

**DOMESTICACIÓN Y EXPLOTACIÓN  
DE PLANTAS AROMÁTICAS Y  
MEDICINALES COMO FUENTE  
POTENCIAL DE ANTIOXIDANTES**

Jesús Burillo, Irene Parejo, Francesc Viladomat,  
Jaume Bastida, Alfredo Rosas Romero, Carles Codina

# DOMESTICACIÓN DE PLANTAS AROMÁTICAS Y MEDICINALES COMO FUENTE POTENCIAL DE ANTIOXIDANTES

Jesús Burillo<sup>a</sup>, Irene Parejo<sup>b</sup>, Francesc Viladomat<sup>b</sup>, Jaume Bastida<sup>b</sup>,  
Alfredo Rosas-Romero<sup>c</sup>, Carles Codina<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Investigación Agroalimentaria (DGA), Unidad de Recursos Forestales, Área de Aromáticas y Medicinales, Apdo. de Correos 727. 50080 Zaragoza, España

<sup>b</sup> Departamento de Productos Naturales, Biología Vegetal y Edafología, Facultad de Farmacia Universidad de Barcelona, Avda Joan XXIII s/n. 08028 Barcelona, España

<sup>c</sup> Departamento de Química Universidad Simón Bolívar, Apartado 89000 Caracas 1080A Venezuela

## Introducción

Son muchas las plantas medicinales que se han estudiado intensamente en los últimos años en búsqueda de antioxidantes naturales (Lugasi et al., 1998; Velioglu et al., 1998; Kähkönen et al., 1999; Mensor et al., 2001; Singh et al., 2002). Las especias y plantas aromáticas, ampliamente distribuidas por la región mediterránea, tienen un gran interés comercial debido a sus aceites esenciales (Lis-Balchin & Hart, 1999; Burits et al., 2001). Algunas de ellas, por ejemplo, la soja, romero, timo, orégano y otras especies de Labiadas, ya se han estudiado en relación a su actividad antioxidante (Haraguchi et al., 1996; Lagouri & Boskou, 1996; Hidalgo et al., 1998; Wang et al., 1999; Marinova & Yanishlieva, 1997).

Por otra parte, en los últimos años la búsqueda de antioxidantes naturales se está extendiendo también a los residuos agrícolas como una fuente alternativa a los antioxidantes sintéticos utilizados en las industrias alimentaria y farmacéutica. Algunos de dichos residuos incluyen los restos de la industria olivarera (Capasso et al., 1999; Visioli et al., 1999; Lesagemeessen et al., 2001) y vitícola (Torres & Bobet, 2001), y las pieles de patata (Desotillo et al., 1998). Sin embargo, no existen antecedentes del estudio de la actividad antioxidante en residuos procedentes de plantas utilizadas en la extracción de aceites esenciales.

En la actualidad el cultivo de plantas aromáticas y medicinales en España se presenta con posibilidades de rentabilidad para zonas donde

los cultivos tradicionales pueden considerarse poco rentables. En Aragón dichas posibilidades se ponen de manifiesto en distintas comarcas en las que existe una abundante flora espontánea en plantas aromáticas y medicinales, siendo necesario mejorar genéticamente dicha flora con especies o variedades seleccionadas, adaptarla a cultivo, y utilizar las técnicas culturales más adecuadas para poder contribuir en la mejora global de la rentabilidad agraria, en la fijación social, y en la conservación del medio natural. Los cultivos experimentales de plantas aromáticas y medicinales que se vienen desarrollando desde el Servicio de Investigación Agroalimentaria (Burillo y García-Vallejo, 2003), determinan la importancia que puede suponer la utilización de materias primas transformadas de estas plantas para la industria en general (Guillén et al., 1996), contando además con el valor añadido que se obtendría si del material de desecho (material destilado en este caso) se consiguiera una fuente potencial de antioxidantes de origen natural.

Una vez realizados una serie de estudios previos sobre la flora autóctona de plantas aromáticas y medicinales en Aragón, se inició el cultivo experimental en diferentes comarcas, y se estudiaron las plantas teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

- a) conocer la capacidad de adaptación agronómica de seis especies o ecotipos seleccionados, con vistas a la planificación de un cultivo moderno y rentable,
- b) desarrollar las técnicas de cultivo más adecuadas en mecanización, marcos de plantación y recolección,
- c) conocer la potencialidad productiva en rendimiento y calidad de la materia prima obtenida (materia seca y aceite esencial),
- d) efectuar un estudio económico del cultivo en base a los parámetros de mercado, y
- e) evaluar la capacidad antioxidante del material objeto de estudio en sus dos formas: material destilado y material sin destilar

## **Material y Métodos**

### ***Plantas objeto de estudio***

El material vegetal utilizado en el presente estudio estuvo constituido por las especies vegetales que se indican en las páginas

siguientes, las cuales se cultivaron bajo condiciones agronómicas controladas

### ***Localización geográfica de las parcelas experimentales***

Los ensayos experimentales se desarrollaron en dos localidades, Cetina y Alacón, ubicadas, respectivamente, en las comarcas de CALATAYUD (provincia de Zaragoza) y del BAJO ARAGÓN (provincia de Teruel), ambas representativas de este tipo de cultivos. La experimentación se llevó a cabo en colaboración con agricultores de las zonas seleccionadas.

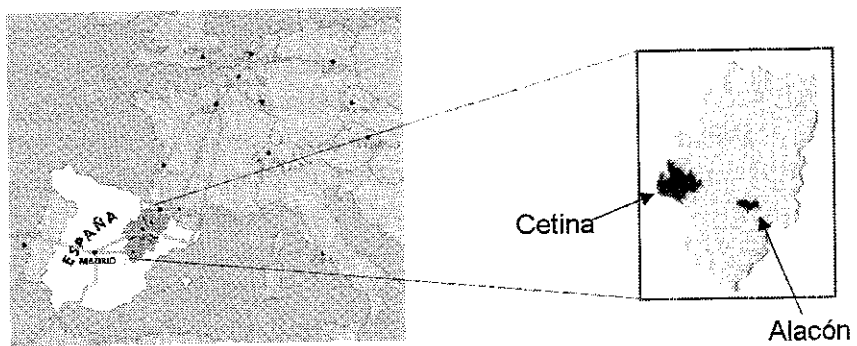


Figura 1 Mapa de la localización geográfica de las localidades de Cetina (Calatayud Zaragoza) y Alacón (Bajo Aragón Teruel) en la Comunidad Autónoma de Aragón

### ***Comarca de Calatayud (Zaragoza)***

La Comarca de Calatayud se encuentra situada en el curso alto del río Jalón, entre la provincia de Guadalajara y las comarcas de Cariñena y Daroca, limitando al oeste con la provincia de Soria.

### ***Características de la parcela de Cetina (Zaragoza)***

- Parcela de riego por inundación
- Altitud de la zona 650 m sobre el nivel del mar
- Precipitación media anual 434 mm
- Temperatura media anual 13.7 °C
- Tipo de suelo de textura franco-arcillo-limosa

### **Especies cultivadas**

- Estragon *Artemisia dracunculus* L.
- Hinojo amargo *Foeniculum vulgare* Mill.
- Meliloto *Melilotus officinalis* Lam
- Milenrama *Achillea millefolium* L.

### **Comarca del Bajo Aragón (Teruel)**

La Comarca del Bajo Aragón se localiza en torno a la Sierra de Arcos, en pleno corazón de la provincia turolense.

### **Características de la parcela de Alacón (Teruel)**

- Parcela de secano
- Altitud de la zona 702 m sobre el nivel del mar
- Precipitación media anual 400 mm
- Temperatura media anual 15 °C
- Tipo de suelo de textura franco-arcillosa

### **Especies cultivadas**

- Espliego *Lavandula latifolia* (L. Fil.) Medikus
- Lavandín Super Híbrido de *Lavandula angustifolia* x *L. latifolia*

## Espliego

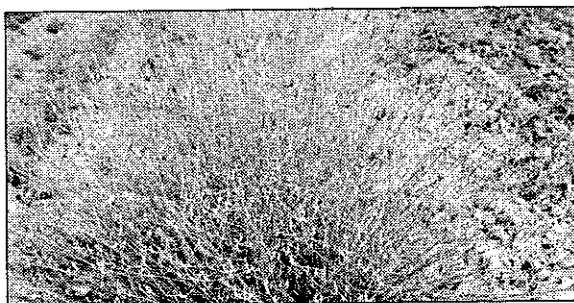
### *Familia botánica*

Lamiaceae

### *Nombre científico*

*Lavandula latifolia*

(L. Fil) Medikus



### *Descripción de la planta*

El Espliego es una planta perenne, de base leñosa, con una raíz pivoteante fuerte, formando una mata de la que surgen numerosas ramas sencillas y erguidas, pudiendo alcanzar más de 50 centímetros de altura. Las hojas de color verde intenso son lanceoladas. Las flores, de color azul violáceo, están agrupadas en glomérulos, dispuestos en pisos que forman espigas terminales. Las brácteas florales son estrechas, verdes y con un solo nervio dorsal. El cáliz es tubuloso. La corola, de 8 a 10 mm de longitud, es tubular. El fruto es un tetraquenio, con cuatro semillas oscuras y brillantes (Muñoz, 1987).

### *Importancia del cultivo*

La plantación del cultivo se debe realizar con material vegetal seleccionado procedente de vivero-semillero (planta en cepellón o a raíz desnuda). El Espliego se adapta bien para poder mecanizar tanto las labores de mantenimiento como su recolección en suelos calizos de secano. Inicia la producción al segundo año de su puesta en cultivo, pudiendo tener un ciclo productivo de más de seis años. La floración se desarrolla en el mes de agosto. El mercado lo que demanda mayoritariamente es el aceite esencial obtenido por destilación.

