

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS ACEITES DE *Lippia graveolens* L., *Thymus vulgaris* L. y *Origanum majorana* L.

TESIS

Que presenta ESTEFANÍA MORAZ ALDERETE

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS

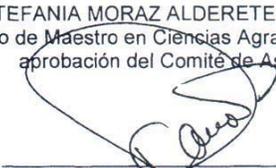
Torreón, Coahuila

Junio 2021

FITOQUIMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS ACEITES DE *Lippia graveolens* L., *Thymus vulgaris* L. y *Origanum majorana* L.)

Tesis

Elaborada por ESTEFANIA MORAZ ALDERETE como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias Agrarias con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dr. Pedro Cano Ríos
Asesor Principal



Dr. José Luis Reyes Carrillo
Asesor



M.C. Edgardo Cervantes Alvarez
Asesor



Dr. Pablo Preciado Rangel
Asesor



Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán
Jefe del Departamento de Postgrado



Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Subdirector de Postgrado

Torreón, Coahuila

Junio, 2021

AGRADECIMIENTOS

A DIOS por guiarme y ayudarme para cumplir esta gran meta en mi vida.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, mi “Alma Mater” por haberme dado la oportunidad de recibirme de una licenciatura y ahora de una maestría. Me ha dejado bastante aprendizaje, experiencias que me han fortalecido como persona.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca que me otorgó para realizar mis estudios de Maestría número: con número de CVU: 954901.

Al Centro de Terapias Alternativas y Orientación a la Salud, por haberme brindado la confianza y la oportunidad de ayudar en varias actividades, desde mi licenciatura hasta mi maestría.

Al M.C. Edgardo Cervantes Álvarez, por todo el apoyo que me ha brindado desde la licenciatura hasta la maestría. Por todas sus enseñanzas, por todo el apoyo que me brindó para sacar adelante mi maestría y por todas las facilidades, además de permitirme estudiar en los diplomados que se imparten en el CETAOS, parte de mi crecimiento profesional y personal se lo debo en gran parte a él, porque ha sembrado en mí una gran semilla y le doy gracias a Dios por haberlo puesto en mi camino, es una gran persona él y toda su familia, la Sra. Paula, sus hijos Lupita, Lalo, Lucy y Amado.

Al Dr. Vicente de Paul Álvarez Reyna, por todas las facilidades que me brindó para empezar mi maestría. Además de todo el apoyo que me ha brindado desde que lavaba carros en la licenciatura hasta mi maestría, muchas gracias

Al Dr. Pedro Cano Ríos por todo su valioso apoyo, todo el conocimiento compartido, le agradezco la paciencia, los buenos consejos y la confianza que me tuvo en todo este tiempo. Es una excelente persona, muchas gracias.

Al Dr. José Luis Reyes Carrillo, por todo el aprendizaje y la gran semilla que dejó en mí en el área de investigación y por compartirme todo su conocimiento, una gran persona, maestro e investigador, muchas gracias.

A la Dra. Mercedes Georgina Ramírez Aragón, por todo el conocimiento compartido y gracias por compartir su valioso tiempo, por enseñarme todo lo relacionado a la fitoquímica y métodos de extracción de aceites, gracias a usted me he decidido por esta gran línea de investigación, gracias infinitas.

DEDICATORIA

A Dios y a mis padres María Teresa Alderete Santoyo (QEPD) y Ángel Moraz de la Cruz por haberme dado la vida y haberme inculcado valores y guiado con el buen ejemplo, el buen actuar, el buen pensar y el buen hablar.

A mi hermana Ángela Gabriela Moraz Alderete por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas, aprendiendo siempre juntas y gracias a Dios que me permite guiarte con el buen ejemplo. Te amo hermanita.

A mi esposo David Encino Villanueva por confiar en mí desde la licenciatura hasta mi maestría, por todo su apoyo incondicional en todos estos años, por el no ser conformistas y siempre luchar por nuestras metas. Por cierto, lo que amo de ti es que siempre que voy a emprender algo nuevo ya sea en mi vida profesional, laboral, espiritual, siempre me apoyas, muchas gracias.

A mi padrino de estudios Don Pedro Díaz de Rivera, gracias a él soy lo que soy ahora, él fue la primera persona en confiar en mí desde los 8 años proporcionándome una beca del 100 por ciento para estudiar en el Colegio Cervantes y el Instituto María Cristina. Siempre me inculcó que ayudara a mis padres y a mi hermana y que en un futuro yo pueda apoyar a un niño o niña como él lo hizo conmigo. Tengo todo gravado en mi mente, todas sus pláticas, enseñanzas, Dios lo bendiga donde quiera que esté y gracias infinitas por todo.

A mi madrina Doña Griselda de Borrego gracias por permitirme ser parte de su vida y también por depositar su confianza en mí y en mi familia. Gracias por todos sus consejos, regalos y el apoyo que me ha brindado desde mis 13 años. Muchas gracias y Dios la bendiga siempre a usted y a su familia.

