

Composición y capacidad antioxidante *in-vitro* de aceites esenciales ricos en Timol, Carvacrol, *trans*-Anetol o Estragol

Composition and *in-vitro* antioxidant capacity of essential oils rich in Thymol, Carvacrol, *trans*-Anethole or Estragole

Amner Muñoz-Acevedo¹, Vladimir V. Kouznetsov², Elena E. Stashenko¹

RESUMEN

Se determinó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) la composición química de aceites esenciales (AE), aislados por hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD), de las especies vegetales aromáticas *Artemisia dracunculul*, *Foeniculum vulgare*, *Illicium verum*, *Lippia micromera*, *Lippia origanoides*, *Ocimum* spp., *Plectranthus amboinicus*, *Tagetes filifolia*, *Tagetes lucida* y *Thymus vulgaris*. Los valores de capacidades antioxidantes *in vitro* de estos aceites esenciales, se obtuvieron usando los ensayos de decoloración del catión-radical ABTS^{•+} (metodologías convencional y con dilución en microplacas) y la oxidación del ácido linoleico, inducida por O₂ y Fe⁺². El potencial inhibitorio de ABTS^{•+} fue más alto para los aceites esenciales que contienen fenoles (carvacrol y timol), que para los aceites esenciales ricos en éteres (*trans*-anetol y estragol). La actividad antioxidante mediante el ensayo ABTS^{•+} modificado en orden decreciente fue: AE *Plectranthus amboinicus* ≥ AE *Lippia origanoides* >> AE *Thymus vulgaris* > AE *Lippia micromera* >>> AE *Tagetes lucida* (flores) > AE *Ocimum* sp. > AE *Tagetes lucida* (hojas) > AE *Illicium verum* > AE *Tagetes filifolia* (Cenivam) > AE *Foeniculum vulgare*. *Salud UIS* 2009; 41: 287-294

Palabras clave: GC-MS, MWHD, fenoles, éteres, aceites esenciales, ácido linoleico, ABTS^{•+}

ABSTRACT

Gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) was used to determine the chemical composition of essential oils (EO) isolated by microwave-radiation-assisted hydrodistillation (MWHD) of *Artemisia dracunculul*, *Foeniculum vulgare*, *Illicium verum*, *Lippia micromera*, *Lippia origanoides*, *Ocimum* sp., *Plectranthus amboinicus*, *Tagetes filifolia*, *Tagetes lucida* and *Thymus vulgaris*. *In vitro* antioxidant capacity values using ABTS^{•+} discoloration assays (traditional and microplate methods) and

1. Laboratorio de Cromatografía, Centro de Investigación en Biomoléculas, Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM, Universidad Industrial de Santander

2. Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular, Centro de Investigación en Biomoléculas, Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM, Universidad Industrial de Santander,

Correspondencia: Elena E. Stashenko, PhD. Laboratorio de Cromatografía, Centro de Investigación en Biomoléculas, Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM, Universidad Industrial de Santander, Carrera 27 calle 9. Bucaramanga, Colombia. Tel: 6456737, Fax: 6358210.

E-mail: elena@tucan.uis.edu.co

Recibido: 13 de Noviembre de 2009 **Aprobado:** 20 de Diciembre de 2009

the linoleic acid oxidation (with O₂ and Fe⁺²) of these essential oils were obtained. Essential oils with phenols (carvacrol and thymol) high content showed higher total antioxidant capacity values than the essential oils rich in ether compounds (estragole and *trans*-anethole). The antioxidant capacity using by modified ABTS⁺ assay in decreasing order was as follows: EO *Plectranthus amboinicus* ≥ EO *Lippia origanoides* >> EO *Thymus vulgaris* > EO *Lippia micromera* >>> EO *Tagetes lucida* (flowers) > EO *Ocimum sp.* > EO *Tagetes lucida* (leaf) > EO *Illicium verum* > EO *Tagetes filifolia* (Cenivam) > EO *Foeniculum vulgare*. *Salud UIS* 2009; 41: 287-294

Keywords: GC-MS, MWHD, phenols, ethers, essential oils, linoleic acid, ABTS⁺

INTRODUCCIÓN

El *trans*-anetol, carvacrol, estragol y timol son componentes típicos de aceites esenciales aislados de muchas especies vegetales aromáticas¹⁻³. Estas sustancias se usan principalmente como saborizantes, aromatizantes y conservantes en nutrición, medicina y en las industrias de alimentos, bebidas alcohólicas, farmacéutica^{4,5}; además, se emplean para la elaboración de perfumes, jabones y detergentes⁶. Estos compuestos y los aceites que los contienen presentan una variedad de actividades biológicas, desde anti-inflamatoria, anti-bacteriana, anti-fúngica, insecticida, anestésica, hasta antioxidante⁷⁻¹⁰.

