

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA
SALUD**

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

**TÍTULO DEL PROYECTO ESPECÍFICO: DISEÑO Y DESARROLLO
DE UN PRODUCTO DERMOFARMACÉUTICO (CREMA) CON
POSIBLE ACTIVIDAD ANTISÉPTICA Y CICATRIZANTE.**

**PROYECTO GENÉRICO: OBTENCIÓN DE MATERIAS PRIMAS,
PRINCIPIOS ACTIVOS, MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS
BIOLÓGICOS.**

NOMBRE: DÍAZ AMADOR AIDA ELIZABETH

MATRÍCULA: 98351489

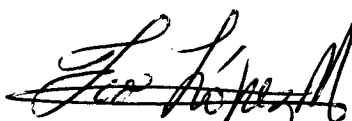
ASESOR: M. EN C. FRANCISCO LÓPEZ NARANJO

**LUGAR DE REALIZACIÓN: PLANTA PILOTO DE LA UAM-
XOCHIMILCO**

FECHA DE INICIO Y TERMINACIÓN: 26-01-2004 AL 26-07-2004.

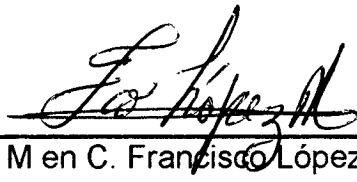
ENERO 2005

HOJA DEL Vo. Bo. DE LOS ASESORES



M en C. Francisco López Naranjo

HOJA DEL Vo. Bo. DE LOS ASESORES



A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Francisco López Naranjo', is written over a horizontal line.

M en C. Francisco López Naranjo

AGRADECIMIENTOS

A mis padres:

Quienes me han heredado el tesoro más valioso que puede dársele a una hija, AMOR.

Quienes sin escatimar esfuerzo alguno, han sacrificado gran parte de su vida para formarme y educarme.

Quienes la ilusión de su vida ha sido convertirme en persona de provecho. Y a quienes nunca podré pagar todos sus desvelos ni aun con las riquezas más grandes del mundo.

A mi profesor:

Quien me guío y apoyo en la elaboración de esta investigación, dedicándome parte de su tiempo.

A mis Amigos:

Quienes me brindaron su amistad incondicionalmente y me ayudaron a crecer como persona.

QFB. AIDA DÍAZ

ÍNDICE

♣ INTRODUCCIÓN	1
♣ MARCO TEÓRICO	
Descripción, usos e importancia del orégano	2
Clasificación etnobotánica	3
Clima ,suelo y recolección	4
Aplicaciones medicinales	5
Principios activos	6
Componentes químicos del orégano	7
Especies de orégano en México	8
Herbolaria	9
Medicina tradicional	11
Terapias alternativas	12
Aceites esenciales	14
Clasificación	15
Empleo de los aceites esenciales	17
Toxicidad de los aceites esenciales	18
Métodos de análisis	20
Extracción y aislamiento de monoterpenos	21
Extracción y aislamiento de fenilpropanos	23
Microbiología	
<i>Estafilococos</i>	26
<i>Candida albicans</i>	27
<i>Escherichia coli</i>	28
<i>Streptococos</i>	29
<i>Klebsiella</i>	29
La piel	30
Histología	30
Infecciones bacterianas de la piel	31
Enfermedades infecciosas de la piel	32
Propiedades físico-químicas del carvacrol	33
Propiedades físico-químicas del timol	34

♣ OBJETIVOS	36
♣ DESARROLLO EXPERIMENTAL	
Material y reactivos	37
Análisis bromatológico	40
Destilación por arrastre de vapor	41
Extracción	41
Densidad relativa	42
Rotación óptica	43
Espectrofotometría UV-Vis	44
Análisis microbiológico	44
Análisis preclínico	45
♣ RESULTADOS	46
♣ DISCUSIÓN DE RESULTADOS	92
♣ CONCLUSIONES	95
♣ GLOSARIO	96
♣ BIBLIOGRAFÍA	98

INTRODUCCIÓN

El presente proyecto de servicio social se realiza con el propósito de ampliar el conocimiento sistemático acerca de las propiedades medicinales del orégano (*Origanum vulgare*); que es una planta tónica y digestiva, que ha sido muy utilizada para el tratamiento del dolor, reumas, cicatrización y antiséptico en la medicina tradicional; así como en el tratamiento alternativo de la tos, el asma o afecciones respiratorias; es emenagogo, desinfectante, béquica, expectorante y carminativa.

El aspecto naturista está retomando importancia por la frecuencia en su uso y existen libros especializados que incluyen la temática de manera científica tal y como aparece en la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos; en donde por cierto no está incluido el orégano.

Existen diferentes referencias sobre el uso ancestral de la herbolaria como se describe más adelante; de aquí nuestro interés en realizar el presente proyecto.

OBJETIVO GENERAL: Estudio, caracterización e incorporación de los bioactivos del orégano en la elaboración de una crema.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Estudio etnobotánico del orégano (*origanum vulgare*).
- Realizar un análisis bromatológico del orégano (*origanum vulgare*).
- Realizar la extracción general de los componentes del orégano.
- Identificación de los aceites esenciales del orégano.
- Desarrollo y monitoreo de un producto dermofarmacéutico que contenga los principios bioactivos del orégano

MARCO

TEÓRICO

DESCRIPCIÓN, USOS E IMPORTANCIA DEL ORÉGANO (*Origanum Vulgare*)

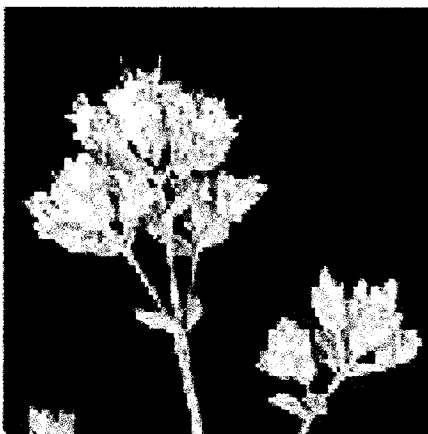


Figura 1. flores del orégano.

Es una planta aromática, utilizada para condimentar alimentos, originaria de Europa y de Asia occidental; crece de manera silvestre, sobre todo en las colinas y montañas, su nombre deriva del griego, significa "Esplendor de la Montaña". Es poseedora de ciertas cualidades medicinales, que son aplicadas contra diversos padecimientos, tales como: tos, asma o afecciones respiratorias, reumas.

Toda la planta desprende un agradable y particular aroma. Su sabor, por el contrario, es amargo. En las zonas más cálidas el aroma es de mayor intensidad, el sabor más picante y el perfume más persistente.¹

Se cultiva ampliamente y tiene una gran demanda en el sector farmacéutico, cosmético, industria alimenticia, de conservas y semilleros así como en la industria licorera. Desde el punto de vista culinario se usa como aromatizante y saborizante de ciertos platillos. También a nivel herbolario se consume ampliamente, por sus propiedades tónicas, digestivas, estomacales y antiasmáticas.²

Es una planta que vive más de dos años, de tallo recto, que alcanza entre 30 y 80 centímetros y no es redondo sino, curiosamente cuadrado, ramificado en la parte más alta, totalmente cubierto de pelusilla blanca. Posee un rizoma rastrero.

Las hojas brotan de dos en dos en cada nudo, enfrentadas, son enteras ovaladas acabadas en punta, también se recubren de pelusilla por ambas caras y su longitud es de hasta 4 centímetros. Poseen pecíolo y aparecen cubiertas también de glándulas.

¹ Encyclopedia of Common Natural Ingredients. Used in Food, drugs, and cosmetics.

² Guía de las Plantas Medicinales.

Las flores se disponen en verticilastros que forman espiguillas de hasta 3 centímetros; las flores son muy pequeñas (los pétalos no sobrepasan los 2 ó 3 milímetros de longitud), de color violeta rosado, rezuman unas gotitas de un líquido amarillento aromático.

Están protegidas por bractéolas de hasta 5 milímetros, de contorno oval y color verdoso o purpúreo. Los cálices se presentan amarillentos y las corolas son bilabiadas de color blanco, rojizo o purpúreo.³

Al género *Origanum* L. pertenecen otras especies: resultan interesantes; en particular la *O. onites* y la *O. mejorana*. Florece en verano, de julio a octubre, y su fruto es un tetraquenio con cada parte ovoidea y lisa, es seco y globoso.⁴

El *O. virens*: es una especie parecida, pero sus brácteas son el doble de largas que el cáliz y membranosas, casi ovales o redondeadas, glandular-punteadas y de color verde pálido; la corola es siempre blanca. Florece de junio a julio.⁵

El *O. vulgare*: es un arbusto de 30 cm, de hojas opuestas, ovales o anchamente ovadas, aromáticas, flores azulosas o algo rosadas. Se extiende desde Inglaterra y Escandinava a través de Europa, hasta Asia y Taiwán.⁶

CLASIFICACIÓN ETNOBOTANICA⁷

División: Angiospermae

Clase: Dicotyledoneae

Subclase: Sympetalae

Orden: Tubuliflorae

Suborden: Verbenineae

Familia: Labiatae – Lamiaceae

Subfamilia: Stachyoideae

Tribu: Satureieae

Género: *Origanum*

Especie: *Vulgare*

Hábitat: En herbazales secos y al lado de los bosques

Varietades: *hirtum*, *gracile*, etc.

Nombre científico: *Origanum vulgare*

Nombre vulgar: Orégano

³ Sánchez Oscar “Flora del Valle de México”.

⁴ Fernández “Guías Prácticas, Plantas Medicinales”

⁵ Harrison “Guía de las Plantas Comestibles”

⁶ <http://www.uco.es/organiza/servicios/jardin/etnobot.htm>

⁷ Evans. “Farmacognosia”

CLIMA Y SUELO

El cultivo del orégano tiene éxito en todos los tipos de terreno ricos en materia orgánica, sueltos, silíceos arcillosos, francos, humíferos, calcáreos, arcilloso-arenosos e incluso en lugares áridos. Los mejores resultados, tanto cualitativos como cuantitativos, en el contenido de los bioactivos se obtienen en las zonas cálidas del sur.

Los mayores rendimientos en aceite esencial, tanto cuantitativamente como cualitativamente, se obtienen en zonas bien soleadas y cuya altitud no sea excesiva (ecosistemas típicos de la cuenca Mediterránea).

Crece de manera silvestre en todo el continente euroasiático, siempre y cuando el clima sea entre templado y subtropical y no demasiado seco. Es fácil encontrarlo en laderas pedregosas y terraplenes, zanjas húmedas y bordes de caminos, matorrales y bosques. Resiste bien las heladas, sobre todo el orégano rojo (la spp. *vulgare*) es mucho más resistente que el *O. mejorana*.

El O. rojo vive en las montañas cuya altitud llega hasta los 3.000 metros sobre el nivel del mar (e incluso se desarrolla en las zonas bajas del Himalaya), y de 100 a 2000 metros el O. verde.⁸

RECOLECCIÓN

Del orégano, se cosechan las hojas y las flores, por lo que se recolectan las sumidades floridas, esto es, los extremos de las ramas que contienen flores y hojas. La época ideal para la recolección es en plena floración (en general, durante el verano), no antes. Se debe esperar a que algunas flores estén marchitas ya que cuando empiezan a florecer las primeras, la producción de esencia por las flores se incrementa una vez que estas ya se han desarrollado totalmente.

La siega, se efectúa de forma mecánica mediante guadañadora o guadañadora – atadora, el primer año de vegetación solamente es posible una recolección; a partir del segundo año pueden hacerse dos recolecciones anuales, en Julio y en Octubre. Se recolectarán en el momento de la floración, antes de que abran todas las flores. El rendimiento, expresado en producto verde, oscila entre los 3 tm/ha de planta fresca en el año de plantación, y de 15 tm/ha e incluso más, a partir del segundo año, para alcanzar luego valores más bajos al acercarse el octavo y el noveno año de recolección.

⁸ Font Quer “diccionario de botánica”

En el secado del producto se asiste a un descenso del verde al seco de 4:1 (se reduce un 75%). La cantidad de hojas solas obtenidas de 100 Kg de planta fresca es aproximadamente de 15 Kg. El producto puede destinarse también a la extracción de la esencia. Los rendimientos son muy variables según la zona de cultivo. El contenido de aceite esencial oscilan alrededor de 2 Kg por tonelada métrica, es decir un rendimiento medio por ha de 30 Kg de aceite esencial. Las hojas deben desecarse a la sombra, pues el sol destruiría el aceite esencial; luego han de guardarse en recipientes cerrados herméticamente, en lugares frescos y secos. El secado no es tan delicado como el de la mejorana pero debe efectuarse con la mayor rapidez posible y a una temperatura de 30° C y a la sombra.⁹

APLICACIONES MEDICINALES

En general, es una planta tónica y digestiva¹⁰, que funciona contra el dolor existe una solución eficaz, sobre todo para dolores de espalda y del cuello (tortícolis). Consiste en aplicar un manojo de sumidades floridas frescas (recién recolectadas) y calentadas ligeramente. Se envuelve con un paño caliente, y se mantiene por largo rato (repetir tantas veces como sea necesario). Como digestiva, se toma en infusión (de hojas y flores secas) una taza después de las comidas. Para la tos, el asma o afecciones respiratorias, es preferible en decocción: se hierve durante un cuarto de hora un litro de agua con 50 gramos de flores y hojas, y se toman tres tacitas al día, calientes.

Es emenagogo, desinfectante, béquica, expectorante y carminativa. La infusión (20-30 gr/L, dejándola reposar 10 minutos), tomando 2-3 tazas al día, se usa para aliviar la tos y el asma. En menstruaciones dolorosas se emplea como calmante y regulador.

Sirve como: antiséptico en las vías respiratorias. Los dolores y reumas se alivian con friegas con aceite de orégano y cataplasmas de la planta. En uso tópico en forma de infusión es cicatrizante de heridas, llagas, etc.¹¹

En farmacia se usa para preparar linimentos antirreumáticos, pomadas para la dermatitis y como desinfectante y cicatrizante. También se utiliza en perfumería y cosmética.¹²

⁹ <http://www.usek.es/facultades/biologia/etnobot/default.htm>

¹⁰ Dr. P. Font Quer. "Plantas Medicinales"

¹¹ Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana II

¹² Fernández, M; Nieto, A. "Plantas Medicinales"

PRINCIPIOS ACTIVOS

Los principios activos del orégano se encuentran en la esencia, ese líquido amarillo que se puede observar, con buena vista, en el interior de las flores y que también se localiza en las hojas. Se compone principalmente de aceites esenciales, resina y algún tanino; este último también abunda en los tallos (de ahí su sabor amargo).

La planta contiene ácidos fenólicos, caféico, clorogénico, rosmarínico; flavonoides: derivados del apigenol, del luteolol, del diosmetol; ácido ursólico; sustancias tánicas y algunos elementos minerales.

El aceite esencial, de composición variable según las subespecies y según la zona donde se cultive (3,24), está constituido fundamentalmente por carvacrol y timol, fenoles que pueden alcanzar hasta el 90% del total; contiene también pinemo, sesquiterpenos, cimeno, etc.

En la actualidad existe una gran demanda de los compuestos minerales y esenciales del orégano debido a sus conocidas propiedades antioxidantes, asociadas al carvacrol y el timol, fungicidas y bactericidas además de citotóxicas. Se ha demostrado su gran nivel de citotoxicidad para células animales incluyendo dos tipos de células derivadas de cánceres humanos, lo cual aumenta si cabe la importancia de sus cualidades en la investigación sobre enfermedades humanas.

Los aceites esenciales del orégano, extraídos mediante hidrodestilación, han demostrado también su toxicidad por inhalación sobre *Acanthoscelides obtectus* Say, *Bruchidae*, *Coleopterae*, una plaga de *Phaseolus vulgaris* L. Estos ensayos abren una puerta a la posible utilización de estos aceites esenciales en formulaciones para el control de esta plaga.¹³

¹³ Bonnier, Gastón “plantas medicinales melíferas, útiles y perjudiciales”

**COMPONENTES QUÍMICOS DEL ORÉGANO QUE DETERMINAN SU CALIDAD
COMERCIAL. ANÁLISIS COMPARATIVO CON DOS ESPECIES
EXTRANJERAS¹⁴**

componentes	ORÉGANO MEXICANO <i>Lippia graveolens</i>	ORÉGANO GRIEGO <i>Origanum vulgare</i> , subsp. <i>Hirtum</i>	ORÉGANO TURCO <i>Origanum vulgare</i> Subsp. <i>Gracite</i>
Aceite esencial	2.0%	1.5%	1.5%
Timol	10.4%	23.9%	15.1%
Carvacrol	43.7%	12.2%	9.9%
p-cimeno	6.4%	15.9%	8.1%

Tabla 1. se puede observar la distribución porcentual de los componentes químicos del orégano mexicano, comparándolo con dos especies extranjeras.

¹⁴ <http://www.elhorticultor.com.ar/etnobotanica1.html>

PRINCIPALES ESPECIES CONOCIDAS EN MÉXICO COMO ORÉGANO¹⁵

Nombre científico	Familia	Nombres comunes y distribución geográfica
<i>Brickellia veronicaefolia</i> H.B.K.	Asteraceae (Compositae)	Orégano de cerro (Chih), orégano de campo (Méx., orégano de monte (Pue.))
<i>Calamiutha potosina</i> Schaff.	Labiatae	Orégano de Sierra (S.L.P.),
<i>Dalea greggi</i> Gray	Fabaceae (Leguminosae)	Orégano cimarrón (Chih., Oax., Pue., S.L.P., Son.)
<i>Gardoquia micromerioides</i> Hemsl. (Schaffner)	Labiatae	Orégano (S.L.P.)
<i>Hedeoma floribunda</i> Standl.	Labiatae	Orégano (Chih., S.L.P., Son.)
<i>Hedeoma patens</i> Jones	Labiatae	Orégano salvia real (Ags., Chis., Gro., Gto., Jal., Pue., Sin., Son.)
<i>Lantana involucrata</i> L.	Verbenaceae	Orégano, peonía, colorada, tarete (Mich., Sin., Tamps.)
<i>Lantana velutina</i> Mart.	Verbenaceae	Orégano (Gto., S.L.P., Tamps.)
<i>Lippia berlandieri</i> Schauer	Verbenaceae	Orégano de Castilla, salvia (Coah., Dgo., Jal., Qro., Sin., Zac.)
<i>Lippia graveolens</i> H.B.K.	Verbenaceae	Orégano (Camp., Yuc.)
<i>Lippia palmeri</i> Watson	Verbenaceae	Orégano (B.C., Chih., Sin., Son.)
<i>Monarda austromontana</i> Epl.	Labiatae	Orégano (Chih., Son.)
<i>Monarda citriodora</i> Cerv.,	Labiatae	Orégano (Chih., N.L., Son.)
<i>Origanum mejorana</i> L.	Labiatae	Orégano europeo (zonas templadas de México, huertos familiares)
<i>Origanum vulgare</i> L.	Labiatae	Orégano europeo (zonas templadas de México, parcelas y huertos familiares)
<i>Paliomintha longiflora</i> Gray	Labiatae	Orégano (Coah., N.L.)

Tabla 2. especies de orégano que se encuentran en México.

¹⁵ <http://www.fitoterapia.net/biblioteca/etno/etno.htm>

HERBOLARIA

DEFINICIÓN

La Herbolaria es la ciencia que estudia las propiedades y poderes curativos de la gran diversidad de plantas y hierbas que nos provee la madre naturaleza. Tiene sus orígenes en el origen mismo del ser humano y en su necesidad de curar sus dolores, padecimientos y enfermedades.¹⁶

HISTORIA

El hombre primitivo inició la práctica de la farmacia por que conoció y padeció enfermedades y dolor. Con la búsqueda de remedios para aliviar sus males y dolencias descubrió el origen de los árboles, tallos, raíces, semillas, flores, frutos y hojas, a esta última le dedico gran tiempo para la investigación inicial, fue incesante, al grado de considerarse como uno de los rasgos que distinguen al hombre de los demás animales: la necesidad de buscar y preparar sus propios remedios y medicamentos.¹⁷

Pretendió con invocaciones y ritos alejar a ese espíritu causante de la enfermedad y el dolor. Lo mágico de esto último fue reforzado por la costumbre de usar plantas y otros objetos para romper y expulsar a los espíritus. Con ello los conceptos mágicos y empíricos tuvieron una función determinante para encontrar y aplicar remedios.

Este método fue sin duda el inicial: ensayo, error y acierto, el mismo que consolidaría a la farmacia.

Todos los pueblos primitivos usaron remedios en el tratamiento de sus enfermos y dolencias. Dos teorías lo explican: la primera nos dice que su uso no tuvo origen en experiencias casuales o conscientes, sino en la necesidad de incrementar el efecto mágico de los hechizos y encantamientos; la segunda explicación, el hombre, en un acto instintivo e involuntario busca aquellas sustancias benéficas para el cuerpo, esté sano o dañado. Cualquiera que fuera la causa, el uso terapéutico de remedios se convirtió en una acción consciente pero no reflexiva.

La sociedad empezaba a diferenciarse y podía distinguirse a los magos, sacerdotes, y hechiceros en estratos sociales. Al encontrar a estos grupos dentro de una sociedad, es inevitable atribuirles funciones de curandería, que en todas las sociedades primitivas estuvieron asociadas y mezcladas con la jefatura del grupo y dirección religiosa.¹⁸

¹⁶ Wren R. "enciclopedia de medicina herbolaria y preparados botánicos"

¹⁷ Islas V. "Breve historia de la farmacia en México y en el mundo"

¹⁸ Revista Mexicana de ciencias farmacéuticas. 1994

El hombre aprendió rápido que la unión era la fuerza, y antes de darse cuenta ya dominaba sobre las demás especies del planeta, aunque no sobre la enfermedad, a la cual consideraba castigo divino y, por lo tanto, la marca del pecado. Pero a pesar de su confusión, el hombre notó que había condiciones ajenas a lo natural y que sucedían de todas maneras; identificó la vejez, la fatiga, los accidentes y las enfermedades y se dio cuenta de que podía enfrentarlos sin ayuda de los dioses: con plantas, minerales y productos obtenidos de los animales para crear la medicina. Apoyado en su mente daba el paso hacia el pensamiento médico-científico que se prometía como el gran escalón desde el cual daría el gran salto hacia el crecimiento de su especie.¹⁹

Mago, hechicero, médico y farmacéutico se fundían en una sola persona, ya que en la práctica el arte de aliviar los sufrimientos del paciente se asociaba con la preparación de sustancias, aunado a los rituales mágicos y al tratamiento empírico.

Los grandes hechiceros utilizan este proceso como pócimas de embrujo para atrapar a sus víctimas, gozando de amplia experiencia, ya que sus conocimientos son generados por la transmisión de ritos especiales de padres a hijos y de generación en generación.

Con la aparición de la llamada medicina occidental o moderna, poco a poco se abandonan los métodos tradicionales de curación. Se impone el enfoque del cuerpo humano como una suma de partes (órganos) y no como un todo, cuerpo en el cual cada célula está ligada a un tejido, éste a un órgano y éste a un sistema, que a su vez se interrelaciona con los otros sistemas para lograr el equilibrio.

A partir de este momento las prácticas médicas de los indígenas se ven desvirtuadas y, en muchos de los casos perseguidas, por no entrar su cosmovisión con la concepción occidental. Este conocimiento médico ha persistido hasta nuestros días porque la medicina occidental no está al alcance de todos. Como siempre, los estratos más desprotegidos han tenido que recurrir al sanador tradicional para atenderse, y a las plantas para curar sus enfermedades. En muchas ocasiones con gran acierto; se debe tener mucho cuidado con los charlatanes.

Actualmente gran parte de nosotros hemos recibido una transmisión precisa por parte de nuestros abuelos, para poder emplear las plantas, tributo de la naturaleza, en cualquier librería existen estantes de libros relacionados a la herbolaria su fin y su proceso.²⁰

¹⁹ Médico Moderno. 2003.

²⁰ Islas V. "Breve historia de la farmacia en México y en el mundo"

La historia demuestra que cuando ocurre un fenómeno de fusión entre dos culturas diferentes, una de ellas absorbe a la otra y le impone sus condiciones y costumbres. En México, a la llegada de los españoles impusieron a los pueblos americanos su idioma, su religión, sus instituciones políticas, su organización socioeconómica sus aspectos culturales, su arte e incluso la manera de vestir. Pero los curanderos locales tenían una bien ganada fama de sabios, al grado de que Hernán Cortés, en una de sus cartas que envía al rey de España, le dice: "no mande médicos, porque aquí hay muy buenos, y nuestros médicos no sirven."

La farmacia mexicana fue sustituida por los conocimientos traídos de Europa, con el argumento de que eran brujos, es decir "hacen pacto con el demonio, que no está con Dios" lo que hacía énfasis en las connotaciones mágico-religiosas arraigadas en las creencias de la población politeísta.

Gracias a algunos documentos y códices conservados, y a la titánica labor de investigación, fue posible salvar parte del vasto saber mexicano sobre la medicina y farmacia.²¹

MEDICINA TRADICIONAL

DEFINICIÓN

La medicina tradicional concibe a la salud y al cuerpo humano como un todo relacionado con el todo, es decir, el entorno; en el cual, el equilibrio salud-enfermedad puede verse afectado por la época del año, la ingestión de alimentos fríos o calientes, la trasgresión de un precepto, el no exteriorizar una emoción, por mencionar sólo algunos.

El médico tradicional posee amplios conocimientos, tanto de los procesos fisiológicos del cuerpo como de la psique, pasando por las diferencias anatómicas y la influencia del medio ambiente.

Hoy día, algunos médicos preparados en el concepto occidental de salud, empiezan a interesarse en los conocimientos que les ofrecen los métodos tradicionales: acupuntura, herbolaria, masaje, y se han encontrado con que éstos, lejos de obstaculizar u oponerse a los tratamientos de la medicina moderna, coadyuvan a la resolución de muchas enfermedades, con el añadido de que los pacientes no reportan secuelas, como es el caso de la gastritis, por mencionar una.

Desde sus inicios tanto las comunidades primitivas, en diferentes culturas como los egipcios, griegos y romanos tuvieron en la herbolaria el vehículo idóneo para cuidar su salud y tener una mejor calidad de vida, herencia que después se vio enriquecida de manera clave por la contribución del Lejano Oriente y sobre todo por la vastísima tradición herbolaria del Nuevo Mundo.

²¹www.natura.com.mx/articulos/herbolariamile/herbomile/codicevadiano.html

El aprovechamiento de las propiedades curativas de las plantas es una práctica milenaria que nunca ha dejado de tener vigencia. Todavía en el Siglo XVIII el tratamiento médico habitual en Occidente se basaba en la prescripción de remedios herbales, y hoy en día, la Organización Mundial de la Salud estima que la herbolaria está tres o cuatro veces más difundida en el mundo que la medicina ortodoxa. Más aún, se considera que casi la mitad de los medicamentos modernos proceden del reino vegetal.²²

De todo el universo de hierbas y plantas que poseen propiedades curativas o medicinales, la herbolaria nos ofrece las siguientes presentaciones básicas:

- Hierbas y Plantas a Granel (para preparar Tés)
- Cajas con Sobres Instantáneos (para preparar Tés)
- Cápsulas y Tabletas
- Tinturas o Extractos Líquidos
- Jabones y Shampoo
- Aceites, Pomadas y Cremas²³

TERAPIAS ALTERNATIVAS

Se llama terapia "alternativa" o "complementaria" a los tratamientos que no "encajan" en la práctica estándar de medicina occidental. Estas pueden ser:

- Prácticas de curación tradicionales como la Ayurveda, acupuntura china y prácticas de los nativos indígenas americanos.
- Terapias físicas como la quiropráctica, masajes y yoga.
- Homeopatía.
- Hierbas o Flores.
- Trabajos de energía como la terapia de polaridad o Reiki.
- Técnicas de relajación como meditación y visualización.

Muchos médicos no están de acuerdo con las terapias alternativas. Creen que no se han hecho suficientes estudios sobre ellas y piensan que los pacientes responden mejor a las medicinas occidentales.

Otros prefieren combinar terapias alternativas junto con la medicina occidental. Creen que los tratamientos alternativos reducen el estrés, alivian efectos secundarios de antivirales o brindan otros beneficios.

Las terapias alternativas pueden producir efectos secundarios. Las expresiones "natural" o "no es un medicamento" no garantizan que estén libres de riesgos.

²² <http://www.salud.bioetica.org/terapialter.htm>

²³ <http://www.ramosmejia.org.ar/s/inf/recomend/desinf.htm>

La oficina de Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos (FDA por sus siglas en inglés) no aprueba suplementos ni vigila su contenido o seguridad.

La mayoría de los estudios son para una enfermedad o condición específica y son posibles cuando cada paciente obtiene exactamente el mismo tratamiento, lo cual puede no ser así en las terapias alternativas.²⁴

Algunos tratamientos alternativos tratan a la persona en su totalidad, no a una enfermedad. Pueden restaurar la armonía, el balance o el flujo normal de energía.

Los acupunturistas por ejemplo, utilizan el pulso para determinar si la energía de su cuerpo está balanceada. La acupuntura se basa en la energía individual de cada persona y no en su VIH, por ejemplo y puede resultar benéfico a pesar de que no están diseñados para combatir la enfermedad específica.²⁵

Tratamiento estándar: Muy pocos tratamientos alternativos están estandarizados. Las diferentes especies de hierbas pueden tener distintas cantidades de los ingredientes activos. La acupuntura, quiropráctica y otras terapias no son estándar, se ajustan a cada paciente. Hacer investigaciones de manera sistemática es muy difícil cuando los tratamientos no están estandarizados.

Tratamientos libres de riesgos: la FDA debe confirmar que un medicamento es seguro antes de averiguar si funciona. Incluso si un medicamento ha sido estudiado por años sin que se hayan descubierto problemas, la FDA requiere estudios científicos como toxicidad, bioequivalencia, para demostrar que no hay peligro en usarlos. Estudios que van de 5 a 10 años para poder demostrar su seguridad.