“La naturaleza es por excelencia el gran médico”

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDO	vi
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 OBJETIVO GENERAL	3
1.2 OBJETIVOS PARTICULARES	3
1.3 HIPÓTESIS.....	4
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1 El género <i>Origanum</i>	5
2.1.1 Descripción botánica <i>Lippia graveolens</i> H.B.K.	6
2.1.2 Clasificación taxonómica <i>Lippia graveolens</i> H.B.K.	8
2.1.3 Usos generales y aplicaciones de <i>Lippia graveolens</i> H.B.K.	8
2.1.4 Composición química de <i>Lippia graveolens</i> H.B.K.....	9
2.2 El género <i>Thymus vulgaris</i> L.....	10
2.2.1 Descripción botánica de <i>Thymus vulgaris</i> L.	11
2.2.2 Clasificación taxonómica <i>Thymus vulgaris</i> L.....	13
2.2.3 Usos generales y aplicaciones de <i>Thymus vulgaris</i> L.....	13
2.2.4 Composición química <i>Thymus vulgaris</i> L.....	14
2.3 El género <i>Origanum majorana</i> L.	15
2.3.1 Descripción botánica <i>Origanum majorana</i> L.	15
2.3.2 Clasificación taxonómica <i>Origanum majorana</i> L.....	17
2.3.3 Usos generales y aplicaciones de <i>Origanum majorana</i> L.	17
2.3.4 Composición química <i>Origanum majorana</i> L.	18
2.4 Aceites Esenciales	19
2.5 Métodos de extracción.....	20

2.5.1 Destilación por arrastre de vapor	20
2.5.2 Hidrodestilación	21
2.5.3 Método enfleurage o enfloración	22
2.5.4. Método prensado en frío.....	22
2.5.5 Método uso de solventes.....	23
2.5.6 Método de extracción dióxido de carbono CO ₂ supercrítico.....	24
2.6 Compuestos fenólicos	25
2.7 Flavonoides.....	27
2.8 Capacidad antioxidante	27
2.9 Método ABTS ⁺ (azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-acido sulfónico).....	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS	30
3.1 Material vegetal empleado para la extracción de aceites esenciales.	30
3.2 Extracción de aceites esenciales.....	30
3.3 Compuestos fenólicos totales.....	31
3.4 Flavonoides.....	32
3.5 Capacidad antioxidante método ABTS ⁺	32
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	33
V. CONCLUSIONES.....	38
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido de fenólicos y flavonoides totales de tres poblaciones de orégano.....	34
Tabla 2. Contenido de fenoles y flavonoides totales en tomillo y mejorana.	35
Tabla 3. Valores de capacidad antioxidante (mmol Trolox/kg sustancia) obtenidos por el método ABTS ⁺ para los aceites esenciales de orégano, tomillo, mejorana y sustancias de referencia.	36

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Arbusto <i>Lippia graveolens</i> H.B.K. (Agronegocios, 2015)	6
Ilustración 2. Descripción <i>Lippia graveolens</i> H.B.K. (Agronegocios, 2015).....	7
Ilustración 3. <i>Thymus vulgaris</i> L. (CONABIO, 2017)	12
Ilustración 4. <i>Thymus vulgaris</i> L. (Müller, 1897).....	12
Ilustración 5. Partes aéreas de <i>Origanum majorana</i> L. (Perna y Vasudeva, 2015).....	16
Ilustración 6. Destilador por arrastre de vapor (ARKOLAB, 2021)	21
Ilustración 7. Hidrodestilador (Gutiérrez-Domínguez, 2013)	21
Ilustración 8. Método enfleurage o enfloración (Donahue, 2016).....	22
Ilustración 9. Equipo de extracción prensado (Rojas, 2014)	23
Ilustración 10. Equipo de extracción Soxhlet (Laboratorio, 2017)	23
Ilustración 11. Diagrama de proceso extracción con CO ₂ supercrítico (Dorado et al., 2016).....	24
Ilustración 12. Principales clases y subclases de compuestos fenólicos (Ferreira-Guiné, 2017)	26
Ilustración 13. Destilador por arrastre de vapor propiedad del Centro de Terapias Alternativas y Orientación a la Salud de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna.	30
Ilustración 14. Gráfica fenólicos	33
Ilustración 15. Gráfica flavonoides	34

RESUMEN

Fitoquímica y actividad antioxidante de los aceites de *Lippia graveolens* L., *Thymus vulgaris* L. y *Origanum majorana* L. tesis que presenta Estefanía Moraz Alderete como requisito parcial para obtener el Grado de Maestro en Ciencias Agrarias, en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, dirigida por el Doctor Pedro Cano Ríos.

Actualmente existe un creciente interés por las medicinas alternativas para el tratamiento de muchas enfermedades y dolencias que afectan al ser humano, por lo que se considera de importancia estratégica el cultivo, investigación y procesamiento de plantas medicinales con fines terapéuticos. Existe poca investigación sobre el uso y manejo de plantas medicinales, por lo que existe poca información etnobotánica sobre el tema. La información que se pueda recolectar en varias regiones del país será significativa y ayudará a determinar estrategias para mejorar el uso y manejo de los recursos vegetales medicinales. En este trabajo de investigación se destiló aceite esencial por medio de la técnica de destilación por arrastre de vapor y se cuantificó el contenido de flavonoides, fenoles y capacidad antioxidante de cinco aceites esenciales: Orégano de Anáhuac, N.L. (*Lippia graveolens*, L.), Orégano de Cuatrociénegas, Coah. (*Lippia graveolens*, L.), Orégano de Peñón Blanco, Dgo. (*Lippia graveolens*, L.), Mejorana de Barreal de Guadalupe, Coah. (*Origanum majorana*, L.) y Tomillo de Villa Juárez, Dgo. (*Thymus vulgaris*, L.)

