

## COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE *Lippia alba* (Miller) N.E. Brown (VERBENACEAE)

NELSON ALVARENGA<sup>1</sup>; NANCY CANELA DE ALVARENGA; HUGO TORIO

<sup>1</sup>Departamento de Fitoquímica, Dirección de Investigación, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción, P.O.BOX 1055, San Lorenzo, Paraguay.  
E-mail: [nelson@qui.una.py](mailto:nelson@qui.una.py)

**RESUMEN:** Se analizó por cromatografía gaseosa-espectroscopia de masas la composición del aceite esencial de las hojas de *Lippia alba* (Miller) N. E. Brown (Verbenaceae) que se encuentra en el Jardín de Aclimatación de Plantas Nativas y Medicinales de la Facultad de Ciencias Químicas - UNA. Se hallaron como componentes mayoritarios linalol, cariofileno, germacreno D, alcanfor y -elemeno. El aceite esencial demostró poseer actividad antifúngica frente a *Candida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae*, utilizando el método de dilución en agar modificado.

**SUMMARY:** Chemical composition of essential oil from *Lippia alba* (Miller) N. E. Brown (Verbenaceae) leaves, cultivated in the Native and Medicinal Plants Garden of the Facultad de Ciencias Químicas - UNA, was determined. The analysis was performed by Gas chromatography-Mass spectroscopy (GC-MS). The main components were linalol, caryophyllene, germacrene D, camphor and -elemene. The oil showed antifungal activity against *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae* using a modified agar dilution method.

### INTRODUCCIÓN

*Lippia alba* (Miller) N.E. Brown ex Britton & Wills. (Verbenaceae) es un subarbusto muy aromático, que se encuentra ampliamente distribuido en América Central y del Sur. Una característica de la planta es presentar cambios en la composición química de sus aceites esenciales dependiendo de su estado de desarrollo, ubicación geográfica, características del suelo y el clima (DURÁN, 2007). Varios estudios han dado cuenta de esta variabilidad. Así, en especies de Guatemala, se encontraron como componentes mayoritarios el limoneno y la piperitona (44 y 31% respectivamente) (SENATORE y RIGANO, 2001); en muestras de la India (BAHL *et. al.*, 2000, 2002), Uruguay (LORENZO *et. al.*, 2001) y Brasil (SIANI *et. al.*, 2002), el compuesto mayoritario fue el linalol (55-65%). En muestras de Colombia, la esencia fue rica en dos compuestos: limoneno y carvona (33 y 51%) (STASHENKO *et. al.*, 2004).

De acuerdo con estos datos y además, teniendo presente que los aceites esenciales presentan interesantes actividades antimicrobianas, se procedió a la determinación de los componentes principales de la esencia de *L. alba* cultivada en el Jardín de Aclimatación de la FCQ y a la evaluación de su actividad antifúngica frente a *Candida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae*. Se eligieron estas especies debido a

que existen pocos agentes antifúngicos disponibles en el comercio actualmente. Además, *C. albicans* es un organismo oportunista, que produce infecciones severas en individuos inmunocomprometidos, por lo que resulta importante la búsqueda de sustancias que puedan presentar actividad frente al mismo.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal utilizado fueron hojas y ramas tiernas recolectadas durante los meses de agosto a septiembre de 2007. El pH del suelo fue de 5,42 y el porcentaje de materia orgánica de 0,95% (determinado utilizando el kit pH NPK Soil Test, West Meters Ltd., UK). Una muestra fue depositada en el Herbario de la Facultad de Ciencias Químicas (Céspedes 197). Las hojas frescas fueron secadas al aire durante 48 a 72 h. El aceite esencial fue obtenido por destilación por arrastre con vapor de agua (hidrodestilación) en un aparato Clevenger. Cada destilación se llevó a cabo con 100 gramos de material vegetal, durante 3 h.

El aceite fue conservado en viales de cintilación, secado con sulfato de sodio anhidro y analizado por cromatografía gaseosa con detección e identificación por espectrometría de masas.

Para la determinación de los componentes del aceite esencial, se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas Shimadzu QP-5050A, con una columna capilar de tipo DB-5 de 30 m de longitud y film 0,25  $\mu\text{m}$ , inyectando 1  $\mu\text{l}$  de aceite y la siguiente programación de temperatura: 45°C durante 3 minutos, luego se aumentó a 4 °C por minuto hasta alcanzar la temperatura final de 240°C, en la que permanece 3,25 minutos. La temperatura del inyector fue de 150°C y la de la interfase de 250°C. Se utilizó inyección split con una relación 300:1. Como gas carrier se utilizó Helio, con un flujo de 1,2 mL/min. y una velocidad lineal de 40 cm / seg. La identificación de los picos se hizo utilizando las librerías NIST21 y NIST107.