Costos del estudio: los estudios científicos son muy caros. Los creadores de tratamientos alternativos no pueden solventar estudios científicos. El gobierno prefiere cubrir los costos de estudios de medicamentos occidentales porque aparentan ser más efectivos. Las patentes permiten que los fabricantes obtengan grandes ganancias. Por otro lado, la mayoría de los tratamientos alternativos no pueden ser patentados.

A pesar de todo, algunas terapias alternativas han sido cuidadosamente estudiadas. Generalmente, este tipo de investigaciones se ha hecho fuera de los Estados Unidos y quizás la FDA no los considere confiables.²⁶

²⁴ <http://www.salud.bioetica.org/terapialter.htm>

²⁵ <http://www.ctv.es/USERS/seip/guada3.htm>

²⁶ www.fda.gov/default.htm

ACEITES ESENCIALES

Los Aceites Esenciales son compuestos naturales, generalmente son líquidos, volátiles y de agradable aroma extraídos de las plantas mediante procesos de destilación. Están estructurados por moléculas aromáticas y partículas energéticas con vibración, rotación y desplazamiento que le permiten llegar al sentido más olvidado.

Son sustancias muy ligeras y de textura muy fina, se fabrican a partir de una amplia variedad de flora, que va desde las plantas más modestas hasta las exóticas orquídeas, rosas y brotes de algunas frutas, como el aguacate y el plátano. También se extraen aceites esenciales de las hojas, las raíces y la corteza de árboles.

En general los aceites esenciales se obtienen a través del mecanismo de destilación en corriente de vapor o por expresión del material vegetal, mientras que en otras ocasiones, como sucede con las coníferas, oxidan ellas mismas sus esencias dando lugar a las llamadas resinas. A temperatura normal se caracterizan por ser incoloros o amarillentos (salvo el de la manzanilla que es azulado por la presencia de camazulenos), insolubles en agua pero solubles en disolventes orgánicos apolares o en alcohol de alta graduación, lipófilos y con un índice de refracción elevado.²⁷

La densidad de los aceites esenciales suele ser inferior a la del agua, salvo los de canela y clavo, con una densidad superior a la unidad. Los contenidos en aceite esencial no suelen superar el 1% en la mayoría de los casos. Una excepción la constituye el clavo de olor (botón floral de *Eugenia caryophyllus*) cuyo contenido puede superar al 15%.

Los órganos que los contienen pueden ser diferentes según del vegetal que se trate. Por ejemplo en la raíz y rizomas encontramos los de cúrcuma, vetiver y jengibre; en el fruto los del anís, hinojo y enebro; en la semilla la mostaza; en la corteza la canela; en el leño el alcanfor y sasafrás; en las sumidades floridas la menta, tomillo, lavanda y romero; en las flores la manzanilla, jazmín, rosas; en las hojas el eucalipto, menta, laurel y boldo.

En el vegetal cumplirían varias funciones:

- Atracción de agentes polinizadores (por su agradable aroma).
- Como elementos de defensa frente al ataque de parásitos, animales herbívoros e insectos.
- Adaptación del vegetal ante cuadros de escasez hídrica.
- Formando parte de las sustancias de reserva como dador de hidrogeniones en los procesos de óxido-reducción.²⁸

²⁷ http://www.geocities.com/aceites_esenciales/aceites.html

²⁸ Bruncton "Farmacognosia, Fitoquímica de las Plantas Medicinales"

Se localizan en los vegetales superiores, en especial en ciertas familias de Angiospermas: Apiáceas, Asteráceas, Coníferas, Labiadas, Magnoliáceas, Mirtáceas, Rutáceas, Umbelíferas. Muchas esencias destiladas posteriormente son enfriadas dando lugar a un precipitado sólido llamado alcanfor o estearopteno como ocurre con el timol (esencia del tomillo), mentol (esencia de la menta), etc. Una misma planta aromática puede ser utilizada de tres maneras distintas; en ese sentido la menta es empleada 1) como droga, a través del mecanismo de infusión (digestiva, antiespasmódica), 2) como esencia, a través de la inhalación (antinauseoso, antiemético) y como estearopteno en forma de geles antiinflamatorios.

Las características organolépticas de los aceites esenciales pueden estar dadas por los componentes mayoritarios, aunque en otros casos son las sustancias presentes en ínfima cantidad (trazas) las que definen el sabor, olor o propiedades terapéuticas. La composición fitoquímica puede ser desde muy simple (esencia de trementina) hasta muy compleja (esencia de vetiver). Las mezclas de componentes de los aceites esenciales se corresponden mayoritariamente con dos grupos principales: compuestos terpénicos (la gran mayoría) y los derivados aromáticos fenilpropánicos (compuestos con núcleo bencénico). En algunos casos durante la extracción puede aparecer otro tipo de componentes como ha ocurrido con algunas cumarinas (herniarina).²⁹

CLASIFICACIÓN

Los aceites esenciales se pueden dividir en:

Compuestos terpénicos: Están formados por unidades de isopreno, pudiendo ser monocíclicos, cíclicos y acíclicos. Los que carecen de oxígeno son hidrocarburos de tipo monoterpénicos o sesquiterpénicos. De acuerdo con la naturaleza de los componentes principales se pueden dividir en:

Monoterpenos: α y β -pineno, canfeno, limoneno, mirceno, p-cimeno, etc.

Sesquiterpenos: β -cariofileno, α -farneseno, germacraneno, camazuleno, etc.

Monoterpenoles: α -terpineol, borneol, citronelol, geraniol, linalol, nerol, etc.

Sesquiterpenoles: espatulenol, fenchol, nerolidol, etc.

Ésteres terpénicos: acetatos de nerilo, geranilo y bornilo, 1,8-cineol (eucaliptol), etc.

Óxidos terpénicos: óxido de cariofileno.

²⁹http://www.geocities.com/aceites_esenciales/quimica.htm

Cetonas terpénicas: pulegona, tuyona, etc.

Aldehídos: citrales, fotocitrales, etc.

Lactonas sesquiterpénicas: crispolida, etc.

Monoterpenonas: alcanfor, etc.

Hidrocarburos sesquiterpénicos: santanelos, curcumenos, etc.²⁹

Compuestos con núcleo bencénico (fenilpropánicos): Son muy importantes como elementos predominantes de algunos aceites como el de anís, badiana, canela, clavo de olor, hinojo, etc. De acuerdo con la naturaleza de los componentes principales tenemos:

Hidrocarburos: tolueno.

Fenoles y derivados: anetol, apiol, eugenol, timol, etc.

Alcoholes: bencílico, salicílico, etc.

Aldehídos: benzoico, cinámico, etc.

Ácidos: ésteres de ácido benzoico y cinámico, etc.

Compuestos alifáticos de cadena recta: Se trata de componentes menores entre los que figuran el ácido acético, ácido fórmico, ácido isovaleriánico, ácido isobutílico, aldehído decílico, metilheptona, estearopteno, etc.

Compuestos sulfurados y nitrogenados heterocíclicos: En el grupo de los sulfurados tenemos el isotiocianato de alilo (presente en el aceite de mostaza) y el sulfuro de dialilo (presente en el ajo). Entre los nitrogenados figuran el indol, furfural, escatol, etc.³⁰

³⁰ www.lindisima.com/aceites.htm
²⁹ Morrison "Química orgánica"

EMPLEO DE LOS ACEITES ESENCIALES

Cuando se va a hacer uso de un aceite esencial se ha de tener en cuenta que se trata de un producto extractivo cuya concentración rara vez supera el 1% del peso de la planta en seco. Ello significa que si se va a emplear 1 g de aceite esencial, en realidad se está empleando cerca de 100 g de planta seca, lo cual representa una dosis muy considerable.

Durante el proceso de conservación los aceites esenciales pueden sufrir alteraciones ya sea por enranciamientos o polimerizaciones.

Se ha observado que los aceites esenciales inhiben con mayor efectividad a gérmenes Gram (+) que a los (-), sin encontrarse una explicación satisfactoria al respecto. Con probada actividad antimicrobiana encontramos los aceites de ajedrea, canela, clavo de olor, lavanda, hinojo y tomillo, entre otros.

Entre los compuestos fitoquímicos responsables de esta actividad destacan los derivados fenólicos timol y carvacrol, los cuales se unen a los grupos amino e hidroxilamino de las proteínas de la membrana bacteriana, alterando su permeabilidad. Con algo menos de actividad se presentan los derivados alcohólicos y cetónicos alcanfor, citral, geraniol y linalol, entre otros.

Los efectos terapéuticos de las esencias pueden ser muy variados: las hay carminativas como el hinojo (*Foeniculum vulgare*), anís (*Pimpinella anisum*) y anís estrellado (*Illicium verum*). El mecanismo de acción carminativo está determinado por un efecto irritativo del aceite esencial en mucosa gástrica, lo cual produce un aumento del tono y de las contracciones de la musculatura lisa intestinal, relajando el cardias y favoreciendo la eliminación de gases.

Entre las esencias con efecto sobre el aparato respiratorio se encuentran el tomillo (*Thymus vulgaris*) y el eucalipto (*Eucalyptus spp*) al estimular por el mismo efecto irritativo las células secretoras de mucus e incrementar los movimientos del epitelio ciliado del árbol bronquial. El eucaliptol (1,8-cineol) no sólo incrementa la fase secretoria bronquial sino también disminuye la tensión superficial entre agua y aire en la superficie del alveolo, lo cual contribuye con la acción expectorante. En otro orden de cosas el eucaliptol ha demostrado ser un buen inductor enzimático a nivel del hepatocito, promoviendo la metabolización de algunos medicamentos.³¹

Entre las esencias con actividad antiespasmódicas destacan el tomillo (*Thymus vulgaris*), manzanilla (*Matricaria recutita*), menta (*Mentha x piperita*), angélica (*Angelica archangelica*), romero (*Rosmarinus officinalis*).

³¹ Journal of Toxicology Clinical Toxicology 2003 Vol. 41

De las esencias con actividad diurética destaca también la angélica (*Angelica archangelica*) y el enebro (*Juniperus communis*) el cual es tóxico; como antiparasitarios el ajo (*Allium sativum*) y el ajeno (*Artemisia absinthium*); como insecticidas la esencia del crisantemo (*Chrysanthemum spp*); como antiinflamatorias y antihistamínicas la manzanilla (*Matricaria recutita*); como rubefaciente la trementina de los abetos (revulsiva por vía externa); como colagogas el romero (relaja el esfínter de Oddi, favoreciendo la salida de bilis), etc.

Otro interés de los aceites esenciales se da en perfumería (pínenos, citral, safrol) como materia prima en la semisíntesis de lociones, jabones y perfumes; en la industria alimenticia debido a las características organolépticas de muchos aceites esenciales, productos de limpieza; etc.³²

TOXICIDAD DE LOS ACEITES ESENCIALES

Si bien su uso alimentario y terapéutico cada vez es más amplio, no hay que omitir que existen aceites que en usos inadecuados resultan tóxicos para el organismo. Por ejemplo existen aceites con poder convulsionante como ocurre con el ajeno, alcaravea, anís, badiana, eneldo, hinojo, hisopo, menta, perejil, pino, romero, ruda, salvia, sazafrán, tanaceto o tuya. En estos casos las fracciones responsables de dicho efecto serían de tipo cetónico (alcanfor, carvona, ionona, mentona, pulegona, tuya) o fenoles aromáticos (anetol, apiol, miristicina, safrol).

Otros pueden proporcionar efectos narcóticos o estupefacientes como ocurre con la albahaca, angélica, anís, badiana, comino, coriandro, enebro, eucalipto, hinojo, lavanda, melisa, nuez moscada, serpol y tomillo. En este caso los compuestos responsables serían compuestos terpénicos de tipo carburo (borneol, linalol, mentol, terpineol) o fenólico (anetol, apiol, miristicina, safrol y timol).

La miristicina presente en la nuez moscada, por ejemplo, ha demostrado ser un inhibidor de la Mono Amino Oxidasa (MAO) e incrementar a la vez la tasa de serotonina, ocasionando alteraciones visuales, distorsión de colores y despersonalización. A nivel hepático puede generar toxicidad al igual que el sazafrán (safrol). Ingeridos por vía oral en dosis altas los aceites esenciales de eucalipto, clavo de olor, canela y nuez moscada pueden ocasionar cuadros de depresión generalizada en el SNC.³³

En el caso de aceites virtualmente atóxicos, destaca el caso del aceite esencial de menta, cuyo componente mentol ha ocasionado algunos casos de espasmo de glotis y riesgo de asfixia refleja, por lo que no se recomienda su empleo en la infancia. A nivel renal la eliminación de algunos aceites por dicha vía pueden originar nefritis.

³²Herber Youngken. "Tratado de Farmacognosia".

³³Cooper Bloom. Bases Bioquímicas de la Neurofarmacología

Otros aceites esenciales como los de la ruda (*Ruta graveolens*), tuya (*Thuja occidentalis*), ajeno (*Artemisia absinthium*), tanaceto (*Tanacetum vulgare*), sabina (*Juniperus sabina*) y enebro (*Juniperus communis*) poseen propiedades abortivas inherentes a los componentes terpénicos de tipo carburo (sabinol) o cetónico (pulegona, tuyona) que poseen.

Un caso destacado corresponde al acetato de sabinilo presente en la salvia española, ya que ha demostrado en ratas atravesar la barrera placentaria y originar alteraciones en el desarrollo fetal de los animales.³⁴

Un importante grupo es el de los fototóxicos o irritantes dérmicos presentes en las especies angélica, bergamota, comino, eucalipto, laurel, limón, melisa, naranja, pino, ruda, sasafrás y tomillo.

En estos casos los responsables son compuestos terpénicos de tipo carburo (felandreno, limoneno, mirceno, pineno), alcohólico (cineol, citronelol, geraniol, linalol, mentol, nerol), aldehído (citrol), fenólico (carvacrol, timol), cumarínico (bergapteno) y aromático (safrol).

Los aceites fototóxicos pueden generar desde edemas, ampollas o vesículas, hasta lesiones cáusticas (por el fenol y carvacrol especialmente), promover la aparición de lesiones cancerosas (felandreno y pineno) o provocar hiperpigmentación en la piel. Para evitar problemas de toxicidad y aprovechar el resto, los compuestos hidrocarburos de algunos aceites suelen ser eliminados durante la extracción, aunque algunos de ellos puedan tener efectos biológicos.

La toxicidad del aceite esencial está en relación con el ciclo vegetativo de la planta. En el caso de la salvia (*Salvia officinalis*), el contenido en alcanfor o de α y β -tuyona es mayor durante los meses fríos, lo cual habla a las claras del cuidado estacional que hay que tener durante la recolección. Asimismo, existe una gran variabilidad fitoquímica entre distintos ejemplares de una misma especie, como ocurre con los diferentes quimiotipos del tomillo (*Thymus vulgaris*).³⁵

MÉTODOS DE ANÁLISIS

Debido a la diversidad de grupos funcionales que pueden estar presentes en los componentes mono- y sesquiterpénicos de un aceite esencial no existe una prueba específica para su reconocimiento. Sin embargo existen unos pocos procedimientos experimentales que permiten reconocer algunos de ellos por su coloración con diferentes reactivos, su absorción de luz UV de 254 nm y su Rf en cromatografía en capa fina.

³⁴ Driesbach. "Toxicología".

³⁵ Bruneton J. "Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia"

CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (CCF): es más rápida que la cromatografía en papel, el proceso requiere una media hora aproximadamente. El medio de separación es una capa de unos 0.1 a 0.3 mm de espesor que se realiza con un adsorbente sólido sobre vidrio, plástico o aluminio. Una placa típica mide 8x2 pulgadas. Los sólidos más comunes son la alúmina, la sílica gel y la celulosa. La muestra, que por lo general es una mezcla de compuestos orgánicos, se aplica cerca del final de la placa en forma de un pequeño volumen de solución, lo normal son unos cuantos microlitros que contienen microgramos de los compuestos. La mancha de la muestra se seca y después se sumerge este extremo de la placa en una fase móvil adecuada. El solvente se mueve hacia arriba sobre la capa fina del sólido y, conforme se va desplazando, los solutos de la muestra son arrastrados a lo largo de la placa a velocidades que dependen de sus solubilidades en la fase móvil y de sus interacciones con el sólido. Después de que el solvente ha migrado aproximadamente 10 cm, la placa se seca y se examinan las manchas.³³

ESPECTRO LUMINOSO UV-Vis: todas las moléculas pueden absorber radiación en la región UV-Visible debido a que contienen electrones, compartidos y sin compartir, que se pueden excitar a niveles de energía más elevados. Las longitudes de onda en las que ocurre la absorción dependen de la fuerza con la que están unidos los electrones a la molécula. Los espectros de absorción se pueden obtener utilizando muestras que están en diversas formas: gases, películas delgadas de algún líquido, soluciones en varios solventes e incluso sólidos.³⁶

A manera de ejemplo la Tabla 3, resume las características de varios monoterpenos y su comportamiento al analizarlos por cromatografía en capa fina con varios agentes reveladores. Por ejemplo, el limoneno se reconoce en las placas de TLC porque no absorbe luz UV 254 nm, adiciona bromo, no forma un derivado 2,4-dinitrofenilhidrazona y produce color pardo con el ácido sulfúrico. Otros reactivos útiles para revelar monoterpenos y sesquiterpenos son anisaldehído-ácido sulfúrico, vainillina-ácido sulfúrico y ácido fosfomolibdico.

CARACTERÍSTICAS DE ALGUNOS MONOTERPENOS

Terpeno	UV	Ensayo bromo	Ensayo 2,4-DNFH	Ensayo H2SO4
Limoneno	-	+	-	Pardo
α -pineno	-	+	-	Pardo
Pulegona	+	+	+	Amarillo
Geraniol	-	+	-	Púrpura
Carvona	+	+	+	Rosa
p-cimeno	+	-	-	-
α -terpineol	-	+	-	Verde
1,8-cineol	-	-	-	Verde

Tabla 3. Reconocimiento de Monoterpenos por TLC

³⁶ Day R. "Química Analítica Cuantitativa"

Métodos fundamentales de análisis de aceites esenciales

determinaciones físicas

- aroma
- peso específico
- índice de refracción
- desviación óptica (poder rotatorio)
- solubilidad en mezclas alcohol-agua (alcoholes rebajados)

determinaciones químicas

- índice de acidez libre
- índices de saponificación y éster
- determinación de aldehídos y cetonas
- formación de fenilhidrazonas
- formación de oximas
- formación de semicarbazonas
- método del bisulfito
- índice de acetilo
- técnicas cromatográficas: Thin Layer Chromatography (TLC), TLC/AgNO₃, Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC).
- métodos espectroscópicos: Ultravioleta (UV), Infrarrojo (IR), Cromatografía de Gases Acoplada a Espectroscopia de masas (GC-MS), Resonancia Magnética Nuclear en Carbono 13 (13 C-NMR).³⁷

EXTRACCIÓN Y AISLAMIENTO DE MONO Y SESQUITERPENOS

La mayoría de monoterpenos y sesquiterpenos se encuentran presentes en los aceites esenciales de diversas plantas. A partir de dichos aceites es posible realizar su aislamiento mediante la utilización de uno o varios métodos cromatográficos tales como la cromatografía en columna, en capa fina y cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Para las cromatografías en columna y en capa fina se utiliza ampliamente la sílica gel como fase estacionaria. Como fase móvil se emplea solventes apolares puros o mezclados. Sin embargo actualmente se utilizan técnicas de separación más eficientes y rápidas como la cromatografía líquida de alta eficiencia HPLC, y la cromatografía de gases (GC), así como también acoplar las técnicas analíticas de HPLC, GC y espectrometría de masas (MS).

Esta última técnica gracias al desarrollo reciente de columnas capilares de alta resolución, permite analizar mezclas complejas presentes en aceites esenciales, e identificar los componentes a partir de los tiempos de retención a través de los denominados Índices de Retención de Kovats (IK).

³⁷Shriner, Ralph. "Identificación de compuestos orgánicos".

Estos valores son característicos para cada componente y existen bases de datos con los índices de muchos componentes de aceites esenciales. Los valores IK se determinan en dos columnas cromatográficas una polar (por ejemplo Carbowax 20M) y una apolar (por ejemplo SE-52, DB-5).

Adicionalmente, la técnica acoplada Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-MS), permite obtener el espectro de masas de cada componente con el cual se obtiene el peso molecular e información estructural.

Así mismo existen bases de datos con los espectros de masas de muchos componentes, por lo cual el índice de Kovats (determinado en dos columnas de diferente polaridad) y el espectro de masas son criterios para la asignación química de muchos componentes de aceites esenciales, no solo monoterpenos sino también otros tipos de sustancias características de dichos aceites. Más recientemente se han desarrollado columnas cromatográficas quirales para la separación de componentes ópticamente activos, y se han desarrollado métodos para el análisis combinado HPLC-MS y HPLC-NMR de mezclas de sesquiterpenos.³⁸

Caracterización espectral

Los monoterpenos y sesquiterpenos en un buen número se pueden caracterizar químicamente a partir de los datos de cromatografía de gases y los espectros de masas tal como se anotó anteriormente, pero cuando existen dudas de tal caracterización se recurre a los métodos espectrales como Infrarrojo (IR), Ultravioleta (UV) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

Espectro infrarrojo

El espectro infrarrojo permite detectar la presencia de grupos hidroxilo, carbonilo, anillos aromáticos, enlaces dobles C=C cis y trans, etc. Para determinar el espectro basta con colocar una gota del componente en una celda de NaCl.

Espectro ultravioleta

El espectro UV de los monoterpenos y sesquiterpenos permite el reconocimiento de grupos funcionales y grupos cromóforos. Por ejemplo el limoneno presenta un máximo de absorción en 262 nm ($E=6400$). En general, la espectrofotometría ultravioleta tiene una utilidad limitada en el estudio de la gran mayoría de los aceites esenciales terpénicos, ya que pocos terpenos tienen grupos cromóforos.

³⁸ Perrin D. "Purification of laboratory chemical"

Sin embargo, en la fracción no volátil de los aceites esenciales cítricos se encuentran componentes carotenoides o con núcleos heterocíclicos oxigenados (cumarinas, furocumarinas sustituidas y polimetoxiflavonas), lo que da a estas esencias un comportamiento característico en el UV. Esta particularidad se ha utilizado para la puesta a punto de métodos que permite evaluar la calidad y la genuinidad, identificar el origen geográfico de una muestra, la tecnología empleada para su extracción o la época de producción del aceite.

Espectro de Resonancia Magnética Nuclear

Gracias a los desarrollos de la NMR se cuenta con bases de datos de los espectros, especialmente de ^{13}C -NMR para los monoterpenos y sesquiterpenos más frecuentes. En la Figura 4 se presentan los desplazamientos químicos de los carbonos de varios monoterpenos y varios sesquiterpenos.

Por otra parte, el desarrollo reciente de los métodos bidimensionales homo- y heteronucleares, han permitido la determinación estructural fina de los terpenoides y demás sustancias naturales, eliminando la ambigüedad en la asignación de las señales observadas.

Espectrometría de Masa

En relación con el estudio de aceites esenciales el acoplamiento del HRGC a la Espectrometría de Masa (GC-MS) es el que ha recibido mayor atención desde su introducción. La técnica acoplada GC-MS permite obtener el espectro de masas de cada componente eluido. Se obtiene el dato de su peso molecular e información estructural.

Existen bases de datos con los espectros de masas de muchos componentes, por lo cual el Índice de Kovats (determinado en dos columnas de diferente polaridad) y el espectro de masas son criterios para la identificación química de muchos de los componentes de un aceite esencial, sean monoterpenos u otros tipos de sustancias características de dichos aceites.

En el acoplamiento de GC-MS, la técnica de ionización más utilizada es la de impacto electrónico (EI). Sin embargo la técnica de ionización química (CI) tiene cada vez más aplicaciones, por la mayor información que permite obtener.³⁹

EXTRACCIÓN Y AISLAMIENTO DE FENILPROPANOS

Los fenilpropanos presentes en aceites esenciales se extraen con la misma metodología descrita anteriormente para mono- y sesquiterpenos. Sin embargo, debido a su anillo aromático presentan ventajas en su detección por TLC y HPLC pues absorben luz ultravioleta (254 nm) y no requieren ser revelados con agentes

³⁹ Clarke's "Isolation and identification of Drugs"

químicos, ni necesitan ser derivatizados, y por lo tanto pueden aislarse y analizarse más fácilmente.

Ensayos de reconocimiento

Existen ensayos de reconocimiento para el anillo aromático como la reacción con formaldehído y ácido sulfúrico. Así mismo en el caso de fenilpropanos con hidroxilos fenólicos estos pueden reconocerse por el ensayo del cloruro férrico, el cual produce coloraciones verdes y azules con sustancias fenólicas en general. La tabla 4 presenta los valores Rf y coloraciones con dos reactivos reveladores para varios fenilpropanos. Bajaj *et al.* reportaron la utilidad del reactivo Cloramina-T para la detección de varios compuestos fenólicos.

VALORES DE Rf DE ALGUNOS FENILPROPANOS CON DIFERENTES REVELADORES

Compuesto	Rf en benceno	RF en n-hexano/CHCl ₃ (3:2)	Color con vainilla-H ₂ SO ₄	Color con R. de Gibbs
Safrol	0.74	0.86	-	Gris
Estragol	0.72	-	Rosado	-
Anetol	0.69	-	Rojo	-
Miristicina	0.50	0.71	Pardo	Pardo
Apiol	0.39	0.41	Pardo	Pardo
Timol	0.38	-	Rojo	-
Eugenol	0.20	0.31	Pardo	Pardo
Isoeugenol	0.29	0.27	Rojo	Amarillo
Metileugenol	-	0.42	-	Rojo pardo
Metiliseoegenol	-	0.42	-	Púrpura
Elemicina	-	0.27	-	Amarillo

Tabla 4. Valores Rf en sílica gel y colores de algunos fenilpropanos

Espectro infrarrojo

Por tratarse de sustancias con anillo aromático, sus espectros infrarrojo muestran las señales características de estos compuestos y dan información sobre el tipo de sustitución del anillo aromático además de los grupos funcionales presentes en la molécula.

Por ejemplo, el espectro IR del eugenol muestra entre otras bandas en 3500 (ancha) debida al grupo hidroxilo, 1510 característica de aromáticos, y tres bandas en 990, 920 y 938 cm⁻¹ características de un grupo vinilo monosustituído. El espectro IR del cinamaldehído muestra bandas en 3330 (débil), 3050, 2820, 2750, 1660 (intensa, debida al grupo carbonilo), 975, 740 y 695 cm⁻¹ entre otras.

Espectro ultravioleta

A diferencia de la mayoría de mono- y sesquiterpenos, los fenilpropanos absorben luz UV con máximos alrededor de 254 nm dependiendo de los grupos cromóforos presentes en la molécula. Por ejemplo el isoeugenol muestra máximos en 260 (15850) y 305 (7000), el safrol en 286 nm, la miristicina en 276 nm, el isosafrol en 264 nm, el ácido trans-cinámico en 273 nm y el ácido cis-cinámico en 264 nm.

Espectro de Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de $^1\text{H-NMR}$ de los fenilpropanos muestran señales de protones aromáticos alrededor de 6-8 ppm cuyas multiplicidades y constantes de acoplamiento permiten realizar una asignación estructural clara aún con espectros de baja resolución.

Espectrometría de Masa

Debido también a su anillo aromático, los fenilpropanos presentan espectros de masa con iones moleculares intensos, lo que facilita la determinación de su peso molecular. En el caso de compuestos con grupos carboxilo e hidroxilo es conveniente derivatizarlos para obtener sustancias más volatilizables y térmicamente más estables, ya que esto facilita por ejemplo su análisis en mezclas mediante GC o GC-MS.

Tratamientos posteriores al proceso de extracción

Posteriormente al proceso de extracción, puede ser necesario realizar una o más de los tratamientos que se enumeran a continuación:

1. purificación de absolutos
2. eliminación de colorantes
3. desterpenación
 - 3.1 destilación fraccionada con vacío
 - cabeza de destilación: hidrocarburos monoterpénicos
 - cuerpo de destilación: componentes oxigenados (mono y sesquiterpenos)
 - 1a cola de destilación: hidrocarburos sesquiterpénicos
 - 2da cola de destilación: ceras y alquitranes de destilación
 - 3.2 extracción con solventes selectivos
 - mezclas etanol-agua
 - empleo de 2 solventes inmiscibles a contracorriente
 - 3.3 separación por adsorción cromatográfica
4. descerado.⁴⁰

⁴⁰ Snell Dee "Enciclopedia of Industrial Chemical Analysis"

MICROBIOLOGÍA

STAPHYLOCOCCUS

Cocos Gram-positivos de 0,5 a 1 μ m de diámetro. Aerobios o anaerobios facultativos: presentan metabolismo mixto. Se diferencian de las bacterias lácticas por la presencia de catalasas y de pigmentos carotenoides (que dan color a las colonias por ejemplo en *S. aureus*) y porque su metabolismo es más versátil.

En preparaciones para el microscopio aparecen formando racimos o parejas. Son inmóviles, son las especies más resistentes a agentes físicos (deseccación, temperatura) y químicos (alcohol) de entre las bacterias no esporulantes. Forman parte de la flora normal de la piel y cavidades.⁴¹

CÁNDIDA ALBICANS

Las levaduras forman parte de la flora normal de la piel, mucosas y tracto digestivo del hombre y están presentes con frecuencia en las muestras clínicas, como flora comensal muchas veces, otras como resultado de colonización, y en ocasiones a causa de la existencia de un proceso infeccioso de etiología fúngica. Las especies del género *Candida* son las que se relacionan más a menudo con patología humana, principalmente *C. albicans*, pero desde hace unos años se refieren otras muchas especies como patógenas emergentes.

Las infecciones por levaduras han adquirido una gran importancia en las últimas décadas, debido no sólo a su mayor frecuencia en pacientes inmunodeprimidos o pacientes sometidos a técnicas diagnósticas y terapéuticas agresivas, sino también a su alta morbilidad y mortalidad. Paralelamente se ha observado un incremento en la aparición de nuevas especies patógenas difíciles de diagnosticar y tratar.