Los fenoles y flavonoides totales se establecieron por espectrofotometría. Para señalar la capacidad antioxidante de cada muestra se siguió el método ABTS⁺.

Palabras clave: Flavonoides, fenoles, antioxidantes, orégano

ABSTRACT

Currently there is a growing interest in alternative medicines for the treatment of many diseases and ailments that affect humans, which is why the cultivation, research and processing of medicinal plants for therapeutic purposes is considered of strategic importance. There is little research on the use and management of medicinal plants, so there is little ethnobotanical information on the subject. The information that can be collected in various regions of the country will be significant and will help determine strategies to improve the use and management of medicinal plant resources.

In this research work, essential oil was distilled by means of the steam distillation technique and the content of flavonoids, phenols and antioxidant capacity of five essential oils was quantified: Oregano from Anáhuac, N.L. (*Lippia graveolens*, L.), Oregano from Cuatrociénegas, Coah. (*Lippia graveolens*, L.), Oregano from Peñón Blanco, Dgo. (*Lippia graveolens*, L.), Mejorana from Barreal de Guadalupe, Coah. (*Origanum majorana*, L.) and Tomillo de Villa Juárez, Dgo. (*Thymus vulgaris*, L.)

Total phenols and flavonoids were established by spectrophotometry. To indicate the antioxidant capacity of each sample, the ABTS⁺ method was followed.

Keywords: Flavonoids, phenols, antioxidants, oregano

I. INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales (EA) son mezclas líquidas complejas con alta volatilidad, que se evaporan al entrar en contacto con el aire. (Bello, 1999). Se obtienen de diferentes partes de las plantas, como flores, brotes, semillas, hojas, ramas, cortezas, hierbas, madera, frutos y raíces. (Burt, 2007). En su forma química están formados por terpenos, monoterpenos y sesquiterpenos (hidrocarburos, alcoholes, cetonas, que pueden ser acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos), sustancias azufradas y nitrogenadas (Acevedo *et al.*, 2013). Son producto del metabolismo secundario de las plantas igualmente que algunos tipos de alcaloides, flavonoides, taninos, y saponinas (Bandoni *et al.*, 2009). La economía de los aceites esenciales y sus aplicaciones industriales están relacionados con su composición química y con la actividad biológica (Stashenko *et al.*, 2010). Actualmente existe un interés creciente por el uso de extractos naturales antioxidantes que puedan sustituir los aditivos sintéticos en los alimentos, además de que son una alternativa prometedora para la prevención y tratamiento de enfermedades producidas por compuestos sintéticos (Olivero-Verbel *et al.*, 2010), además de que poseen características insecticidas, antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, antivirales y pueden ser destilados por diferentes métodos (Burt, 2004).

Una de las técnicas más frecuentes es la de arrastre de vapor, en la cual cualquier planta se pone en un bowl (tipo clavenger cerrado) y es puesta a una corriente de vapor, la esencia es destilada y luego se condensa, es recolectada y separada del hidrolato. Las plantas medicinales son indispensables en cuestión de obtención de aceites como el tomillo (*Thymus vulgaris* L.), el orégano (*Lippia graveolens* L.) y la mejorana (*Origanum majorana* L.) (Ortega, 2011).

Los fitoquímicos son sustancias a base de plantas que modulan el proceso de metabolismo para prevenir que los humanos contraigan enfermedades degenerativas y crónicas. Los compuestos fenólicos son parte importante de

metabolitos secundarios de origen vegetal que no son esenciales para la supervivencia de las plantas a diferencia de los metabolitos primarios. Estos compuestos imparten propiedades organolépticas a los alimentos de origen vegetal, sobre todo las propiedades de sabor y color y mejoran la calidad nutricional de los alimentos. Los flavonoides son fitoquímicos polifenólicos que son biológicamente activos (Messina y Redmond, 2006). Los flavonoides son el grupo más frecuente que se encuentra en las plantas. Se identifican alrededor de 9000 compuestos y su número aumenta día a día (Wood, 1986). Los flavonoides actúan como antioxidantes, antidepresivos y antiinflamatorios en el cuerpo humano. Además, se ha demostrado que el extracto de plantas que contiene flavonoides reduce el riesgo de cáncer (Evers y Millar, 2002). De manera similar, los flavonoides protegen al cuerpo de las enfermedades cardiovasculares porque poseen la capacidad de inhibir el proceso de oxidación de los lípidos (Manach et al., 2005).