Actualmente, se ha incrementado considerablemente el interés en encontrar antioxidantes provenientes de fuentes naturales, para uso en alimentos o en fármacos, para reemplazar antioxidantes sintéticos, los cuales están cada vez más restringidos por sus posibles efectos cancerígenos¹¹.

En este trabajo, se aislaron por MWHD e identificaron por GC-MS, los metabolitos secundarios de 10 especies vegetales, de las cuales 8, fueron sembradas en el cultivo experimental del Complejo Agroindustrial Piloto del Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM. Además, se evaluó la capacidad antioxidante *in vitro* de los aceites esenciales usando dos métodos: el ensayo de decoloración del catión-radical ABTS⁺ (metodologías convencional y con dilución en microplacas) y la oxidación del ácido linoleico, por medio de la cuantificación del hexanal, producto secundario final de su degradación oxidativa. El empleo de la metodología con dilución en microplacas permitió obtener valores no subestimados de las capacidades antioxidantes totales de los aceites evaluados; mientras que los valores del efecto protector de los aceites sobre el ácido linoleico mostraron que los aceites esenciales presentan, posiblemente, otros mecanismo de acción diferentes y/o complementarios al de transferencia de electrones/protones.

METODOLOGÍA

Reactivos

El carvacrol (>98%), timol (>99%), *trans*-anetol (>98%), estragol (>98%), ABTS (>99%), α -tocoferol (97%), BHA (99%), BHT (99%), pentafluorfenilhidracina (97%), hexanal (98%) y ácido linoleico (97%) se adquirieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, EE.UU); persulfato de potasio (97%), sulfato de hierro (98%), dodecilsulfato de sodio (98%), *Tris* y cloruro de potasio fueron comprados a Merck (Darmstadt, Alemania). Todos los solventes (metanol, etanol, hexano, agua) fueron grado HPLC de Mallinckrodt Baker Inc. (J.T. Baker, Phillipsburg, EE.UU).

Aislamiento de los AE

Los aceites esenciales de las 10 especies fueron obtenidos por MWHD (hidrodestilación asistida por la radiación de microondas) de las hojas de *T. vulgaris*, *P. amboinicus*, *L. origanoides*, *L. micromera*, *T. lucia*, *T. filifolia*, *Ocimum* spp., cultivadas en el Complejo Agroindustrial Piloto de CENIVAM en la UIS. La especie *Foeniculum vulgare* y los frutos de *I. verum* fueron adquiridos del mercado local. La identificación taxonómica de muestras botánicas se llevó a cabo en el Instituto de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia (Bogotá).

Composición química

Se emplearon 2 sistemas GC-MS para el análisis de los aceites esenciales: un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies* 6890 Plus (Palo Alto, CA, EE. UU.), equipado con un detector selectivo de masas *Agilent Technologies* 5973N (EI, 70 eV, *m/z* 40-350) y un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies* 6890 acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies* 5975 (EI, 70 eV, *m/z* 40-350). Ambos sistemas estuvieron equipados con inyector con/sin división de flujo (división de flujo 1:30), una torre de inyección automática HP 7863 y un sistema de datos