Los hongos que por lo general no inducen enfermedad, pueden hacerlo en las personas que tienen alterados los mecanismos de defensa. Tales oportunistas pueden infectar cualquier órgano del cuerpo. *Cándida* y otras levaduras pueden ser adquiridas a partir de una fuente endógena. La enfermedad provocada por hongos patógenos conocidos es acelerada a menudo por la alteración de los mecanismos de defensa del huésped.

La *Cándida Albicans* es una levadura oval que produce un seudomicelio en cultivo, en los tejidos y exudados. Es miembro de la flora normal de las mucosas en los aparatos respiratorio, digestivo y genital femenino. En tales lugares puede generar dominio y relacionarse con otras enfermedades.

⁴¹ <http://fai.unne.edu.ar/biología/bacterias.htm>

Es una levadura que pertenece al género *Criptococosis*, tiene tres formas biológicas y, morfológicas:

A) Vegetativa o levadura de forma oval (blastosporas).

B) Forma elongada (pseudomicelio).

C) Clamidosporas.

Es un hongo levaduriforme, unicelular saprofito comensal y oportunista que se encuentra en la cavidad bucal sin causar enfermedad. Sin embargo su cambio de agente comensal a patógeno depende de una serie de factores predisponentes. Cuando el microorganismo comensal tiene forma de pseudohifa y reside en la mucosa vaginal o bucal, produce una infección superficial y afecta la región externa de los labios y la piel.

Las levaduras tienen de 1.5 a 5 micrones de diámetro, se producen asexualmente, crecen en líquidos y superficies bucales, inician como lesiones invasivas y pueden provocar reacciones inflamatorias o tóxicas. Las pseudohifas son cadenas de células en gemación que no se desprenden y por eso forman una red ramificada parecida a las hifas verdaderas.

Las colonias compuestas por pseudohifas tienen el aspecto blando y blanco, en contraste con el crecimiento algodonoso del micelio verdadero. Las clamidosporas son grandes, redondas, tienen una pared gruesa la cual tiene dos capas: la interna de polisacáridos y la externa de proteínas.

La *C. albicans* es un habitante normal de la flora bucal en cerca del 30 al 40% de la población. Por razones no del todo comprendidas, los hongos pueden sobrecolonizar y producir signos y síntomas clínicos.

La mayoría de las veces, las infecciones bucales más frecuentes se asocian con diversos factores tales como:

1. Niños prematuros.
2. Debilidad, postoperatorios, traumatismos, estrés.
3. Inmunosupresión.
4. Radioterapia de cabeza y cuello.
5. Tratamiento antibiótico prolongado.
6. Diabetes.
7. Anticonceptivos orales.
8. Xerostomía.⁴²

⁴² www.panix.com/~candida

ESCHERICHIA COLI

E. coli es la especie predominante de la flora normal aerobia y anaerobia facultativa del tubo digestivo en la mayor parte de los mamíferos, y se elimina por las heces al exterior. Se puede encontrar en el medio ambiente ya que es capaz de sobrevivir durante cierto tiempo en el agua y los alimentos, de manera que su aislamiento es un indicador de contaminación fecal reciente.

Algunas cepas de *E. coli* son patógenas y pueden producir infecciones entéricas (diarrea, disentería, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico y enfermedad de los edemas) o extraintestinales (infecciones del tracto urinario, bacteriemias o septicemias, meningitis, peritonitis, mastitis, e infecciones pulmonares y de heridas).⁴³

E. coli provoca en seres humanos del orden de 630 millones de casos de diarrea en el mundo y aproximadamente 775.000 muertes al año, afectando fundamentalmente a la población infantil del tercer mundo. Además, es el patógeno oportunista más frecuentemente asociado con infecciones urinarias y septicemias en seres humanos.

El género *Escherichia* comprende cinco especies: *Escherichia blattae*, *Escherichia coli*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii* y *Escherichia vulneris*. La especie tipo es *E. coli* de las cinco especies solamente *E. coli* tiene significación clínica. No obstante, *E. hermannii* y *E. vulneris* se han aislado raramente de infecciones extraintestinales (especialmente de heridas).⁴⁴

ESTREPTOCOCOS

Se presentan en mucosas de nariz, garganta, boca, aparato digestivo y frecuentemente en vagina. También habitan con frecuencia en la piel. Al multiplicarse los estreptococos tienden a experimentar constricción y a dividirse más o menos en línea recta, en consecuencia las células esféricas de esta bacteria forman cadenas de microorganismos unidos por filamentos delgados de protoplasma.

Poseen cápsula con abundante ácido hialurónico, algo de polisacáridos y proteínas. Ninguna especie forma esporas. Son inmóviles. Son aerobios y anaerobios facultativos. Los estreptococos hemolíticos del grupo A son activos y elaboran exotoxina, producen una hemolisina beta muy potente y son sensibles a la penicilina.⁴⁵

⁴³ Letters in Applied Microbiology 2003, 36

⁴⁴ <http://www.lugo.usc.es/ecoli/E.coli2.html>

⁴⁵ Gebhard P. Louis. Microbiología. 1972

KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Es un bacilo encapsulado, Gram negativo y sin motilidad, algo más grueso que *E. coli*, se desarrolla fácilmente en medios sencillos de laboratorio, las colonias son bastantes voluminosas y mucoides y a menudo guardan semejanza con gotas de lluvia, es aerobio y se desarrolla mejor a temperaturas de 35 – 37° C, pero crece en límites de temperatura semejantes a los de *E. coli*, la mayor parte de las cepas producen ácido y gas a partir de varios carbohidratos, pero las actividades bioquímicas son muy variables.

Casi todas las cepas fermentan lactosa con producción de ácido y gas. Se han descrito 4 grupos de antígenicos: 1,2A, 2B y 3. el tipo A es el principal que infecta al ser humano. Este microorganismo produce infecciones principalmente del aparato respiratorio y los senos paranasales. La neumonía que causa puede ser mortal a menos que se trate rápidamente.⁴⁶

LA PIEL

Es un órgano complejo, el más grande de todos. Protege y cubre la superficie del cuerpo de aproximadamente 2m². Se une, sin fisuras, con las membranas mucosas de los distintos canales (por ejemplo, el canal alimenticio) en los distintos orificios corporales.

La piel forma una barrera protectora contra la acción de agentes físicos, químicos o bacterianos sobre tejidos más profundos, y contiene órganos especiales que suelen agruparse para detectar las distintas sensaciones, como sentido del tacto, temperatura y dolor. Cumple un papel importante en el mantenimiento de la temperatura corporal gracias a la acción de las glándulas sudoríparas y de los capilares sanguíneos. En la regulación de la temperatura corporal participan los 4,5 m de capilares sanguíneos contenidos en cada 6,5 cm² de piel.

Un centímetro cuadrado de piel tiene: 5 folículos pilosos, 15 glándulas sebáceas, 100 glándulas sudoríparas, 4 m. De nervios, 1 m. De vasos, 6 millones de células y 500 organelos sensitivos.⁴⁷

⁴⁶ Guerra T. "Infecciones de Piel y Tejidos Blandos"

⁴⁷ Tortora J. Principios de anatomía y fisiología, 1993

HISTOLOGÍA

La piel esta compuesta por el tejido epitelial que es la membrana plana estratificada y queratinizada. Esta formado por tres capas: epidermis, dermis e hipodermis.

- ❖ EPIDERMIS es la capa propiamente formada por células (queratinocitos) estratificadas. Y otras células como: el Melanocito que da el Color de la piel, las células de Langerhans que actúan con el sistema inmune, las células de Merkel que son sensoriales.
- ❖ DERMIS que es el almacén de tejido conjuntivo, compuesto de Colágena, que da cohesión y elasticidad a la piel, y es el sostén de vasos y nervios.
- ❖ HIPODERMIS que es el tejido celular subcutáneo, compuesto por la grasa.⁴⁸

DIFERENTES CAPAS DE LA PIEL

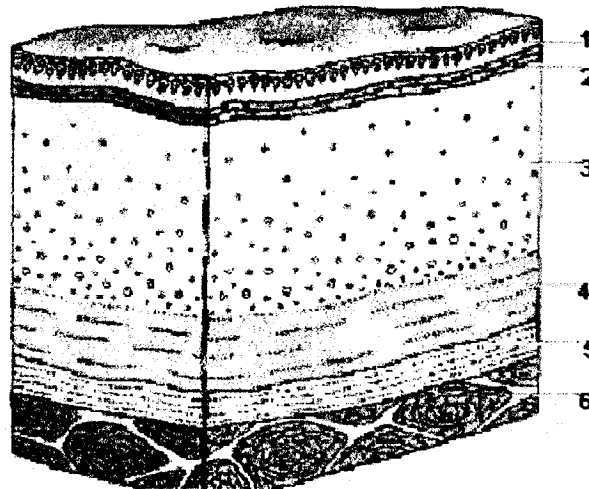


Figura 2. corte transversal de la piel donde se aprecian las diferentes capas. 1. epidermis 2. dermis 3. capa grasa aislante 4. tejido conectivo 5. tejido conectivo fibroso 6. músculo

⁴⁸ <http://www.angelfire.com/alt/tum/piel.html>

Anexos de la piel

Macroscópicos:

- ❖ Pelo o bello corporal: protección de la piel que trabaja guardando calor, "filtrando" sudor.
- ❖ Uñas: apéndices de queratina que protegen las puntas de los dedos y hortejos. Manto ácido: sudor y sebo, pH 5.5
- ❖ Manto gaseoso: vapor de agua y CO₂ por evaporación del sudor.

Microscópicos:

- ❖ Folículo piloso
- ❖ Glándula sebácea
- ❖ Glándulas sudoríparas.

INFECCIONES BACTERIANAS DE LA PIEL

La piel y los anexos constituyen la primera y principal barrera en el ser humano de defensa frente a agentes externos en general.

La infección de la piel por agentes bacterianos depende de tres factores:

- ❖ Propiedades patógenas de los agentes bacterianos.
- ❖ Integridad de la puerta de entrada.
- ❖ Capacidad de defensa del organismo frente a la invasión bacteriana.

Además, algunas infecciones bacterianas sistémicas cursan con hallazgos dermatológicos que pueden ser los signos guías para el diagnóstico precoz de éstas (como por ejemplo la enfermedad meningocócica, herpes, tiña).⁴⁹

Las infecciones bacterianas de la piel se pueden clasificar en:

- ❖ Infecciones bacterianas primarias: se producen cuando el agente bacteriano invade una piel previamente sana. El mecanismo de acción es Infección directa de la piel.
- ❖ Infecciones bacterianas secundarias: se originan sobre la piel previamente dañada. El mecanismo de acción es mediado por toxinas.
- ❖ Infecciones bacterianas sistémicas: que cursan con manifestaciones cutáneas y su mecanismo de acción inmunológico.

Las bacterias que más frecuentemente producen infecciones cutáneas son estreptococos y estafilococos; este tipo de infecciones se denomina piodermitis.

⁴⁹ Requena L, Piodermitis, Piel. 1990

Otros agentes bacterianos que pueden originarlas, aunque con menos frecuencia, son clostridios, micobacterias atípicas, corinobacterias, bacilos gramnegativos y también infecciones polimicrobianas mixtas, como las secundarias a mordeduras y a picaduras.⁵⁰

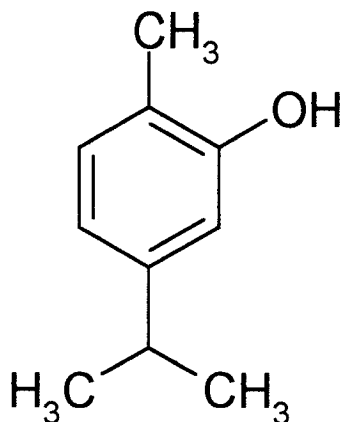
PRINCIPALES ENFERMEDADES INFECCIOSAS DE LA PIEL

Enfermedad	Parte afectada	Agente causal
Impétigo: infección superficial muy contagiosa. Se divide en dos: impétigo contagioso e impétigo ampollar.	Epidermis	<i>estreptococo β-hemolítico del grupo A.</i> <i>Staphilococcus aureus</i>
Foliculitis: inflamación del folículo pilosebáceo.	Folículo piloso	<i>Staphilococcus aureus</i>
Forúnculo: nódulo inflamatorio profundo alrededor de un folículo piloso.	Folículo piloso	<i>Staphilococcus aureus</i>
Hidrosadenitis: inflamación supurativa de las glándulas apocrinas.	Glándula sudorípara	<i>Staphilococcus aureus</i>
Ectima: úlcera deprimida cubierta con costras amarillentas, cuyo centro está de color violeta.	Dermis	<i>estreptococo β-hemolítico del grupo A.</i>
Linfangitis: franja lineal eritematosa, edematosa y caliente	Vasos linfáticos	<i>Estreptococo β-hemolítico del grupo A.</i> <i>Staphilococcus aureus</i>
Celulitis: lesión eritemato-edematosa, caliente y dolorosa con bordes mal definidos a diferencia de la erisipela. Se acompaña de fiebre y de malestar general	Tejido celular subcutáneo	<i>Estreptococo β-hemolítico del grupo A.</i> <i>Staphilococcus aureus</i>
Fascitis necrotizante: Se manifiesta como una placa rojiza o ampollar muy dolorosa que se necrosa en los días posteriores	Fascia muscular	<i>estreptococos</i>

Tabla 5. muestra algunas infecciones bacterianas primarias causadas en diferentes partes de la piel por *S. aureus* y *Estreptococos* principalmente, sin importar la raza, el género y la edad.

PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS

CARVACROL⁵¹



SINÓNIMOS: Isopropil-orto-cresol / 2-metil-5-isopropilfenol / 2-hidro-p-cimeno / 2-p-cimenol / isotimol / 2-metil-5-(1-metiletil)-fenol.

FÓRMULA: C₁₀H₁₄O

PESO MOLECULAR: 150.22

UV máx.: (95% etanol) = 227.5 nm (log ε 3.262)

PUNTO DE EBULLICIÓN: 237.8 ° C

PUNTO DE MELTING: 1 ° C

PESO ESPECÍFICO: 0.976 (20° C)

ÍNDICE DE REFRACCIÓN: 1.523 (20° C)

PARA-NITRO-BENZOATO: 51 ° C

3,5-DINITRO-BENZOATO: 83; 76-7 ° C

BROMO DERIVADOS: 46 ° C

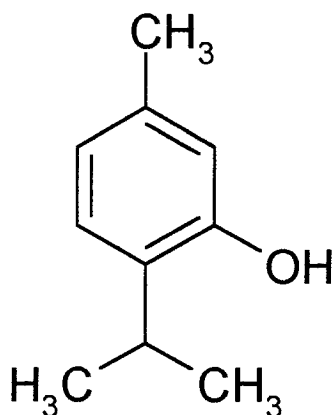
PROPIEDADES: es un alcohol, aceite espeso incoloro con olor a timol; insoluble en agua, soluble en alcohol, éter y álcalis. Combustible. Poco tóxico. Vapor volátil.

OBTENCIÓN: del p-cimeno por sulfonación seguida de una fusión con álcali.

USOS: elaboración de perfumes, fungicidas, desinfectante, aromas.

⁵¹ Boylan J. "Handbook or Pharmaceutical Excipients"

TIMOL⁵²



SINÓNIMOS: 5-metil-2-(1-metiletil)fenol / 5-metil-2-isopropil-1-fenol / 1-metil-3-hidroxi-4-isopropilbenceno / 3-p-cimeno / 3-hidroxi-p-cimeno / isopropil-m-cresol / ácido tímico / alcanfor de tomillo.

FÓRMULA: C₁₀H₁₄O

PESO MOLECULAR: 150.22

PUNTO DE EBULLICIÓN: 233.5 ° C

PUNTO DE MELTING: 149.7: 51.5 ° C

PESO ESPECÍFICO: 0.979

PUNTO DE FUSIÓN: 48-51° C

ACETATO: b.p. 242-3 ° C

BENZOATO: 33 ° C

PROPIEDADES: cristales blancos, olor y sabor aromáticos, soluble en alcohol, sulfuro de carbono, cloroformo, ácido acético glacial, éter y aceites fijos y volátiles; ligeramente soluble en agua y glicerina. Combustible. Microsublima fácilmente.

⁵² Budavari Susan. "The Merck Index"

OBTENCIÓN: del aceite de tomillo u otros aceites, sintéticamente haciendo que el m-cresol reaccione con cloruro de isopropilo por el método de Friedel-Crafts a -10° C. A partir de la esencia se puede obtener de 2 formas: por congelamiento, para que el timol cristalice, o por tratamiento con una solución de hidróxido de sodio; luego esta solución de timol sódico se separa y descompone con ácido para que se libere el timol, el que después se purifica.

USOS: medicina, perfumería, compuestos de timol, microscopia, preservativo, embalsamamiento, antioxidante, aromatizante, es antifúngico, antibacterico y antihelmíntico.

PELIGROS: moderadamente tóxico por ingestión e inhalación.

SOLUBILIDAD: 1g se disuelve en 1000ml de agua, 1ml de alcohol, 0.7ml de cloroformo, 1.5ml de éter, 1.7ml de aceite de oliva a 25° C.

DESARROLLO

EXPERIMENTAL

MATERIALES Y REACTIVOS

MATERIAL

- Estufa marca Impulsora Infinsa S.A. de C.V.
- Balanza granatária marca Harvard Trip balance 2Kg-5lb Ohaus.
- Matraz de bola de 1000 ml
- Canastillas
- Mangueras
- Termostato marca Impulsora Infinsa S.A. de C.V.
- Soporte universal
- Pinzas
- Refrigerante
- Vasos de precipitado
- Probetas
- Pipetas
- Embudo de separación de 500 ml
- Espátulas
- Varillas de vidrio
- Tubos de ensaye
- Rejilla
- Picnómetro
- Embudo
- Soporte para embudos
- Papel filtro
- Tijeras
- Mortero
- Papel indicador
- Parrilla de calentamiento
- Magneto

- Baño maría
- Espectrofotómetro UV-Vis marca, Varian
- Infrared spectrophotometer Perkin-Elmer
- Balanza analítica marca santoruris
- Polarímetro Erma Ing. Tokio
- Fisher-Johns meeting point 300° C.
- Placa de óxido de aluminio
- Placa de celulosa
- Placa de albúmina
- Placa de sílica
- Lámpara UV marca UVP. Inc. S.A.
- Papel parafin
- Cajas petri
- Asa bacteriológica
- Autoclave
- Mechero bunsen
- Campana de flujo laminar

SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Orégano
- Agua destilada
- Etanol
- Sulfato de sodio anhidro
- Acetato de etilo
- Ácido sulfúrico
- Benceno
- Disulfuro de carbono
- Hidróxido de potasio
- Molibdato de amonio

- Cloroformo
- Acetona
- Ácido clorhídrico
- Metanol
- Bromuro de potasio
- Hielo
- Medio de cultivo Mc Conkey (bioxon)
- Medio de cultivo sal manitol (bioxon)
- Medio de cultivo dextrosa sabouraud

CEPAS DE MICROORGANISMOS

- *Escherichia coli* sp.
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermis*
- *Candida albicans*
- *Candida krusei*

METODOLOGÍA

1.- ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Realizar la cuantificación de humedad mediante la desecación del orégano, por medio de las siguientes pruebas:

- ❖ Proteína cruda: se basa en la digestión con ácido sulfúrico concentrado por medio de una reacción de óxido reducción.
- ❖ Grasa cruda: se basa en la extracción continua mediante calor.
- ❖ Cenizas: se basa en someter al orégano a una combustión.
- ❖ Fibra cruda: se basa en someter al orégano seco y desengrasado a una digestión ácida y después a una digestión alcalina.
- ❖ Extracto libre de nitrógeno: mide el contenido de carbohidratos no estructurales presente en el contenido celular.

Con los datos obtenidos de las pruebas para la base seca y con el resultado de porcentaje de humedad se calculan los resultados para las pruebas mencionadas en base húmeda.

2.- SECADO DE LA PLANTA

Se pone a secar la planta en una estufa a 70° C de manera que las ramas no queden encimadas para que el secado sea más rápido. Se deja durante 24 horas. Se separan las hojas del tallo y se muelen en un mortero.⁵³

3.- DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR

Se pesan 30g de orégano seco y molido y se ponen en un matraz de bola con 20 ml de agua destilada, en otro matraz se ponen 800 ml de agua destilada se conectan como se observa en la figura 1; y se destila durante 4 horas.⁵⁴

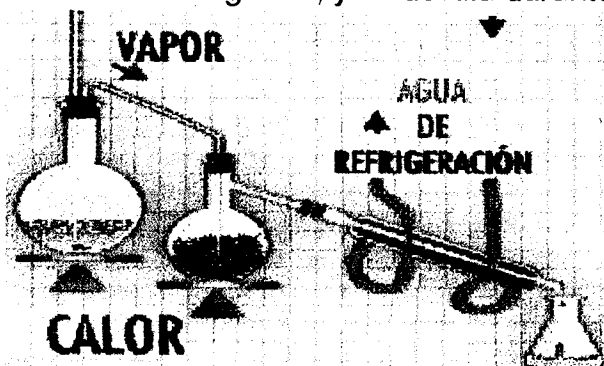


figura 3. se muestra la manera en que se monta un equipo para realizar una destilación por arrastre de vapor.⁵⁵

⁵³ Revista Cubana Plant Med 1998. 3(1)

⁵⁴ International Journal of Food Microbiology. 2002, Vol.79

4.- EXTRACCIÓN

El destilado se pone en un embudo de separación y se deja reposar 24h para que se separe el aceite del agua, el extracto acuoso se lava 3 veces con acetato de etilo en proporción a la cantidad obtenida del destilado, se juntan las fases orgánicas y se le agrega sulfato de sodio anhidro para secar en una cantidad del 3% respecto a la cantidad obtenida, se filtra y se pone en un recipiente para sus pruebas posteriores.⁵⁶

5.- PRUEBAS COLORIDAS

1. En un tubo de ensaye se coloca 1 ml de aceite esencial y se le agrega 0.5 ml de H_2SO_4 , se agita durante 2 minutos y se observa. Si se forma un color anaranjado o rojo indica la presencia de timol, por lo tanto la prueba es positiva.
2. En un tubo de ensaye seco se ponen 5 gotas de aceite esencial, y se le agregan 0.3 ml de disulfuro de carbono y 100 mg de KOH triturado agitándose durante 5 minutos. La prueba es positiva si aparece una coloración o un precipitado amarillo y se debe a la presencia de xantatos. Si no hay reductores se añaden 2 gotas de molibdato de amonio al 1%. Se acidula la mezcla con H_2SO_4 , se enfría en baño de hielo y se agregan 2 gotas de cloroformo, se agita la mezcla y se deja estratificar. Debe observarse un color violeta en la capa clorofórmica.⁵⁷

6.- CROMATOGRAFÍA EN PAPEL

Esta técnica es una forma de cromatografía de adsorción que consiste en un adsorbente sólido (fase estacionaria), alúmina o gel de sílice, distribuido uniformemente sobre una superficie plana, generalmente vidrio. Este adsorbente presenta cierta capilaridad dada por las partículas finamente divididas y que permite que la fase móvil pase entre las partículas del adsorbente.

La separación ocurre cuando uno de los componentes de la mezcla es retenido en mayor grado por la fase estacionaria que los otros componentes. La fase estacionaria puede modificarse de acuerdo a las necesidades de separación aunque el factor más importante para que esta se lleve en forma adecuada es la fase móvil elegida.

⁵⁵ <http://www.figmay.com.ar/arrastrevapor.htm>

⁵⁶ J. Agric. Food Chem. 2003, Vol. 51

⁵⁷ Domínguez Xorge. "Métodos de Investigación Fitoquímica"

El Rf (relación al frente) representa la distancia recorrida por el compuesto, en relación a la distancia recorrida por la fase móvil por lo que su valor siempre oscila entre 0 y 1.

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por un compuesto desde el origen}}{\text{Distancia recorrida por el frente de la fase móvil.}}$$

La cámara para la cromatografía se emplea en condiciones de saturación para lo cual se forra interiormente con papel filtro y se vacía dentro de éste suficiente fase móvil para humedecer el papel y que quede en el fondo una capa de disolvente de 0.5cm a 1cm, la cámara se cierra herméticamente para evitar la evaporación de la fase y se mantiene en estas condiciones de 45 min. a 1 hora antes de utilizarse.

La aplicación se realiza con micropipeta o microjeringa en forma de una mancha compacta no mayor de 6 mm de diámetro o en forma de barda no más de 2cm de largo y no más de 6 mm de ancho.

Deben aplicarse separadas para que no se junten entre si. Se dejan secar y la placa se introduce en la cámara se tapa herméticamente y se deja a temperatura ambiente hasta que la fase móvil ascienda la distancia deseada. Se saca la placa y se deja evaporar el disolvente que la impregna. Y se revela con lámpara ultra violeta.⁵⁸

7.- DENSIDAD RELATIVA

Se basa en la relación que existe entre el peso de un volumen de una sustancia y el peso del mismo volumen de agua, a una temperatura dada. Se pesa el picnómetro vacío y seco en una balanza analítica, registrando el peso en gramos hasta la cuarta cifra decimal. Llenar el picnómetro con agua destilada recientemente hervida y enfriada a 20° C y pesarlo. Calcular el peso del agua contenida en el picnómetro con la siguiente fórmula: $C = B - A$; en donde: B es el peso del picnómetro lleno con agua, A es el peso del picnómetro vacío en gramos; C es el peso del agua en gramos.

La densidad relativa de la muestra se calcula mediante las siguiente fórmula: $DR = (D/C)$; en donde, DR es la densidad relativa de la muestra; D es el peso de la muestra en gramos; C es el peso del agua en gramos.⁵⁹

⁵⁸ J Liq. Chrom. & Rel. Technol. 2001 Vol.24

⁵⁹ Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 7ª edición

8.- ROTACIÓN ÓPTICA

Se utiliza un polarímetro fotoeléctrico que tenga una exactitud aproximada de ± 0.2 por ciento. La fuente de luz adecuada debe ser regulada y alineada respecto al sistema óptico. Los tubos del polarímetro se llenan evitando la formación y desprendimiento de burbujas de aire, que interfieren el paso del rayo de luz. Las lecturas son tomadas utilizando un tubo de 2 dm.

Cuando la sustancia es un líquido, se ajusta la temperatura a 25° C. Efectuar, cuando menos, cinco lecturas de la rotación observada. Para obtener la rotación observada corregida, ajustar el aparato a cero, promediar las lecturas de la prueba en blanco y sustraer de este el promedio de las lecturas de la rotación observada, si las dos cifras son del mismo signo, o agregarlo si las cifras tienen signo opuesto.

Calcular la rotación específica de una sustancia líquida con la fórmula siguiente:

$$[\alpha] = a/Ld$$

en donde:

a: es la rotación observada corregida, en grados, a la temperatura t, a la longitud de onda λ ; L: es la longitud del tubo del polarímetro en decímetros; d: es la densidad del líquido, a la temperatura de observación.⁶⁰

9.- ESPECTROFOTOMETRIA INFRARROJA

Se basa en la medición de la absorción de luz producida por la interacción de los grupos funcionales con energía radiante en el rango infrarrojo en función de la longitud de onda.

Muestras líquidas: colocar una gota de líquido entre 2 placas de cloruro de sodio, formando una película delgada o llenar directamente una celda adecuada con la muestra, evitando que queden burbujas.

Muestras sólidas: técnica de la pastilla de bromuro de potasio: moler en mortero de ágata de 1.0 a 3.0 mg de la muestra hasta polvo muy fino. Agregar 300 a 400 mg de bromuro de potasio (previamente seco 5 horas a 105° C), moler y mezclar. Colocar correctamente el polvo homogéneo en una matriz cilíndrica de acero inoxidable y comprimir con la prensa hidráulica con vacío durante 3 a 4 minutos.

La presión requerida normalmente para la preparación de la pastilla es de 1400 a 1762 Kg/cm².

⁶⁰ Julio F. "Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos"

10.- ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis

Consiste en la medida de la absorción, por las diferentes sustancias, de una radiación electromagnética de longitudes de onda situadas en una banda definida y estrecha, esencialmente monocromática. La banda se extiende desde las cortas longitudes de onda de la zona ultravioleta (190-380 nm) hasta la zona visible (380-780 nm) del espectro.

La muestra se prepara tomando 1 ml de aceite esencial y se deposita en un tubo de ensaye y se le agregan 9 ml de etanol, agitando el tubo hasta homogenizar la solución. Se realizan diferentes diluciones (1:10) para hacer la curva de calibración y se utiliza como blanco etanol al 95%. Se toma la absorbancia de las muestras en un rango de longitud de onda de 220-320.⁶⁰

11.- ANALISIS MICROBIOLÓGICO

La determinación microbiológica se lleva a cabo mediante el método de cilindro en placa: es la medida de un halo de inhibición en un medio de agar nutritivo inoculado, para cuantificar la actividad antibacteriana de una sustancia, es un método fisicoquímico en el cual se utiliza un microorganismo como indicador.

La determinación de la potencia por el método de difusión consiste en colocar en cajas petri estériles, una capa de 21 ml de medio base de agar nutriente (adecuado para favorecer el desarrollo de los microorganismos). Sembrar en cada caja el microorganismo deseado.

Sobre el agar deben de colocarse en círculo con un radio de separación de 2.8 cm los discos con los volúmenes de cada una de las muestras a analizar. Las cajas se tapan y se incuban a la temperatura óptima para el desarrollo de los microorganismos, durante un tiempo de 16 a 18 horas, y se miden los halos de inhibición.^{61 62}

Preparación del agar utilizado

AGAR MAC CONKEY: suspender 50g del medio deshidratado en 1litro de agua destilada, mezclar bien hasta que se obtenga una suspensión uniforme. Dejar reposar de 10 a 15 minutos. Calentar suavemente agitando frecuentemente y dejar hervir durante 1 minuto. Esterilizar en autoclave a 121° C (15 libras de presión) durante 15 minutos.

⁶¹ J. Agric. Food. Chem. 2001, vol.49, 4168.

⁶² Revista Cubana Farmacología 1997;30(1)

AGAR DE DEXTROSA SABOURAUD: se suspenden 65g del polvo en 1 litro de agua destilada, se mezcla bien hasta que se obtenga una suspensión uniforme, se calienta agitando frecuentemente y se hierve durante 1 minuto. Se esteriliza de 118° C a 121° C (no más de 15 libras de presión) durante 15 minutos.