El tomillo, pertenece a la Familia de labiadas, de gran importancia medicinal en el sector farmacéutico; contiene propiedades antisépticas, desinfectantes, antiespasmódico, desodorante, sedante y sus principales componentes son timol y carvacol (El-Hela, 2007). Por otra parte, el orégano mexicano se caracteriza por ser una planta perenne, de la familia verbenaceae, que crece en climas semiáridos y es utilizada tradicionalmente como antiséptico intestinal, antiespasmódico, analgésico y antiinflamatorio y posee propiedades antibacterianas. Investigaciones han demostrado que los géneros de *Lippia* y *Thymus*, y otras plantas aromáticas, contienen propiedades antioxidantes, relacionadas con los compuestos fenólicos, carvacrol y el timol que pueden ser utilizados en ciertas condiciones como fungicidas y bactericidas (Osorno et al., 2009).

En la medicina popular, la mejorana se usa como anti-enfriamiento, contra alergias, fiebre, gripe, hipertensión, antipirético, infecciones respiratorias, antidiabético, dolor menstrual, resfriado en el útero, dolor de estómago, tos,

reumatismo, dolor de cabeza, insomnio y se usa como antiespasmódico intestinal. Además, varios trabajos previos han demostrado otras prioridades etnobotánicas de *O. majorana* L. como los estudios de (Zougagh et al., 2019).

Los suplementos con antioxidantes están fundamentados en investigaciones epidemiológicas y clínicas que muestran la relación entre factores como: dieta, estilo de vida, exposición a radiación, metales pesados, pesticidas, tóxicos, y algunos medicamentos; con la aparición y desarrollo de enfermedades como cáncer, diabetes, aterosclerosis, desórdenes neurodegenerativos y envejecimiento. Todas estas enfermedades patológicas están relacionadas a un estado conocido como “estrés oxidativo”, en otras palabras, un aumento en las especies oxidantes (principalmente Especies Reactivas del Oxígeno–EROs) y/o una reducción en los mecanismos de detoxificación de ellas. Es por eso que en el método ABTS⁺ se investiga la habilidad del antioxidante para estabilizar algún radical libre, en efecto,, se ha incrementado el uso de algunos radicales libres metaestables, coloreados, con fuerte absorción en el espectro visible, como herramienta para señalar actividad estabilizadora de radicales libres (Londoño-Londoño, 2012).

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluación de compuestos fitoquímicos de aceites esenciales de tomillo, orégano y mejorana.

1.2 OBJETIVOS PARTICULARES

Extraer aceites esenciales de orégano, tomillo y mejorana mediante la técnica de destilación por arrastre de vapor.

Determinar el contenido de compuestos fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de aceites esenciales de orégano, tomillo y mejorana.

1.3 HIPÓTESIS

Los aceites esenciales de tomillo, orégano y mejorana tendrán un alto contenido de antioxidantes.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 El género *Origanum*

El nombre del género *Origanum* tiene origen en las palabras griegas *oros*, que significa montaña y *ganos*, que significa alegría, en referencia al hermoso aspecto que esta planta le da a las regiones donde se cultiva (Fonnegra y Jiménez, 2007).

El género *Origanum* comprende distintas especies de plantas, con flores y hojas que tienen un olor y sabor característicos. Según los criterios morfológicos, el género *Origanum* se ha clasificado en tres grupos, 10 secciones, 38 especies, 6 subespecies y 17 híbridos. Se han nombrado cuatro grupos de orégano, debido a su uso común e importancia económica: orégano griego (*Origanum vulgare* subsp. *hirtus* (Link) Letswaart), orégano español (*Coridohymus capitatus* (L) Hoffmanns y Link), orégano turco (*Origanum onites* L) y orégano mexicano (*Lippia graveolens* Kunth o *Lippia berlandieri*) (Arcila-Lozano *et al.*, 2004).

Los principales tipos de orégano ya antes mencionados, tienen valor comercial debido a sus características de olor/sabor que se atribuyen a la presencia de compuestos como timol, carvacrol y su precursor *p*-cimeno. Es de primordial importancia su cultivo en forma extensiva, ya que en cultivos silvestres su colecta y aprovechamiento se realiza en el período de floración de la planta limitando la formación de frutos y semillas (Cid-Pérez *et al.*, 2016).

En México se encuentran alrededor de 40 especies de orégano que pertenecen a cuatro familias botánicas: (Lamiaceae, Verbenaceae, Asteraceae y Fabaceae). Verbenaceae, incluye a los taxa de mayor importancia según su distribución y a sus características organolépticas, a ella pertenece el género *Lippia*, con las especies; *L. palmeri* y *L. graveolens* Kunth o *L. berlandieri* Schauer. *L. graveolens* es una especie variable y polimórfica, está formada por poblaciones con características morfológicas, fenológicas y fitoquímicas distintas. Se distribuye principalmente en los estados de Chihuahua, Durango, Tamaulipas y Coahuila; le proceden, en orden de importancia, Jalisco,

Zacatecas, Querétaro, Hidalgo y Baja California (Villavicencio-Gutiérrez *et al.*, 2007). Esta planta contiene un fuerte aroma y un sabor más nítido e intenso que el de otros géneros. Estas características le son atribuidas a su alto contenido en aceite esencial. Sus usos, tanto culinarios como terapéuticos son los mismos que los de las especies europeas (Huerta, 2007).