MSChemStation G1701-DA, que incluía las bases espectrales Wiley 138K, NIST 2005 y QuadLib 2004. Se emplearon una columna capilar de sílice fundida con recubrimiento de 5%-fenil-poli(dimetilsiloxano) (DB-5MS, J&W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.) de 60m, 0,25 mm d.i., 0,25 μ m d_r y una columna capilar de sílice fundida con recubrimiento interno de poli(etilenglicol) enlazado (DB-WAX, J&W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.) de 60 m, 0,25 mm d.i., 0,25 μ m d_r. El programa de temperatura del horno para la columna DB-5MS fue de 45°C (2 min) hasta 150°C (5 min) @ 6°C/min, luego hasta 275°C (10 min) @ 8°C/min. Para la columna DB-WAX, la temperatura del horno se programó desde 45°C (5 min) hasta 150°C (3 min) @ 3°C/min, luego hasta 220°C (5 min) @ 4°C/min. Las temperaturas de la cámara de ionización y de la línea de transferencia se mantuvieron a 230 y 285°C, respectivamente.

Ensayo *in vitro* de decoloración del catión-radical ABTS*

Para determinar la capacidad de atrapamiento del catión-radical ABTS** se empleó la metodología descrita por Re *et al.*¹² en los espectrofotómetros Genesys 20 (Thermospectronic – método convencional) y lector de microplacas Versamax (Molecular Devices – método modificado) mediante espectroscopía VIS a 734 nm. Los ensayos se realizaron por quintuplicado.

Ensayo *in vitro* de la oxidación del ácido linoleico

Para el ensayo *in vitro* de la oxidación del ácido linoleico se siguió la metodología descrita por Tamura y Yamagami¹³. La peroxidación lipídica se indujo por iones Fe⁺² (sulfato de hierro en presencia de oxígeno) y su incubación con el antioxidante se efectuó a 37°C durante 16 h en un cuarto oscuro. El hexanal, producto secundario mayoritario de la degradación oxidativa del ácido, se derivó con pentafluorfenilhidracina (PFPH) en hexano, según la metodología descrita por Stashenko *et al.*¹⁴. Cada solución se inyectó luego al GC-ECD (detector con captura de electrones), para su análisis cromatográfico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química de los aceites esenciales estudiados

Los nombres científico y común, número de *voucher*, rendimientos de los AE, índices de retención (columna apolar y polar) y cantidades relativas (%) de los componentes mayoritarios, identificados en las especies vegetales estudiadas se registran en la Tabla 1. En el

AE de *A. dracunculus* no se encontraron estragol y *trans*-anetol; sin embargo, se detectaron elemicina y *cis*-asarona, que son compuestos metoxi-derivados del estragol y el *trans*-anetol, respectivamente, y han sido encontrados como constituyentes principales del estragón ruso¹⁵.

El alto contenido de estragol en los AE de las flores (93%) y hojas (93%) de *T. lucida* fue cercano al reportado por Ciccio¹⁶ (95 y 97%, respectivamente) pero, las eficiencias de aislamiento fueron superiores (0,5% - flores y 0,9% - hojas) para los AE bajo estudio. Además, dentro de los aceites no se detectaron tagetona y dihidrotagetona^{6,17}, que son compuestos característicos de las especies *Tagetes*.

Por otra parte, el contenido total de *trans*-anetol y estragol en los AE de *T. filifolia* fue de 97% (Municipio de Bolivar, Departamento de Santander) y 98% (Complejo piloto CENIVAM). No obstante, *T. filifolia* cultivado en el Municipio de Bolivar presentó mayor contenido de *trans*-anetol (73%) y menor contenido de estragol (24%), que el cultivado en CENIVAM. Estas diferencias posiblemente se debieron a factores geo-ambientales. La composición determinada para los AE de *T. filifolia* fue semejante a la reportada por Zigadlo *et al.*¹⁸, pero discrepó de las reportadas por De Feo *et al.*¹⁹, donde los componentes principales fueron el *cis*-anetol (68%) y el estragol (14%); y por Marotti *et al.*²⁰, cuyo constituyente mayoritario fue el estragol (78%).

La eficiencia de extracción del AE del fruto seco de *I. verum* (2%) y el contenido de *trans*-anetol (83%), junto con sus demás constituyentes, concuerdan con los reportes de la literatura sobre esta especie^{17,21}. La composición establecida para el AE de *F. vulgare* fue parecida a la reportada por Yamini *et al.*²², siendo el *trans*-anetol (70%), el limoneno (10%) y el estragol (4%) los componentes más abundantes, pero difiriendo en el contenido de la fenchona (11%).