AGAR SAL MANITOL: se suspenden 111g del polvo en 1 litro de agua destilada, se mezcla bien hasta que se obtenga una suspensión uniforme, se calienta agitando frecuentemente y se hierve durante 1 minuto. Se esteriliza a 121° C (15 libras de presión) durante 15 minutos.

Preparación de los discos

Se recortan círculos de papel filtro, con un diámetro de 2cm aproximadamente, los cuales se depositan en una caja petri y se envuelve para meterlos a esterilizar, en autoclave a 118° C durante 15 minutos.

Se colocan cuatro discos sobre la caja petri con medio cultivo y se les aplica la muestra determinada, a cada disco de papel filtro se le agregaron 1.5 ml de muestra distribuido de la siguiente manera: 5 gotas cada 25 minutos 5 veces. Para que el papel pudiera absorber todo.

Después se meten a incubar a 35° C durante 24 horas, excepto para el microorganismo *Candida albicans* y *Candida krusei* que se requirió de 48 a 72 horas para su crecimiento.⁶³

12.-ANÁLISIS IN VIVO

Se utilizan 36 ratones hembra con un peso entre 20-25g. los animales son distribuidos al azar en 3 grupos de experimento cada uno con 12.

A todos los animales se les rasura la parte baja de la espalda abarcando 5 cm de diámetro aproximadamente; y se les aplica tratamiento tópico del extracto, durante 10 días seguidos como mínimo.

La aplicación consiste en frotar sobre la piel del ratón un isopo previamente impregnado del tratamiento, este procedimiento se realiza por lo menos 3 veces seguidas.

Cada uno de los animales tendrá su control, esto se realiza partiendo la piel rasurada en lado izquierdo y lado derecho. Y aplicar del lado izquierdo el solvente y lado derecho el tratamiento tópico.

Durante los días de tratamiento se mantendrán en observación cada grupo de ratones y se anotaran las características observables.⁶⁴

⁶³ J of Applied Microbiology 2000 Vol. 88

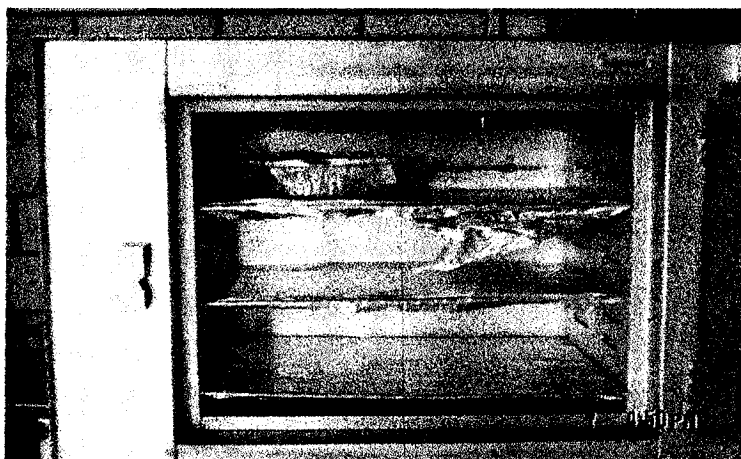
⁶⁴ Rev. Cubana Plant Med 2001. Vol.1.16

ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

1.- DETERMINACIÓN DE MATERIA SECA Y HUMEDAD

La determinación de materia seca y humedad se basa en la evaporación total del agua mediante calor. Se considera que la pérdida de peso es agua. El secado de la muestra deberá hacerse entre 55-60° C. durante 24 horas.

SECADO DEL ORÉGANO



Fotografía 1. muestra la manera en que se debe poner a secar el orégano en la estufa a 60° C.

Procedimiento:

- 1.- moler o cortar en trozos pequeños el orégano.
- 2.- pesar una charola vacía y anotar el peso.
- 3.- pesar aproximadamente 200 g de orégano y anotar el peso exacto.
- 4.- poner a deshidratar el orégano en la estufa a 60° C, durante 24 h.
- 5.- sacar la muestra (orégano) de la estufa y ponerla a enfriar dentro de un desecador aproximadamente 20 minutos.
- 6.- pesarla en balanza que utilizó al principio y anotar el peso exacto.
- 7.- moler el orégano si es necesario, y guardarlo en bolsa de plástico.

Cálculos

Peso de la charola con el orégano húmedo	247.2 g
Peso de la charola vacía	- 34.6 g
Peso del orégano húmedo	212.6 g

Peso de la charola con orégano húmedo	— 247.2 g
Peso de la charola con orégano seco	<u>133.9 g</u>
Peso de agua evaporada	113.3 g

$$\% \text{ de humedad del orégano} = \frac{\text{peso del agua evaporada} \times 100}{\text{peso del orégano húmedo}}$$

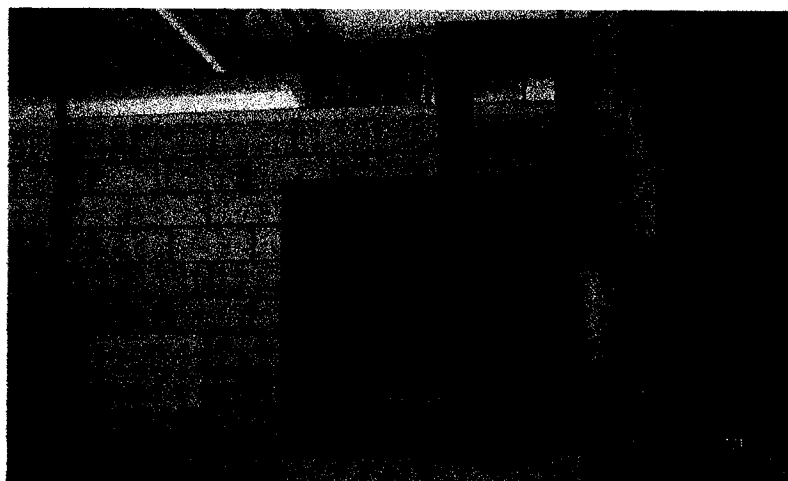
$$\% \text{ humedad} = \frac{113.3 \text{ g}}{212.6 \text{ g}} = 53.29 \%$$

$$\% \text{ materia seca} = 100 - \% \text{ humedad}$$
$$100 - 53.29 = 46.70 \%$$

2.-DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES Y MATERIA ORGÁNICA

Se basa en someter la muestra de alimento a combustión entre 550-600° C. así la materia orgánica es oxidada y las cenizas resultantes son consideradas la parte mineral del alimento o muestra analizada.

COMBUSTIÓN DEL OREGANO



Fotografía 2. muestra la mufla donde se coloca la muestra de orégano para incinerarlo a una temperatura de 600 ° C.

Procedimiento:

- 1.- sacar los crisoles de la estufa con pinzas. Que se encuentran a peso constante.
- 2.- dejar enfriar el crisol en un desecador durante 20 minutos. Pesarse el crisol en balanza analítica y anotar todas las cifras.
- 3.- pesar 1 g de orégano molido y seco en el crisol y anotar el peso.
- 4.- poner a incinerar en la mufla entre 550-600° C, durante 2 h y media.
- 5.- sacar el crisol de la mufla, enfriarlo en desecador durante 20 minutos.
- 6.- pesar el crisol con las cenizas y anotar el peso.

Cálculos

MUESTRA 1

Peso del crisol con orégano	—	32.6392 g
Peso del crisol vacío		<u>31.6114 g</u>
Peso del orégano		1.0278 g

Peso del crisol con cenizas		31.7077 g
Peso del crisol vacío	—	<u>31.6114 g</u>
Peso de las cenizas		0.0963 g

$$\% \text{ de cenizas en base seca} = \frac{\text{peso de las cenizas} \times 100}{\text{peso del orégano}}$$

$$\frac{0.0963 \times 100}{1.0278} = \mathbf{9.36 \% \text{ cenizas base seca}}$$

$$\% \text{ de cenizas base húmeda} = \frac{\% \text{ cenizas base seca} \times \% \text{ materia seca}}{100}$$

$$\frac{9.36 \times 46.70}{100} = \mathbf{4.37 \% \text{ cenizas base húmeda}}$$

$$\% \text{ de materia orgánica} = 100 - \% \text{ cenizas base seca}$$

$$100 - 9.36 = \mathbf{90.64 \% \text{ de materia orgánica}}$$

MUESTRA 2

Peso del crisol con orégano	—	32.1399 g
Peso del crisol vacío		<u>31.1326 g</u>
Peso del orégano		1.0073 g

Peso del crisol con cenizas		31.2273 g
Peso del crisol vacío	—	<u>31.1326 g</u>
Peso de las cenizas		0.0947 g

% de cenizas en base seca = $\frac{\text{peso de las cenizas} \times 100}{\text{peso del orégano}}$

$$\frac{0.0947 \times 100}{1.0073} = \mathbf{9.40 \% \text{ cenizas base seca}}$$

% de cenizas base húmeda = $\frac{\% \text{ cenizas base seca} \times \% \text{ materia seca}}{100}$

$$\frac{9.40 \times 46.70}{100} = \mathbf{4.39 \% \text{ cenizas base húmeda}}$$

% de materia orgánica = 100 - % cenizas base seca

$$100 - 9.40 = \mathbf{90.59 \% \text{ de materia orgánica}}$$

3.- DETERMINACIÓN DEL EXTRACTO ETÉREO O GRASA CRUDA

Este método se basa en la extracción continua mediante calor de todas las sustancias solubles en éter de petróleo provenientes de una muestra seca. La razón por la que la muestra debe estar seca es que el azeótropo* éter-agua disuelve compuestos polares, principalmente carbohidratos solubles, los cuales al extraerse alteran el valor del extracto etéreo.

El extracto etéreo está formado principalmente por aceites y grasas, aunque también incluye otro tipo de sustancias liposolubles como vitaminas, esteroides, pigmentos, ácidos orgánicos, etc. El extracto etéreo obtenido se calienta a 100° C durante 15 minutos para eliminar los compuestos volátiles.

* un azeótropo es una mezcla de dos o más solventes en determinada proporción, en la que el solvente puro y la mezcla destilan a la misma temperatura.

IDENTIFICACIÓN DE GRASA EN LA MUESTRA DE ORÉGANO



Fotografía 3. aparato Goldfish para determinación de la grasa cruda del orégano.

Procedimiento:

- 1.- pesar en papel filtro 2 g de orégano molido y seco en balanza analítica anotando todas las cifras.
- 2.- hacer un paquete doblando cuidadosamente el papel filtro de tal manera que no se salga nada.
- 3.- pesar los vasos para grasa que se encuentran dentro del desecador, tomándolos con pinzas.
- 4.- colocar el paquete de orégano dentro del cartucho. Y colocar el cartucho dentro del porta cartucho, manejar el porta cartucho con papel.
- 5.- colocar el porta cartucho en la abrazadera del aparato Goldfish.
- 6.- añadir en el vaso para grasa éter de petróleo hasta aproximadamente un cuarto de su capacidad. Colocar el vaso en el aparato.
- 7.- una vez que hierva el éter dejar extraer durante 4 h.
- 8.- retirar el porta cartucho y poner en su lugar el dedal recuperador de éter.
- 9.- colocar el vaso con la grasa en el horno de 100° C durante 15 minutos. Después ponerlo a enfriar en un desecador durante 20 minutos.
- 10.- pesar el vaso y anotar el peso.

Cálculos

MUESTRA 1

Peso del vaso con grasa — 56.1130 g
Peso del vaso vacío 56.0665 g
Peso de la grasa **0.0465 g**

% de grasa cruda base seca = $\frac{\text{peso de la grasa} \times 100}{\text{peso de la muestra}}$

$0.0465 \times 100 / 2.0187\text{g} = \mathbf{2.3034 \% \text{ grasa cruda base seca}}$

% grasa cruda base húmeda = $\frac{\% \text{grasa base seca} \times \% \text{ de materia seca}}{100}$

$\frac{2.3034 \times 46.70}{100} = \mathbf{1.07571 \% \text{ grasa base húmeda}}$

MUESTRA 2

Peso del vaso con grasa — 64.8520 g
Peso del vaso vacío 64.8010 g
Peso de la grasa **0.051 g**

% de grasa cruda base seca = $\frac{\text{peso de la grasa} \times 100}{\text{peso de la muestra}}$

$0.051 \times 100 / 2.1241\text{g} = \mathbf{2.4010 \% \text{ grasa cruda base seca}}$

% grasa cruda base húmeda = $\frac{\% \text{grasa base seca} \times \% \text{ de materia seca}}{100}$

$\frac{2.4010 \times 46.70}{100} = \mathbf{1.1212 \% \text{ grasa base húmeda}}$

4.- DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL

Este método está basado en las siguientes reacciones: la primera es una reacción de oxidación-reducción mediante un oxidante fuerte, el ácido sulfúrico concentrado. A esta reacción se le llama digestión.

Los compuestos que contienen carbono son oxidados a CO_2 y H_2O por el H_2SO_4 , el cual se reduce a SO_2 , compuesto que reduce el nitrógeno proveniente de compuestos orgánicos e inorgánicos a NH_3 , este en presencia de H_2SO_4 se convierte en $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. esta reacción se efectúa en presencia de un catalizador de sulfato de sodio, compuesto que se emplea para incrementar el punto de ebullición del sulfúrico y el sulfato de cobre que acelera la reacción.

Obtenido el sulfato de amonio se hace reaccionar con una solución concentrada de NaOH para formar el NH_3 , que es un gas que se destila por arrastre de vapor y se recibe en una solución de ácido bórico. Por cada átomo de nitrógeno se forma un ión borato que puede neutralizarse con una solución valorada de HCl y así de forma indirecta se conoce el contenido de nitrógeno. Cuando todo el ión borato ha sido neutralizado se termina la reacción cuyo punto final es señalado por un indicador.

Para estimar el contenido de proteína en base al contenido de nitrógeno, se multiplica este último por un factor llamado factor de nitrógeno, el cual se calcula en base al contenido de nitrógeno en las proteínas. En la mayoría de las proteínas vegetales el promedio de nitrógeno es de un 16%, esto significa que cada unidad de nitrógeno está contenida en 6.25 unidades de proteína.

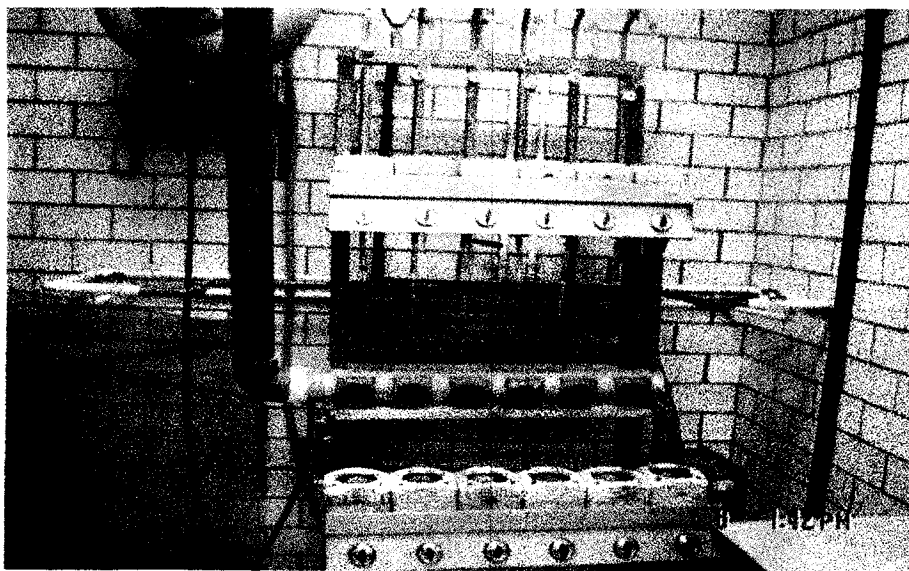
El contenido de proteína calculado de esta manera no se puede asegurarse que provenga exclusivamente de proteínas, razón por la cual el resultado obtenido se le llama proteína cruda.

Procedimiento:

- 1.- pesar 1 g de orégano aproximadamente en balanza analítica y envolver bien con el papel.
- 2.- depositar el paquete dentro de un matraz kjeldhal.
- 3.- adicionar mezcla catalizadora (una cucharita) utilizando un embudo de papel a todo lo largo del cuello del matraz.
- 4.- agregar 25ml de H_2SO_4 concentrado y 5 perlas de vidrio.
- 5.- colocar el matraz kjeldhal en la parrilla del digestor. Poner a funcionar el extractor y encender las parrillas de calentamiento a 4, posteriormente a 5.5 y finalmente a 6.5 y girar el matraz de vez en cuando. La digestión se termina cuando la solución adquiere un color verde transparente brillante.

- 6.- colocar 30ml de ácido bórico al 4% en un matraz erlenmeyer de 500ml, más 3 gotas de indicador de proteínas.
- 7.- apagar las parrillas de calentamiento y pasar el matraz a la campana de extracción con los guantes, tapando la boca del matraz con el guante para no respirar los humos ya que son tóxicos. Deje enfriar el matraz sin dejar que el residuo solidifique.
- 8.- adicione lentamente por las paredes del matraz 300ml de agua destilada dentro de la campana dejándolo enfriar.
- 9.- adicione al matraz kjeldhal gránulos de zinc. Y adicione 100ml de NaOH al 33.3% de tal manera que se formen 2 capas. No agitar se tiene que formar una capa azul fuerte, sino cambia adicionar 50ml más de NaOH.
- 10.- conectar el matraz kjeldhal al refrigerante del destilador y agitar con movimientos circulares sin destaparlo.
- 11.- si a los 5 minutos de haber empezado a hervir la solución, el ácido bórico no vira a azul, enfriar el kjeldhal y agregar 25ml más de NaOH.
- 12.- destilar aproximadamente 250ml de la solución.
- 13.- titular el destilado con solución valorada de ácido clorhídrico 0.1N hasta que la solución quede ligeramente rosa.

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS DEL ORÉGANO



Fotografía 4. aparato Soxhlet donde se lleva a cabo la digestión de la muestra de orégano para la determinación de nitrógeno.

Cálculos

MUESTRA 1

$$\% \text{ de nitrógeno} = \frac{(V) \times (N) \times (\text{meq. N}) \times 100}{\text{peso de la muestra}}$$

$$\% \text{ de nitrógeno} = \frac{(15.2 \text{ ml}) (0.106222) (0.014) \times 100}{1.0608} = \mathbf{2.130 \% N}$$

$$\% \text{ proteína cruda base seca} = \frac{(V) \times (N) \times (\text{meq. N}) \times (\text{Factor}) \times 100}{\text{peso de la muestra en gramos}}$$

$$\% \text{ proteína} = \frac{(15.2 \text{ ml}) (0.106222) (0.014) (6.25) \times 100}{1.0608 \text{ g}} = \mathbf{13.317 \% \text{ proteína seca}}$$

$$\% \text{ proteína cruda base húmeda} = \frac{(\% \text{ proteína cruda base seca}) \times (\% \text{ materia seca})}{100}$$

$$\% \text{ proteína} = \frac{(13.317) (46.70)}{100} = \mathbf{6.219 \% \text{ proteína húmeda}}$$

MUESTRA 2

$$\% \text{ de nitrógeno} = \frac{(V) \times (N) \times (\text{meq. N}) \times 100}{\text{peso de la muestra}}$$

$$\% \text{ de nitrógeno} = \frac{(15 \text{ ml}) (0.106222) (0.014) \times 100}{1.0548 \text{ g}} = \mathbf{2.114 \% N}$$

$$\% \text{ proteína cruda base seca} = \frac{(V) \times (N) \times (\text{meq. N}) \times (\text{Factor}) \times 100}{\text{peso de la muestra en gramos}}$$

$$\% \text{ proteína} = \frac{(15 \text{ ml}) (0.106222) (0.014) (6.25) \times 100}{1.0548 \text{ g}} = \mathbf{13.217 \% \text{ proteína seca}}$$

$$\% \text{ proteína cruda base húmeda} = \frac{(\% \text{ proteína cruda base seca}) \times (\% \text{ materia seca})}{100}$$

$$\% \text{ proteína} = \frac{(13.217) (46.70)}{100} = \mathbf{6.172 \% \text{ proteína húmeda}}$$

5.- DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA

La fibra cruda se considera la porción indigerible de los alimentos. Esta constituida principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina.

La celulosa y la hemicelulosa son carbohidratos estructurales que se encuentran en las paredes celulares de los vegetales.

La lignina es un polímero natural que se forma a partir de la repetición de tres unidades monoméricas que son los alcoholes aromáticos: sinapil, coniferil y p-cumaril.

El método consiste en someter la muestras seca y desengrasada a una primera digestión ácida y posteriormente a una segunda digestión alcalina. La materia orgánica del residuo obtenido se considera la fibra cruda.

Los resultados obtenidos por este método son menores que los reales ya que en la digestión ácida se disuelve parte de la hemicelulosa y en la alcalina parte de la lignina. Este es uno de los principales errores en este método.

DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA EN LA MUESTRA DE ORÉGANO



Fotografía 5. aparato digestor de fibra; donde se realizó la 1) digestión ácida y la 2) digestión alcalina de la muestra de orégano.

Procedimiento:

DIGESTIÓN ÁCIDA

- 1.- pesar 1 g de orégano desengrasado y seco en balanza analítica. Y colocarla en el vaso digestor berzelius.
- 2.- agregar 200ml de H_2SO_4 al 0.255 N colocar el vaso en el digestor de fibra.
- 3.- calentar al mismo tiempo 300ml de agua de la llave para lavar las muestras.
- 4.- dejar hervir la solución durante media hora a partir del inicio de la ebullición.
- 5.- retirar el vaso del aparato y filtrar en tela de algodón con ayuda de un embudo buchner y bomba al vacío. Enjuague su vaso con el agua caliente hasta que utilice los 300ml.
- 6.- coloque en el vaso berzelius nuevamente la muestra que quedo en la tela de algodón y con piseta que contiene NaOH al 0.313 N baje los restos de la tela hasta dejarla limpia.

DIGESTIÓN ALCALINA

- 1.- agregar a la muestra 200ml de NaOH al 0.313 N, colocar el vaso en el aparato digestor de fibra.
- 2.- cuando le empiecen a salir burbujas a la solución bajar el termostato a 2.5 para que no se derrame.
- 3.- dejar hervir la solución durante media hora.
- 4.- retire el vaso del aparato y filtre en tela de algodón con embudo buchner y vacío y lave con agua caliente hasta gastar 300ml, deseche las aguas del kitasato.
- 5.- saque la tela con muestra del embudo y doblarla a la mitad dos veces y colocarla en una charola para meterla a la estufa a una temperatura de 60° C durante toda la noche.
- 6.- saque los crisoles que se van a utilizar del horno y ponerlos a enfriar en desecador durante 20 minutos.
- 7.- separe su muestra de la tela de algodón y ponerla en el crisol, y pesar el crisol en balanza analítica.
- 8.- ponga el crisol en la mufla a 550-600° C durante 2 horas. Posteriormente enfríe en desecador durante 20 minutos.
- 9.- pese el crisol de nuevo y anote todos los dígitos.

Cálculos

MUESTRA 1

Peso del crisol con muestra antes de incinerar	31.2266 g
Peso del crisol después de incinerar	— 31.0921 g
Peso de la fibra	0.1345 g

$$\% \text{ fibra cruda seca y desengrasada} = \frac{\text{peso de la fibra} \times 100}{\text{peso de la muestra}}$$

$$\% \text{FCsyd} = \frac{0.1345 \text{ g} \times 100}{1.1012 \text{ g}} = \mathbf{12.2139}$$

$$\bar{X} \text{ de } \% \text{ grasa cruda base seca} = 2.3522$$

$$\% \text{ fibra cruda base seca} = \frac{\% \text{Fcsyd} \times (100 - \% \text{ grasa base seca})}{100}$$

$$\% \text{ fibra} = \frac{12.2139 \times (100 - 2.3522)}{100} = \mathbf{11.9266 \% \text{ fibra base seca}}$$

$$\% \text{ fibra cruda base húmeda} = \frac{(\% \text{ fibra cruda base seca}) \times (\% \text{ materia seca})}{100}$$

$$\% \text{ fibra húmeda} = \frac{(11.9266) \times (46.70)}{100} = \mathbf{5.5697 \% \text{ fibra base húmeda}}$$

MUESTRA 2

Peso del crisol con muestra antes de incinerar	30.0283 g
Peso del crisol después de incinerar	— 29.9019 g
Peso de la fibra	0.1264 g

$$\% \text{ fibra cruda seca y desengrasada} = \frac{\text{peso de la fibra} \times 100}{\text{peso de la muestra}}$$

$$\% \text{FCsyd} = \frac{0.1264 \text{ g} \times 100}{1.0517 \text{ g}} = \mathbf{12.0186 \%}$$

$$\% \text{ fibra cruda base seca} = \frac{\% \text{Fcsyd} \times (100 - \% \text{ grasa base seca})}{100}$$

$$\% \text{ fibra} = \frac{12.0186 \times (100 - 2.3522)}{100} = \mathbf{11.7358 \% \text{ fibra base seca}}$$

$$\% \text{ fibra cruda base húmeda} = \frac{(\% \text{ fibra cruda base seca}) \times (\% \text{ materia seca})}{100}$$

$$\% \text{ fibra húmeda} = \frac{(11.7358) \times (46.70)}{100} = \mathbf{5.4806 \% \text{ fibra base húmeda}}$$

6.- DETERMINACIÓN DE EXTRACTO ETEREO LIBRE DE NITRÓGENO

El extracto libre de nitrógeno (ELN) mide el contenido de carbohidratos no estructurales presente en el contenido celular, estos son monosacáridos, disacáridos, trisacáridos y almidones.

El extracto libre de nitrógeno se mide a través de un cálculo matemático.

$$\% \text{ ELN base seca} = 100 - (\% \text{ PC} + \% \text{ GC} + \% \text{ C}) \text{ base seca todos}$$

$$\% \text{ ELN base húmeda} = \frac{(\% \text{ ELN base seca}) \times (\% \text{ materia seca})}{100}$$

%PC:% de proteína cruda base seca

%GC:% de grasa cruda base seca

%FC:% de fibra cruda base seca

%C:% de cenizas base seca

Cálculos

MUESTRA 1

$$\% \text{ ELN base seca} = 100 - (\% \text{ PC} + \% \text{ GC} + \% \text{ C}) \text{ base seca todos}$$

$$100 - (13.317 + 2.3522 + 9.36) = \mathbf{74.97 \% \text{ ELN base seca}}$$

$$\% \text{ ELN base húmeda} = \frac{(\% \text{ ELN base seca}) \times (\% \text{ materia seca})}{100}$$

$$\frac{74.97 \times 46.70}{100} = \mathbf{35.01 \% \text{ ELN base húmeda}}$$

MUESTRA 2

$$\% \text{ ELN base seca} = 100 - (\% \text{ PC} + \% \text{ GC} + \% \text{ C}) \text{ base seca todos}$$

$$100 - (13.217 + 2.3522 + 9.36) = \mathbf{75.07 \% \text{ ELN base seca}}$$

$$\% \text{ ELN base húmeda} = \frac{(\% \text{ ELN base seca}) \times (\% \text{ materia seca})}{100}$$

$$\frac{75.07 \times 46.70}{100} = \mathbf{35.05 \% \text{ ELN base húmeda}}$$

RESULTADOS

RESULTADOS DEL ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL ORÉGANO

Análisis	Porcentaje (%)
Humedad	53.29
Materia seca	46.70
Cenizas base seca	9.38
Cenizas base húmeda	4.38
Materia orgánica	90.61
Grasa cruda base seca	2.35
Grasa cruda base húmeda	1.09
Nitrógeno	2.12
Proteína húmeda	6.19
Proteína seca	13.2
Fibra base seca	6.83
Fibra base húmeda	5.52
ELN base seca	75.02
ELN base húmeda	35.03

Tabla 6. muestra los porcentajes obtenidos después de realizar las pruebas bromatológicas al orégano (*Origanum vulgare*). Realizado en el laboratorio de bromatología de la UAM-X. ELN (extracto libre de nitrógeno).

EXPERIMENTO 1

Destilación por arrastre de vapor: se realizó durante 2 horas con 5g de orégano (mercado) y 250 ml de agua destilada, obteniéndose 35 ml de extracto con un pH de 8.

Extracción: se obtuvieron 1.5 ml del aceite esencial y de la extracción con acetato de etilo se obtuvieron 22 ml de extracto.

Pruebas coloridas: en la muestra del aceite esencial fue positiva la presencia de timol, y en la muestra de la extracción el cambio de color fue muy ligero. La segunda prueba de color en la muestra del aceite fue el cambio muy tenue y en la de la extracción fue negativa.

Cromatografía en papel: en ninguna muestra se apreció una mancha significativa.

Densidad relativa: se le realizó a la muestra de la extracción. El peso del picnómetro vacío seco fue de 21.2209g, el peso del picnómetro con agua fue de 47.3132g, el peso del picnómetro con la muestra fue de 47.1036g, por lo que la densidad de la muestra fue de 0.9919 g/ml.

Rotación óptica: la longitud del tubo del polarímetro fue de 200 mm. Las lecturas obtenidas fueron las siguientes: lado derecho: 12.435, 17.551, 17.548. del lado izquierdo: 8.525, 12.536, 15.545; el promedio del lado derecho fue del agua 16.4126 y de la muestra fue de 15.8446. el promedio del lado izquierdo fue del agua 15.749 y de la muestra 12.202. y el resultado fue de 0.01° C .

PUNTO DE FUSIÓN: se evaporó la muestra a sequedad obteniendo 0.52g de polvo blanco el cual tiene un punto de fusión mayor a 280° C .

Espectrofotometría infrarroja: se le realizó esta prueba a través de la elaboración de tableta de KBr, manifestando que la muestra se encuentra contaminada. La muestra se aprecia de color morado en la figura 4.