## **Estragón**

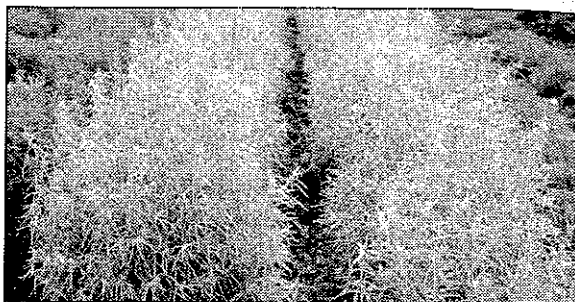
### ***Familia botánica***

Asteraceae

### ***Nombre científico***

*Artemisia*

*dracunculus* L.



### ***Descripción de la planta***

Es una planta perenne leñosa, de tallos erguidos, ramificados, que pueden llegar a medir más de 1 metro de altura. Las hojas son enteras, lineares o lanceadas, ligeramente dentadas de color verde. Las flores son amarillentas y se hallan agrupadas en capítulos, dispuestos en panojas terminales. Las hojas secas tienen sabor picante, algo amargo (Muñoz, 1987)

### ***Importancia del cultivo***

Su cultivo se debe efectuar en zonas con pluviometría por encima de los 600 mm anuales; de lo contrario será necesario efectuar riegos puntuales al cultivo durante primavera-verano. La plantación se realiza por división vegetativa con pies sanos obtenidos de plantas madre seleccionadas. Tiene una gran plasticidad, tanto en tipos de suelo como en su adaptación a distintas altitudes, y al tratarse de una planta de porte erguido se puede mecanizar fácilmente. La floración tiene lugar en el mes de julio, y entra en producción el primer año de cultivo, pudiendo tener un ciclo productivo de 6-7 años. El mercado demanda materia seca (hoja/flor)

## Hinojo amargo

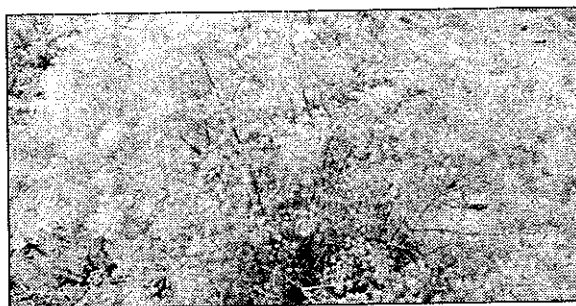
### *Familia botánica*

Apiaceae

### *Nombre científico*

*Foeniculum vulgare*

Mill



### *Descripción de la planta*

Planta perenne, herbácea, de altura variable entre 0.8 y 2 m, lampiña, de color glauco y cepa densa; dispone de tallos robustos, lisos, estriados, con hojas envainadoras. Las flores amarillas están agrupadas en umbelas, de 12 a 30 radios, muy largos y casi iguales. Los frutos son diaquenios, de perímetro circular en su corte transversal, de color gris oscuro. Toda la parte aérea de la planta tiene un olor anisado y un sabor picante y amargo (Muñoz, 1987)

### *Importancia del cultivo*

Es una especie que en la actualidad está poco seleccionada, y todavía se recolecta a nivel espontáneo en distintas zonas españolas. Dado que es una planta que su demanda por parte del mercado va en aumento, es necesario planificar su cultivo mecanizado, contando con material vegetal seleccionado. Aunque su cultivo puede darse en secanos frescos, en zonas con pluviometría menor de 400 mm anuales, es conveniente dar riegos puntuales en verano. Al tener floración escalonada es necesario ajustar la recolección cuando tiene el mayor porcentaje de frutos maduros que suele ser en el mes de septiembre. Se demanda por parte del mercado frutos/semilla y aceite esencial.



**Lavandín Super**  
**Familia botánica**

Lamiaceae

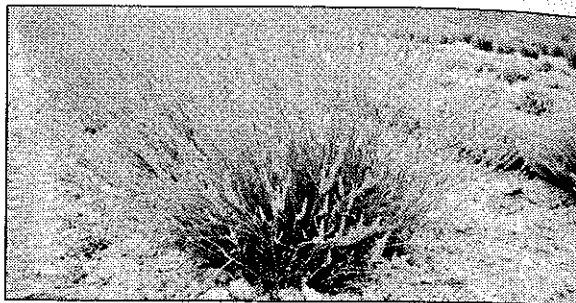
**Nombre científico**

Híbrido de

*Lavandula*

*angustifolia* x

*Lavandula latifolia*



**Descripción de la planta**

Forma una mata leñosa, perenne, que todos los años emite brotes o tallos con flores en espiga. Las brotaciones son ramificadas. Las flores son de color azul grisáceo, más parecidas a la Lavanda. El Lavandín Super es una planta híbrida obtenida en laboratorio en Francia. En el Pirineo se puede encontrar en estado natural en las zonas donde conviven el Espliego y la Lavanda.

**Importancia del cultivo**

Al ser una planta híbrida que no produce semilla, su multiplicación se realiza por estaquilla. Para su puesta en cultivo es necesario contar con estaquillas enraizadas procedentes de plantas madre seleccionadas. Es una planta a la que se le han adaptado una serie de máquinas desde su configuración como cultivo. Se puede cultivar en terrenos calizos de secanos frescos. Inicia la producción al segundo año de su plantación, y su ciclo productivo puede durar más de diez años. El mercado de perfumería y cosmética demanda principalmente de esta planta su aceite esencial.

## **Meliloto**

### ***Familia botánica***

Fabaceae

### ***Nombre científico***

*Melilotus officinalis* Lam

### ***Descripción de la planta***

Es una planta herbácea, anual o bianual, lampiña, con hojas compuestas, trifoliadas, que recuerdan a la de la alfalfa, ligeramente dentadas, con estípulas lanceoladas. Las flores son pequeñas, amarillas, olorosas y agrupadas en racimos delgados, que arrancan de la axila de las hojas superiores y son más largos que ellas. El fruto es una legumbre pequeña, de unos 3 mm, ovoidea, de color verde-amarillenta, con arrugas transversales, que contiene una o dos semillas redondeadas.



Florece en verano. La planta tiene un sabor ligeramente amargo y al secarse desprende un intenso olor a cumarina (Muñoz, 1987).

### ***Importancia del cultivo***

Dado el poder germinativo de la semilla, que puede llegar al 85% en condiciones óptimas, y teniendo en cuenta que su cultivo puede considerarse anual, lo interesante es efectuar siembra directa con máquina de precisión, manteniendo un marco de plantación que permita realizar labores de bina al cultivo, y poder calcular el número de plantas por ha. Se adapta bien a distintos tipos de suelo y altitudes, aunque requiere terrenos de secano fresco, o en zonas áridas riegos de apoyo en primavera-verano. La demanda por parte del mercado de esta planta es de materia seca hoja y flor.

## Milenrama

### Familia botánica

Asteraceae

### Nombre científico

*Achillea millefolium* L.



### Descripción de la planta

Planta herbácea, perenne, con tallo subterráneo, o rizoma. El tallo aéreo es simple, erecto, algo veloso y de 50 a 80 cm de altura. Las hojas son dentadas, doblemente divididas en foliolos lineales, que a su vez se dividen en otro plano, dando al follaje un aspecto rizado. La inflorescencia es un corimbo de cabezuelas, formada por flores de color blanco o rosado. Los frutos son aquenios. La planta desprende un olor canforáceo (Muñoz, 1987)

### Importancia del cultivo

La puesta en cultivo de esta planta se puede realizar por semilla, división vegetativa o rizomas. Es conveniente disponer de plántulas obtenidas en vivero-semillero para poder realizar la plantación. Se puede adaptar a distintos tipos de suelo de secanos frescos; si el cultivo se realiza en zonas de menos de 400 mm de pluviometría, será necesario dar riegos puntuales en primavera-verano. Entra en producción el primer año de cultivo. La floración tiene lugar durante el mes de junio, aunque puede seguir dando flores durante todo el verano y principio de otoño. Su ciclo productivo puede llegar a ser de 4 años o más. El mercado demanda materia seca de las sumidades floridas.

### Diseño experimental del ensayo agronómico

A continuación se describen los ensayos agronómicos realizados en las respectivas parcelas experimentales de Cetina y Alacón.

***Ensayo de Cetina (Zaragoza)***

- La plantación se realizó en el mes de octubre de 1999 y la densidad de plantación fue de 20 000 plantas/ha. Puntualmente se realizaron riegos de apoyo por inundación, debido a que durante el período de primavera-verano existe una cierta escasez de lluvias en la zona.
- El diseño utilizado en la parcela de estudio fue el de bloques al azar con tres repeticiones, y el modelo estadístico aplicado fue el del factorial triple: bloque-especie-año, considerando en todos los casos factores fijos.
- El marco de plantación fue de 1 m de separación de filas x 0.50 m de planta a planta (0.50 m<sup>2</sup>/planta).

***Ensayo de Alacón (Teruel)***

- Las muestras estudiadas corresponden al final del ciclo productivo de las especies o ecotipos ensayados en secano.
- El diseño utilizado en la parcela de estudio fue el de bloques al azar con tres repeticiones, y el modelo estadístico aplicado fue el del factorial triple: bloque-especie-año, considerando en todos los casos factores fijos.
- El marco de plantación fue de 1.50 m x 0.70 m (1.05 m<sup>2</sup>/planta), es decir, una densidad de plantación de 9 600 plantas/ha.