La composición obtenida del AE de *P. amboinicus* presentó diferencias con las mencionadas por Pino *et al.*²³ quienes identificaron carvacrol (51,0%) y α -terpineno + *p*-cimeno (10,3%); con Murthy *et al.*²⁴, con un 70,0% de contenido de carvacrol y con Singh *et al.*²⁵ quienes mostraron a *P. amboinicus* como una fuente casi pura de timol (94,3%).

La composición química del AE de *T. vulgaris* determinada en este trabajo y la descrita por Golmakani y Rezaei²⁶ fue muy similar. No obstante, en la mayoría de reportes encontrados (Rota *et al.*²⁷, Jordan *et al.*²⁸ y Razzaghi-Abyaneh *et al.*²⁹) los constituyentes

principales y sus cantidades difirieron. Chizzola *et al.*³⁰ reportaron otros quimiotipos de *T. vulgaris* ricos en carvacrol (26-38%), linalol (22-67%), *trans*-4-tujanol (16-33%), geraniol (32%) y *p*-cimeno (28%).

Los constituyentes volátiles identificados en el AE de *L. organoides* fueron los mismos citados por Oliveira *et*

*al.*³¹, aunque con diferencias en sus cantidades relativas: carvacrol (38,6%) y timol (18,5%).

Finalmente, la composición encontrada para el AE de *L. micromera* difirió de las reportadas por Pino *et al.*³² y Tucker *et al.*³³, las cuales se caracterizaron por tener 42 y 26,5% de carvacrol, respectivamente.

Tabla 1. Nombres científico y común, número de *voucher*, rendimientos de los AE, índices de retención (columna apolar y polar) y cantidades relativas (%) de los componentes mayoritarios, identificados en las 10 especies vegetales estudiadas.

Nombre científico (Nombre común)	Voucher	Rendimiento AE (%p/p)	Componente	Índice de retención		Cantidad relativa, %
				DB-5	DBWax	
<i>Artemisia dracunculus</i> (estragón francés)	Semillas certificadas.	0,5 (hojas)	Sabineno	976	1118	15,3
			Metileugenol	1400	2015	14,2
			Elemicina	1557	2235	33,3
			<i>cis</i> -Asarona	1653	2406	14,7
<i>Foeniculum vulgare</i> (hinojo)	Mercado local	0,3 (hojas)	Limoneno	1034	1195	8,5
			Estragol	1222	1675	5,8
			<i>trans</i>-Anetol	1308	1844	73,3
<i>Illicium verum</i> (anís estrellado)	Mercado local	2,0 (frutos)	Limoneno	1034	1195	3,0
			Estragol	1222	1675	3,4
			<i>trans</i>-Anetol	1308	1844	82,5
<i>Lippia micromera</i> (tomillo español)	COL 519797	1,6 (hojas)	<i>p</i> -Cimeno	1030	1269	19,2
			γ -Terpineno	1063	1244	4,8
			Metil-timil-éter	1237	1595	16,5
			Timol	1291	2186	24,7
			Carvacrol	1295	2223	3,5
<i>Lippia organoides</i> (orégano cimarrón)	COL 512270	2,3 (hojas)	<i>p</i> -Cimeno	1030	1269	9,5
			γ -Terpineno	1063	1244	10,0
			Timol	1291	2186	14,3
<i>Ocimum sp.</i> (sigueme morado)	COL 512280	0,2 (hojas)	Carvacrol	1295	2223	44,4
			Eucaliptol	1040	1208	6,4
			Linalol	1108	1552	11,3
<i>Plectranthus amboinicus</i> (orégano francés)	COL 523701	0,1 (hojas)	Estragol	1222	1675	49,9
			<i>p</i> -Cimeno	1030	1269	8,6
			γ -Terpineno	1063	1244	10,6
<i>Tagetes filifolia</i> (anisillo)	Muni-cipio Bolivar	0,4 (hojas)	Timol	1291	2186	0,9
			Carvacrol	1295	2223	53,7
			Estragol	1222	1675	23,6
<i>Tagetes lucida</i> (estragón invierno)	Cultivo Cenivam	1,6 (hojas)	trans-Anetol	1308	1844	73,0
			Estragol	1222	1675	27,4
			trans-Anetol	1308	1844	70,6
<i>Tagetes lucida</i> (estragón invierno)	COL 512074	0,5 (flores)	β -Mirceno	990	1162	2,5
			Estragol	1222	1675	93,2
			0,9 (hojas)	β -Mirceno	990	1162
<i>Thymus vulgaris</i> (tomillo)	Semillas certificadas	0,2 (hojas)	Estragol	1222	1675	93,8
			<i>p</i> -Cimeno	1030	1269	17,7
			γ -Terpineno	1063	1244	6,8
<i>Thymus vulgaris</i> (tomillo)	Semillas certificadas	0,2 (hojas)	Timol	1291	2186	34,0
			Carvacrol	1295	2223	6,4
			Estragol	1222	1675	93,8