2.1.1 Descripción botánica *Lippia graveolens* H.B.K.

Lippia graveolens H.B.K. es un arbusto perenne, delgado y aromático, de hasta tres metros de altura. Sus tallos son cuadrangulares, delgados, densamente vilosos y glandulares; las ramas principales frecuentemente tienen corteza exfoliante y sus hojas son opuestas, ovaladas-alanceoladas, con pecíolos delgados, haz rugoso-escabroso, estrigoso-glandular, envés densamente piloso, ápice obtuso y margen diversamente crenado. Los frutos son pequeños y forman una cápsula indehisciente, las semillas se presentan sin endospermo. Las flores se presentan en espigas subglobosas, corolas blancas, zigomorfas y presentan cuatro estambres. En general en poblaciones de zonas áridas y semiáridas, la floración comprende del periodo de agosto a octubre, coincidiendo en la época con mayores precipitaciones (Dunford y Silva-Vazquez, 2005).



Ilustración 1. Arbusto *Lippia graveolens* H.B.K. (Agronegocios, 2015)

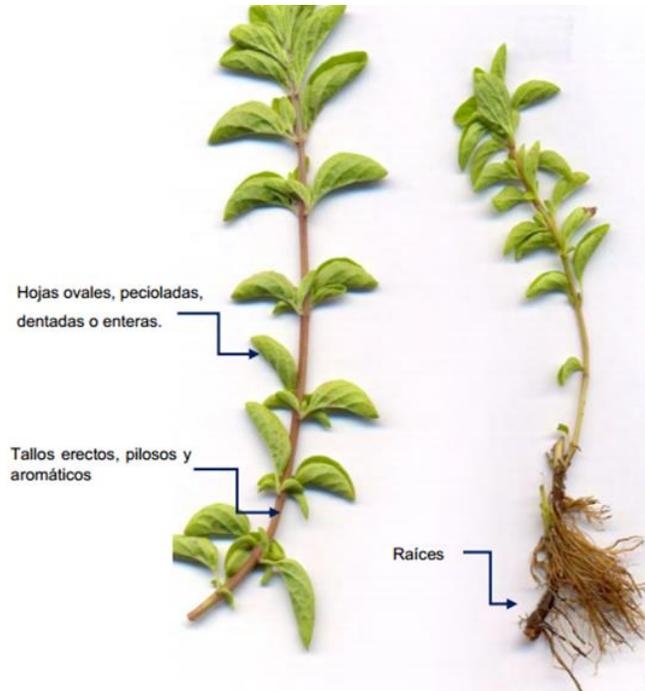


Ilustración 2. Descripción *Lippia graveolens* H.B.K. (Agronegocios, 2015)

De acuerdo a González-Güereca *et al.* (2007) en México, las especies de *Lippia* cultivadas son: *Lippia palmeri* Wats en los estados de Baja California, Sonora y Sinaloa y *Lippia graveolens* más ampliamente distribuidas en el resto de México; además es la especie más comercializada en México y la razón es debido a la alta calidad de aceite esencial que se encuentra en las hojas (Mendoza-Días y Mora-Mora, 2005).

El orégano mexicano *L. graveolens* se exporta al mercado internacional, y representa aproximadamente el 35-40 % del orégano en el mundo, su alta demanda se debe a su aceite esencial y la calidad de la hoja; sin embargo, el consumo de orégano mexicano se concentra en todo el mundo principalmente en dos países Estados Unidos y Japón, que representan el 90% de las exportaciones totales (Brown *et al.*, 2006).

2.1.2 Clasificación taxonómica *Lippia graveolens* H.B.K.

Reino: Plantae
Filo: Tracheophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Lamiales
Familia: Verbenaceae
Género: *Lippia*
Especie: *Lippia graveolens* K.
(Valdés-Oyervides, 2012)

2.1.3 Usos generales y aplicaciones de *Lippia graveolens* H.B.K.

El orégano tiene dos usos principales: como condimento y como materia prima para la destilación y producción de aceites esenciales, que se extrae de las hojas (Sánchez *et al.*, 2007b). El aceite esencial de orégano está reconocido por la Administración de Drogas y Alimentos y se ha utilizado como un agente antimicrobiano natural (Bertelli *et al.*, 2003). De acuerdo a la investigación realizada por Arcila-Lozano *et al.* (2004) nos comentan que la composición y cantidad de metabolitos secundarios presentes en los aceites esenciales obtenidos de diferentes tipos de orégano dependen de factores geográficos y climáticos, altitud, tiempo de cosecha y estado de crecimiento. Las hojas de orégano y los aceites esenciales se usan ampliamente como ingredientes y/o aditivos en las industrias alimenticia, química farmacéutica y de perfumería; razones que los han convertido en productos de exportación muy importantes. El timol y el carvacrol son los componentes químicos más importantes de los aceites esenciales de orégano y, por lo tanto, su proporción determina el valor comercial del aceite esencial correspondiente (Sánchez *et al.*, 2007a).