**Las variables controladas para cada especie fueron las siguientes:**

- Producción anual de biomasa pesada en campo
- Estudio fenológico de la planta en el momento de la recolección.
- Porcentaje de marras (% para cada especie)
- Producción anual y rendimiento de materia seca
- Rendimiento y producción de aceite esencial

**Recolección y tratamiento del material vegetal**

Las muestras se recolectaron cuando las plantas se encontraban en el estadio fenológico de floración.

Una parte del material vegetal recolectado se sometió a un proceso de secado a la sombra, bajo corriente de aire, durante un período de 7 días. El resto del material se destinó a la obtención de aceites esenciales por arrastre de vapor a escala de planta piloto y por hidrodestilación en laboratorio por el método Clavenger acogido a Farmacopea Europea. Todo el proceso se realizó en la Finca Experimental "La Alfranca", de la Diputación General de Aragón.

### **Procesamiento de las muestras**

Siguiendo el procedimiento metodológico diseñado para el desarrollo del proyecto (ver *Diseño Experimental*), consistente en un proceso de extracción y fraccionamiento secuencial, obtuvimos los siguientes extractos y fracciones: EC1, extracto crudo inicial (metanólico); EC2, extracto crudo desengrasado (resultante del tratamiento del EC1 con hexano); y las fracciones FHX, fracción hexánica; FC3, fracción clorofórmica, y FCA, fracción acetato de etilo, obtenidas por la partición sucesiva del EC1 con dichos solventes. La fracción acuosa residual se codificó como FOH.

### **Análisis de la capacidad antioxidante**

En cada muestra se determinó el contenido de fenoles totales (CFT), la capacidad captadora de radicales libres (por el método del DPPH), radicales hidroxilo (por el método de quimioluminiscencia) y del anión superóxido (por el sistema superóxido-azul de nitrotetrazolio hipoxantina/xantina oxidasa), así como la actividad antioxidante (por el método de decoloración del  $\beta$ -caroteno), según los procedimientos analíticos descritos en la *Diseño Experimental*.

Las actividades antioxidante y captadora de radicales determinadas en cada una de las muestras estudiadas se compararon con las de diferentes productos de referencia, la quercetina (Q), un antioxidante de origen natural, el butilhidroxianisol (BHA), uno de los antioxidantes sintéticos más ampliamente utilizados en la industria alimentaria, y tres extractos comerciales de origen natural con elevada actividad antioxidante: romero (R), té verde (TV) y pepitas de uva (PU).

Todos los análisis (extracciones y fraccionamientos) se realizaron por triplicado, y los resultados se sometieron a un análisis multifacto-

rial de ANOVA para la comparación de los resultados correspondientes al material destilado y sin destilar, a los extractos y fracciones, así como a las seis plantas estudiadas. Las diferencias se consideraron significativas para valores de  $P < 0,05$

## Resultados y discusión

### A) Datos de producción

Los resultados productivos de las plantas estudiadas (**Tablas 1-6, Figuras 2-5**) hay que encuadrarlos en los dos sistemas de cultivo descritos: secano y regadío eventual.

#### *Parcela de secano*

- a) *Espliego*: Las muestras de Espliego corresponden al final del ciclo productivo de la parcela experimental de Alacón. El Espliego empieza a producir al segundo año de su plantación. La vida en cultivo del Espliego puede alargarse por encima de los 10 años, aunque en realidad las producciones de materia vegetal son interesantes los primeros cuatro años, para descender posteriormente y hacer que la producción sea muy baja a partir del séptimo año. El comportamiento productivo del aceite esencial se mantiene en unos parámetros similares. En base a los resultados obtenidos y según precios del mercado del aceite esencial de Espliego, los seis primeros años del cultivo se pueden considerar rentables, ya que se estima un rendimiento neto por hectárea y año de unos 500 euros. La producción cerealista de la zona es baja, lo cual hace difícil su rentabilidad, ya que se estima en 2200 kg/ha año.
- b) *Lavandín Super*: Al igual que el Espliego, las muestras estudiadas de Lavandín super corresponden al final del ciclo productivo de la parcela experimental de Alacón. El Lavandín super entra en producción el segundo año, va aumentando la producción hasta llegar a un máximo en el cuarto año, se mantiene estable hasta el sexto año, para disminuir a continuación. El comportamiento de la producción de aceite esencial es similar a la del rendimiento en materia vegetal. Según los resultados

experimentales obtenidos, el ciclo productivo del Lavandín super se puede considerar rentable durante once años de cultivo, ya que el rendimiento neto estimado por hectárea y año es de más de 600 euros.

*Parcela de regadío eventual*

Las muestras estudiadas de Estragón, Hinojo amargo, Meliloto y Mil-enrama corresponden a la producción experimental del año 2000 en la parcela de Cetina. Los datos obtenidos reflejan una buena productividad, aunque es necesario seguir con la experimentación durante más tiempo, ya que la producción de un sólo año no determina la rentabilidad que puede suponer el ciclo completo del cultivo de estas plantas.

*Espliego (Lavandula latifolia)*

Se representan los datos de un ciclo productivo de 5 años.

- Época de recolección del cultivo: agosto
- Estadio fenológico en el momento de la recolección: plena floración
- Porcentaje de marras al final del ciclo: 46,9 %

**Tabla 1. Resultados de productividad de Espliego**

DATOS PRODUCTIVOS			
Mat. Vegetal Produc. Acumulada kgrs	Aceite esencial Produc. Acumulada litros	Mat. Vegetal Media/anual kgrs/ha	Aceite esencial Media/anual litros/ha
14092	107,4	2818	21,48

Rendimiento en aceite esencial (%): 0,760 L

*Lavandín Super (Lavandula angustifolia x L. latifolia)*

Se representan los datos de un ciclo productivo de 10 años.

- Época de recolección del cultivo: julio

- Estadio fenológico en el momento de la recolección: plena floración.
- Porcentaje de marras al final del ciclo: 16,9 %.

**Tabla 2.** Resultados de productividad de Lavandín Super.

DATOS PRODUCTIVOS			
Mat. Vegetal Produc. Acumulada kgrs	Aceite esencial Produc. Acumulada litros	Mat. Vegetal Media/anual kgrs/ha	Aceite esencial Media/anual litros/ha
35512	543,29	3551	54,30

Rendimiento en aceite esencial (%): 1,530 L

*Estragón (Artemisia dracunculus)*

- Fecha de recolección: 06/07/2000.
- Estadio fenológico en el momento de la recolección: plena floración
- Porcentaje de marras: 0 %.

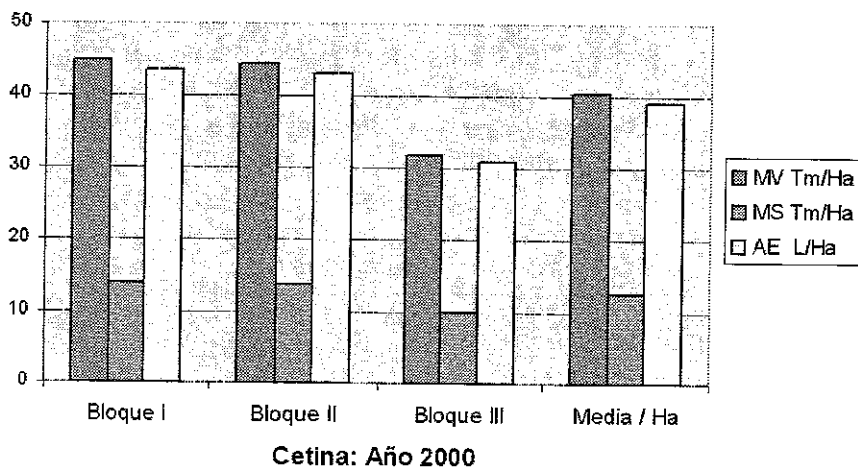


**Tabla 3. Resultados de productividad de Estragón.**

DATOS PRODUCTIVOS - AÑO 2000				
Bloque	Materia vegetal (kg/Ha)	Materia seca (kg/Ha)	Rendimiento de materia seca (%)	Producción aceite esencial (L/Ha)
I	45000	13892	30.87	43.65
II	44545	13751	30.87	43.21
III	31818	9822	30.87	30.86
Media	40454	12488	30.87	39.24

Rendimiento en aceite esencial (%): 0,097 L

**Producción de Estragón**



**Figura 2**

Datos relativos a la producción de Estragón (MV = materia vegetal fresca; MS = materia seca; AE = aceite esencial)

*Hinojo amargo (Foeniculum vulgare)*

Fecha de recolección: 17/09/2000

Estadio fenológico en el momento de la recolección: 60-65 % en semilla, y resto de la planta en flor

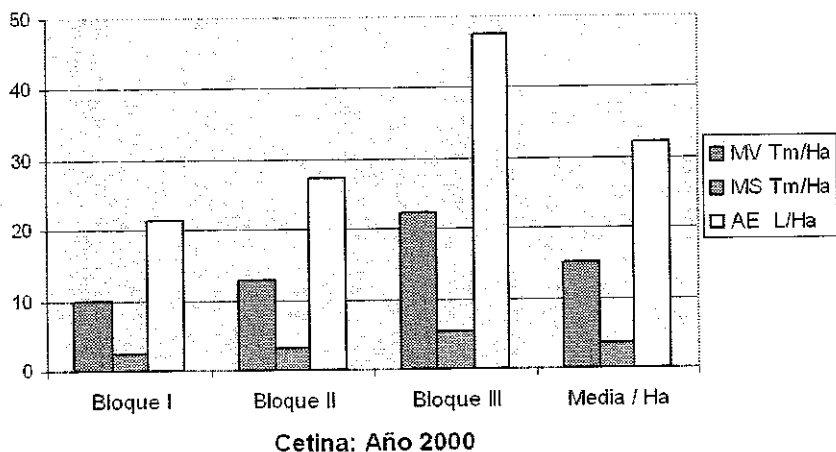
Porcentaje de marras: 1,3 % de media

**Tabla 4** Resultados de productividad de Hinojo amargo

DATOS PRODUCTIVOS - AÑO 2000				
Bloque	Materia vegetal (kg/Ha)	Materia seca (kg/Ha)	Rendimiento de materia seca (%)	Producción aceite esencial (L/Ha)
I	10000	2375	23,75	21,57
II	12727	3023	23,75	27,21
III	22273	5290	23,75	47,61
Media	15000	3563	23,75	32,06

Rendimiento en aceite esencial (%): 0,214 L

## Producción de Hinojo amargo

**Figura 3**

Datos relativos a la producción de Hinojo (MV = materia vegetal fresca; MS = materia seca; AE = aceite esencial).

