extraído a macro escala en distintos tiempos utilizando el método de destilación por arrastre de vapor

Tabla 8C. Composición química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. muestreado a las 4 horas del proceso de extracción

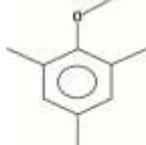
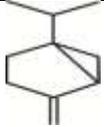
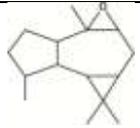
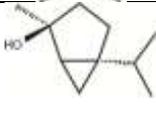
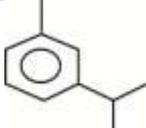
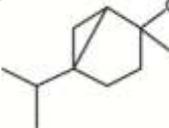
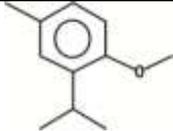
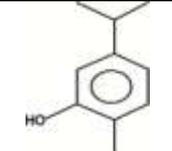
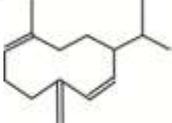
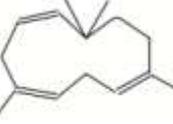
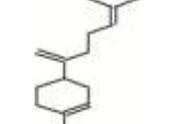
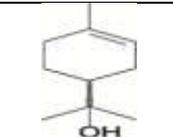
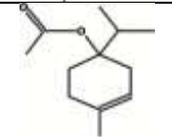
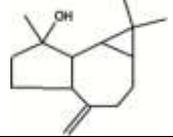
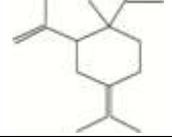
Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)	Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)
Metoximesitileno (25)		0,84	----	----	----

Tabla 9A. Composición química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. muestreado a las 6 horas del proceso de extracción

Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)	Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)
(+)-Sabineno (1)		7,47	gamma-Terpineno (4)		7,42
Epóxido isoaromadendreno (22)		0,18	Biciclo [3.1.0] hexan-2-ol, 2-metil-5-(1-metiletil)-, (1.alfa., 2. beta., 5. alfa.) (5)		10,5
beta-Cimeno (3)		1,80	Biciclo [3.1.0] hexan-2-ol, 2-metil-5-(1-metiletil)-, (1.alfa., 2. alfa., 5. alfa.) (11)		0,35

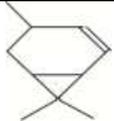
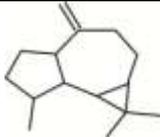
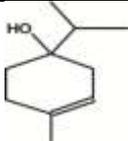
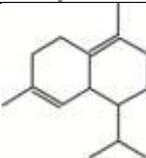
Steviana, Vol. 6. 2014. Martínez et al. Caracterización físico-química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. extraído a macro escala en distintos tiempos utilizando el método de destilación por arrastre de vapor

Tabla 9B. Composición química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. muestreado a las 6 horas del proceso de extracción

Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)	Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)
2-Isopropil-1-metoxi-4-metilbenceno (7)		9,93	Carvacrol (Isotimol) (8)		19,5
Cariofileno (9)		8,69	Germacreno D (10)		2,32
Z,Z,Z-1,5,9,9-tetrametil-1,4,7-Cicoundecatrieno (14)		0,41	Beta-Bisaboleno (12)		3,0
(-)-alfa-terpineol (26)		2,68	Terpineno 4-acetato (16)		0,99
(-)-Spatulenol (17)		0,32	Elixeno (27)		2,73

Steviana, Vol. 6. 2014. Martínez et al. Caracterización físico-química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. extraído a macro escala en distintos tiempos utilizando el método de destilación por arrastre de vapor

Tabla 9C. Composición química del aceite esencial de *Origanum syriacum* L. muestreado a las 6 horas del proceso de extracción

Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)	Nombre del compuesto químico	Estructura química	Cantidad relativa (%)
(+)-4-Careno (23)		6,21	[1aR- (1a. alfa., 4a. beta., 7. alfa., 7a. beta., 7b. alfa.)-4-metileno-1,1,7-trimetil-decahidro-1H-Cicloprop[e]azuleno (15)		0,16
trans-Retinal (28)		0,07	(-)-Terpinen-4-ol (6)		15,1
Copaeno (29)		0,08	Delta-Cadineno (20)		0,23