ESPECTROFOTOMETRÍA INFRARROJA DE DIFERENTES MUESTRAS DE ORÉGANO

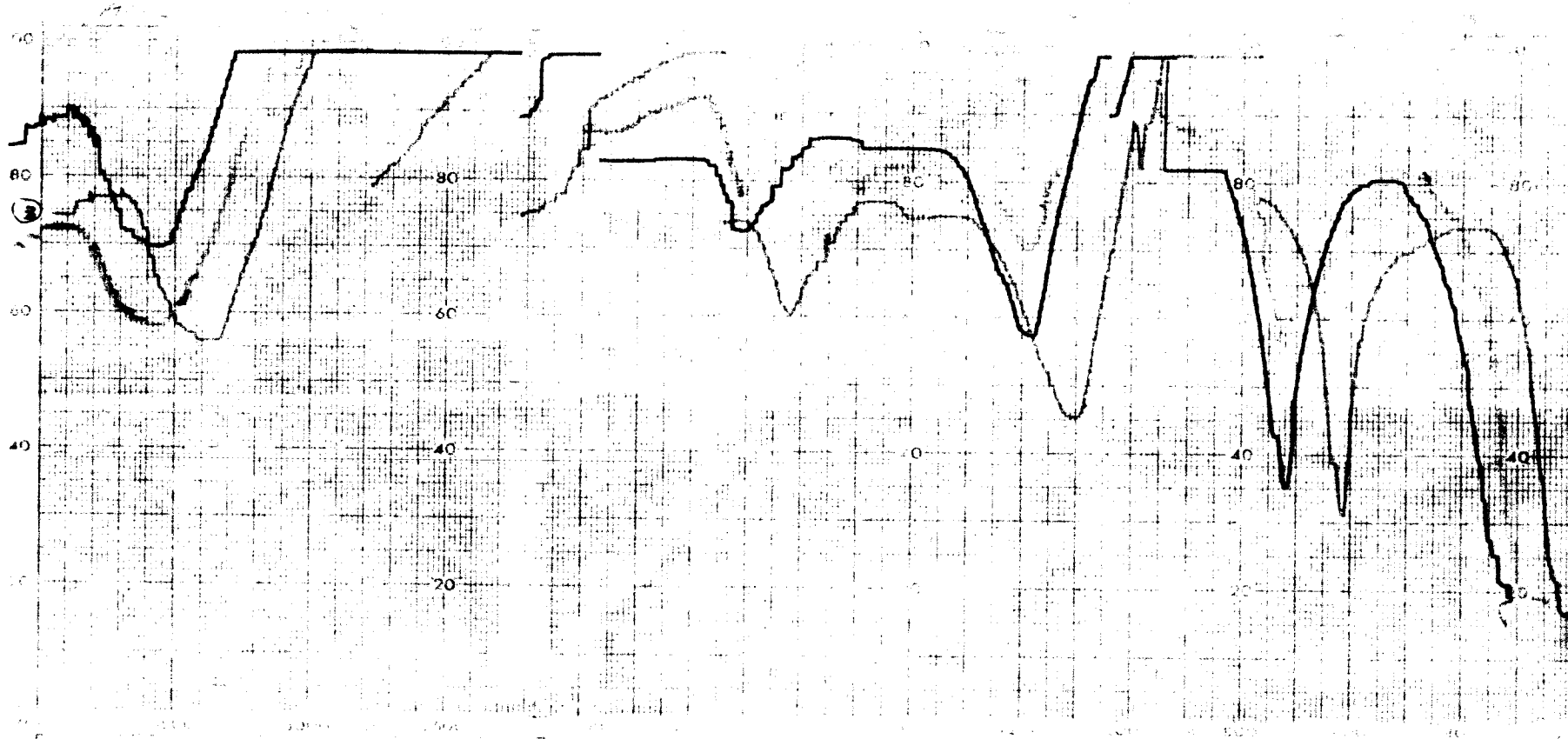


figura 4. la línea en morado pertenece al experimento 1, la azul al experimento 5 y la verde al experimento 3. se puede observar que las muestras dan los mismos picos a la misma longitud de onda, apreciándose a la longitud 3500 grupos OH, en una longitud de 1600 y 1200 se observan anillos aromáticos, en la longitud de onda de 600 hay enlaces C-H. este infrarrojo nos muestra la presencia de timol pero en bajas concentraciones.

EXPERIMENTO 2

Destilación por arrastre de vapor: se realizó durante 3 horas con 5.15g de orégano (Marca escosa) y 250 ml de agua destilada, obteniéndose 70 ml de extracto con un pH de 6.

Extracción: se obtuvieron 0.6 ml del aceite esencial y de la extracción con acetato de etilo se obtuvieron 65 ml de extracto.

Pruebas coloridas: en la muestra del aceite esencial fue negativa la presencia de timol, y en la muestra de la extracción el cambio de color fue muy ligero. La segunda prueba de color para las dos muestras fue negativa.

Cromatografía en papel: en ninguna muestra se apreció una mancha significativa.

EXPERIMENTO 3

Destilación por arrastre de vapor: se realizó durante 4 horas con 30g de orégano (mercado) y 250 ml de agua destilada, obteniéndose 35 ml con un pH de 7.

Extracción: después de realizar la destilación no se obtuvo nada del aceite esencial, por lo que se realizó la extracción con acetato de etilo y se obtuvieron 30 ml de extracto.

Pruebas coloridas: fue positiva la presencia de timol, la segunda prueba de color también fue positiva.

Cromatografía en papel: en la placa de celulosa no dio nada, en la placa de óxido de aluminio se obtuvieron 2 manchas con un Rf de 0.57cm y 0.51cm.

Densidad relativa: el peso del picnómetro vacío seco fue de 21.2209g, el peso del picnómetro con agua fue de 47.3132g, el peso del picnómetro con la muestra fue de 45.0119g, por lo que la densidad de la muestra fue de 0.9118g/ml.

Rotación óptica: la longitud del tubo del polarímetro fue de 200 mm. Las lecturas obtenidas fueron las siguientes: lado derecho: 9.549, 8.545, 18.474. del lado izquierdo: 11.628, 5.521, 12.531; el promedio del lado derecho fue del agua 16.4126 y de la muestra fue de 12.1893. el promedio del lado izquierdo fue del agua 15.749 y de la muestra 9.8933. dando una rotación óptica de 0.001° C.

PUNTO DE FUSIÓN: se evaporó la muestra a sequedad obteniendo 0.05g de polvo blanco el cual tiene un punto de fusión mayor a 280° C.

Espectrofotometría infrarroja: la muestra se aprecia en color verde en la figura 4. en donde se aprecian grupos aromáticos entre la longitud de 1800 y 1600, así como enlaces C-H en una longitud de 600.

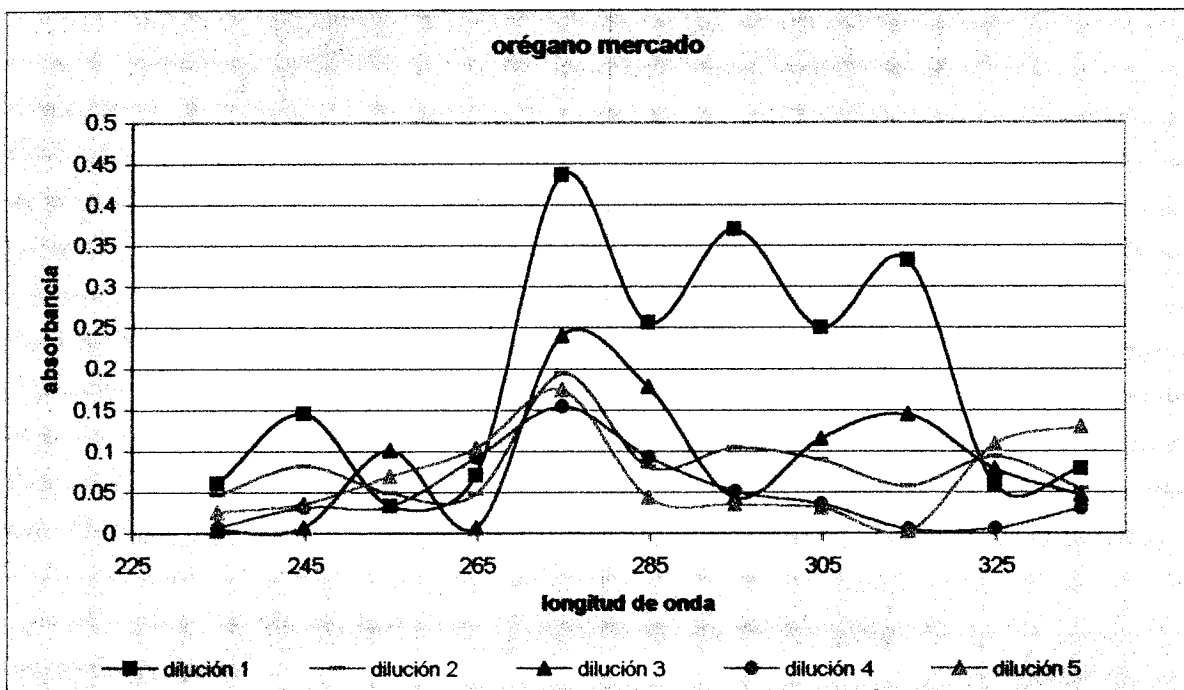
Espectrofotometría UV-Vis: se tomaron 18 ml de muestra y se aforaron a 100 ml con solución hidroalcohólica al 50%, se toma una alícuota de 10 ml y se vuelve a aforar a 100ml, se homogeniza la muestra solución, y se toma una alícuota de 1 ml se deposita en un tubo de ensaye y se le agregan 9 ml de solución hidroalcohólica al 50%, de este tubo se hacen 4 diluciones más. A estas 5 muestras de los tubos de ensaye, se leen al espectro haciendo un barrido con una longitud de onda de 235 nm hasta 350 nm obteniéndose los siguientes datos:

TABLA DE ABSORBANCIAS DE LA MUESTRA DE ORÉGANO MERCADO

Longitud de onda	Absorbancias					
	muestra	Dilución 1	Dilución 2	Dilución 3	Dilución 4	Dilución 5
235	0.3336	0.0605	0.0458	0.0035	0.0065	0.0251
245	10	0.1456	0.0809	0.0065	0.0316	0.0349
255	10	0.0332	0.0484	0.1005	0.0332	0.0685
265	10	0.0702	0.0473	0.0066	0.0922	0.1032
275	10	0.4362	0.1936	0.2390	0.1540	0.1746
285	10	0.2558	0.0808	0.1784	0.0924	0.0430
295	10	0.3699	0.1036	0.0433	0.0510	0.0347
305	10	0.2494	0.0889	0.1149	0.0351	0.0303
315	10	0.3316	0.0570	0.1448	0.0047	0.0015
325	10	0.0589	0.0932	0.0783	0.0055	0.1080
335	10	0.0779	0.0540	0.0462	0.0294	0.1287
345	10	0.0656	0.0670	0.1514	0.0041	0.0224
350	10	10	10	10	10	10
r ²	0.48038	0.43564	0.43384	0.44204	0.42994	0.43233
M	0.03333	0.03100	0.03116	0.03170	0.03098	0.03112

Tabla 7. Absorbancias registradas en el espectrofotómetro de cada dilución de la muestra de orégano mercado, destilada con agua, utilizando un espectrofotómetro marca varian.

COMPARACIÓN DE ABSORBANCIAS DEL ORÉGANO MERCADO



GRAFICA 1. la muestra de orégano destilado con agua, tiene muy bajas concentraciones de timol, ya que los valores de r^2 son muy bajos. La dilución 1 es la que muestra el pico más alto a una longitud de onda de 275 nm.

EXPERIMENTO 4

Extracción: se pesaron 10g de orégano y se mezclaron con 100 ml de acetona y 5 ml de HCl (25%), en baño maría con agitación constante, se deja enfriar y se filtra; se pasó a un embudo de separación y se le agregaron 100 ml de agua destilada y 100 ml de acetato de etilo, los fragmentos de acetato de etilo se lavaron 3 veces con 100 ml de agua destilada, se le agregó sulfato de sodio anhidro (1.2g) para secarlo durante 6 horas, se filtra y evapora a sequedad. Obteniéndose un mezcla verdosa, se le agregaron 2 ml de cloroformo-metanol (1:1) y se deposita en un frasco con tapa guardándolo en un lugar fresco para sus posteriores pruebas.

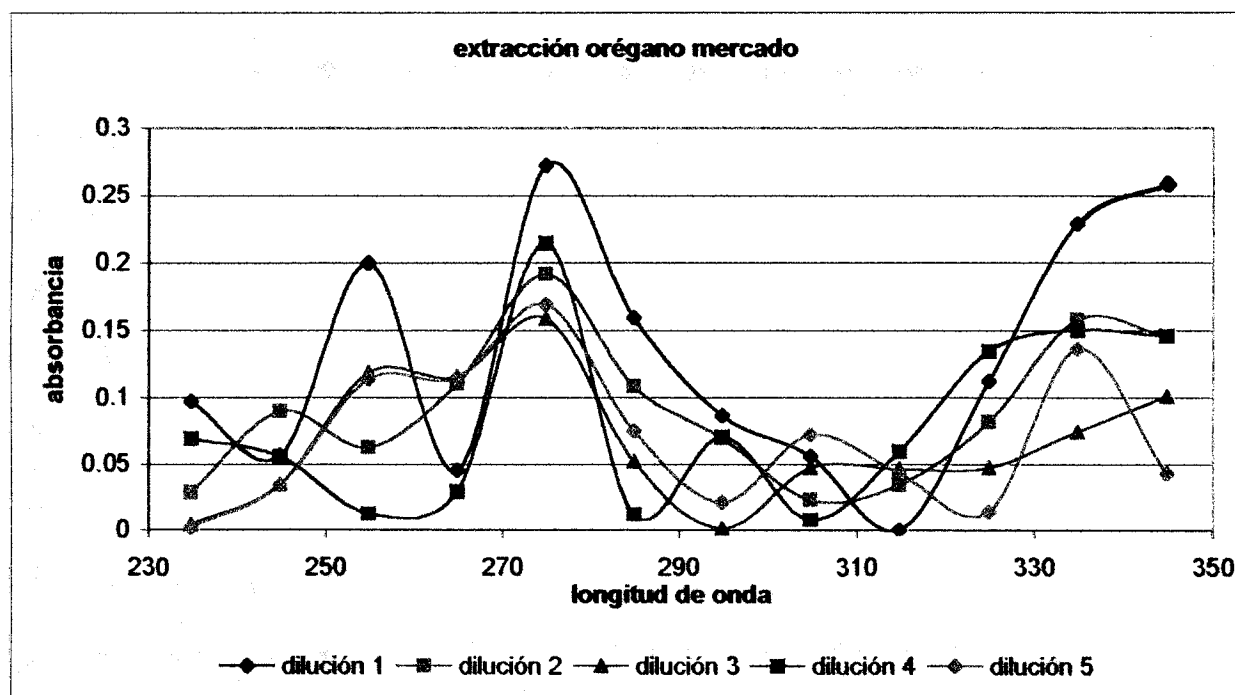
Espectrofotometría UV-Vis: se tomaron 0.5 ml de muestra y se disolvieron en 6 ml de metanol-cloroformo, se aforo a 100ml con solución hidroalcohólica al 50% se homogeniza la solución y se toma una alícuota de 10 ml para aforar nuevamente a 100 ml de esta última solución se toma una alícuota de 1 ml y se pasa a un tubo de ensaye y se le agregan 9 ml de solución hidroalcohólica al 50%, de este tubo se realizan diluciones 1:10. obtenemos 5 tubos de ensaye y se leen al espectro haciendo un barrido con una longitud de 235 nm hasta 350 nm obteniendo los siguientes resultados:

ABSORBANCIAS DEL EXTRACTO DE ORÉGANO MERCADO

Longitud de onda	Absorbancias					
	muestra	Dilución 1	Dilución 2	Dilución 3	Dilución 4	Dilución 5
235	0.0967	0.0287	0.0037	0.0689	0.0014	0.0251
245	0.0563	0.0894	0.0348	0.0557	0.0340	0.0121
255	0.1997	0.0621	0.1178	0.0130	0.1133	0.0033
265	0.0453	0.1096	0.1151	0.0297	0.1139	0.0675
275	0.2718	0.1914	0.1583	0.2144	0.1689	0.2385
285	0.1589	0.1080	0.0517	0.01249	0.0748	0.1453
295	0.0861	0.0694	0.0011	0.0706	0.0212	0.0763
305	0.0555	0.0234	0.0472	0.0080	0.0716	0.0472
315	0.0001	0.0341	0.0459	0.0594	0.0428	0.0383
325	0.1118	0.0814	0.0472	0.1340	0.0143	0.0783
335	0.2285	0.1572	0.0739	0.1496	0.1353	0.0528
345	0.2584	0.1451	0.1003	0.1453	0.0430	0.1623
350	0.0452	0.0138	10	10	10	10
r ²	0.10381	0.04782	0.43493	0.44207	0.43406	0.44047
M	2.43x10 ⁻⁴	6.90x10 ⁻⁵	0.03127	0.03171	0.03120	0.03163

Tabla 8. Absorbancias registradas en el espectrofotómetro UV-Vis, marca varian. de cada dilución de la extracción del orégano.

COMPARACIÓN DE ABSORBANCIAS DEL EXTRACTO DE ORÉGANO



GRÁFICA 2. a una longitud de onda de 275 nm es el pico más alto, y nos muestra la presencia de timol, pero en muy bajas concentraciones ya que la r² nos da valores bajos.

EXPERIMENTO 5

Destilación por arrastre de vapor: se realizó durante 4 horas con 30g de orégano molido y seco (mercado) y 800 ml de agua destilada, obteniéndose 400 ml de extracto con un pH de 7.

Extracción: de la destilación por arrastre de vapor se obtuvieron 50 ml del aceite esencial y de la extracción con acetato de etilo se obtuvieron 300 ml de extracto.

Pruebas coloridas: en la muestra del aceite esencial fue positiva la presencia de timol, y en la muestra de la extracción con acetato de etilo el cambio de color fue muy ligero. La segunda prueba de color en la muestra del aceite fue el cambio muy tenue y en la de la extracción fue negativa.

Cromatografía en papel: en ninguna muestra se apreció una mancha significativa.

Densidad relativa: El peso del picnómetro vacío seco fue de 21.2209g, el peso del picnómetro con agua fue de 47.3132g, el peso del picnómetro con la muestra fue de 44.3762g, por lo que la densidad de la muestra fue de 0.8874 g/ml.

Rotación óptica: la longitud del tubo del polarímetro fue de 200 mm. Las lecturas obtenidas fueron las siguientes: lado derecho: 80532, 8.814, 8.530. del lado izquierdo: 13.250, 11.190, 7.543; el promedio del lado derecho fue del agua 16.4126 y de la muestra fue de 8.6253. el promedio del lado izquierdo fue del agua 15.749 y de la muestra 10.661. dando una rotación óptica de 0.001° C.

PUNTO DE FUSIÓN: se evaporó la muestra a sequedad obteniendo 1.90g de polvo blanco el cual tiene un punto de fusión mayor a 280° C.

Espectrofotometría infrarroja: la muestra se aprecia en color azul en la figura 4. en donde se aprecian grupos aromáticos entre la longitud de 1800 y 1600, así como enlaces C-H en una longitud de 600.

EXPERIMENTO 6

Maceración: se pusieron a remojar durante 24 horas diferentes concentraciones de orégano (mercado) y orégano (McCormick) con agua destilada tal como se muestra en la siguiente tabla:

muestra	1	2	3	4	5
Orégano mercado	20mg/10ml	40mg/10ml	80mg/10ml	160mg/10ml	360mg/10ml
Orégano McCormick	20mg/10ml	40mg/10ml	80mg/10ml	160mg/10ml	360mg/10ml

Tabla 9. muestra las concentraciones de orégano puestas a macerar en la misma cantidad de agua destilada.

Después de las 24 horas se filtran.

Pruebas coloridas: ninguna muestra dio positivo.

Cromatografía en papel: en ninguna muestra se apreció una mancha significativa.

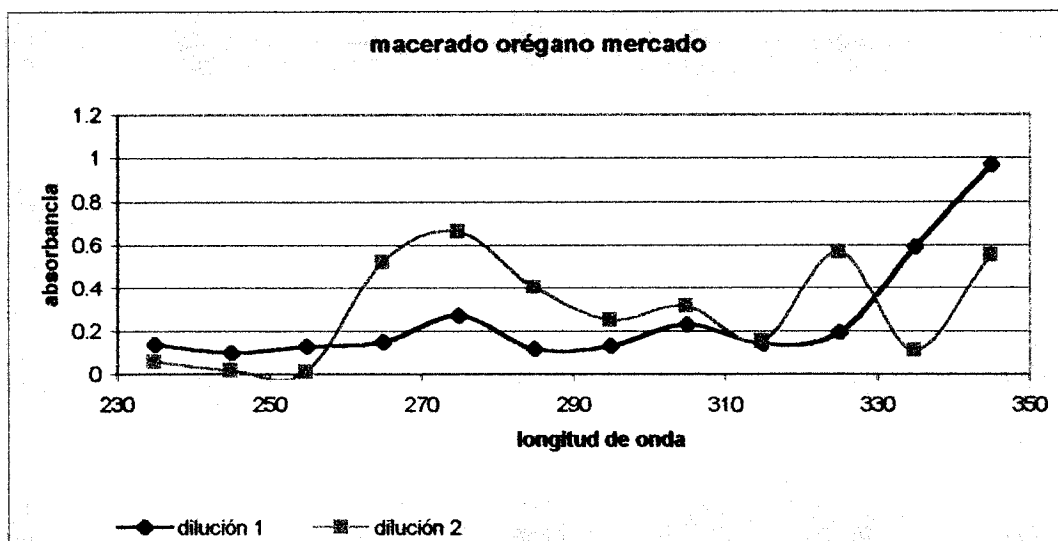
Espectrofotometría UV-Vis: los 10 ml obtenidos de cada muestra se depositan en un tubo de ensaye, se toma 1 ml y se pasa a otro tubo agregándole 9 ml de solución hidroalcohólica al 50%, a las muestras 4 y 5 se les hizo otra dilución más, se leen en el espectrofotómetro dando los siguientes resultados:

ABSORBANCIAS DEL ORÉGANO MERCADO

Longitud de onda	Absorbancias				
	Dilución 1	Dilución 2	Dilución 3	Dilución 4	Dilución 5
235	0.1378	0.0578	0.2478	0.1207	0.4106
245	0.0985	0.0153	0.0607	0.3317	10
255	0.1283	0.0098	0.1513	0.9255	10
265	0.1479	0.5211	0.3135	0.6193	10
275	0.2696	0.6623	0.0748	10	10
285	0.1167	0.4042	0.0945	10	10
295	0.1312	0.2493	0.8845	10	10
305	0.2294	0.3145	10	10	10
315	0.1400	0.1527	10	10	10
325	0.1919	0.5663	10	10	10
335	0.5899	0.1091	10	10	10
345	0.9680	0.5527	10	10	10
r^2	0.56311	0.38222	0.86571	0.82434	0.48038
M	3.54×10^{-3}	2.49×10^{-3}	0.120502	0.10703	0.03688

Tabla 10. Absorbancias registradas en el espectrofotómetro de cada dilución de las muestras de orégano suelto, macerado en agua destilada.

COMPARACIÓN DE ABSORBANCIAS DEL ORÉGANO MERCADO



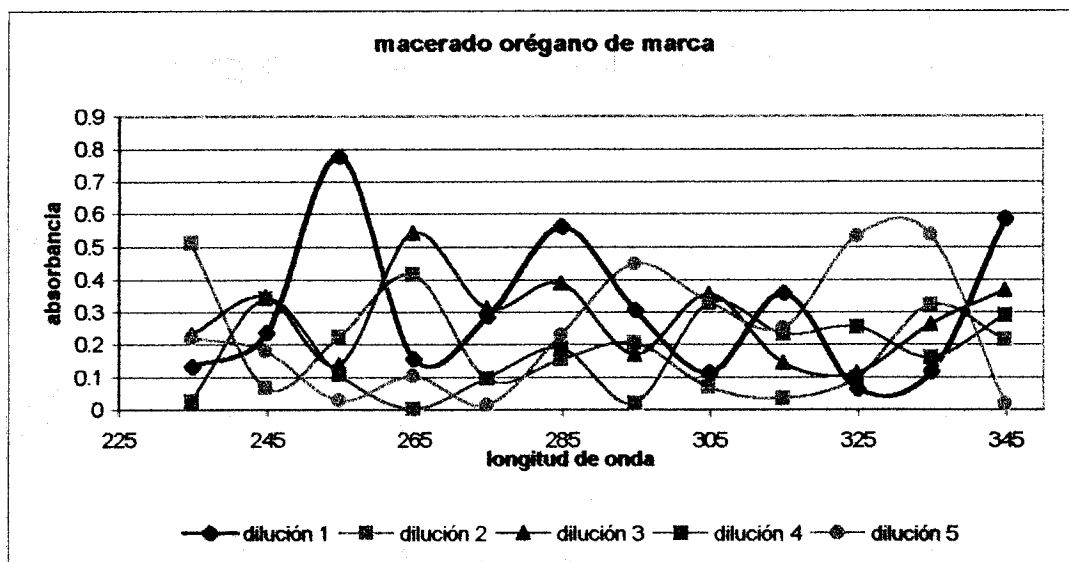
GRÁFICA 3. a una longitud de onda de 275 nm da el pico más alto, mostrándonos la presencia de timol pero en muy bajas concentraciones ya que la r^2 nos da valores bajos.

ABSORBANCIAS DEL ORÉGANO McCORMICK

Longitud de onda	Absorbancias				
	Dilución 1	Dilución 2	Dilución 3	Dilución 4	Dilución 5
235	0.1314	0.5114	0.23082	0.0262	0.2199
245	0.2355	0.0668	0.3471	0.3412	0.1796
255	0.7766	0.2217	0.1383	0.1089	0.0280
265	0.1563	0.4164	0.5416	0.0020	0.1020
275	0.2879	0.0954	0.3103	0.0965	0.0145
285	0.5620	0.1541	0.3886	0.1880	0.2284
295	0.3045	0.2049	0.1692	0.0197	0.4462
305	0.1145	0.0696	0.3547	0.3266	0.3308
315	0.3594	0.0337	0.1441	0.2315	0.2492
325	0.0638	0.0970	0.1129	0.2538	0.5322
335	0.1174	0.3213	0.2619	0.1601	0.5365
345	0.5849	0.2147	0.3667	0.2892	0.0180
r^2	0.04629	0.31654	0.12461	0.41270	0.42871
M	2.88×10^{-4}	1.28×10^{-3}	4.45×10^{-4}	1.38×10^{-3}	2.24×10^{-3}

Tabla 11. Absorbancias registradas en el espectrofotómetro de cada dilución de las muestras de Orégano marca McCormick, maceradas en agua destilada.

COMPARACIÓN DE ABSORBANCIAS DEL ORÉGANO McCORMICK



GRÁFICA 4. a una longitud de onda de 265 nm da el pico más alto, y nos muestra la presencia de timol en muy bajas concentraciones con respecto al valor de r^2 .

EXPERIMENTO 7

Maceración: se pusieron a macerar durante 24 horas diferentes concentraciones de orégano (mercado) y orégano (McCormick) en etanol al 95%; tal como se muestra en la siguiente tabla:

muestra	1	2	3	4	5
Orégano mercado	20mg/10ml	40mg/10ml	80mg/10ml	160mg/10ml	360mg/10ml
Orégano McCormick	20mg/10ml	40mg/10ml	80mg/10ml	160mg/10ml	360mg/10ml

Tabla 12. muestra las concentraciones de orégano puestas a macerar en la misma cantidad de Etanol al 95%.

Después de las 24 horas se filtran.

Pruebas coloridas: ninguna muestra dio positivo.

Cromatografía en papel: en ninguna muestra se apreció una mancha significativa.

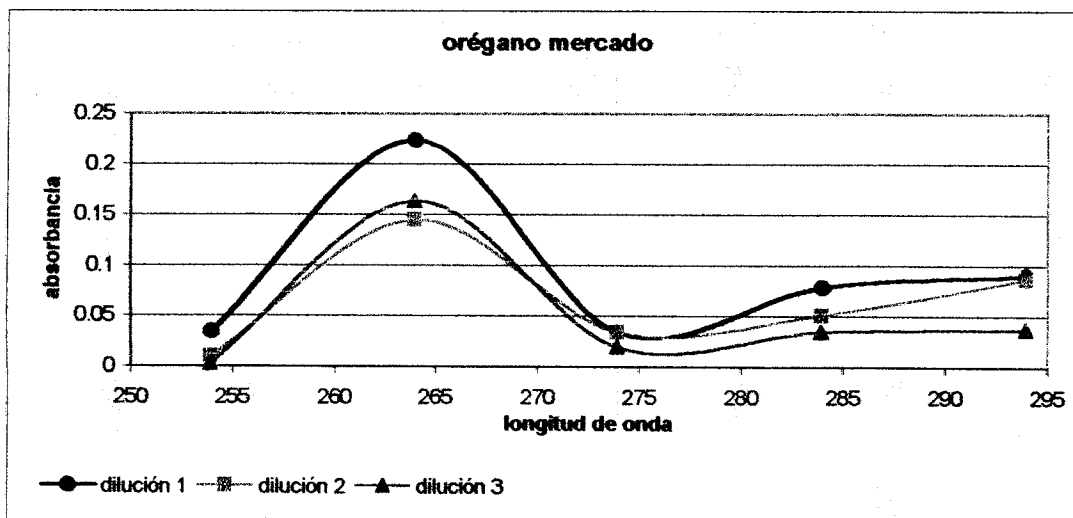
Espectrofotometría UV-Vis: los 10 ml obtenidos de cada muestra se depositan en un tubo de ensaye, se toma 1 ml y se pasa a otro tubo agregándole 9 ml de solución hidroalcohólica al 50%, a las muestras 4 y 5 se les hizo otra dilución más, se leen en el espectrofotómetro dando los siguientes resultados:

ABSORBANCIAS ORÉGANO MERCADO

Longitud de onda	Absorbancias				
	Dilución 1	Dilución 2	Dilución 3	Dilución 4	Dilución 5
254	0.0339	0.0093	0.0028	0.0445	0.0091
264	0.2232	0.1444	0.1627	0.1809	0.1840
274	0.0337	0.0334	0.0191	0.0221	0.0179
284	0.0779	0.0497	0.0344	0.0070	0.0235
294	0.0894	0.0853	0.0364	0.0496	0.0235
r ²	0.06973	0.17237	0.1513	0.37352	0.28024
M	14.1777	5.73x10 ⁻⁴	6.11x10 ⁻⁴	1.6x10 ⁻³	1.31x10 ⁻³

Tabla 13. Absorbancias registradas en el espectrofotómetro de cada dilución de las muestras de orégano suelto, macerado en etanol al 95%.