*Meliloto (Melilotus officinalis)*

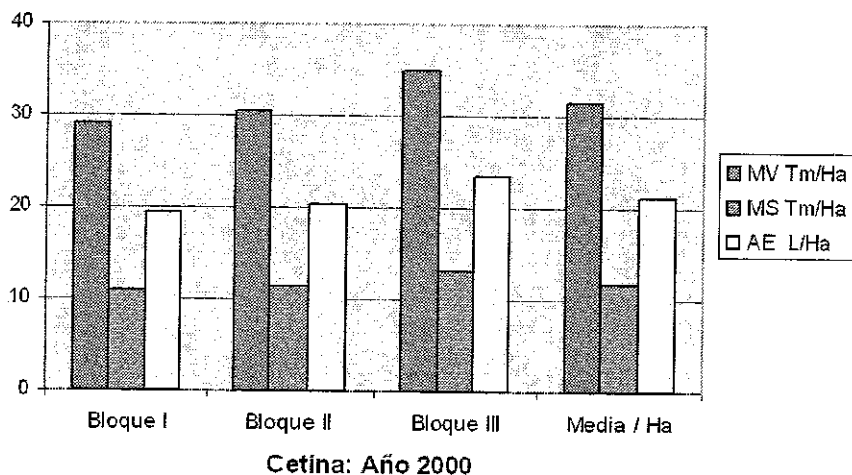
- Fecha de recolección: 25/07/2000
- Estadio fenológico en el momento de la recolección: plena floración
- Porcentaje de marras: 0,2 %

**Tabla 5. Resultados de productividad de Meliloto.**

DATOS PRODUCTIVOS - AÑO 2000				
Bloque	Materia vegetal (kg/Ha)	Materia seca (kg/Ha)	Rendimiento de materia seca (%)	Producción aceite esencial (L/Ha)
I	29204	10864	37,2	19,57
II	30454	11329	37,2	20,40
III	35000	13020	37,2	23,45
Media	31553	11738	37,2	21,14

Rendimiento en aceite esencial (%): 0,067 L

**Producción de Meliloto**



**Figura 4**

Datos relativos a la producción de Meliloto (MV = materia vegetal fresca; MS = materia seca; AE = aceite esencial)

*Milenrama (Achillea millefolium)*

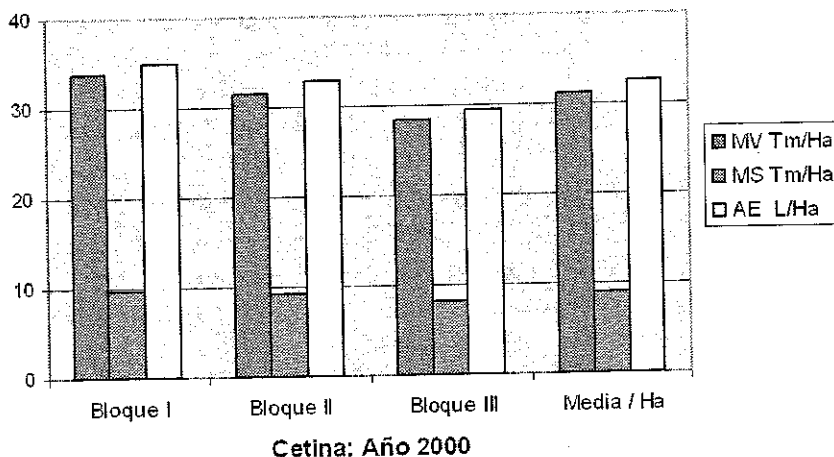
- Fecha de recolección: 23/06/2000
- Estadio fenológico en el momento de la recolección: plena floración.
- Porcentaje de marra: 0 %

**Tabla 6** Resultados de productividad de Milenrama

DATOS PRODUCTIVOS - AÑO 2000				
Bloque	Materia vegetal (kg/Ha)	Materia seca (kg/Ha)	Rendimiento de materia seca (%)	Producción aceite esencial (L/Ha)
I	33727	9686	28,72	35,08
II	31636	9086	28,72	32,90
III	28409	8159	28,72	29,55
Media	31257	8977	28,72	32,51

Rendimiento en aceite esencial (%): 0,104 L

**Producción de Milenrama**



**Figura 5**

Datos relativos a la producción de Milenrama (MV = materia vegetal fresca; MS = materia seca; AE = aceite esencial)

***B) la actividad antioxidante y captadora de radicales***

Los resultados del contenido de fenoles totales, de la capacidad captadora de radicales, y de la actividad antioxidante del material destilado y sin destilar, se muestra separadamente para cada una de las especies estudiadas en las **Figuras 6-11**. Los valores se expresan como eficiencia antiradicalaria ( $EA = 1000 \times CI_{50}$ ), equivalentes de ácido gálico (EAG) por mg de extracto seco, y porcentaje de inhibición.

Las actividades antioxidante y captadora de radicales determinadas en cada una de las muestras estudiadas se comparó con las de diferentes productos de referencia, la quercetina (Q), un antioxidante de origen natural, el butilhidroxianisol (BHA), uno de los antioxidantes sintéticos más ampliamente utilizados en la industria alimentaria, y tres extractos comerciales de origen natural con elevada actividad antioxidante: romero (R), té verde (TV) y pepitas de uva (PU).

***Contenido de fenoles totales***

En general, las fracciones de acetato de etilo y los clorofórmicas son las que contienen una mayor cantidad de fenoles totales, tanto en las muestras destiladas como en las sin destilar, siendo estos valores significativamente diferentes de los observados en el resto de fracciones y extractos. Son de destacar, por su contenido de fenoles totales, las fracciones de acetato de etilo de las muestras destiladas de Meliloto (722,93 EAG/mg) y de Hinojo (549,06 EAG/mg) y de la muestra sin destilar de Lavandín Super (473,14 EAG/mg), así como las clorofórmicas de la muestra sin destilar de Meliloto (520,75 EAG/mg) y la destilada de Estragón (451,93 EAG/mg).

***Actividad captadora de radicales***

La mayor capacidad captadora de radicales libres se observa en las fracciones de acetato de etilo, principalmente en la muestra no destilada de Lavandín Super ( $EA = 197,62$ ) y en la destilada de Meliloto ( $EA = 191,57$ ), pero también en la fracción clorofórmica de Estragón ( $EA = 111,98$ ). Por su parte, las fracciones más activas en cuanto a la

actividad captadora de radicales hidroxilo son las clorofórmicas de la muestra no destilada de Lavandín Super (EA = 222,22) y de la destilada de Hinojo (EA = 202,02). Por último, la mayor inhibición del anión superóxido se ha observado en las fracciones clorofórmicas de la muestra sin destilar de Estragón (98,52 %) y destilada de Espliego (91,66 %), y en las fracciones de acetato de etilo de las muestras destiladas de Estragón (92,12 %) y Hinojo (89,03 %). Sorprendentemente, el extracto crudo (EC1) de la muestra destilada de Estragón ha mostrado también una gran actividad captadora del anión superóxido (98,20 %).

#### *Actividad antioxidante*

La técnica basada en la decoloración del  $\beta$ -caroteno está muy bien relacionada con el fenómeno de rancidez en grasas y aceites, ya que trabaja cercana a la temperatura ambiente, con una emulsión de ácido linoleico en agua, donde la cantidad de oxígeno no es limitante; mientras que otras técnicas, como por ejemplo la del DPPH, están relacionadas específicamente con la captura de ciertos radicales libres, generados en este caso por el DPPH, en un ambiente altamente polar, a temperatura ambiente, en ausencia de un sustrato lipídico oxidable. De esa manera, para que un extracto o sustrato sea considerado como interesante, no es necesario que produzca buenos resultados en ambas técnicas, ya que buenos resultados con la técnica del  $\beta$ -aroteno significa una alta capacidad para inhibir el proceso global de la rancidez de los sustratos lipídicos en presencia de abundante oxígeno, mientras que la misma muestra puede dar bajos resultados con el DPPH, lo cual significa meramente que su actividad antioxidante no estaría basada en la inhibición de la acción de radicales libres tipo DPPH. Situaciones contrarias también son frecuentes. Por esa razón nosotros proponemos incluir estas dos técnicas para los trabajos de monitoreo de la actividad antioxidante en fuentes naturales, porque de esa manera se obtiene una mejor información sobre la potencialidad de los extractos o fracciones objeto de estudio, y sobre su eventual aplicación industrial.