La actividad antimicrobiana se determinó utilizando el método de dilución en agar aprobado por el CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute, anteriormente, NCCLS) utilizando la siguiente modificación: luego de autoclararlo, se incorporaron a un tubo, conteniendo 10 mL del medio de cultivo (Agar Saboureaud), 50  $\mu\text{l}$  de Tween 20 de modo a obtener una concentración final de 0,5% (v/v). El propósito de esto es aumentar la solubilidad de la esencia en el medio de cultivo (HAMMER *et. al.*, 1999). Luego se incorporó el aceite esencial (50, 25 y 12,5 $\mu\text{l}$ ) y luego 2 $\mu\text{l}$  de una suspensión de los microorganismos en estudio, conteniendo aproximadamente  $10^4$  UFC de cada uno. La concentración de aceite esencial en cada tubo fue de 0,5; 0,25 y 0,125% (v/v) respectivamente. Esto se depositó en placas de Petri de 5,5 cm de diámetro y se incubaron a 37°C por 48 h. El agar con el agregado de Tween 20 pero sin esencia fue utilizado como control positivo.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La bibliografía hallada de diferentes autores, sobre la composición de aceites esenciales de *L. alba* da cuenta de resultados muy diversos según la procedencia del material vegetal, como se comentó con anterioridad.

En la tabla 1 se muestran los principales componentes del aceite esencial de la planta, con sus porcentajes relativos.

**Tabla 1.** Componentes principales presentes en el aceite esencial de *Lippia alba*.

N <sup>o</sup>	Compuesto	TR (min.)	%
1.	Linalol	16,495	52,83
2.	Cariofileno	28,198	6,33
3.	Alcanfor	17,933	5,53
4.	Germacreno D	30,262	4,18
5.	β-Elemeno	27,154	3,99

Destaca el elevado contenido en linalol (52,83%). En este sentido, el resultado coincide con los hallados en la India, Uruguay y Brasil, siendo por otra parte diferente a las variedades encontradas en Colombia, donde los compuestos principales fueron limoneno y carvona, y en Guatemala, donde los principales compuestos fueron el limoneno y la piperitona.

En lo referente a la actividad antimicrobiana, el aceite esencial inhibió el crecimiento de *C. albicans* y *S. cerevisae* a las concentraciones ensayadas, como se observa en la tabla 2. El hecho de que la esencia presente un contenido alto de linalol, alcanfor y germacreno D apoya la actividad observada, ya que estos compuestos han demostrado poseer actividad frente a microorganismos en

**Tabla 2.** Actividad antifúngica del aceite esencial de *Lippia alba*.

Microorganismo	Concentraciones ensayadas (% v/v)		
	0,5	0,25	0,125
<i>C. albicans</i>	(+)	(+)	(+)
<i>S. cerevisae</i>	(+)	(+)	(+)
Control	(-)	(-)	(-)

estudios previos (TEIXEIRA, 2006).

(+) = sin crecimiento a las 48 h.      (-) = crecimiento

#### AGRADECIMIENTOS

A las profesoras Rosa Degen y Claudia Céspedes del Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNA por la provisión y caracterización del material vegetal. A la Quím. Analítica Patricia Quiñones de la Cátedra de Edafología de la FCQ, por la determinación del pH y contenido de materia orgánica del suelo.

### BIBLIOGRAFÍA

- Bahl, J.R., Garg, S.N., Singh, S.C., Bansal, R.P., Naqvi, A.A., Kumar, S. 2000. Composition of linalool-rich essential oil from *Lippia alba* grown in Indians plains, *Flav. Fragr. J.* 15: 199-200.
- Duran, D.C., Monsalve, L.A., Martínez, J.R., Stashenko, E.E. 2007. Estudio comparativo de la composición química de aceites esenciales de *Lippia alba* provenientes de diferentes regiones de Colombia y el efecto del tiempo de destilación sobre la composición del aceite, *Scientia et Técnica Año XIII*, 33: 435-438.
- Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *J. Appl. Microbiol.* 86: 985-990.
- Lorenzo, D., Paz, D., Davies, P., Vila, R., Cañigueral, S., Dellacassa, E. 2001. Composition of a new essential oil type of *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown from Uruguay, *Flav. Fragr. J.* 16: 356-359.
- Senatore, F., Rigano, D. 2001. Essential oil of two *Lippia* spp. (Verbenaceae) growing wild in Guatemala, *Flav. Fragr. J.* 16: 169-171.
- Siani, A., Tappin, M., Ramos, M., Mazzei, J., RamoS, M.C., De Aquino, F., Frighetto, N. 2002. Linalool from *Lippia alba*: Study of the reproducibility of the essential oil profile and the eantiomeric purity, *J. Agric. Food Chem.* 50: 3518-3521.
- Stashenko, E., Jaramillo, B., Martínez, J. 2004. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown, grown in Colombia and evaluation of its *in vitro* antioxidant activity, *J. Chromatogr. A.* 1025: 93-103.
- Teixeira, M.C. 2006. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromática utilizadas no Brasil, *Multiciencia: construindo a historia dos produtos naturais.* 7:1-16