Valoración de la capacidad antioxidante *in vitro* de los aceites esenciales

La exactitud del método ABTS⁺⁺ fue estimada usando α -tocoferol, BHT y BHA, empleando concentraciones entre 5×10^{-6} y 4×10^{-5} M. La capacidad antioxidante estimada por el método convencional espectroscópico

de decoloración del ABTS⁺⁺ arrojó valores de TAA (mmol de Trolox[®]/kg de AE) altos para los AE con alto contenido de fenoles; mientras que, para los AE con alto contenido de éteres aromáticos, estos valores fueron relativamente bajos (Tabla 2).

Tabla 2. Valores de TAA y del efecto protector (%) para las sustancias de referencia, de control y AE, obtenidos en los ensayos de decoloramiento de ABTS⁺⁺ e inhibición de la oxidación del ácido linoleico.

Sustancia evaluada	Inhibición ABTS ⁺⁺ TAA (mmol Trolox/kg SE ^a)		Inhibición de la oxidación del ácido linoleico
	Tiempo, 6 min	Tiempo, 30 min (multipozo)	Efecto protector, % (5 mg de SE)
Vitamina E	2590 ± 33	3300 ± 47	39,8 ± 0,7
Trolox [®]	-	-	60 ± 3
BHA	6900 ± 487	7530 ± 184	90 ± 4
BHT	990 ± 31	21000 ± 308	80 ± 2
Estragol	-	(21% - 0,04M)	50 ± 4
<i>trans</i> -Anetol	-	(33% - 0,04M)	80 ± 6
Carvacrol	-	6064 ± 69	66 ± 5
Timol	-	6137 ± 43	64,2 ± 0,2
<i>Artemisia dracunculus</i>	0,00023 ± 0,00001	-	30 ± 6
<i>Foeniculum vulgare</i>	0,00015 ± 0,00001	1,52 ± 0,05	40 ± 5
<i>Illicium verum</i>	5,6 ± 0,1 (5)	4,7 ± 0,3	60 ± 5
<i>Lippia micromera</i>	670 ± 24 (4)	1840 ± 3 (4)	68 ± 6 (5)
<i>Lippia origanoides</i>	2040 ± 21 (1)	4500 ± 337 (2)	77 ± 5 (2)
<i>Ocimum sp.</i>	5,1 ± 0,2 (6)	12,7 ± 0,2	50 ± 2
<i>Plectranthus amboinicus</i>	800 ± 24 (3)	4800 ± 198 (1)	79 ± 8 (1)
<i>Tagetes filifolia</i> (CENIVAM)	2,6 ± 0,2	-	60 ± 2
<i>Tagetes filifolia</i> (Bolivar)	1,5 ± 0,1	3,7 ± 0,2	60 ± 1
<i>Tagetes lucida</i> (flores)	3,68 ± 0,06	13,6 ± 0,2	70 ± 2 (3)
<i>Tagetes lucida</i> (hojas)	3,8 ± 0,2	11,6 ± 0,03	70 ± 2 (4)
<i>Thymus vulgaris</i>	890 ± 32 (2)	3100 ± 84 (3)	66 ± 6 (6)

^a Sustancia evaluada

La comparación de los valores TAA de las sustancias “control” con los AE evaluados reveló que ninguno de los AE superó a los valores de actividad antioxidante de BHA y α -tocoferol. Sin embargo, los AE de *P. amboinicus*, *T. vulgaris* y *L. origanoides* presentaron capacidad anti-

radicalaria cercana o superior a la de BHT. Los valores de capacidad antioxidante relativamente bajos para los AE constituidos por éteres aromáticos, pueden ser atribuidos a la ausencia de fenoles o sustancias capaces de donar electrones o hidrógenos³⁴.