### Espliego (*Lavandula latifolia*)

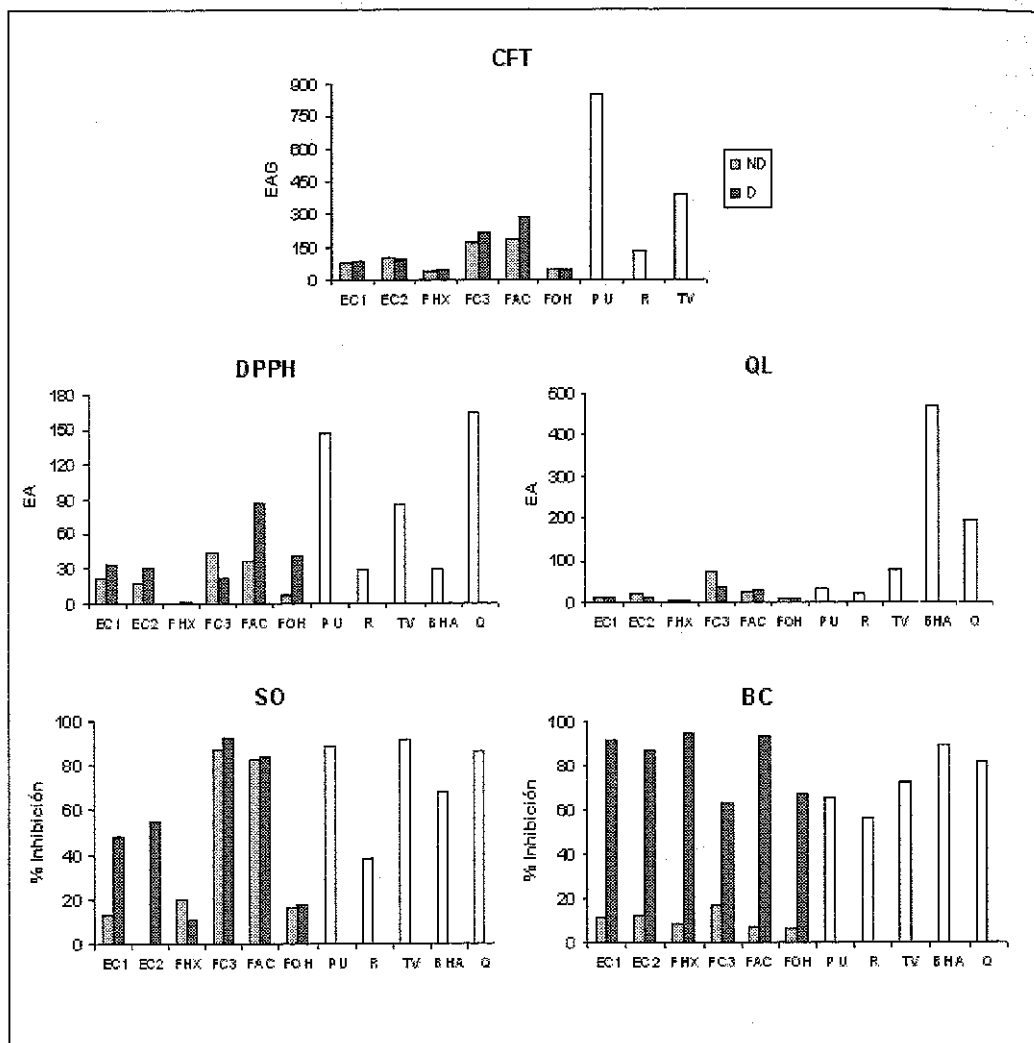


Figura 6  
 Actividad antioxidante (BC) y captadora de radicales libres (DPPH), hidroxilo (QL) y anión superóxido (SO), y contenido de fenoles totales (CFT) en material destilado (D) y sin destilar (SD) de Espliego (*Lavandula latifolia*). Ver la sección de "Material y Métodos" para la identificación de los extractos, fracciones, y productos de referencia.

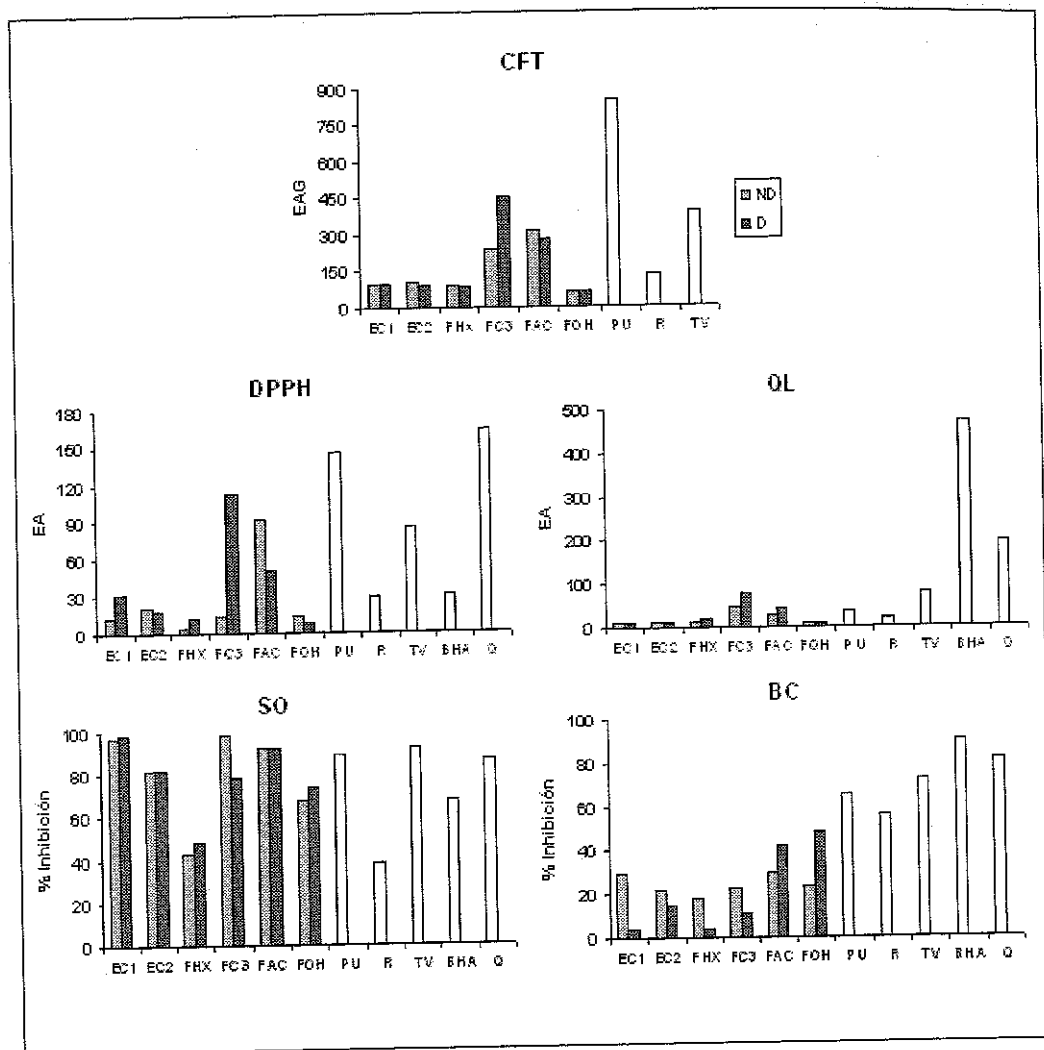
Estragón (*Artemisia dracunculus*)

Figura 7  
 Actividad antioxidante (BC) y captadora de radicales libres (DPPH), hidroxilo (QL) y anión superóxido (SO), y contenido de fenoles totales (CFT) en material destilado (D) y sin destilar (SD) de Estragón (*Artemisia dracunculus*) Ver la sección de "Material y Métodos" para la identificación de los extractos, fracciones y productos de referencia.