COMPARACIÓN DE ABSORBANCIAS DEL ORÉGANO MERCADO



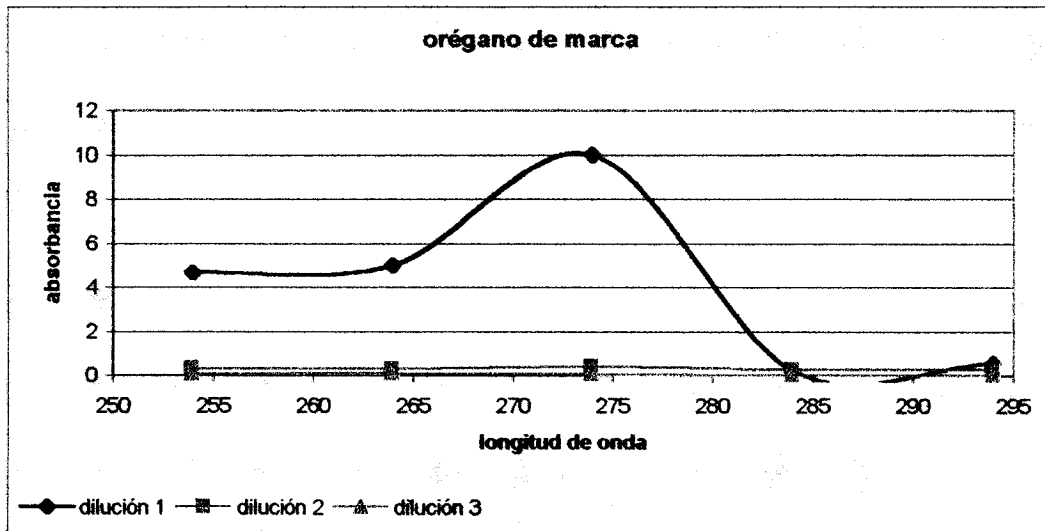
GRÁFICA 5. a una longitud de onda de 265 nm da el pico más alto mostrándonos la presencia de timol en bajas concentraciones con respecto a la r².

ABSORBANCIAS DEL ORÉGANO McCORMICK

Longitud de onda	Absorbancias				
	Dilución 1	Dilución 2	Dilución 3	Dilución 4	Dilución 5
254	4.6608	0.3265	0.0718	0.1061	0.0425
264	5.0025	0.3027	0.0793	0.0496	0.1922
274	10	0.3917	0.0507	0.0948	0.0134
284	0.2207	0.2716	0.0059	0.1001	0.0782
294	0.5379	0.2807	0.0113	0.0734	0.0769
r ²	0.51627	0.40396	0.52883	0.10145	0.10525
M	0.13027	1.22x10 ⁻³	0.01219	1.49x10 ⁻⁴	4.5x10 ⁻⁴

Tabla 14. Absorbancias registradas en el espectrofotómetro de cada dilución de las muestras de Orégano marca McCormick, maceradas en etanol al 95%.

COMPARACIÓN DE ABSORBANCIAS DEL ORÉGANO McCORMICK



GRÁFICA 6. a una longitud de onda de 275 nm se muestra el pico más alto señalando la presencia de timol pero en bajas concentraciones.

Espectrofotometría infrarroja: se realizó esta prueba dando los siguientes resultados, que se muestran en la figura 5.

ESPECTROFOTOMETRÍA IR DE LA MUESTRA DE ORÉGANO MACERADO EN ETANOL AL 95%.

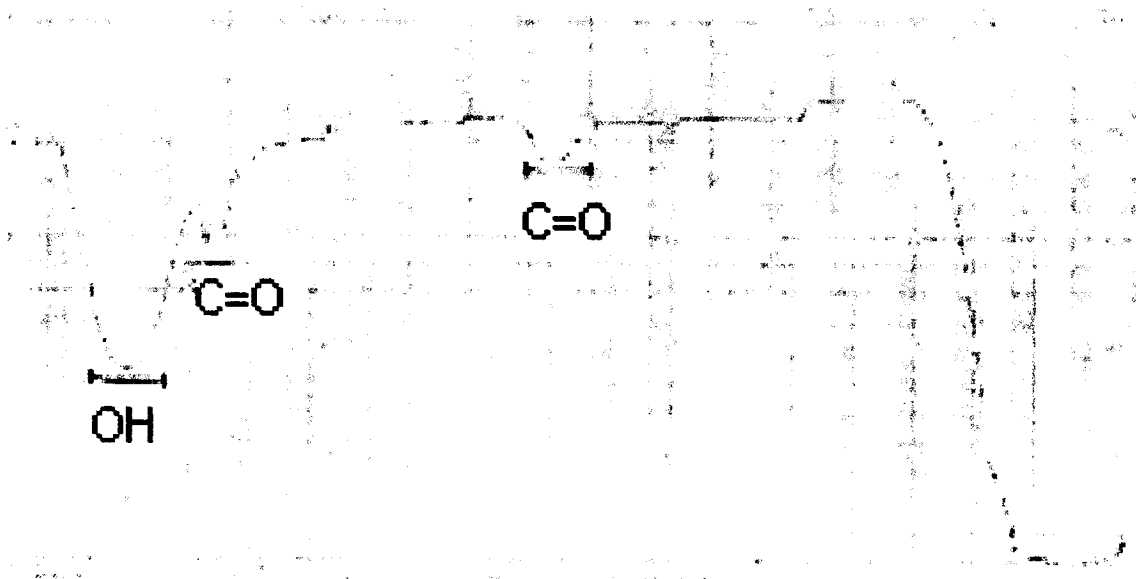


FIGURA 5. se realizó con celdas de cloruro de sodio ya que la muestra era líquida; se puede observar que hay muy poca cantidad de timol, ya que ningún pico está completamente bien definido. En la longitud de onda 3000 así como en 1600 se pueden apreciar enlaces C-O.

EXPERIMENTO 8

Espectrofotometría infrarroja: se llevó a cabo a través de tableta de KBr; se pesaron 1g de orégano (mercado) molido y se puso a secar en estufa a 45° C durante 1 hora. Después se le realizó la espectrofotometría infrarroja tal como se aprecia en la figura 6.

ESPECTROFOTOMETRÍA IR DE ORÉGANO SECO

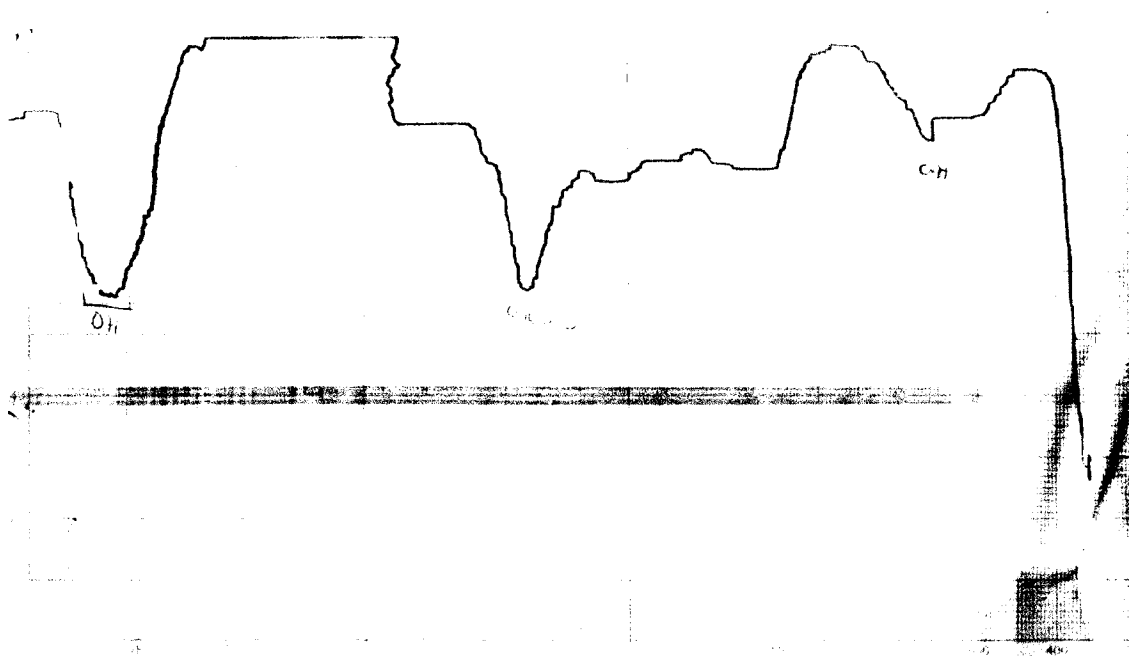


FIGURA 6. muestra grupos OH a una longitud de 3500, grupos carboxilo entre 1800 - 1600 y enlaces C-H entre 800 y 600. se aprecian picos no definidos por lo que se piensa que la muestra se encuentra a bajas concentraciones y no esta pura.

EXPERIMENTO 9

Infusión: se pone a hervir 200 ml de agua destilada, se le agregan 4g de orégano (mercado) y se deja hervir durante 10 minutos; la infusión tiene un pH de 6.

Pruebas coloridas: ninguna dio positiva.

EXPERIMENTO 10

Se compraron 2 muestras diferentes de esencia de orégano para utilizarlas como estándar, en la siguiente tabla se muestra las pruebas que se le realizaron a cada una.

COMPARACIÓN DE DOS ESENCIAS DE ORÉGANO

Pruebas	Esencia Mercado Sonora	Esencia (Joly) Farmacia Paris
Olor	Lima	Menta
Color	Verde olivo transparente	Verde transparente claro
pH	7	7
Pruebas coloridas	Prueba positiva presento color rojo fuerte	Prueba positiva presento color rojo fuerte
Cromatoplaca en oxido de Aluminio	Negativa	Se observaron 4 manchas
Cromatoplaca en Celulosa	Negativa	Se observo 1 mancha
Solubilidad en agua	Soluble	Insoluble
Consistencia	Espeso	Espeso
Densidad	1.043g/ml	1.038g/ml
Solubilidad en etanol al 95%	Insoluble	Soluble

Tabla 15. comparación de las características de las dos esencias de orégano adquiridas para utilizarlas como estándar comercial de prueba.

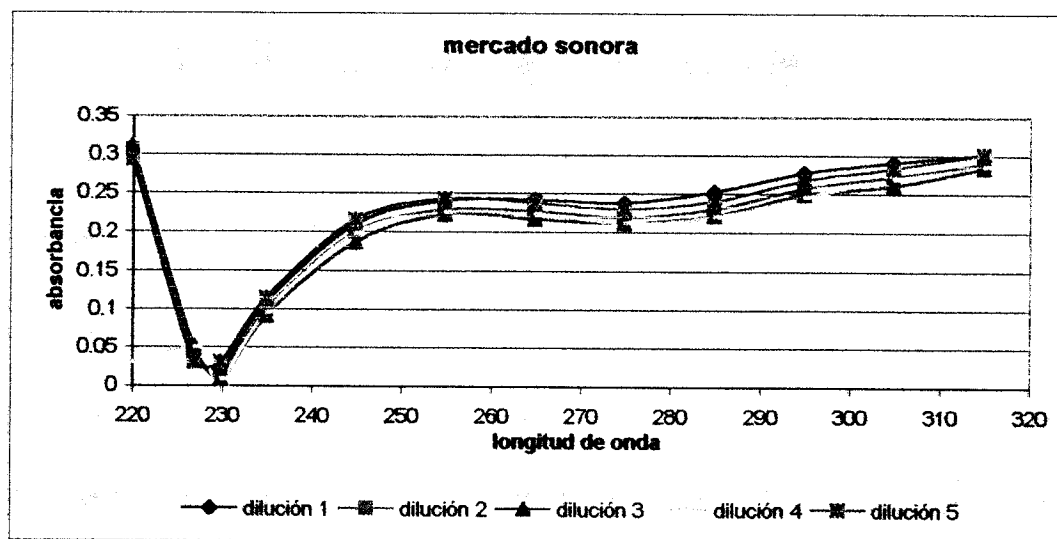
Espectrofotometría UV-Vis: se realizó mediante tableta de KBr; se tomó 1 ml de esencia (mercado sonora) y se colocó en un tubo de ensaye, se le agregaron 9 ml de agua destilada y se homogenizó, de ese tubo de ensaye se hicieron diluciones 1:10 hasta llegar a una dilución 1^{10} . Se tomaron las lecturas de absorbancia en una longitud de onda de 220 nm hasta 315 nm. Se leyeron las muestras del 1^5 al 1^{10} .

ABSORBANCIAS DE LA ESENCIA DE ORÉGANO MERCADO SONORA

Longitud de onda	Absorbancias					
	Dilución 5	Dilución 6	Dilución 7	Dilución 8	Dilución 9	Dilución 10
220	0.2965	0.3044	0.3106	0.03059	0.2922	0.0335
227	0.0360	0.0426	0.0516	0.0498	0.0301	0.0637
230	0.0234	0.0163	0.0080	0.0079	0.0306	0.1075
235	0.1080	0.0984	0.0908	0.0945	0.1139	0.1708
245	0.2092	0.1997	0.1860	0.1969	0.2146	0.2496
255	0.2396	0.2282	0.2220	0.2247	0.2419	0.2681
265	0.2414	0.2262	0.2162	0.2221	0.2374	0.2751
275	0.2370	0.2187	0.2115	0.2119	0.2294	0.2710
285	0.2519	0.2301	0.2217	0.2202	0.2397	0.2701
295	0.2763	0.2571	0.2487	0.2457	0.2667	0.2753
305	0.2895	0.2720	0.2600	0.2681	0.2824	0.2849
315	0.3005	0.2892	0.2832	0.2846	0.3010	0.3003
r ²	0.55304	0.52502	0.49219	0.49993	0.57358	0.81771
M	1.81x10 ⁻³	1.40x10 ⁻³	1.34x10 ⁻³	1.35x10 ⁻³	1.46x10 ⁻³	2.21x10 ⁻³

Tabla 16. Absorbancias registradas en el espectrofotómetro de cada dilución de la esencia adquirida en el mercado Sonora.

COMPARACIÓN DE ABSORBANCIAS DE LA ESENCIA MERCADO SONORA



GRÁFICA 7 a una longitud de onda de 265 nm se muestra la concentración más alta, pero se ve muy contaminado por lo que el timol no está puro.

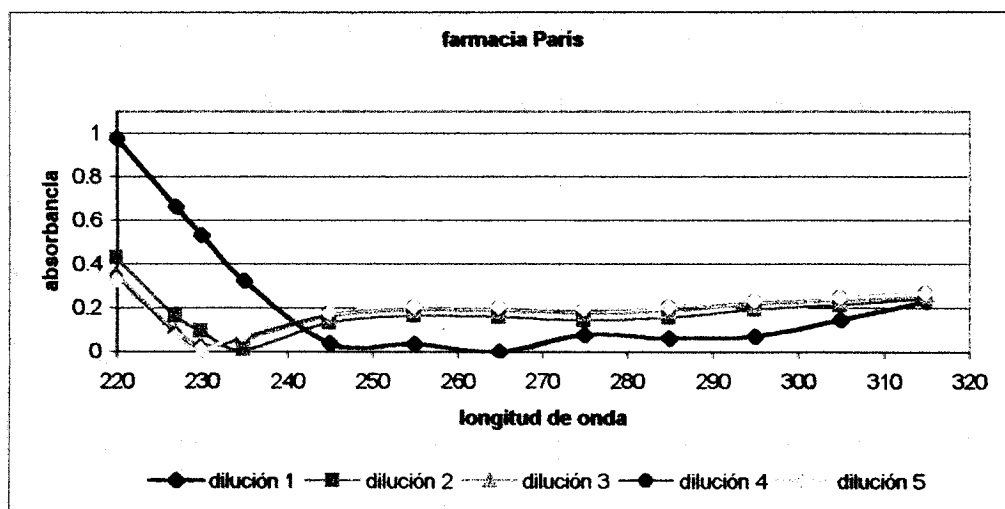
Farmacia París: se tomo 1 ml de esencia y se coloco en un tubo de ensaye, se le agregaron 9 ml de etanol al 95% y se homogenizo, de ese tubo de ensaye se hicieron diluciones 1:10 hasta llegar a una dilución 1^{10} . Se tomaron las lecturas de absorbancia en una longitud de onda de 220 nm hasta 315 nm. Se leyeron las muestras del 1^5 al 1^{10} .

ABSORBANCIAS DE LA ESENCIA DE ORÉGANO FARMACIA PARÍS

Longitud de onda	Absorbancias					
	dilución 5	dilución 6	dilución 7	dilución 8	dilución 9	dilución 10
220	0.9765	0.4252	0.3538	0.3326	0.3258	0.3003
227	0.6627	0.1615	0.0963	0.0744	0.0681	0.0441
230	0.5317	0.0916	0.0347	0.0139	0.0079	0.0139
235	0.3234	0.0079	0.0519	0.0640	0.0764	0.0943
245	0.0373	0.1304	0.1580	0.1748	0.1783	0.1930
255	0.0336	0.1635	0.1865	0.2032	0.2059	0.2200
265	0.0002	0.1579	0.1825	0.2004	0.2027	0.2173
275	0.0760	0.1423	0.1720	0.1892	0.1938	0.2094
285	0.0596	0.1534	0.1827	0.2021	0.2043	0.2196
295	0.0708	0.1920	0.2125	0.2306	0.2313	0.2463
305	0.1459	0.2106	0.2295	0.2469	0.2471	0.2581
315	0.2285	0.2400	0.2501	0.2671	0.2662	0.2784
r^2	0.57747	0.06412	0.27807	0.39846	0.33826	0.50015
M	5.35×10^{-3}	2.08×10^{-4}	7.83×10^{-4}	1.10×10^{-3}	1.08×10^{-3}	1.30×10^{-3}

Tabla 17. Absorbancias registradas en el espectrofotómetro de cada dilución de la esencia Joly adquirida en la farmacia París.

COMPARACIÓN DE ABSORBANCIAS DE LA ESENCIA FARMACIA PARÍS



GRÁFICA 8. a una longitud de onda de 265 se podría notar la concentración más alta indicándonos la presencia de timol pero en bajas concentraciones.

ESPECTROFOTOMETRÍA IR DE LAS ESENCIAS UTILIZADAS COMO ESTÁNDAR

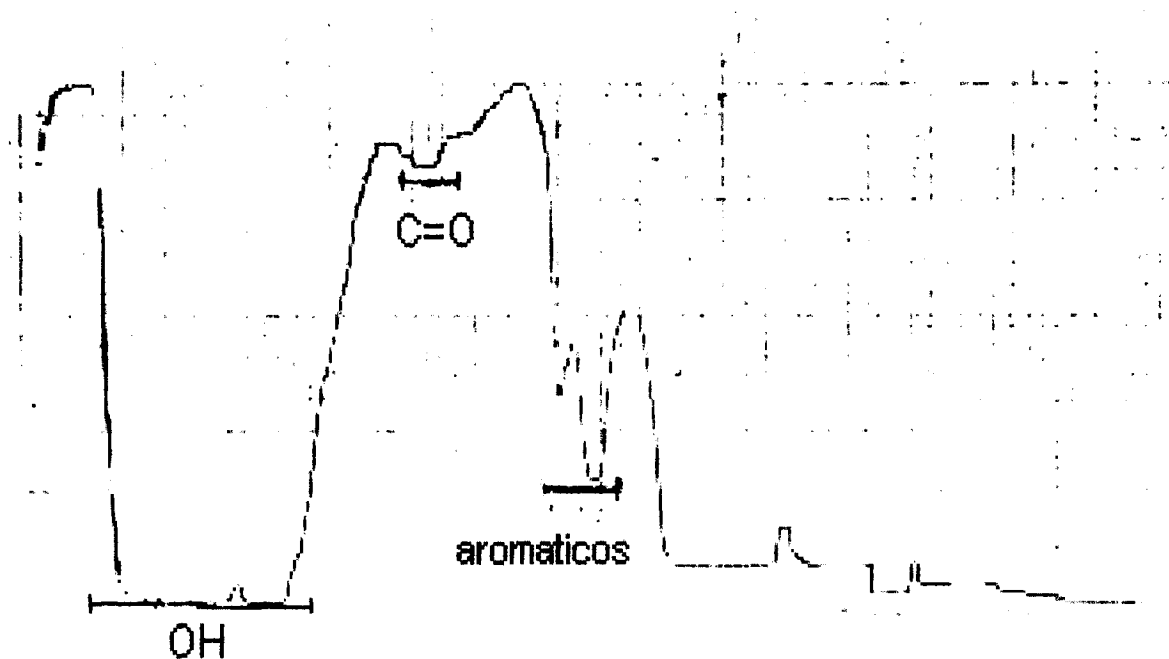


FIGURA 7. Esencia mercado Sonora. Se aprecia muy contaminada, y el único pico apreciable se encuentra a una longitud de onda de 1600 donde se observan anillos aromáticos.

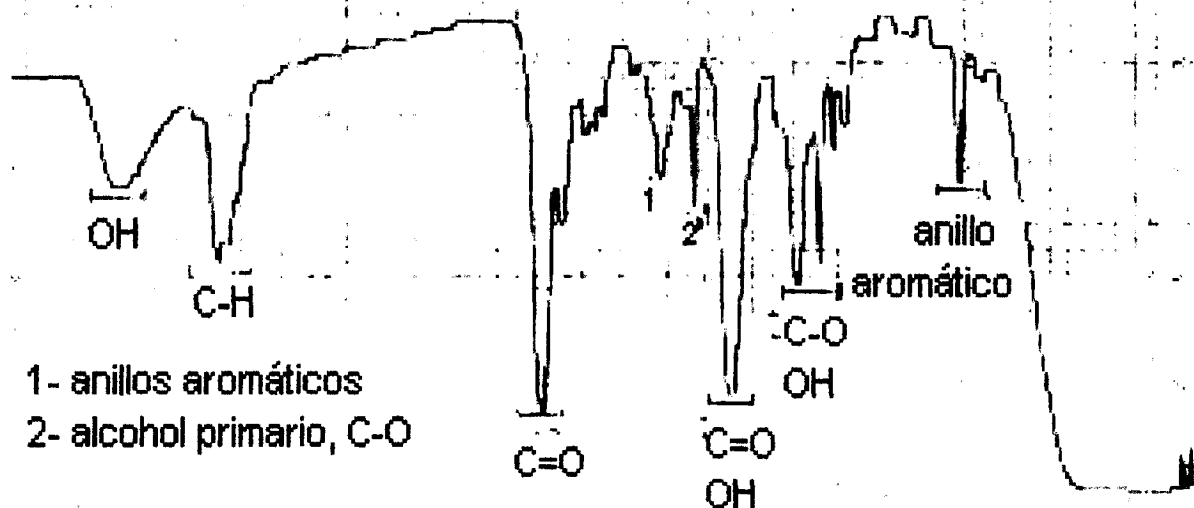


FIGURA 8. Esencia farmacia Paris. se pueden apreciar varios picos bien definidos donde se encuentran enlaces C=O a una longitud de onda de 1800, 1400, 1200. también se aprecian los anillos aromáticos en la longitud de onda de 1500 y 800. Y los enlaces C-H en la longitud de onda de 3000 y 800. El grupo funcional OH se encuentra en la longitud de onda de 3500 y 1400.

EXPERIMENTO 11

Maceración: se pusieron a reposar durante 24 horas y en refrigeración 180 mg de orégano (mercado) y orégano (McCormick) en diferentes concentraciones de etanol, tal como se muestra en la tabla 17. Después de las 24 horas se filtran los productos macerados.

MACERACIONES COMPARATIVAS

Etanol	Orégano mercado	Orégano McCormick
Al 25%	180mg/20ml	180mg/20ml
Al 50%	180mg/20ml	180mg/20ml
Al 95%	180mg/20ml	180mg/20ml

Tabla 18. concentraciones y cantidades de cada muestra de orégano a macerar.

Pruebas coloridas: todas las muestras dieron positivo.

Cromatografía en papel: ninguna muestra dio una mancha significativa.

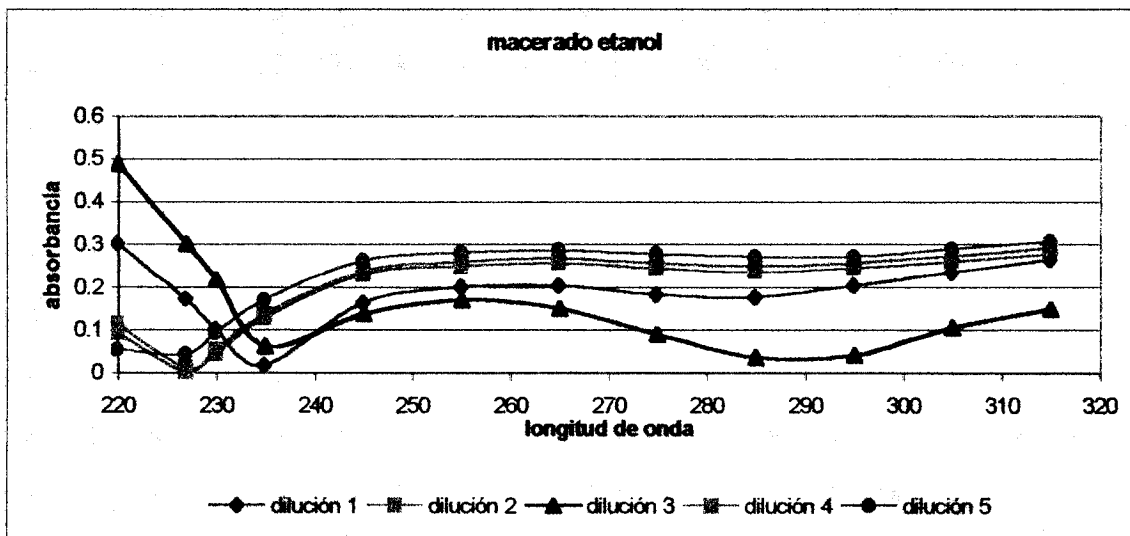
Espectrofotometría UV-Vis: los 20 ml obtenidos de cada muestra se depositaron en un tubo de ensaye, se tomo 1 ml y se pasa a otro tubo agregándole 9 ml de solución hidroalcohólica al 50%, se leen en el espectrofotómetro dando los siguientes resultados:

ABSORBANCIAS DEL ORÉGANO MACERADO

Longitud de onda	Absorbancias					
	Mercado 25%	Mercado 50%	Mercado 95%	McCormick 25%	McCormick 50%	McCormick 95%
220	0.3030	0.1135	0.4884	0.0943	0.0538	0.0561
227	0.1721	0.0125	0.3006	0.0038	0.0438	0.0441
230	0.1023	0.0425	0.2180	0.0541	0.0921	0.0946
235	0.0176	0.1288	0.0624	0.1360	0.1704	0.1771
245	0.1640	0.2283	0.1371	0.2372	0.2603	0.2674
255	0.2003	0.2481	0.1692	0.2591	0.2797	0.2864
265	0.2026	0.2558	0.1500	0.2673	0.2859	0.2928
275	0.1816	0.2438	0.0903	0.2567	0.2768	0.2842
285	0.1763	0.2353	0.0369	0.2499	0.2697	0.2769
295	0.2038	0.2432	0.0420	0.2556	0.2710	0.2809
305	0.2330	0.2595	0.1060	0.2724	0.2877	0.2945
315	0.2633	0.2774	0.1482	0.2913	0.3051	0.3119
r^2	0.37126	0.790756	0.57239	0.81366	0.79985	0.79926
M	8.92×10^{-4}	1.88×10^{-3}	2.25×10^{-3}	2.06×10^{-3}	2.17×10^{-3}	2.21×10^{-3}

Tabla 19. Absorbancias registradas en el espectrofotómetro de cada dilución de las muestras de orégano maceradas en diferentes concentraciones de etanol.

COMPARACIÓN DE ABSORBANCIAS DEL ORÉGANO MACERADO EN ETANOL



GRÁFICA 9. a una longitud de onda de 265 se muestra el pico más alto señalando la presencia de timol pero en bajas concentraciones ya que la r^2 da valores bajos.

EXPERIMENTO 12

Destilación por arrastre de vapor: se realizó durante 4 horas con 30g de orégano (mercado) y 1 litro de etanol al 95%, obteniéndose 650 ml con un pH de 7.

Pruebas coloridas: fue positiva la presencia de timol.

Cromatografía en papel: ninguna dio una mancha significativa.

Densidad relativa: se le realizó a la muestra de la extracción. El peso del picnómetro vacío seco fue de 21.2209g, el peso del picnómetro con agua fue de 47.3132g, por lo que la densidad de la muestra fue de 0.8234 g/ml.

Espectrofotometría infrarroja: se realizó en celda de cloruro de sodio ya que la muestra era líquida. Los resultados se muestran en la figura 9.

ESPECTROFOTOMETRÍA IR DEL ORÉGANO DESTILADO CON ETANOL
AL 95%.