Al evaluar el método microescalado se encontró que todos los AE ricos en estragol y *trans*-anetol presentaron una menor capacidad anti-radicalaria comparada con los tres antioxidantes de control; mientras que, los AE ricos en timol y carvacrol presentaron una menor actividad comparada con los antioxidantes BHT y BHA. Sin embargo, *Thymus vulgaris* presentó capacidad anti-radicalaria cercana a la del α -tocoferol, *Plectranthus amboinicus*, junto con *Lippia origanoides*, superaron el valor de TAA del α -tocoferol.

Las diferencias encontradas entre los valores TAA de los antioxidantes control y los aceites evaluados, por los métodos convencional y modificado, se basaron en que el tiempo empleado (6 min) para el ensayo convencional no fue suficiente para completar la reacción entre el catión-radical ABTS^{•+} y la sustancia evaluada, trayendo como consecuencia diferencias significativas en los valores de TAA³⁵. Mientras que, el ensayo a microescala (a 30 min), permitió que la reacción entre el antioxidante y el catión-radical alcanzara condiciones cercanas al equilibrio y así no subestimar la capacidad antioxidante total.

La capacidad antioxidante de los AE se atribuye a los compuestos activos presentes en ellos; es decir, que se debe a los componentes principales, pero además a la presencia de aquellos constituyentes en pequeñas cantidades o la sinergia entre ellos³⁶.

Finalmente, los ensayos de inhibición del ácido linoleico fueron realizados utilizando 5 mg de las sustancias. Los AE de *P. amboinicus*, *L. origanoides*, *T. lucida* (hojas y flores), *L. micromera*, *T. vulgaris*, *I. verum* y *T. filifolia* (Municipio de Bolívar y CENIVAM) mostraron un efecto protector mayor que la α -tocoferol y Trolox[®]. Mientras que, los AE de *F. vulgare* y *A. dracunculus* fueron los que menor efecto protector presentaron en la inhibición de la oxidación del ácido linoleico, comparados con todos los antioxidantes de referencia evaluados. Estos resultados confirman el uso potencial de los AE de plantas en la industria farmacéutica y/o de alimentos^{37,38}.

Los resultados de la inhibición de la peroxidación lipídica indicarían que el efecto protector de los aceites esenciales sobre el sistema modelo, para el caso de los aceites evaluados, transcurre tanto por medio de transferencia de electrones o hidrógenos, como por otro mecanismo de protección, e.g., a través de “sacrificio” de terpenos que se oxidan más rápidamente, que el ácido linoleico^{39,40}.

La capacidad antioxidante para la mayoría de los aceites esenciales evaluados no ha sido determinada por los métodos ABTS^{•+} modificado y la oxidación del ácido linoleico. Sin embargo, valores de capacidad antioxidante para los aceites de *T. vulgaris*^{30,37}, *A. dracunculus*³⁴, *F. vulgare*³⁶ y *I. verum*⁴¹ han sido reportadas, en algunos casos por los métodos empleados (ABTS^{•+} convencional y oxidación del ácido linoleico) como por otros ensayos (e.g., DPPH). Al comparar los resultados reportados con los obtenidos (método convencional y ácido linoleico) se encuentra similitud entre ellos: los aceites constituidos por derivados de éteres aromáticos mostraron menor inhibición que los aceites compuestos por timol y carvacrol, en el caso del ensayo DPPH (ensayo con un mecanismo similar al ABTS^{•+})⁴² y ácido linoleico.

CONCLUSIONES

La capacidad anti radicalaria de los AE evaluados estuvo directamente relacionada con la composición química, poniéndose de manifiesto los efectos antagonistas y sinergistas entre los constituyentes de los AE con alto contenido de fenoles y en los AE con alto contenido de éteres aromáticos, respectivamente. Los AE ricos en estragol y *trans*-anetol, mostraron mejores resultados que sus constituyentes principales individuales; mientras que, timol y carvacrol fueron más activos que los AE que los contuvieron.