**Hinojo (*Foeniculum vulgare*)**

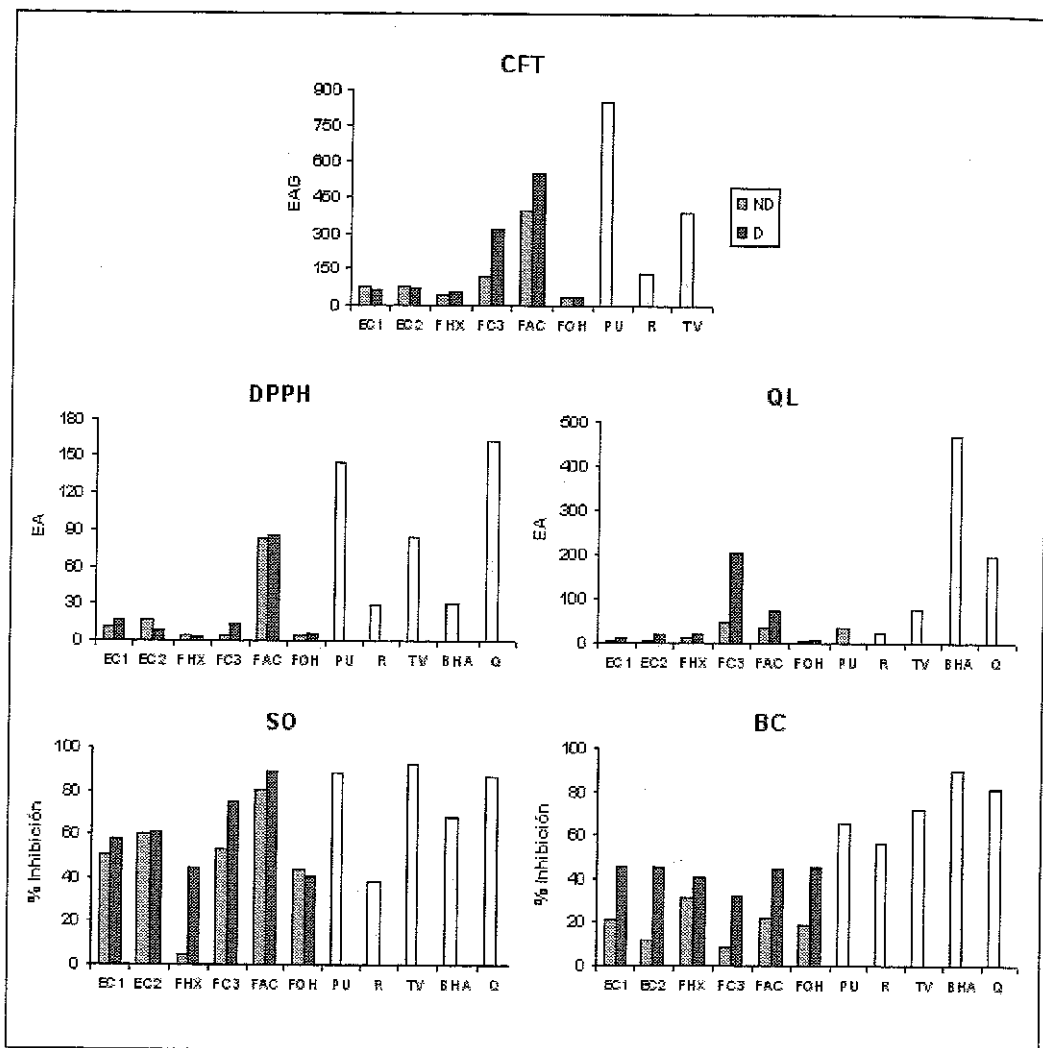


Figura 8  
 Actividad antioxidante (BC) y captadora de radicales libres (DPPH) hidroxilo (QL) y anión superóxido (SO), y contenido de fenoles totales (CFT) en material destilado (D) y sin destilar (SD) de Hinojo (*Foeniculum vulgare*) Ver la sección de "Material y Métodos" para la identificación de los extractos, fracciones, y productos de referencia

**Lavandín super** (*Lavandula angustifolia* x *L. latifolia*)

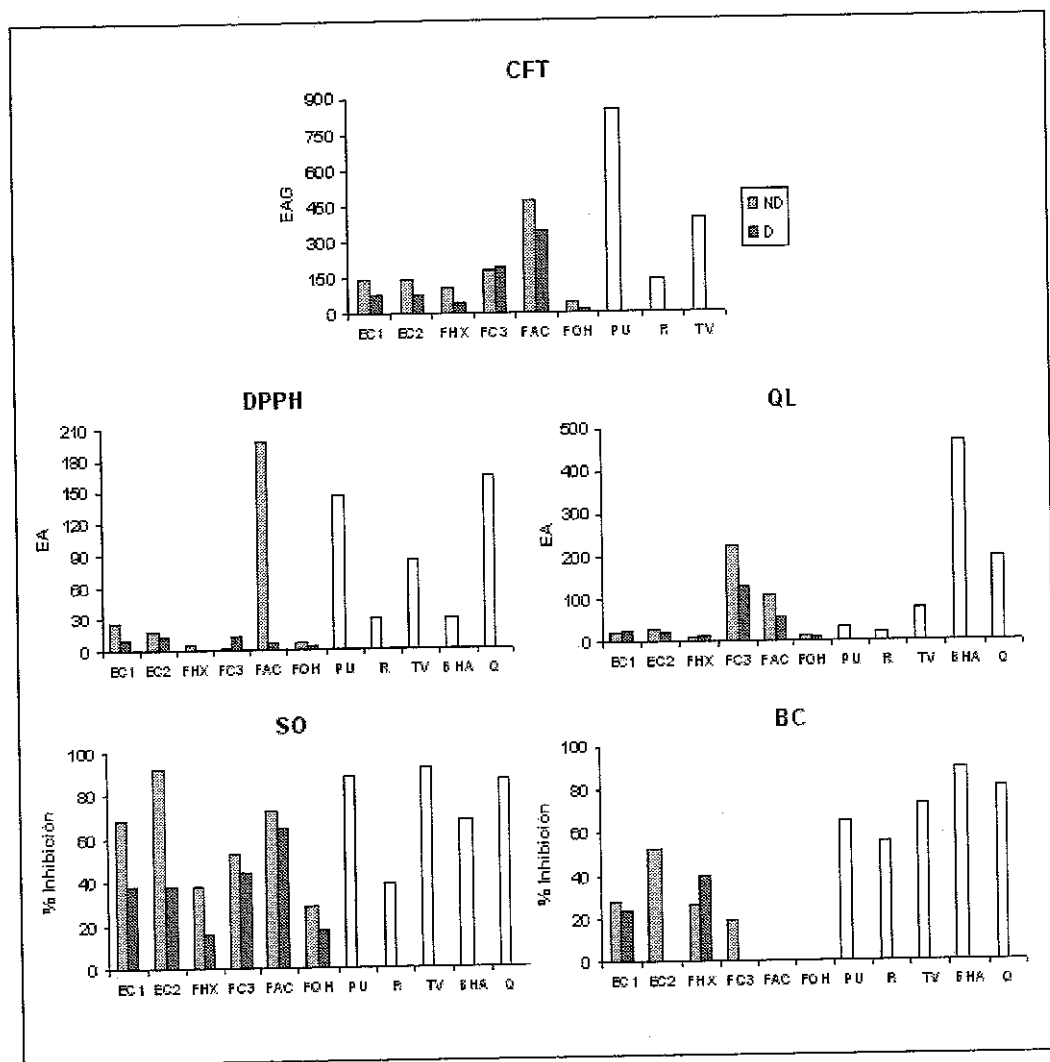


Figura 9

Actividad antioxidante (BC) y captadora de radicales libres (DPPH) hidroxilo (QL) y anión superóxido (SO), y contenido de fenoles totales (CFT) en material destilado (D) y sin destilar (SD) de Lavandín Super (*Lavandula angustifolia* x *L. latifolia*). Ver la sección de "Material y Métodos" para la identificación de los extractos fracciones y productos de referencia

**Meliloto (*Melilotus officinalis*)**

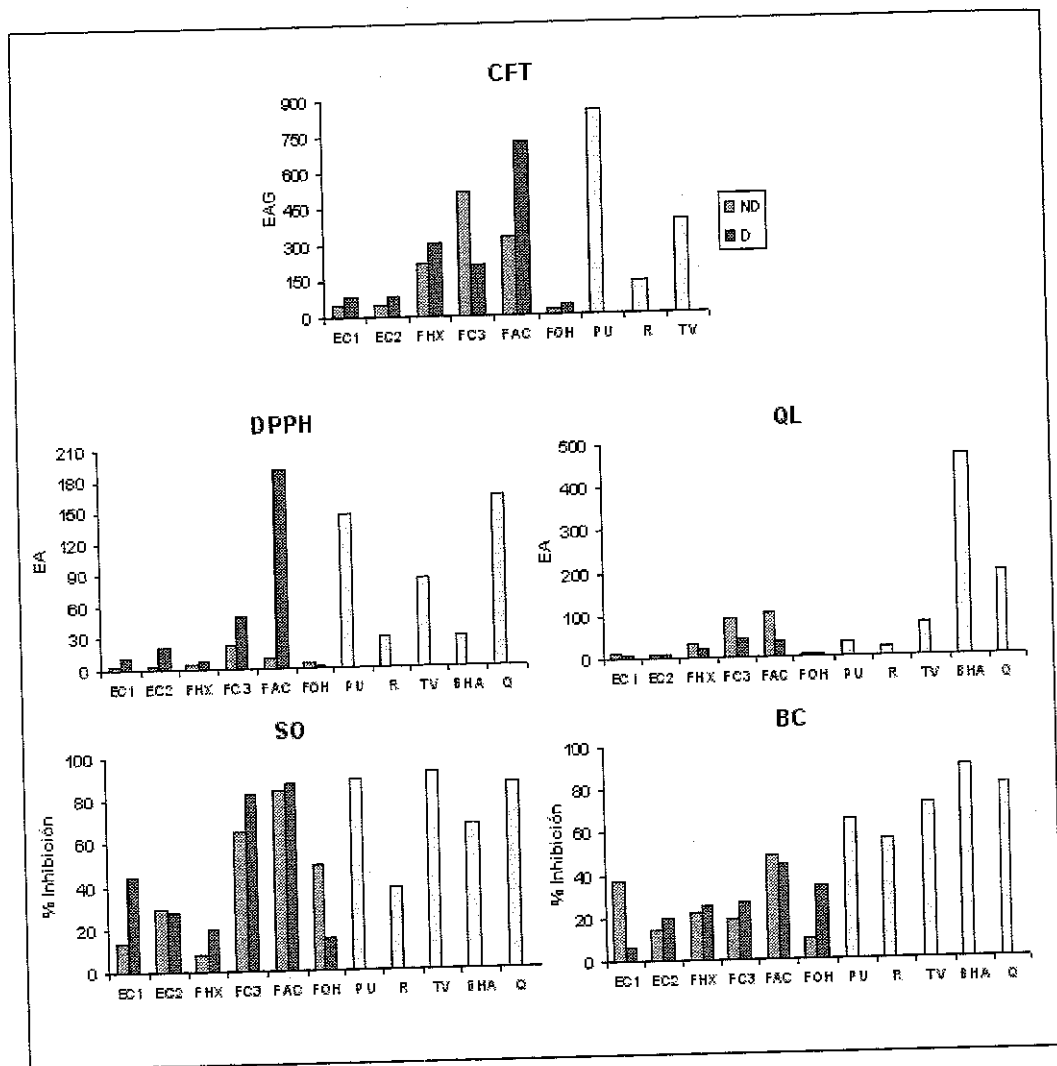


Figura 10  
 Actividad antioxidante (BC) y captadora de radicales libres (DPPH) hidroxilo (QL) y anión superóxido (SO), y contenido de fenoles totales (CFT) en material destilado (D) y sin destilar (SD) de Meliloto (*Melilotus officinalis*). Ver la sección de 'Material y Métodos' para la identificación de los extractos, fracciones, y productos de referencia