2.1.4 Composición química de *Lippia graveolens* H.B.K.

Los aceites esenciales de orégano son los extractos de mayor valor económico para los agricultores y las empresas que se dedican al cultivo/distribución de especias. Los principales compuestos de aceites esenciales de orégano derivados del ácido mevalónico y clasificados como terpenoides, se derivan de la condensación de unidades isoprenoides y se clasifican de acuerdo con el número de unidades presentes en el esqueleto (monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos). Sin embargo, también está presente una amplia variedad de moléculas de bajo peso molecular, como los hidrocarburos alifáticos (Dorman y Deans, 2000). Se han identificado 33 compuestos que incluyen alcoholes, éteres, fenoles y una cetona. Los componentes que se encuentran en mayor cantidad son timol, carvacrol, β -mirceno, α -terpineno, γ -terpineno y p -cimeno. timol es el principal compuesto que representa del 40 al 60 % del total de los compuestos volátiles, mientras que del 5 al 25 % corresponde a carvacrol (Uribe-Hernández *et al.*, 1992). Ambos compuestos volátiles exhiben un olor intenso y picante, responsable de la fragancia característica y las sensaciones de sabor de los extractos de orégano y aceites esenciales (Mastelić *et al.*, 2008).

Podemos encontrar diversas investigaciones acerca de la composición química de *Lippia graveolens*, usando hidrolatos y aceites esenciales (Pascual *et al.*, 2001). Los extractos acuosos, llamados hidrosoles y/o hidrolatos también conocidos como agua floral aromática, generalmente se obtienen como un coproducto o subproducto de la hidrodestilación o la destilación al vapor. Los hidrosoles son principalmente una mezcla de compuestos que contienen trazas de aceite esencial y varios compuestos solubles en agua (Sagdic, 2003).

Lin *et al.* (2007) determinaron la presencia de flavonoides (flavonas, flavanonas, flavonoles y chalcones) a partir de un extracto de metanol y agua de orégano de *L. graveolens* obteniendo flavonoides glicosilados y por hidrólisis ácida posterior determinaron 11 aglicones adicionales. El análisis estructural se realizó mediante cromatografía líquida, detección de matriz de diodos, ionización por

electropulverización/espectrometría de masas, elucidando: galangina, pinocebrina, sakuranetina, naringenina, quercetina, luteolina, eriodictyol, scutellareina, floridzina, taxifolina, hispidulina, cirsimarin, 6 glicosilato de metilo y otros compuestos de glioxilato de metilo. Por lo tanto, las hojas del orégano mexicano son de una planta aromática con muchos flavonoides, compuestos cuya estructura se ha relacionado con la capacidad antioxidante y antimicrobiana.

2.2 El género *Thymus vulgaris* L.

Thymus vulgaris L. es una planta con flores de la familia Lamiaceae, comúnmente conocida como tomillo, originaria del sur de Europa y tiene una distribución mundial (Hosseinzadeh *et al.*, 2015). La planta es originaria del Mediterráneo y los países vecinos, el norte de África y partes de Asia. En África, la planta se ha cultivado en Egipto, Marruecos, Argelia, Túnez, Libia, Cameroon, Nigeria y Sur África. En Europa se ha cultivado en Francia, Suiza, España, Italia, Bulgaria, Portugal y países de Europa del Este (Prasanth-Reddy *et al.*, 2014a) (Stahl-Biskup y Saez, 2002). Actualmente su distribución en México se da en los siguientes estados como Morelos, Baja California Sur, Baja California, Estado de México, Nayarit, Oaxaca, Puebla y Tlaxcala, sobresalen como los principales productores de tomillo, con un rendimiento de 5.6 t ha⁻¹ respectivamente (Pérez, 2009). En estos estados podemos encontrar productores y empresas de hierbas finas aromáticas para actividad culinaria y medicinal que se exportan. Principalmente al mercado de Estados Unidos de América y otros destinos donde se mantiene la cultura del consumo de alimentos orgánicos (Juárez-Rosete, 2010).

La gente ha usado el tomillo durante muchos siglos como agente saborizante, hierba culinaria y medicina herbal (Peter, 2012). La planta es útil como infusión para tratar la tos, la diabetes y las infecciones de resfriado y pecho; y en forma de jarabe para malestar digestivo. También es calmante para el dolor de garganta, ya que el tomillo tiene propiedades antisépticas, antibióticas y

antifúngicas. El aceite esencial se puede usar para dar masaje para tratar el dolor en las articulaciones o el dolor reumático, y también se puede usar en el tratamiento del pie de atleta (*Tinea pedis*) (Ekoh *et al.*, 2014).