La comparación de la capacidad antioxidante entre los ensayos ABTS^{•+} e inhibición del ácido linoleico mostró tendencias similares tanto para compuestos puros como para los AE. El secuestro de radicales, que puede obstruir la propagación de la reacción en cadena de la peroxidación lipídica, es un mecanismo importante para la actividad inhibitoria. Por ende, su determinación (atrapamiento de radicales) es un buen marcador de la capacidad antioxidante.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación del trabajo a través del Contrato RC-432-2004 Colciencias-CENIVAM. A.M.-A. a Colciencias, por su apoyo económico a través de beca doctoral.

REFERENCIAS

1. Heinrich M, Robles M, West JE, Ortíz de Montellano BR, Rodríguez E. Ethnopharmacology of mexican asteraceae (Compositae). Annual Rev Pharmacol Toxicol 1998;38: 539-565.

2. Reichling J, Galati EM. Chemical constituents of the genus *pimpinella*. In: Miró Jodral M, ed. *Illicium, pimpinella and foeniculum*. 5th ed. Boca Raton: CRC Press, 2004. p 68-85.
3. Parthasarathy VA, Chempakam B, Zachariah J. *Chemistry of Spices*. Cambridge: CAB International, 2008. 455 p.
4. Bauert K, Garbe D, Surburg H. *Common fragrance and flavor materials: Preparation, properties and uses*. Weinheim: Wiley-VCH; 2001. 293 p.
5. Baratta MT, Dorman HJD, Deans SG, Figueiredo AC, Barroso JG, Ruberto G. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour Fragr J* 1998;13: 235-244.
6. Burdock GA. *Fenaroli's handbook flavor ingredients*. Boca Raton: CRC Press, 2005. 1943 p.
7. Lahlou M. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother Res* 2004;18: 435-436.
8. Tisserand R, Balacs T. *Essential oil safety. A guide for health care professionals*. London: Churchill Livingstone, Hartcourt Publishers Limited, 1999. 279 p.
9. Güenther E, Althausen D. Volume II - The constituents of essential oils. In: _____, eds. *The essential oils*. Malabar: Robert E. Krieger Publishing Company, 1975. p. 508-512.
10. Edris AE. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytother Res* 2007;21:308-323.
11. Lanigan RS, Yamarik TA. Final report on the safety assessment of BHT. *Int J Toxicol* 2002;21 Suppl 2: 19-94.
12. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad Biol Med* 1999;26: 1231-1237.
13. Tamura H and Yamagami A. Antioxidative activity of monoacylated anthocyanins isolated from muscat bailey a grape. *J Agric Food Chem* 1994;42: 1612-1615.
14. Stashenko EE, Ferreira MC, Sequeda LG, Martínez JR, Wong JW. Comparison of extraction methods and detection systems in the gas chromatographic analysis of volatile carbonyl compounds. *J Chromatogr A* 1997;779: 360-369.
15. Arabhosseini A, Padhye S, van Beek TA, van Boxtel AJB, Huisman W, Posthumus MA and Müller J. Loss of essential oil of tarragon (*Artemisia dracuncululus* L.) due to drying. *J Sci Food Agric* 2006;86: 2543-2550.
16. Ciccío JF. Source of almost pure methyl chavicol: volatile oil from the aerial parts of *Tagetes lucida* (Asteraceae) cultivated in Costa Rica. *Rev Biol Trop* 2005;52: 853-857.
17. Galsby JS. *Dictionary of plants containing secondary metabolites*. London: Taylor & Francis, 2005. 1637 p.
18. Zigadlo JA, Lamarque AL, Maestri DM, Guzmán CA and Grosso NR. Composition of the inflorescence oils of some *Tagetes* species from Argentina. *J Essent Oil Res* 1993;5: 679-682.
19. De Feo V, Della Porta G, Urrunaga Soria E, Urrunaga Soria R and Senatore F. Composition of the essential oil of *Tagetes filifolia* Lag. *Flavour Fragr J* 1998;13: 145-147.
20. Marotti M, Piccaglia R, Biavati B and Marotti I. Characterization and yield evaluation of essential oils from different *Tagetes* species(a). *J Essent Oil Res* 2004;9: 16-20.
21. Chempakam B and Balaji S. Star anise. In: Parthasarathy VA, Chempakam B and Zachariah TJ, ed. *Chemistry of spices*. Cambridge: CAB International; 2008, p. 319-330.
22. Yamini Y, Sefidkon F and Pourmortazavi SM. Comparison of essential oil composition of Iranian fennel (*Foeniculum vulgare*) obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Flavour Fragr J* 2002; 17: 345-348.
23. Pino JA, García J and Martínez MA. Comparative chemical composition of the volatiles of *Coleus aromaticas* produced by steam distillation, solvent extraction and supercritical carbon dioxide extraction. *J Essent Oil Res* 1996;8: 373-375.
24. Murthy Pushpa S, Ramalakshmi K and Srinivas P. Fungitoxic activity of Indian borage (*Plectranthus amboinicus*) volatiles. *Food Chem* 2009;114: 1014-1018.
25. Singh G, Singh OP, Prasad YR, de Lampasona MP, Catalan C. Studies on essential oils, Part 33: chemical and insecticidal investigations on leaf oil of *Coleus amboinicus* Lour. *Flavour Fragrance J* 2002;17: 440-442.
26. Golmakani M-T and Rezaei K. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chem* 2008;109: 925-930.
27. Rota MC, Herrera A, Martínez RM, Sotomayor JA, Jordan MJ. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control* 2008;19: 681-687.