**Milenrama (*Achillea millefolium*)**

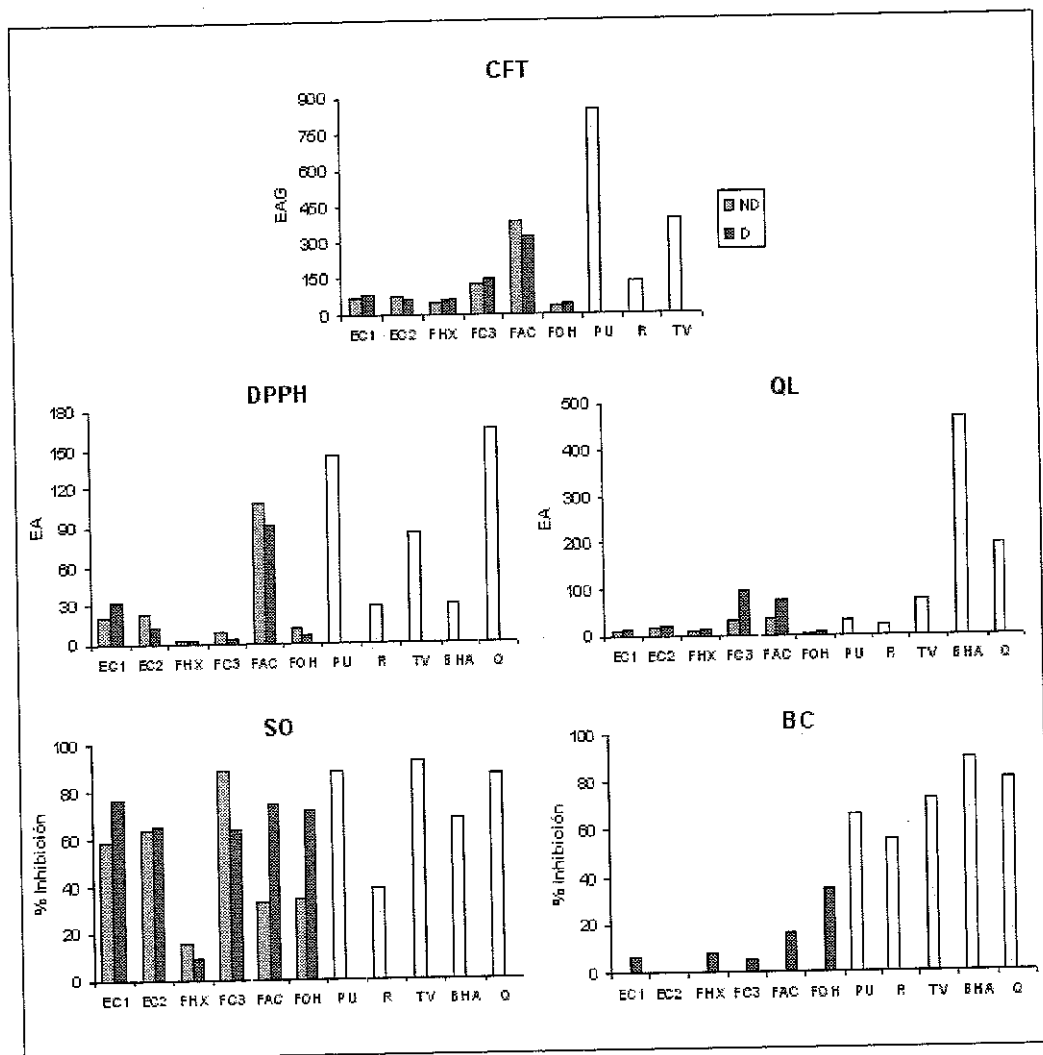


Figura 11  
 Actividad antioxidante (BC) y captadora de radicales libres (DPPH), hidroxilo (QL) y anión superóxido (SO), y contenido de fenoles totales (CFT) en material destilado (D) y sin destilar (SD) de Milenrama (*Achillea millefolium*) Ver la sección de "Material y Métodos" para la identificación de los extractos, fracciones y productos de referencia

Establecemos una inhibición del 40 % en la técnica del  $\beta$ -caroteno como el valor mínimo de actividad que debe tener una muestra para que la consideremos promisoría como potencial fuente de antioxidante; hacemos esto para tomar en cuenta que todas nuestras muestras son mezclas de una muy variada gama de compuestos, mientras que el BHA, que determina el 100 % de actividad, es un compuesto puro

Es interesante notar que todas las plantas estudiadas, arrojaron por lo menos una fracción o extracto con actividad mayor que 40 %, y que los valores de interés se encuentran siempre en el material destilado. Los mejores resultados los obtuvimos con el material destilado de Espliego, donde todas las fracciones dieron actividades superiores al 40 %. Y, lo más relevante, EC1, EC2, FHX y FAC dieron valores mayores que el 80 %, lo cual lo hace una fuente muy importante de compuestos de diferentes polaridades, muy activos frente al fenómeno de la rancidez oxidativa. Llama la atención que la fracción hexánica del Espliego haya dado una elevada actividad antioxidante (94,29 %), lo cual no ha sido un resultado frecuente en la ejecución del proyecto; pero que se repite en *Lippia boliviana* (86,6 %), *Piper ptilirameum* (79,6 %) y *Piper peltatum* (79,3 %). En el caso del Hinojo, a excepción de la fracción clorofórmica del material destilado, todas las otras dieron valores promisorios de la actividad antioxidante. La Milenrama es una buena fuente de antioxidantes fuertemente polares, pues su fracción acuosa resultó activa; mientras que tanto el Meliloto como el Estragón, ofrecen una actividad antioxidante interesante en las fracciones de acetato de etilo. El Estragón también presentó actividad antioxidante en la fracción acuosa

### **Comentarios generales sobre los resultados obtenidos**

Al someter los niveles de fenoles totales y la actividad captadora de radicales al análisis de regresión se observa que, independientemente del tipo de material (destilado y no destilado), los mayores coeficientes de correlación se observan entre el contenido de fenoles totales y la actividad captadora de radicales libres (DPPH). En general, el contenido total de fenoles muestra una correlación mejor con el material

destilado en el ensayo de quimioluminiscencia (radicales hidroxilo), y con el material sin destilar en el ensayo del DPPH.

También en términos generales, aunque con algunas excepciones puntuales, las fracciones de acetato de etilo muestran la mayor actividad captadora de radicales libres y mayores valores de fenoles totales, mientras que las fracciones clorofórmicas presentan la mejor actividad captadora de radicales hidroxilo, así como niveles de fenoles totales bastante apreciables

No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre el contenido de fenoles totales del material destilado y el del mismo material sin destilar. Tampoco conseguimos diferencias significativas entre las actividades antioxidante y captadora de radicales (esta última determinada por los tres métodos empleados) del material destilado y del material sin destilar. Por último, el material destilado ofrece una mejor correlación entre el contenido de fenoles totales y la actividad captadora de radicales (en el ensayo del DPPH y del anión superóxido) que el material sin destilar; sin embargo, esta correlación es mejor en el caso del material sin destilar en el caso de la actividad captadora de radicales hidroxilo, que se correlaciona mejor con el contenido de fenoles totales

### **Comparación con antioxidantes de referencia**

La quercetina muestra la mayor actividad captadora de radicales libres, seguida del extracto de pepitas de uva, mientras que el BHA presenta la mayor actividad antioxidante y actividad captadora de radicales hidroxilo. Los extractos de té verde y de pepitas de uva, así como la quercetina, muestran una actividad captadora del anión superóxido bastante similar, superior a la del BHA y del extracto de romero

Algunas de las fracciones clorofórmicas y de acetato de etilo, e incluso algunos extractos crudos, muestran una actividad antioxidante y captadora de radicales bastante elevada, la cual es similar, y en algunos casos incluso superior, a la de los extractos y sustancias de referencia. Así, las fracciones de acetato de etilo del Lavandín Super sin destilar y del Meliloto destilado muestran una actividad captadora

de radicales libres mayor que la quercetina (el mejor producto de referencia) y que el extracto de pepitas de uva.

Ningún extracto o fracción ha mostrado una actividad captadora de radicales hidroxilo mayor que la del BHA. Sin embargo, esta actividad es mayor que la de la quercetina y los tres extractos de referencia en el caso de las fracciones clorofórmicas del Lavandín Super sin destilar y del Hinojo destilado.