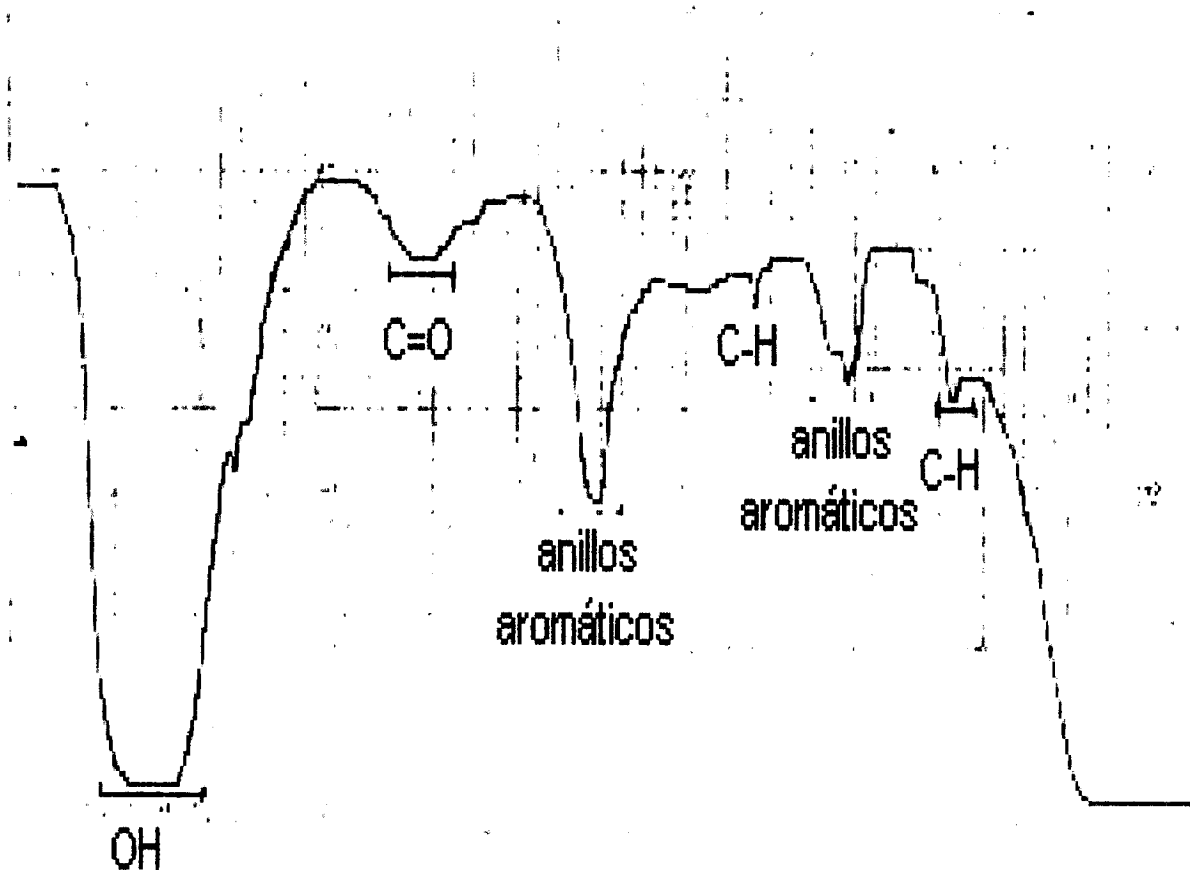


FIGURA 9. se aprecian dos picos detallados; el primero a una longitud de onda de onda de 1600 y 1000 mostrando la presencia de anillos aromáticos, y el segundo a una longitud de onda de 1200 y 800 mostrando grupos OH. También se aprecian picos no definidos; lo cual nos indica la presencia del timol pero en bajas concentraciones y no se encuentra en estado puro.

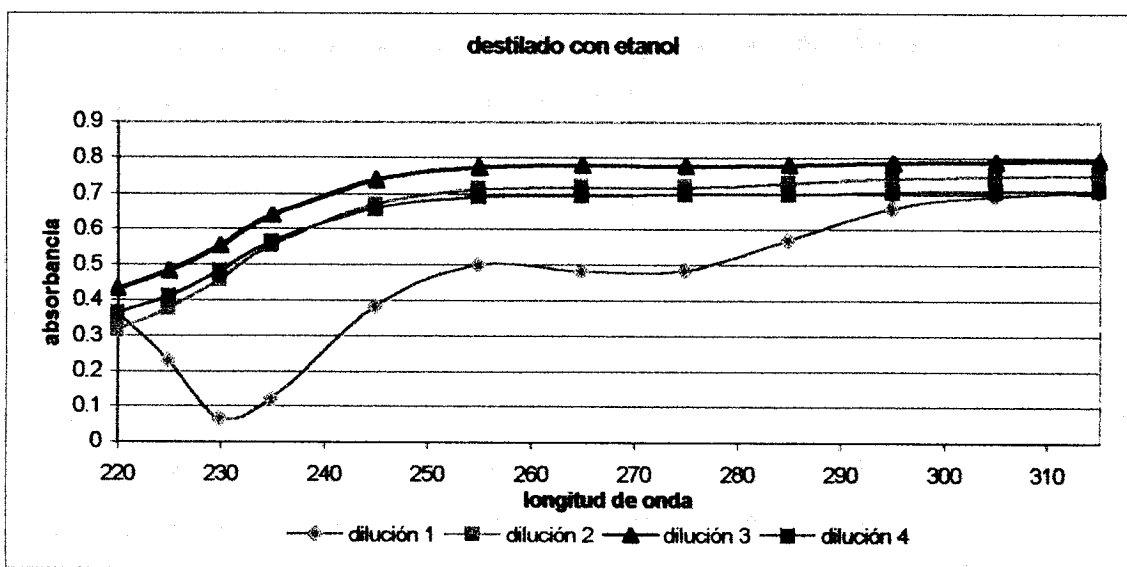
Espectrofotometría UV-Vis: se tomó 1 ml de muestra y se le agregaron 9 ml de etanol al 95% se depositaron en un tubo de ensayo y se hicieron diluciones para leer a diferentes longitudes de onda.

ABSORBANCIAS DEL ORÉGANO DESTILADO

Longitud de onda	Absorbancia				
	dilución 1	dilución 2	dilución 3	dilución 4	Dilución 5
220	0.3633	0.3153	0.4308	0.3616	0.3558
225	0.2292	0.3762	0.4821	0.4100	0.4053
230	0.0632	0.4560	0.5521	0.4804	0.4709
235	0.1188	0.5536	0.6380	0.5628	0.5502
245	0.3820	0.6690	0.7373	0.6580	0.6499
255	0.4970	0.7116	0.7717	0.6923	0.6836
265	0.4809	0.7178	0.7787	0.6966	0.6918
275	0.4832	0.7178	0.7770	0.6994	0.6914
285	0.5673	0.7280	0.7794	0.6998	0.6916
295	0.6577	0.7424	0.7859	0.7047	0.6937
305	0.6918	0.7498	0.7902	0.7085	0.6999
315	0.7050	0.7541	0.7925	0.7105	0.7028
r ²	0.93604	0.84988	0.82682	0.82495	0.82591
M	5.99x10 ⁻³	4.12x10 ⁻³	3.37x10 ⁻³	3.25x10 ⁻³	3.24x10 ⁻³

Tabla 20. Absorbancias registradas en el espectrofotómetro UV-Vis, marca varian de cada dilución de la muestra de orégano destilada con etanol al 95%.

COMPARACIÓN DE ABSORBANCIAS DEL ORÉGANO DESTILADO



GRÁFICA 10. se puede apreciar que con la destilación por arrastre de vapor con etanol se obtienen concentraciones más altas de timol, ya que los valores de r² nos indican que está cerca del establecido que es 0.999.

EXPERIMENTO 13

Maceración: se pusieron a remojar durante 24 horas 100 mg de una tableta de orégano (Ami-no-col®) en 10 ml de etanol al 95%. Después de las 24 horas se filtra. Esta solución dio un pH de 6.

ESPECTROFOTOMETRÍA IR DEL ORÉGANO EN TABLETA

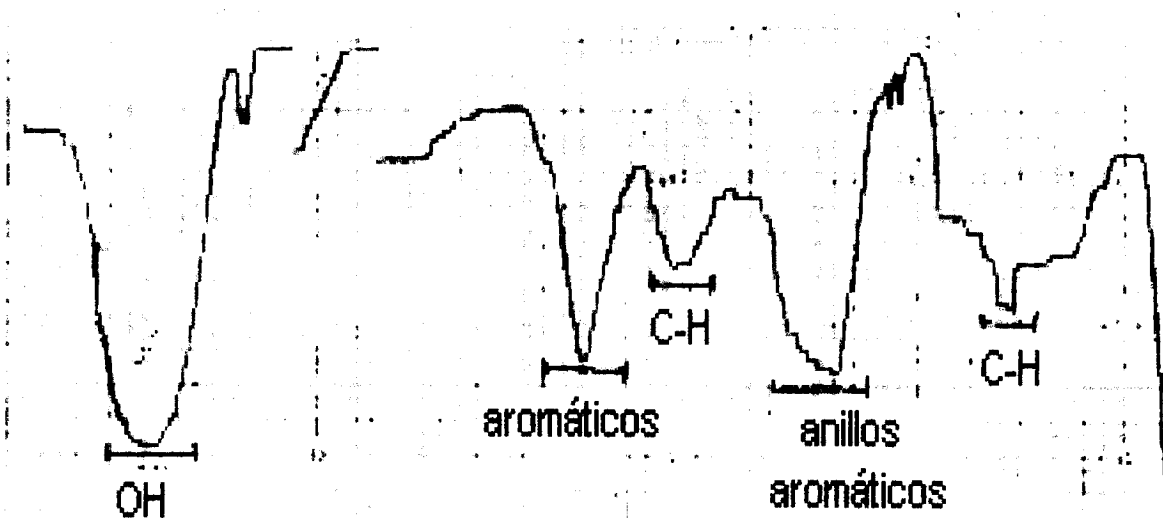


FIGURA 10. muestra varios picos definidos, en la longitud de onda de 1600 y 1000 se encuentran los anillos aromáticos, en la longitud de onda de 1400 y 600 se encuentran los enlaces C-H. entre la longitud de onda de 3500 y 3000 se encuentran los grupos OH. A pesar de que la tableta contenía otros compuestos, se puede apreciar que el timol, se encuentra en bajas concentraciones.

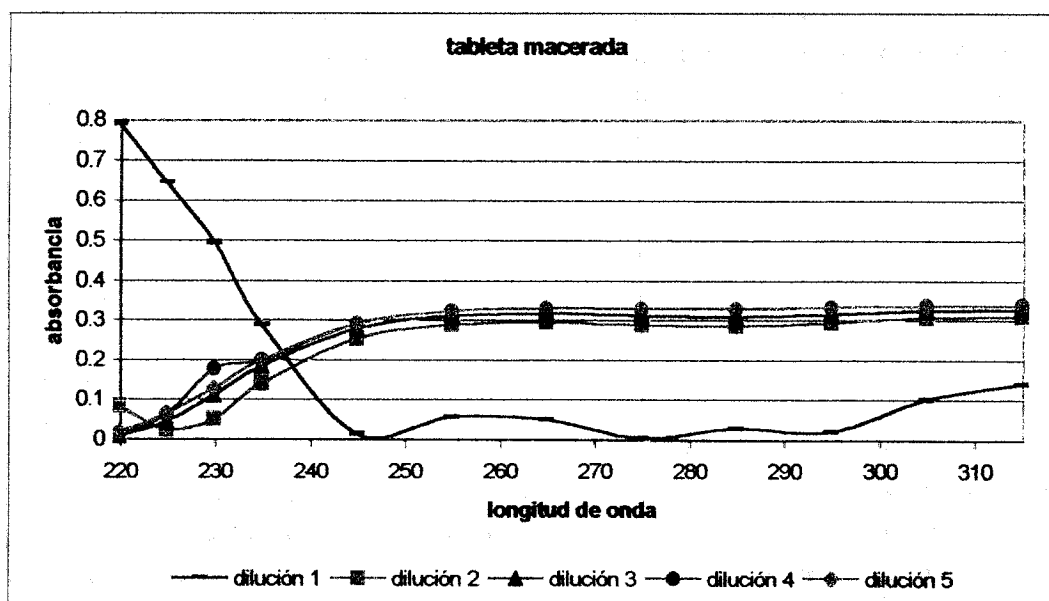
Espectrofotometría UV-Vis: los 10 ml obtenidos de la maceración, se depositaron en un tubo de ensaye, se tomó 1 ml y se pasa a otro tubo agregándole 9 ml de etanol al 95%, se realizan 5 diluciones y se leen en el espectrofotómetro dando los siguientes resultados:

COMPARACIÓN DE LAS ABSORBANCIAS OBTENIDAS DE LAS DIFERENTES DILUCIONES

Longitud de onda	Absorbancia				
	dilución 1	dilución 2	dilución 3	dilución 4	Dilución 5
220	0.7899	0.0829	0.0060	0.0139	0.0172
225	0.6443	0.0229	0.0437	0.0617	0.0645
230	0.4945	0.0513	0.1099	0.1759	0.1273
235	0.2880	0.1389	0.1833	0.1986	0.1989
245	0.0142	0.2521	0.2775	0.2901	0.2901
255	0.0567	0.2887	0.3102	0.3212	0.3223
265	0.0497	0.2949	0.3173	0.3294	0.3301
275	0.0038	0.2874	0.3119	0.3273	0.3281
285	0.0278	0.2842	0.3077	0.3277	0.3286
295	0.0193	0.2938	0.3150	0.3323	0.3326
305	0.1007	0.3063	0.3236	0.3358	0.3364
315	0.1387	0.3110	0.3257	0.3370	0.3378
r ²	0.70613	0.83921	0.82245	0.82281	0.82389
M	5.94x10 ⁻³	2.84x10 ⁻³	2.99x10 ⁻³	3x10 ⁻³	2.99x10 ⁻³

Tabla 21. Absorbancias registradas en el espectrofotómetro de cada dilución de la tableta Macerada en etanol al 95%.

COMPARACIÓN DE LAS ABSORBANCIAS DE LA TABLETA DE ORÉGANO AMI-NO-COL®



GRÁFICA 11. se pueden apreciar concentraciones de timol aceptables, ya que la r² es alta; pero la tableta es combinada (contiene otras plantas a parte del orégano).

EXPERIMENTO 14

Se utilizó el timol que había en el laboratorio como materia prima, el cual se usó como estándar. El timol tiene las siguientes características: son cristales blancos, su peso molecular es de 150.22, soluble en alcohol, cloroformo, poco soluble en agua.

Pruebas coloridas: si se le agrega H_2SO_4 se pone de color café (ámbar), disuelto con etanol al 95% y H_2SO_4 da un color rojo pálido. Con disulfuro de carbono e hidróxido de potasio da un color amarillo transparente, con molibdato de amonio, H_2SO_4 y cloroformo da un color lila y un color azul oscuro.

Cromatografía en papel: en placa de óxido de aluminio y revelado con benceno, da una mancha con un R_f de 0.43 cm.

PUNTO DE FUSIÓN: fue de $48^\circ C$.

ESPECTRO IR DEL TIMOL UTILIZADO COMO ESTÁNDAR

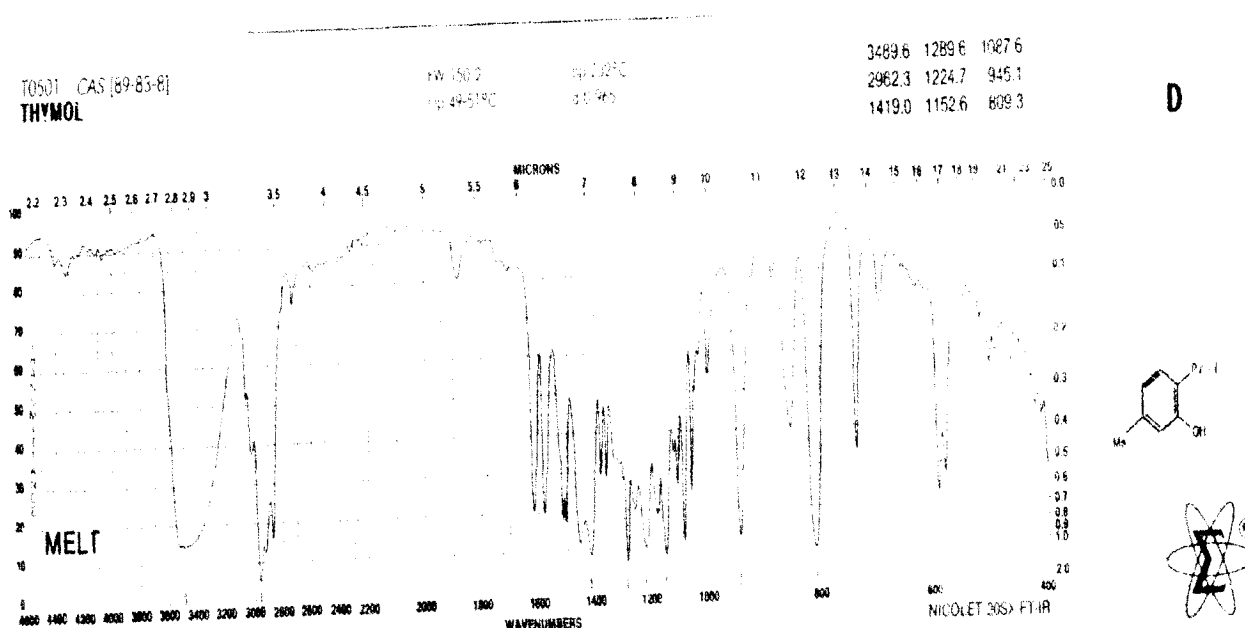


Figura 11. espectrofotometría infrarroja del timol encontrada en la bibliografía consultada.

RESULTADOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS IR DEL TIMOL

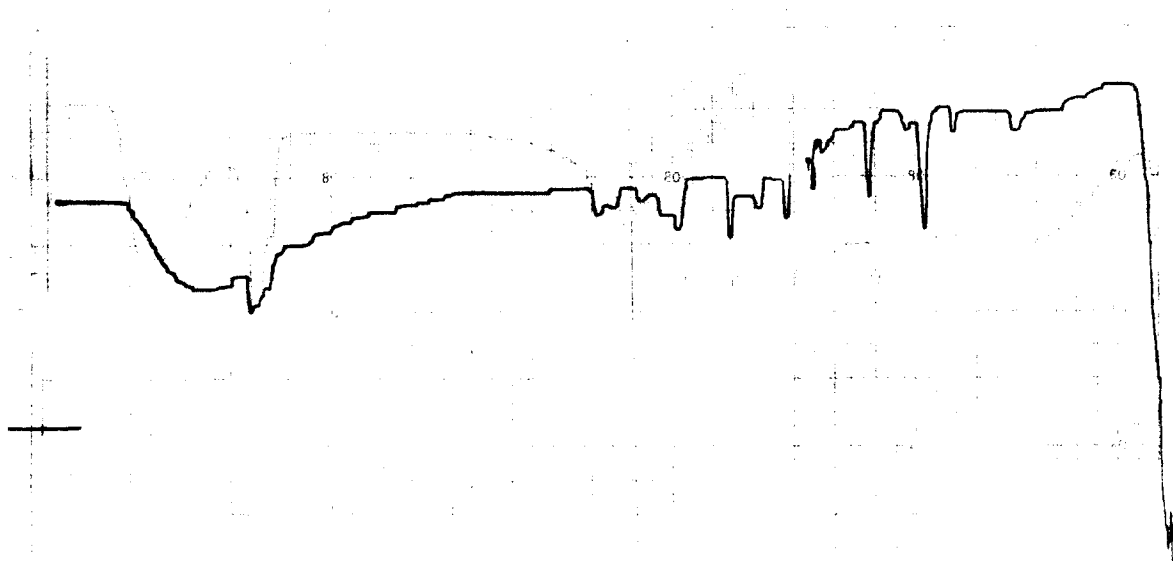


FIGURA 12. Timol en estado sólido.

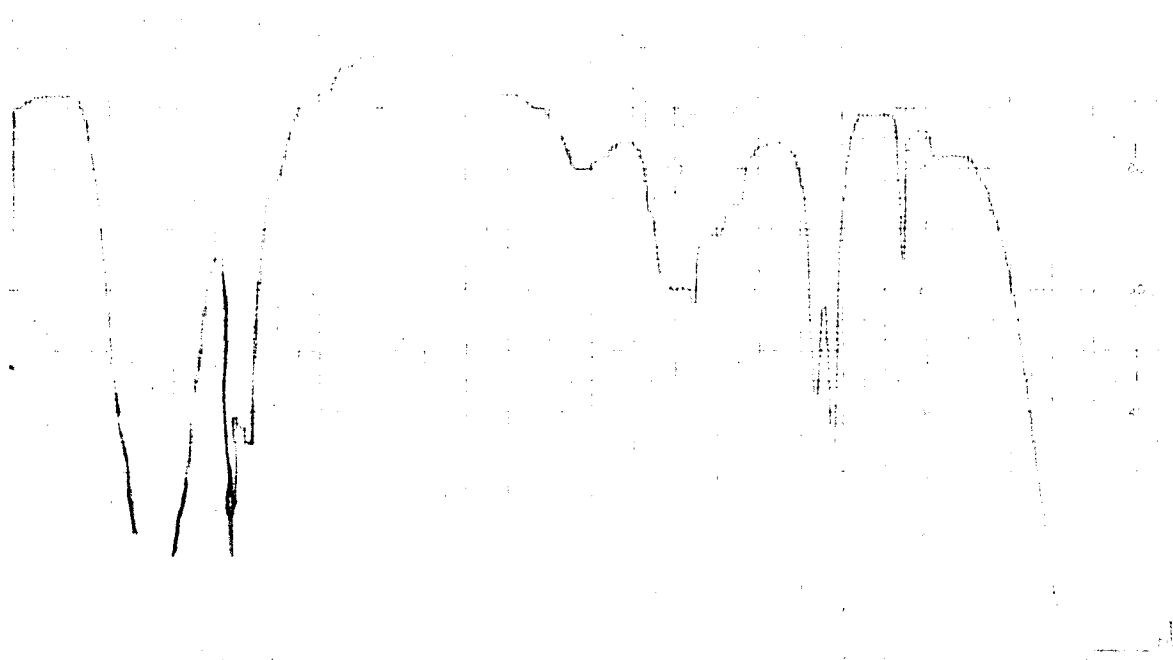
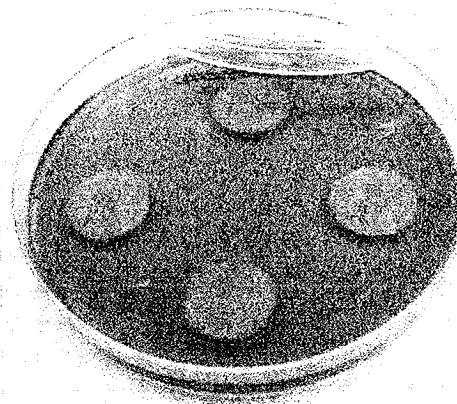


FIGURA 13. timol disuelto en etanol al 95%.

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Se prepararon medios de cultivo adecuados para que crecieran los siguientes microorganismos: *Escherichia coli* sp., *Klebsiella pneumoniae* y *Streptococcus pneumoniae* (agar Mc conkey), *Staphilococcus aureus* y *Staphilococcus epidermis* (agar sal manitol), *Candida albicans* y *Candida krusei* (agar dextrosa sabouraud). Y en cada caja se sembraron respectivamente los microorganismos correspondientes. A cada caja se le pusieron 4 discos de papel filtro cada uno impregnado con las soluciones preparadas tal como se indica a continuación:

1. Extracto obtenido en el experimento 12.
2. Blanco (etanol)
3. Extracto obtenido en el experimento 13.
4. Extracto obtenido en el experimento 7.



Fotografía 6. vista superior de una caja petri abierta, indicando como se acomodaron los discos de papel filtro, el número 1 es el de arriba y la numeración va de izquierda a derecha, con cada una de las muestras a analizar.

Todo el trabajo microbiológico de inoculación de microorganismos e impregnación de los discos se realizó en campana de flujo laminar bajo condiciones de esterilidad.

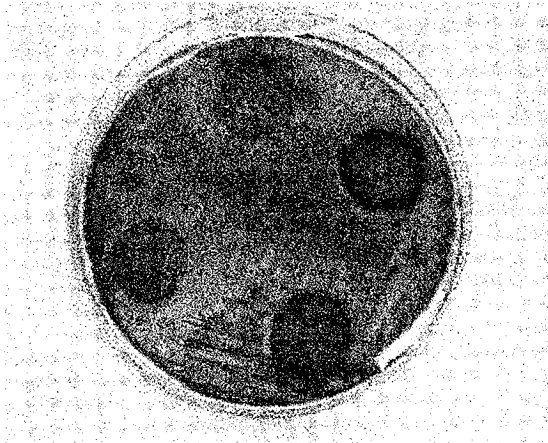
Por otra parte se utilizaron como estándar las dos esencias, y también se probaron en cada microorganismo.

RESULTADOS DE LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS CON LA IMPREGNACIÓN DE LOS DISCOS CORRESPONDIENTES

Muestra	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Staphilococcus</i>	<i>Candida albicans</i>
Experimento 12	0.8cm	0.2cm	0.3cm	0.3cm
Blanco	NH	NH	NH	NH
Experimento 13	NH	NH	NH	NH
Experimento 7	0.5cm	1cm	1cm	0.5cm
Esencia Sonora	0.3cm	0.5cm	NH	NH
Esencia Paris	1cm	1cm	NH	NH

Tabla 22 . se muestra el tamaño de los halos de inhibición que dio como resultado en cada microorganismo después del tiempo de incubación. NH = no dio ningún halo de inhibición.

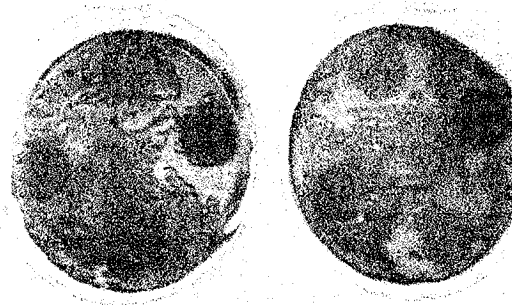
En las siguientes fotografías se pueden apreciar los halos de inhibición en los diferentes medios de cultivo. Destacando que en el disco número 1 impregnado con orégano destilado en etanol al 95% es mayor la inhibición, que en el disco número 4 impregnado con orégano macerado en etanol al 95%.



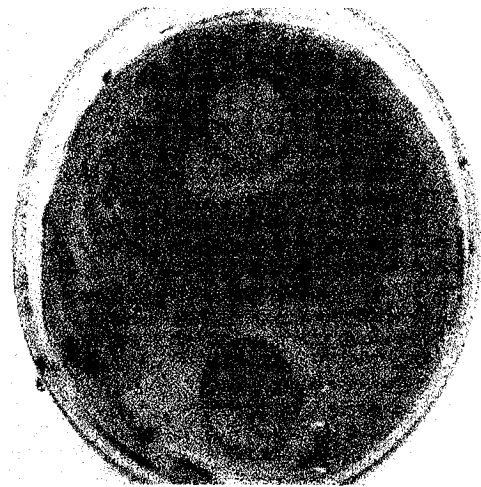
fotografía 7. *E. coli*.



fotografía 8. *Klebsiella*



Fotografía 9. *Candida*



Fotografía 10. *estafilococos*

ELABORACIÓN DE LA CREMA PROPUESTA EN EL PRESENTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Los ingredientes utilizados en la formulación para preparar 100g de crema fueron los siguientes:

FORMULACIÓN

Ingredientes	Cantidad en g
Aceite mineral	40 ml
Cera de abeja	8
Bórax	0.2
Esperma de ballena	9
Parafina	24
Esencia de orégano	2ml
Agua	40ml

Tabla 23. formulación utilizada para la elaboración de la crema.

Procedimiento: en baño maría se pone a derretir la cera de abeja y la parafina a 75 °C aproximadamente, se le agrega el aceite mineral y el esperma de ballena con agitación constante; se deja enfriar a 25° C aproximadamente y se le agrega la solución ya mezclada de agua con bórax y la esencia de orégano, se mezcla muy bien hasta obtener la consistencia deseada se almacena bien cerrada, para su análisis físico-químico y utilización en el ensayo preclínico.

Características: la crema tiene un pH de 7, un color blanco y un olor agradable, su densidad es de 0.863g/ml, se absorbe rápidamente.

ANÁLISIS PRECLÍNICO

Se consiguieron 36 ratones hembra de la cepa CD1 con un promedio de peso de 25kg, los cuales se dividieron en 3 grupos de 12 ratones cada uno, para tratarlos de distinta manera según el grupo asignado aleatoriamente.

GRUPO 1: se pesaron y marcaron, posteriormente se rasuraron los doce ratones de la parte baja de la espalda para poder aplicarles el tratamiento el cual consistió en aplicar con un isopo 1-4 dioxano del lado izquierdo con el propósito de irritarles la piel, y del lado derecho aplicarles de igual forma crema, para poder comparar ambos lados del dorso.

El dioxano se les aplico por 3 días seguidos pero al no ver resultados rápidos se cambio el solvente por benceno.

Con el benceno al tercer día de aplicación, ya se notaba la piel dañada por irritación local.

El tratamiento para este grupo fue de 19 días durante los cuales se les fue tomando se peso corporal a cada ratón tal como se muestra en la tabla número 24.

VARIACIÓN DE LOS PESOS DE LOS RATONES DEL GRUPO 1, DURANTE SU TRATAMIENTO

Ratón	Días de tratamiento							
	1 ^{er} día	4 ^o día	7 ^o día	9 ^o día	12 ^o día	14 ^o día	17 ^o día	19 ^o día
1	28g	29.26g	29.38g	29.34g	29.57g	28.95g	28.85g	32.29g
2	32.5g	31.45g	31.95g	30.96g	31.13g	29.15g	30.20g	30.19g
3	31.5g	31.70g	32.55g	31.56g	31.73g	31.50g	32.90g	32.33g
4	30.5g	30.21g	29.86g	29.35g	28.80g	27.78g	29.08g	29.45g
5	32g	28.96g	28.56g	28.32g	27.58g	25.85g	27.87g	28.84g
6	29.2g	30.34g	31.13g	29.99g	29.33g	27.53g	29.13g	29.13g
7	27.1g	27.36g	26.83g	26.78g	26.42g	25.05g	25.55g	25.53g
8	24.9g	33.51g	30.66g	31.22g	30.46g	28.76g	29.54g	32.86g
9	32.1g	29.32g	29.53g	29.45g	28.71g	26.85g	28.99g	29.23g
10	31.2g	29.65g	29.60g	29.25g	29.36g	27.90g	28.93g	27.62g
11	30.5g	29.30g	30.12g	29.66g	31.21g	30.17g	29.61g	32.22g
12	31.3g	30.92g	31.89g	31.26g	31.69g	30.32g	31.90g	31.02g

Tabla 24 . muestra la variación que hubo en los pesos de los ratones durante el tiempo de tratamiento. El ratón número 3 tenía un tumor en la pata trasera del lado derecho. El ratón número 1 era muy hiperactivo.