28. Jordan MJ, Martínez RM, Goodner KL, Baldwin EA, Sotomayor JA. Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Ind Crops Prod* 2006;24: 253-263.
29. Razzaghi-Abyaneh M, Shams-Ghahfarokhi M, Rezaee M-B; Jaimand K, Alinezhad S, Saberi R, Yoshinari T. Chemical composition and antiaflatoxic activity of *Carum carvi* L., *Thymus vulgaris* and *Citrus aurantifolia* essential oils. *Food Control* 2009;20: 1018-1024.
30. Chizzola R, Michitsch H, Franz C. Antioxidative properties of *Thymus vulgaris* leaves: comparison of different extracts and essential oil chemotypes. *J Agric Food Chem* 2008;56: 6897-6904.
31. Oliveira DR, Leitão GG, Bizzo HR, Lopes D, Alviano DS, Alviano CS, Leitão SG. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. *Food Chem* 2007, 101: 236-240.
32. Pino JA, Rosado A, Menendez R. Leaf oil of *Lippia micromera* Schauer in DC from Cuba. *J Essent Oil Res* 1998;10: 189-190.
33. Tucker AO, Maciarelo MJ, Espaillat JR, French EC. The essential oil of *Lippia micromera* Schauer in DC (Verbenaceae). *J Essent Oil Res* 1993;5: 683-685.
34. Kordali S, Kotan R, Mavi A, Cakir A, Ala A, Yildirim A. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. *J Agric Food Chem* 2005;53: 9452-9458.
35. Van den Berg R, Haenen GRMM, van den Berg H and Bast A. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem* 1999;66: 511-517.
36. Politeo O, Jukić M, Miloš M. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of twelve spice plants. *Croat Chem Acta* 2006;79: 545-552.
37. Sacchetti G, Maietti S, Muzzoli M, Scaglianti M, Manfredini S, Radice M, Bruni R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem* 2005;91: 621-632.
38. Katalinic V, Milos M, Kulisic T, Jukic M. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem* 2006;94: 550-557.
39. Foti MC, Ingold KU. Mechanism of inhibition of lipid peroxidation by γ -terpinene, and unusual and potentially useful hydrocarbons antioxidant. *J Agric Food Chem* 2003;51: 2758-2765.
40. Ruberto G, Baratta MT. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem* 2000;69: 167-174.
41. Padmashree A, Roopa N, Semwal AD, Sharma GK, Agathian G, Bawa AS. Star-anise (*Illicium verum*) and black caraway (*Carum nigrum*) as natural antioxidants. *Food Chem* 2007;104: 59-66.
42. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol* 1995;28: 25-30.