La planta de tomillo, *Thymus vulgaris* L., presenta variación polimórfica en la producción de monoterpeno. Se observan variaciones del quimiotipo intraespecífico en *Thymus* y se denominan geraniol, α terpineol, tujanol-4, linalol, carvacrol y timol después de su monoterpeno dominante (Thompson *et al.*, 2003). El timol y el carvacrol son los dos componentes más activos del aceite esencial de tomillo, con una amplia gama de propiedades antimicrobianas y antioxidantes que mejoran la vida útil de los alimentos. Las partes frondosas del tomillo y su aceite esencial se han utilizado en alimentos para dar sabor, aroma y conservación y se agregan a la carne, el pescado y los productos alimenticios (Soliman y Badeaa, 2002). El uso de tomillo en la industria cosmética ha aumentado la importancia económica de este cultivo medicinal en todo el mundo. Por lo tanto, la planta ha cambiado de ser una hierba tradicional a una droga seria en fitoterapia racional (Mandal y DebMandal, 2016). Los componentes de extracto y aceite de *Thymus vulgaris*, que actúan solos o en combinación, pueden dar lugar a un amplio espectro de actividad antimicrobiana. Esta actividad puede atribuirse al timol o al resultado de la sinergia entre otros componentes principales en el aceite. Aunque *T. vulgaris* es una Sustancia Generalmente Reconocida como Segura (GRAS), su aceite debe reservarse para uso tópico; internamente, puede provocar mareos, vómitos y dificultades respiratorias (Newall *et al.*, 1996).

2.2.1 Descripción botánica de *Thymus vulgaris* L.

El tomillo (*Thymus vulgaris* L.), perteneciente a la familia Lamiaceae, es un subarbusto perenne con una vida útil de aproximadamente 10-15 años que alcanza desde los 13 cm hasta los 40 cm de altura. Los tallos son erguidos, cuadrangulares, leñosos y muy ramificados. Las hojas son pequeñas y ovales de bordes enrollados y tomentosas por el envés y miden de 6 a 12 mm de largo. Las

flores son pequeñas de color rosa y producidas en corimbos. El tomillo tiene un fuerte olor aromático. *Thymus vulgaris* florece de junio a julio. Las flores son de color amarillo, blanco o morado. Las semillas son redondas, muy pequeñas y conservan su poder de germinación durante 3 años. El tomillo se cultiva en todo el mundo. La reproducción de la planta es posible por semillas y partes vegetativas, tales como esquejes de raíces (Özgüven y Tansi, 1998).



Ilustración 3. *Thymus vulgaris* L. (CONABIO, 2017)



Ilustración 4. *Thymus vulgaris* L. (Müller, 1897)

2.2.2 Clasificación taxonómica *Thymus vulgaris* L.

Reino: *Plantae*

División: *Tracheophyta*

Clase: *Equisetopsida*

Orden: *Lamiales*

Familia: *Lamiaceae*

Género: *Thymus*

Especie: *Thymus vulgaris* L.

(CONABIO, 2020)

2.2.3 Usos generales y aplicaciones de *Thymus vulgaris* L.

Thymus vulgaris se ha utilizado desde la antigüedad para curar la congestión torácica e inducir saliva; las hojas frescas se toman para aliviar el dolor de garganta. La planta también se usa como un remedio eficaz para las infecciones del pecho (bronquitis, faringitis, tos ferina), así como para tratar gusanos en los niños (Mandal y DebMandal, 2016). La planta se ha utilizado por su sabor en la cocina. El aceite esencial de *Thymus vulgaris* se usa como agente antiséptico, antiviral y antimicrobiano en la medicina popular. El tomillo también posee efectos carminativos y antioxidantes y se demostró que los componentes timol y carvacrol presentan efectos sobre la respuesta inflamatoria; cabe destacar que las propiedades antiinflamatorias del aceite esencial están parcialmente involucradas con el efecto hepatoprotector (Fachini-Queiroz *et al.*, 2012) (Grespan *et al.*, 2014). Baydar *et al.* (2004) informaron del uso de aceite esencial de tomillo en vendajes medicinales antes del descubrimiento de antibióticos modernos. *Thymus vulgaris* se usa para problemas de la piel como piel grasa, acné, dermatitis, eccema y picaduras de insectos. El aceite de tomillo ha sido utilizado como fumigante en lugares de culto por muchas civilizaciones antiguas. Soković y Van Griensven (2006) documentaron que el aceite esencial de tomillo mostró una actividad muy alta contra los principales patógenos fúngicos (*Verticillium fungicola* y *Trichoderma harzianum*) y bacterianos (*Pseudomonas*

tolasii) patógenos del hongo *Agaricus bisporus*. Es interesante observar que los extractos de tomillo poseen la mayor capacidad antioxidante debido a su mayor contenido de polifenoles y pueden usarse como ingredientes conservantes en los alimentos.

Se ha pensado que el tomillo es antiséptico, antimicrobiano, astringente, antihelmíntico, carminativo, desinfectante, medicamento y tónico. El tomillo es increíblemente útil en casos de infecciones e infestaciones intestinales variadas, como anquilostomas, ascaridos, bacterias gram-positivas y gram-negativas, hongos y levaduras. El componente principal del aceite volátil del tomillo, el timol, es efectivo contra las enterobacterias y las bacterias cocos. El tomillo también puede mejorar el funcionamiento del hígado y actuar como un estimulante del apetito. Se utiliza en el tratamiento del tubo cartilaginoso, las infecciones bronquiales y urinarias. Usado como gárgaras, el tomillo es útil en el tratamiento de la laringitis y la inflamación. Se utiliza para problemas de la piel como piel grasa, ciática, acné, dermatitis, afecciones de la piel, mordeduras y picaduras de insectos. En aromaterapia, se usan los distintos tipos, timol, "aceite de tomillo rojo", tipo linalol por su acción suave y terriblemente ligera y tujanol por sus propiedades antivirales. También se usa un producto corregido, "aceite de tomillo blanco", y es más suave para la piel. Por último, alivia la neuralgia y dolores reumáticos (Prasanth-Reddy *et al.*, 2014a).