Características observables: en un lapso de tiempo razonable (5 minutos) después de aplicarles el tratamiento, se notó que los ratones se alteraban ya que su respiración era muy acelerada, se rascaban del lado donde se aplicó el benceno, algunos se ponían agresivos. Se pudieron apreciar heridas en su piel del lado del benceno en algunos ratones y los que no tenían herida, tenían la piel irritada.

RATONES DEL GRUPO 1.

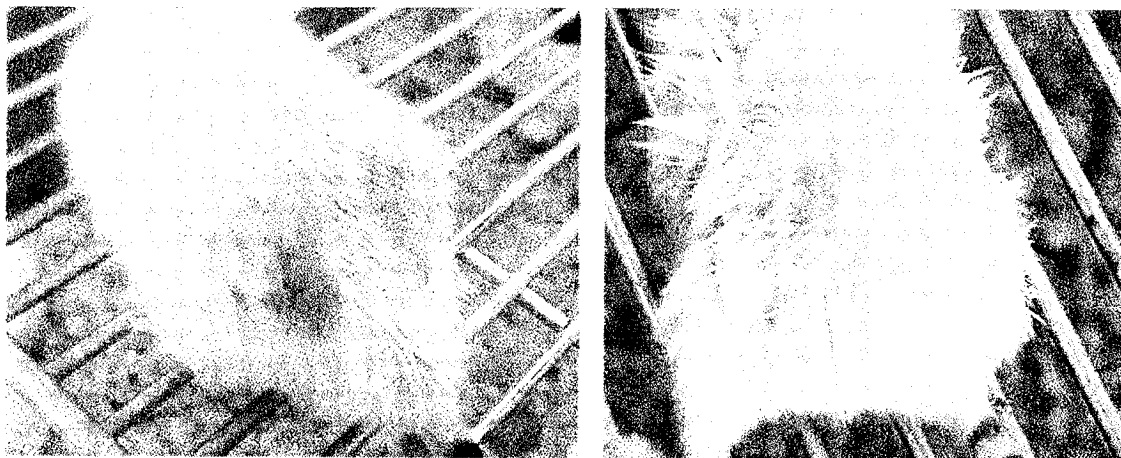


Foto grafía 11 y 12. muestra la piel con heridas del lado izquierdo donde se le aplico el benceno.

GRUPO 2: Este grupo fue de 11 ratones, ya que uno se murió antes de empezar el tratamiento. Se pesó, marcó y rasuró a cada uno de los ratones con crema depiladora marca VEET, para una mejor depilación. El tratamiento consistió en aplicar crema en ambos lados dejar reposar 15 minutos, para que absorbiera bien. Y después del lado izquierdo se les aplicó benceno.

Este grupo se trató durante 10 días, durante los cuales se les fue tomando el peso corporal a cada ratón, tal como se indica en la tabla 25.

FLUCTUACIÓN DE PESOS DE LOS RATONES DEL GRUPO 2, DURANTE SU TRATAMIENTO

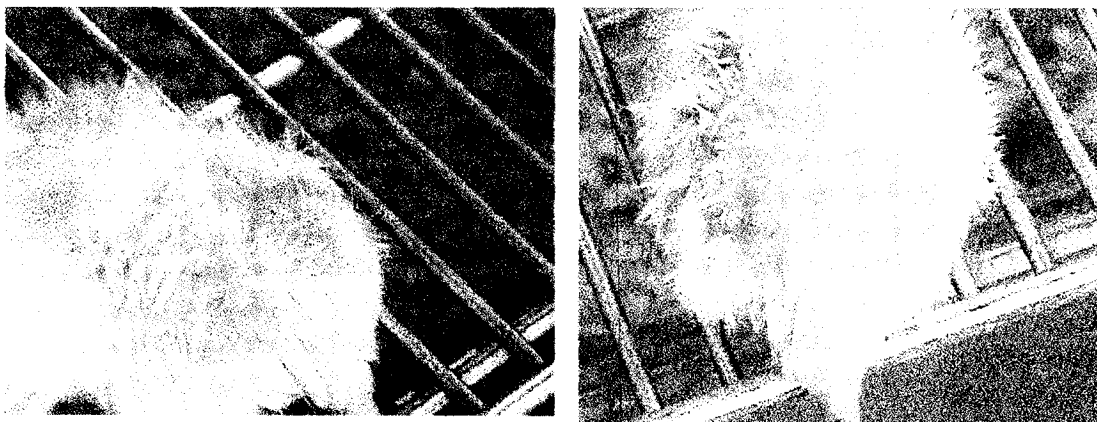
Ratón	Días de tratamiento				
	1 ^{er} día	3 ^{er} día	5 ^o día	7 ^o día	10 ^o día
1	30.06g	31.17g	33.15g	34.04g	37.12g
2	30.96g	30.51g	30.54g	M	M
3	27.09g	27.61g	26.98g	26.15g	25.99g
4	31.13g	31.06g	30.05g	31.48g	31.56g
5	30.85g	30.05g	31.84g	28.46g	28.95g
6	29.89g	28.94g	29.80g	29.96g	31.44g
7	32.54g	31.61g	30.49g	31.03g	31.46g
8	30.79g	30.55g	29.90g	30.04g	30.71g
9	31.92g	32.21g	32.09g	29.50g	31.21g
10	30.02g	29.73g	31.06g	30.92g	30.97g
11	30.24g	31.58g	31.64g	29.14g	29.12g

Tabla 25. muestra la variación en los pesos corporales de los ratones durante su tratamiento. M = murió. El ratón número 1 tenía un tumor en la pata trasera del lado izquierdo que iba creciendo día a día.

Características observables: Este grupo de ratones eran muy inquietos, cuando se les aplicaba la crema les daba hambre y se ponían a comer, después de aplicarles el benceno se ponían muy agresivos y se peleaban entre todos, se rascaban del lado izquierdo y chillaban mucho; algunos ratones mordían el fierro de su jaula, después de unos 20 minutos se quedaban muy quietos y se dormían.

Al ratón número 4 lo mordieron y le hicieron una herida sacándole sangre; sin sufrir mayores consecuencias, recuperándose rápidamente de su herida.

ACERCAMIENTO DEL DORSO EN RATONES DEL GRUPO 2.



Fotografía 13 y 14. muestran la piel del ratón irritada del lado izquierdo en donde se les aplico el benceno.

GRUPO 3: Este grupo fue de 11 ratones, ya que uno se murió, antes de empezar el tratamiento. Se marco, peso y rasuro a cada uno de los ratones con crema depiladora marca VEET, para una mejor depilación. Uno de estos 11 ratones tenía un tumor muy grande en el cuello y no se dejo tocar para rasurarlo; por lo que se tuvo que sacrificar. Por lo tanto este grupo se trabajo con solo 10 ratones.

El tratamiento consistió en aplicar benceno del lado izquierdo y crema del lado derecho, se deja reposar 15 minutos, para que absorbiera bien. Después del lado izquierdo se les vuelve a aplicar crema.

Este grupo se trató durante 11 días, durante los cuales se les fue tomando el peso corporal a cada ratón, tal como se indica en la tabla 26.

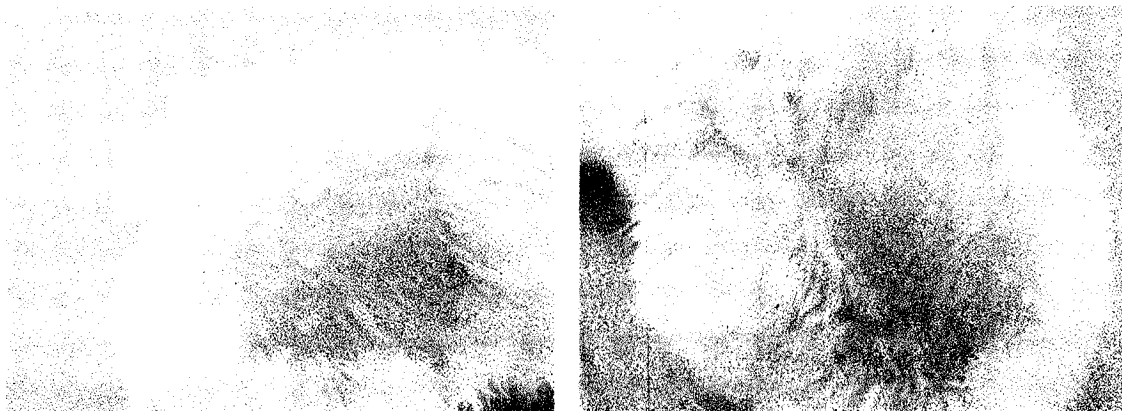
PERFIL DE LA VARIACIÓN DE PESOS DE LOS RATONES DEL GRUPO3, DURANTE SU TRATAMIENTO

Ratón	Días de tratamiento			
	1 ^{er} día	4 ^o día	8 ^o día	11 ^o día
1	29.24g	30.80g	30.64g	28.92g
2	28.21g	28.82g	30.37g	28.34g
3	27.93g	27.78g	28.48g	29.58g
4	31.11g	30.90g	31.04g	30.38g
5	27.10g	26.68g	27.50g	26.82g
6	25.78g	26.93g	29.05g	27.92g
7	26.96g	27.88g	28.74g	27.26g
8	28.04g	28.61g	29.33g	28.11g
9	27.53g	28.87g	29.07g	28.78g
10	26.51g	26.25g	29.81g	28.53g

Tabla 26 . muestra la variación en los pesos corporales de los ratones durante su tratamiento. Se puede apreciar que la mayoría incremento su peso.

Características observables: estos ratones cuando se les aplicaba el benceno del lado izquierdo y la crema del lado derecho, se alteraban ya que su respiración era acelerada, se rascaban del lado del benceno, algunos chillaban. después de aplicarles la crema sobre el benceno se ponían muy agresivos y se peleaban entre todos y se ponían a comer, después de unos 20 minutos se tranquilizaban y se dormían.

ACERCAMIENTO DE LOS RATONES DEL GRUPO 3.



fotografía 15 y 16. muestran la piel de los ratones normal después de aplicarles el tratamiento.

Todos los ratones se sacrificaron con cloroformo, y se les corto el pedazo de piel que estaba rasurado y se depositaron en frascos con 50ml de formaldehído al 10%, para posteriormente analizarlo mediante microscopio en el estudio histológico correspondiente que será llevado a cabo posteriormente.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

1.- La destilación por arrastre de vapor con agua que se realizó como lo indica el autor Adam Konstantia en su publicación: "Antifungal Activities of *Origanum vulgare* Subsp. *Hirtum*"; nos da bajos rendimientos, por lo cual el extracto obtenido contiene bajas concentraciones de timol; al realizarle la prueba de cromatografía de capa fina no da resultados significativos. Al realizar las pruebas coloridas constatamos la baja cantidad de timol ya que los colores dan tonos muy pálidos. En cuanto a la rotación óptica el extracto da un resultado menor a 1° C lo cual nos indica que nuestra muestra no define la luz polarizada.

2.- Para esta muestra de orégano seco y molido se llevo a cabo la destilación por arrastre de vapor como lo indica Economakis en su artículo "Effect of Phosphorus Concentration of the Nutrient solution on the Volatile Constituents of leaves and Bracts of *Origanum dictamnus*"; en el cual también se obtienen bajos rendimientos, las pruebas coloridas dieron negativas ya que el extracto obtenido contiene mínimas cantidades de timol y no es suficiente para que esta prueba lo pueda identificar.

3.- Se utilizó la misma técnica que el experimento anterior pero modificando el tiempo de la destilación que fue de 4h en lugar de 3h. Se pudieron observar mejoras en cuanto a las pruebas coloridas pero los rendimientos siguen siendo bajos.

4.- Este experimento se realizó de acuerdo con el autor Svetlana Kulevanova en su artículo "Identification, Isolation, and Determination of Flavones in *Origanum vulgare* from Macedonian Flora"; para la extracción del orégano. Al realizar la espectrofotometría UV-Vis obtuvimos valores de r^2 muy bajos debido a que se utilizó etanol en lugar de los solventes propuestos por dicho autor, ya que no contábamos con ellos en el laboratorio; por lo tanto el solvente no fue el adecuado.

5.- Este experimento se realizó como el número 3, solo que se le aumento la cantidad de agua, obteniéndose así un rendimiento más alto en comparación a los anteriores experimentos pero sin resultados óptimos porque la cantidad de timol en el extracto sigue siendo muy baja ya que al realizar la cromatografía de capa fina no hay suficiente cantidad de timol para observar una mancha significativa. Esta muestra tampoco es ópticamente activa ya que obtenemos resultados menores de 1° C.

6.- Con este experimento se intento extraer los bioactivos del orégano por medio de una maceración la cual fue completamente negativo en las pruebas de color y cromatoplaca, sin embargo, en la espectrofotometría UV-Vis da valores de r^2 muy bajos y con un punto máximo a una longitud de onda de 250 nm, esto significa que el extracto contiene algún otro biocompuesto pero no timol.

7.- Se realizó otra maceración pero ahora con etanol al 95%, la cual tampoco tiene resultados óptimos en cromatoplaca y pruebas de color, sin embargo, en la espectrofotometría UV-Vis nos da valores de r^2 bajos y el pico máximo está en una longitud de onda de 275 nm; lo cual muestra la presencia de timol pero en muy bajas concentraciones.

8.- Solo se realizó un espectro infrarrojo al orégano seco y molido, pudiendo observar picos no bien definidos en diferentes longitudes y mostrando grupos OH así como enlaces C-H; señalándonos así que la muestra pudiera estar contaminada.

9.- Se realizó una infusión verificando que no se obtienen los bioactivos del orégano de esta forma por lo cual todas las pruebas realizadas fueron negativas.

10.- Se compraron 2 esencias de orégano para compararlas entre sí y utilizarlas de estándar. Estas nos dan resultados muy parecidos en las pruebas físico-químicas. En cambio en la espectrofotometría UV-Vis e infrarroja la esencia del mercado sonora muestra bajas concentraciones de timol y muestra que esta muy contaminada; por lo que la esencia de la farmacia parís tubo mejores resultados.

11.- Se volvió a realizar una maceración pero a diferentes concentraciones de etanol, los resultados siguen siendo pobres, ya que en la cromatoplaca no hay resultados contundentes debido a la baja concentración de timol que contiene el extracto. En la espectrofotometría UV-Vis muestra valores de r^2 más altos que los demás experimentos mostrando que si se obtiene timol.

12.- Se realizó una destilación nuevamente pero se cambió el agua por etanol al 95%, ya que el timol es soluble en etanol, se obtuvieron rendimientos más altos que en las otras destilaciones, mediante las pruebas coloridas y con la espectrofotometría UV-Vis, se demostró la presencia de timol ya que obtuvimos valores de r^2 muy cercanos al valor de $r^2 = 0.999$. esto nos indica que el extracto contiene timol en concentraciones más altas.

13.- se realizó una maceración a una tableta comercial adquirida en una tienda naturista, la cual aparte del orégano contiene otras plantas medicinales. Únicamente se le realizó el espectro infrarrojo para verificar la presencia de timol y poder comparar con otros espectros.

14.- Se le realizó todas las pruebas físico-químicas a los cristales de timol y lo utilizamos como estándar, para poder comparar resultados con los experimentos anteriores, siendo el experimento 12 el más parecido.

En el análisis microbiológico se utilizaron microorganismos como *E. Coli*, *Klebsiella* y *estafilococos* como los utilizaron Dorman y Deans en su artículo "Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant volatile Oils"; los cuales si presentan inhibición con el extracto utilizado, y tal como lo muestran estos autores la *E. Coli* muestra un halo de inhibición mayor a los otros microorganismos.

También se utilizó la *Candida* para incluir microorganismos diferentes a las bacterias gram negativas y gram positivas antes mencionadas, como el autor Hammer A. en su artículo "In-vitro Activity of essential Oils, in Particular *Melaleuca Alternifolia* (tea tree) Oil and Tea Tree Oil Products Against *Candida spp.*"; nos muestra como el orégano también inhibe a este microorganismo, pudiendo estar completamente de acuerdo con este autor al realizar las pruebas.

La formulación que proponemos en esta investigación es fácil de preparar así como sus ingredientes son fáciles de conseguir, además las pruebas físico-químicas realizadas están dentro de los parámetros aceptados para las cremas. Mantiene una adecuada estabilidad a temperatura ambiente, conservándola en un lugar seco y fresco (sin que aparezcan indicios de desfasamientos) y mantiene una adecuada apariencia.

En el análisis preclínico podemos observar que cuando aplicamos la crema primero y encima el benceno la piel tiende a irritarse ya que el benceno tiende a reseca la piel y los ratones se rascan mucho. Por lo que, es preferible utilizar la crema como tratamiento a lesiones leves de la piel; porque ayuda a que la piel no se irrite ni se lesione, como se pudo observar en el grupo 3 de ratones que no presentaron irritación de su piel porque la crema se les aplicó después del benceno.

CONCLUSIONES

En esta investigación se realizó una amplia búsqueda bibliográfica para dar a conocer las características del Orégano (*Origanum vulgare*) así como sus posibles funciones y aplicaciones terapéuticas.

De acuerdo a la bibliografía consultada los resultados bromatológicos pueden variar según la especie de orégano de la que se trate, la edad de la planta, la localidad así como la fecha en que está se recolecta.

De los procedimientos utilizados para la obtención de los bioactivos se concluye que la destilación por arrastre de vapor con agua da muy bajos rendimientos y se tiene que utilizar mayor cantidad de planta para obtener cantidades adecuadas para trabajarlas.

Si se realizan extracciones con acetato de etilo después de la destilación se siguen obteniendo bajos rendimientos, se realizaron maceraciones con agua a diferentes concentraciones de orégano y tampoco hay buenos resultados.

Sin embargo, se realizó una maceración con etanol al 95% durante 24 h (Experimento 7). y si se obtienen los principios activos ya que son solubles en el alcohol. Se realizaron las pruebas necesarias y todas fueron positivas.

Por otra parte se realizó una destilación por arrastre de vapor con etanol al 95% (Experimento 12) la cual duro 4 h. obteniendo muy buenos resultados en todas las pruebas de control físico-químicas realizadas.

Por lo tanto para la obtención de los principios activos contenidos en el orégano se concluye que la destilación por arrastre de vapor con etanol es el mejor método ya que se lleva menos tiempo que la maceración y se obtuvieron mejores resultados.

En cuanto a la separación de los principios activos no se encontró el mejor método para aislarlos ya que uno es sólido (Timol) y el otro es líquido (Carvacrol). Sin embargo se utilizó el extracto de la destilación para realizar las demás pruebas y la elaboración de la crema.

En cuanto a los resultados del análisis microbiológico, el Experimento 12 y el Experimento 7 inhibieron a microorganismos como *E. coli*, *Klebsiella*, *Estafilococos* y *Candida albicans* obteniendo así mejores resultados que las muestras utilizadas como estándar. Sin embargo se utilizó el experimento 12 para la elaboración de la crema ya que éste tubo mejor resultado en la espectrofotometría UV-Vis.

En el análisis preclínico se puede concluir que la crema elaborada a base de orégano no daña la piel y ayuda a sanar las heridas impidiendo que se infecten.

Podemos concluir que se cumplieron los objetivos de este trabajo.

GLOSARIO

Absolutos: aceite esencial puro que se obtiene de las flores por doble extracción con disolvente en la elaboración de perfumes.

Antiemético: sustancia o procedimiento que previene o atenúa las náuseas y los vómitos.

Antiespasmódica: que previene o alivia los espasmos.

Antinauseoso: agente que contrarresta las náuseas.

Ayurveda: significa “el conocimiento de la vida”, “ciencia de la longevidad”, “arte de vivir”. Previene las enfermedades antes de esperar a que estas se manifiesten. Enseña que las interacciones del cuerpo, la mente y el espíritu pueden ser predecidas, equilibradas y mejoradas.

Béquica: Adj. Perteneiente o relativo a la tos.

Carminativa: sustancias que alivian las flatulencias y la distensión abdominal. Alivia la distensión gaseosa y los espasmos dolorosos especialmente después de las comidas.

Desinfectante: sustancia química que puede aplicarse a los objetos para destruir microorganismos.

Digestiva: sustancia que como la pepsina, se añade a la dieta para ayudar a la digestión de los alimentos.

Emenagogo: m. agente o medida que promueve la menstruación.

Expectorante: sustancia que facilita la salida del moco u otros exudados desde los pulmones, bronquios o tráquea. Reduce la viscosidad de las secreciones pulmonares.

Pecíolo: (del lat. *Petiolus*, que, como *pediolus*, es una forma diminutiva de *pes*, *pedis*, *pie*, tronco de una planta), m. pezón o rabillo que une la lámina de la hoja a la base foliar o al tallo. Su forma en general, es rolliza y por lo común, un poco acanalada superiormente. A lo largo de él discurren en su interior, el hacecillo o los hacecillos conductores que van a parar al rastro foliar del tallo. Tanto por su morfología externa como por su estructura tiene simetría zigomorfa, lo mismo que la lámina.

Piodermitis: cualquier enfermedad purulenta de la piel, como el impétigo.

Reiki: palabra japonesa que representa energía de la vida universal, se basa en la convicción que cuando la energía espiritual se canaliza por medio de un profesional, el espíritu del paciente se cura.

Verticilastros: (de verticilo, con el suf. –astro que entraña la idea de falsedad), m. conjunto de flores de algunas labiadas, que por tratarse de cimas muy contraídas y enfrentadas parecen constituir un verticilo; como en los géneros *Mentha*.

Verticilo: (del lat. *Verticillus*, rodaja); m. inflorescencia formada de pedúnculos muy cortos que a trechas rodean el tallo o las ramas.

Xerostomía: del griego “xerós” (seco) “stóma” (boca) “-ia” (gr). Patología manifestada por la resequedad de la boca por el mal funcionamiento de las glándulas salivales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Leung Y. A. "Encyclopedia of Common Natural Ingredients. Used in Food, drugs, and cosmetics". A Wiley-Interscience Publication. Canada. 1980. Pág. 252-253,309-310.
2. Schavenberg P., Ferdinand P. "Guía de las Plantas Medicinales". Ediciones Omega S. A. Barcelona. 1980. Pág. 190-310.
3. Sánchez S. O. "Flora del valle de México". Editorial Herrero. México. 1969. Pág. 30.
4. Fernández J. P. "Guías Prácticas, Plantas Medicinales". editorial Omega. Barcelona. 1987. Pág. 185.
5. Harrison S. G. "Guía de las Plantas Comestibles" ediciones Omega S. A. Barcelona. 1980. Pág. 140-141.
6. <http://www.uco.es/organiza/servicios/jardin/etnobot.htm>
7. Trease G. Evans W. "Farmacognosia". Interamericana-MacGraw-Hill. México. 1991. Pág. 230.
8. Dr. Font Q. "Diccionario de Botánica". Editorial Labor S. A. Barcelona. 1982. Pág. 809, 1098.
9. <http://www.usek.es/facultades/biologia/etnobot/default.htm>
10. Dr. P. Font Quer. "Plantas Medicinales" editorial Labor S. A. Zaragoza. 1993. Vol. 3 Pág. 695-696.
11. Argueta V. A. "Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana II". Instituto Nacional Indigenista, biblioteca de la medicina tradicional mexicana. México. 1994 Pág. 1073-1077.
12. Fernández M; Nieto, A. "Plantas Medicinales". Ediciones Universidad de Navarra. Pamplona. 1982, Pág.125.
13. Bonnier G. "plantas medicinales melíferas, útiles y perjudiciales". Ediciones omega. Barcelona 1990. Pág. 140.
14. <http://www.elhorticultor.com.ar/etnobotanica1.html>
15. <http://www.fitoterapia.net/biblioteca/etno/etno.htm>
16. Wren R. C. "Enciclopedia de Medicina Herbolaria y Preparados Botánicos". Grijalbo. México DF. 1994. Vol. 1 y 2 Pág.286, 461.
17. Islas P. V. "breve historia de la farmacia en México y en el mundo". Editorial Atlante. México. 1996. Pág. 13.
18. Sánchez R. "La Farmacia en el Imperio Mexica". Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. Vol. 24. 1994. Pág.17.
19. Crespo M. "Tiempo de Dioses". Médico Moderno. Año XLII. 2003 Pág. 6.
20. Donet B. "El Largo Camino de la Aromaterapia". Médico Moderno. Año XLI. 2003. Pág.52.
21. <http://www.natura.com.mx/articulos/herbolariamile/herbomile/codicevadiano.html>.
22. <http://www.salud.bioetica.org/terapialter.htm>
23. <http://www.ramosmejia.org.or/s/inf/recomend/desf.htm>
24. <http://www.saludbioetica.org/terapiasalternativas.htm>
25. <http://www.cvt.es/USERS/seip/guada3.htm>
26. <http://www.fda.gov/default.htm>

27. http://www.geocities.com/aceites_esenciales/aceites.html
28. Bruneton J. "Farmacognosia Fitoquímica, Plantas Medicinales". Editorial Acribia S. A. España. 2001. Pág. 477-533.
29. http://www.geocities.com/aceites_esenciales/quimica.htm
30. <http://www.lindisima.com/aceites.htm>
31. Ciganda C., Laborde A. "Herbal Infusions Used for Induced Abortion". Journal of Toxicology Clinical Toxicology. Vol. 41. 2003. Pág. 235-239.
32. Herber W. Y. "Tratado de Farmacognosia". Editorial Atlante S. A. México DF. 1951. Pág. 542.
33. Cooper J. Bloom F. "Las Bases Bioquímicas de la Neurofarmacología". Manual Moderno. México. 1977. Pág. 63.
34. Driesbach R. "Manual de Toxicología Clínica". Manual Moderno. México. 1997. Pág. 54.
35. Bruneton, J. "Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia". Acribia. Zaragoza. 1991, Pág.254.
36. Day R. "Química Analítica Cuantitativa". 5º edición. Prentice-Hall Hispanoamericana S. A. México. 1989. Pág. 645.
37. Shriner, L. R. "Identificación de compuestos orgánicos". Ed. Limusa. México 1974. Pág. 308.
38. Perrin D. D. and Armarego F. "Purification of Laboratory Chemical". 2ª edition. Pergamon Press. New York. 1980. Pág. 4-35,560-561.
39. Clarke's. "Isolation and identification of drugs". 2º edition. The pharmaceutical Press. Vol. 1. London 1983. Pág. 103-123.
40. Snell D. and Leslie S. "Encyclopedia of Industrial Chemical Analysis". Vol. 17 Intercience Publishers. New York. 1973. Pág. 6-27
41. <http://fai.unne.edu.ar/biología/bacterias.htm>
42. <http://www.panix.com/candida>
43. Buit S. A. and Reinders R. D. "Antibacterial Activity of Selected Plant Essentials Oils Against *Escherichia coli* 0157:H7". Letters in Applied Microbiology. Año 2003. Vol. 36. Pág. 162.
44. <http://www.lugo.usc.es/ecoli/E.coli2.html>
45. Dr. Gebhard P. L. "Microbiología". Editorial Interamericana. México. 1972. Pág. 256, 258,239.
46. Guerra T. A. "Infecciones de Piel y Tejidos Blandos". Monografía de Dermatología. Grupo Aula Médica SA. México. 1995. Pág. 765
47. Tortora J. G. "Principios de anatomía y fisiología". 6ª edición. Editorial Harla. México. 1993. Pág. 242.
48. <http://www.angelfire.com/alt/tum/piel.html>
49. Requena L. M., Castro A. "Piodermatitis. Piel". 1990; 5: 291-298.
50. Camacho F. "Dermatosis Bacterianas. Dermatología". Editorial CEA 2ª edición. Madrid. 1998. Pág. 703-717.
51. Boylan J. C. "Handbook or Pharmaceutical Excipients". The Pharmaceutical Society of Great Britain. USA. 1986.
52. Budavari S. "The Merck Index". Twelfth edition. Whitehouse Station. New York. 1996. Pág. 308-1604.
53. García D. "Estudio Farmacognóstico de *Ocinum gratissimum* (orégano cimarrón)". Revista Cubana Planta Medica. 1998. Vol.3 . Pág. 31-36.

54. Aligianis N., Kalpoutzakis. "Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Origanum* Spices". J. Agric. Food Chem. Año 2001, Vol. 49, Pág.4168-4170.
55. <http://www.figmay.com.ar/arrastrevapor.htm>
56. Luciana G. "Essential Oils from Mediterranean Lamiaceae as Weed Germination Inhibitors" J Agric Food Chem. 2003. Vol.51, Pág. 6158-6164.
57. Dr. Domínguez X. A. "Métodos de Investigación Fitoquímica". Editorial Limusa. México. 1979. Pág. 39-44,81-89,229-238.
58. Kulevanova S., Stefova M. "Identification, Isolation, and Determination of Flavones in *Origanum Vulgare* from Macedonian Flora". J. LIQ.CHROM. & REL. TECHNOL. Vol. 24. 2001 Pág. 589-600.
59. Soberón A. G. "Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos". Séptima edición. Pág. 237-345.
60. Dr. Frenk M. J." Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos". Secretaria de Salud. México 2001. Pág. 19-69.
61. Aligianis N., Kalpoutzakis. "Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Origanum* Spices". J. Agric. Food Chem. Año 2001, Vol. 49, Pág.4168-4170.
62. Rosado P." Composición y Propiedades Antibacterianas del Aceite Esencial". Revista Cubana Farmacología. 1997 vol. 30. Pág. 13
63. Dorman H. J. D. And Deans S. G. "Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile oils". J. of Applied Microbiology. Año 2000. Vol. 88. Pág. 306-316.