### Conclusiones

El ciclo productivo y los rendimientos netos por hectárea y año estimados en el ensayo de ALACÓN determinan que el Lavandín super, al ser una planta seleccionada, se adaptó mejor al cultivo que el Espiego, que aun siendo una de las especies predominantes de la flora autóctona de la zona, se comportó peor debido a que es necesario seleccionarlo y seguir adoptándolo al cultivo

El material vegetal de Estragón, Hinojo amargo, Meliloto y Milenrama, con el que se obtuvieron las plántulas para realizar la plantación del ensayo de CETINA, procedía de material comercial seleccionado. La producción obtenida para cada una de las especies ensayadas en el año 2000, se puede considerar buena en comparación con cultivos tradicionales, como los de cereal y maíz

En la **Tabla 7** se ordenan priorizadas las tres plantas, separadamente por material destilado y sin destilar, que han mostrado los mejores resultados en cada uno de los ensayos efectuados. De la observación de dicha tabla puede concluirse que resulta bastante difícil decidir cuál de las seis especies estudiadas en este trabajo puede considerarse la mejor fuente potencial de antioxidantes, puesto que cada una de ellas presente diferentes propiedades antioxidantes y/o captadora de radicales

**Tabla 7.** Ordenación priorizada de las especies estudiadas en función del contenido de fenoles totales, y de la actividad antioxidante y captadora de radicales, y separadamente por material destilado y sin destilar.

Material vegetal	Fenoles totales	Radicales libres	Radicales hidroxilo	Anión superóxido	Actividad antioxidante
<b>No destilado</b>					
1	Lavandín super	Lavandín super	Lavandín super	Estragón	Lavandín super
2	Hinojo	Milenrama	Meliloto	Lavandín super	Meliloto
3	Milenrama	Estragón	Espliego	Milenrama	Hinojo
<b>Destilado</b>					
1	Meliloto	Meliloto	Hinojo	Estragón	Espliego
2	Estragón	Estragón	Lavandín super	Espliego	Estragón
3	Lavandín super	Milenrama	Milenrama	Hinojo	Hinojo

Así, respecto al material sin destilar, el Lavandín Super parece ser el mejor candidato, ya que muestra el mayor contenido de fenoles totales y mejor actividad antioxidante y captadora de radicales, con excepción del anión superóxido, que fue el segundo mejor resultado. Además, el Lavandín Super ha mostrado una capacidad captadora de radicales libres y del anión superóxido mayor que cualquiera de los compuestos y extractos de referencia, pero su actividad antioxidante no ha sido elevada, aunque similar a la del extracto de romero. Por último, el rendimiento obtenido en la extracción de este material ha sido bastante bueno, especialmente el de la fracción clorofórmica, que ha sido el mayor de entre todos los rendimientos de este tipo de fracciones de todas las plantas sin destilar.

La selección de la mejor especie de entre el material destilado resulta todavía más difícil. Así, el Meliloto ha mostrado los mejores resultados en cuanto a la capacidad captadora de radicales libres y al contenido de fenoles totales, valor este último que ha sido superior al de cualquier compuesto y extracto de referencia. Además, la fracción de acetato de etilo de esta planta ha proporcionado el mayor rendimiento de entre todas las plantas con respecto a este tipo de



fracciones. Por su parte, el Espliego ha mostrado la mayor actividad antioxidante, incluso con una inhibición del 92 % en el extracto crudo, mientras que el Estragón ha mostrado la mayor capacidad captadora del anión superóxido, con un 98 % de inhibición también en el extracto crudo, porcentajes ambos que son superiores a los exhibidos por cualquiera de los estándares utilizados. Finalmente, el Hinojo ha presentado buenos rendimientos, especialmente los dos extractos crudos ( $EC_1$  y  $EC_2$ ) tanto en el material destilado como sin destilar, y ha mostrado una actividad antioxidante razonable

En general, el material destilado de estas seis especies mediterráneas ha mostrado contener unos niveles de compuestos fenólicos mayores que los del material sin destilar. Estas sustancias fenólicas se concentran principalmente en las fracciones de acetato de etilo y clorofórmicas, las cuales son las que también han mostrado la mayor actividad antioxidante y captadora de radicales. Algunos de los extractos o fracciones estudiadas han mostrado una actividad incluso superior a la de compuestos o extractos de reconocido valor antioxidante. Estos resultados refuerzan la posibilidad de que estas plantas, las cuales se utilizan comúnmente en la dieta mediterránea como condimentos o decocciones, puedan contribuir positivamente en la protección de la salud humana. Alguno de los residuos resultantes de la destilación de estas plantas para sus aceites esenciales puede constituir una fuente fácilmente accesible de nuevos compuestos antioxidantes, especialmente en el caso del Espliego y del Estragón, ya que sus extractos crudos han mostrado una elevada actividad antioxidante y captadora del anión superóxido, respectivamente, no siendo necesario llevar a cabo ningún proceso posterior de fraccionamiento.

### **Agradecimientos**

Este trabajo ha sido financiado por el Gobierno de Aragón a través de las Ayudas a la Experimentación, del Departamento de Agricultura, por el Decanato de Investigaciones y Desarrollo de la Universidad Simón Bolívar, Venezuela, y por la Generalitat de Catalunya (referencia 2001SGR · 00124), y se ha realizado en el marco del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED,

proyecto IV.11) Los autores están agradecidos a los Sres. Ferran Sánchez y Luca Lavelli por su asistencia técnica, y a los Sres. Antonio Mañes (EUROMED, España) y Bernd Weinreich (RAPS, Alemania) por el suministro de extractos de pepitas de uva, y de romero y té verde, respectivamente.

## Bibliografía

- Burillo J and García-Vallejo MC (2003):** *Investigación y Experimentación de Plantas Aromáticas y Medicinales en Aragón Cultivo Transformación y Analítica* Gobierno de Aragón. Dpto. de Agricultura Dirección General de Tecnología Agraria Zaragoza. España.
- Burits M, Asres K and Bucar F (2001):** *The antioxidant activity of the essential oils of Artemisia afra, Artemisia abyssinica and Juniperus procera.* *Phytother Res* 15 103-108
- Capasso R, Evidente A, Avolio S and Solla F (1999):** *A highly convenient synthesis of hydroxytyrosol and its recovery from agricultural waste-waters* *J Agric Food Chem* 47 1745-1748
- Desotillo DR, Hadley M and Wolfhall C (1998):** *Potato peel extract a nonmutagenic antioxidant with potential antimicrobial activity.* *J Food Sci* 63. 907-910
- Guillén MD and Burillo J (1996)** *Characterisation of the essential oils of some cultivated aromatic plants of industrial interest* *J Sci Food Agric* 70. 359-363
- Haraguchi H, Saito I, Ishikawa H, Date H, Kataoka S, Tamura Y (1996):** *Antiperoxidative components in Thymus vulgaris.* *Planta Med* 62. 217-221
- Hidalgo PJ, Uebera JL, Iena MI, Valcárcel M (1998):** *Determination of the carnosic acid content in wild and cultivated Rosmarinus officinalis* *J Agric Food Chem* 46 2624-2627
- Kähkönen MP, Hopia A, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala IS and Heinonen M (1999):** *Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds* *J Agric Food Chem* 47 3954-3962
- Lagouri V, Boskou D. (1996)** *Nutrient antioxidants in oregano* *Int J Food Sci* 47 439-497
- Lesagemeessen I, Navarro D, Maunier S, Sigoillot JC, Lorquin J, Delattre M, Simon JL, Asther M and Labat M. (2001)** *Simple phenolic content in olive oil residues as a function extraction systems* *Food Chem* 75. 501-507
- Lis-Balchin M and Hart S (1999):** *Studies on the mode action of essential oil Lavender (Lavandula angustifolia P. Miller)* *Phytother Res* 13 540-542
- Lugasi A, Dworschák E and Kéry A (1998):** *Antioxidant and free radical scavenging properties of squeezed juice from black radish (Raphanus sativa L. var. niger) root* *Phytother Res* 12. 502-506.

- Marinova EM and Yanishlieva NV (1997):** *Antioxidative activity of extracts from selected species of the family lamiaceae in sunflower oil* Food Chem 58. 245-248
- Mensor LL, Menezes FS, Leitão GG, Reis AS, Dos santos TC, Coube CS and Leitão SG. (2001)** *Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH* Free Rad Meth Phytother Res 15 127-130
- Muñoz F (1987)** *Plantas Medicinales y Aromáticas. Estudio. Cultivo y Procesado* Mundi Prensa Madrid
- Parejo I, Viladomat F, Bastida J, Rosas-Romero AJ, Flerlage N, Burillo J and Codina C (2002):** *Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and non-distilled Mediterranean herbs and aromatic plants* J Agric Food Chem 50. 6882-6890
- Singh RP, Murthy KNC, Jayaprakasha GK (2002):** *Studies on the antioxidant activity of pomegranate (Punica granatum) peel and seed extracts using in vitro models* J Agric Food Chem 50, 81-86
- Torres JL and Bobet R (2001):** *New flavanol derivatives from grapes (Vitis vinifera) by products antioxidant aminoethylthio-flavan-3-ol conjugates from a polymeric waste fraction used as source of flavanols* J Agric Food Chem 49 4627-4634
- Velioglu YS, Mazza G, Gao I and Oomah BD (1998):** *Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products* J Agric Food Chem 46 4113-4117
- Visioli F, Romani A, Mulinacci N, Zarini S, Conte D, Vincieri FF and Galli C (1999):** *Antioxidant and other biological-activities of oil mill waste-waters* J Agric Food Chem 47 3397-3401
- Wang M, Shao Y, Li J, Zhu N, Rangarajan M, La Voie EJ and Ho C (1999):** *Antioxidative phenolic glycosides from sage (Salvia officinalis)* J Nat Prod 62 454-456