2.2.4 Composición química *Thymus vulgaris* L.

Los componentes fitoquímicos del tomillo incluyen fenólicos, terpenoides y principalmente timol, eugenol y saponinas (Ekoh *et al.*, 2014). El aceite esencial de tomillo demostró un alto contenido de monoterpenos oxigenados (56.53 %) y bajos contenidos de hidrocarburos monoterpenos (28.69 %), hidrocarburos sesquiterpénicos (5.04 %) y sesquiterpenos oxigenados (1.84 %) (Prasanth-Reddy *et al.*, 2014a). El aceite esencial es responsable del típico aroma picante del tomillo (Peter, 2012). El compuesto más abundante entre los componentes

del aceite se identificó como timol 51.34 %, mientras que la cantidad de todos los demás componentes fue inferior al 19 % (Prasanth-Reddy *et al.*, 2014b). La planta seca de *T. vulgaris* contiene 1-2.5 % de aceite esencial (Peter, 2012). La mayoría de los volátiles detectados en el aceite de tomillo pertenecen al grupo monoterpeno con el compuesto timol, un monoterpeno fenólico, como el principal representante (30-55 %) (Prasanth-Reddy *et al.*, 2014b). Estos componentes principales incluyen linalol, mirceno, alcanfor, borneol, β -pineno, β -cariofileno, p-cimeno, carvacrol, timol, γ -terpino, timol metil éter, carvacrol metil éter, limoneno, α -terpinol, γ -terpinol e hidrato de sabineno. *T. vulgaris* también contiene triterpenos en forma de ácido ursólico (0.94 %) y ácido oleanólico (0.37 %) (Jäger *et al.*, 2009).

2.3 El género *Origanum majorana* L.

Origanum majorana L. (conocido como Shakhtar o Zaatar en la medicina tradicional) actualmente llamado mejorana dulce, es una planta medicinal de la familia Lamiaceae, una hierba perenne del género *Origanum* (Perna y Vasudeva, 2015), con un hábito de crecimiento autosuficiente, es un fotoautótrofo. Esta planta se distribuye por las regiones mediterráneas, en particular, Marruecos, Argelia, Egipto, España y Portugal (Ietswaart, 1980). En la medicina popular, la mejorana se utiliza como anti-enfriamiento, contra alergias, fiebre, gripe, hipertensión, antipirético, infecciones respiratorias, antidiabético, dolor menstrual, frío en el útero, dolor de estómago, tos, reumatismo, dolor de cabeza, insomnio y como antiespasmódico intestinal (Bouyahya *et al.*, 2021). *Origanum majorana* L. es rico en fitoquímicos como timol, carvacrol, taninos, hidroquinona, arbutina, metil arbutina, vitexina, orientina, timonina, triacotano, sitosterol, hidrato de cis-sabineno, limoneno, terpineno, canfeno y flavonoides como diosmetina, luteolina y apigenina, que explican sus propiedades biológicas (Barbosa-Chaves *et al.*, 2019).

2.3.1 Descripción botánica *Origanum majorana* L.

Origanum majorana L. es una planta perenne tupida que puede alcanzar de 30 a 60 cm de altura y posee tallos cuadrados rojizos de múltiples ramas descendentes que se desbordan para formar un montículo. Sus tallos son rectos, débiles, peludos, redondos y de color verde con motas rojas. Las hojas de esta planta son herbáceas, globosas, simples, pecioladas y ovadas a oblongo-ovadas, pequeñas (0.5–1.5 cm de largo y 0.2–0.8 cm de ancho), a menudo cilíndricas, y la textura es extremadamente suave y peluda. Las brácteas son diferentes de las hojas, densamente imbricadas, tan largas como cálices, de color verde grisáceo, y dispuestas una frente a otra en un tallo cuadrado. La mejorana dulce tiene flores pequeñas (0,3 cm de largo y dispuestas en forma de rebaba, cabezas de 1,3 cm de largo), hermafroditas o femeninas. Las flores son tubulares con dos labios, 1 labio para uno o más labios superiores enteros o denticulados. Tiene cálices aplanados, flores blancas o rosa pálido con brácteas verde grisáceas que florecen en espiga de junio a septiembre. Aunque, las semillas maduran de agosto a septiembre son de color ovalado, oscuro y marrón. Las raíces son subcilíndricas, arrugadas longitudinalmente con fisuras transversales; 0,2-0,6 mm de diámetro. La superficie exterior es de color marrón oscuro mientras que internamente es de color marrón claro con varias raicillas largas (Ietswaart, 1980; Prerna y Vasudeva, 2015).



Ilustración 5. Partes aéreas de *Origanum majorana* L. (Prerna y Vasudeva, 2015)

2.3.2 Clasificación taxonómica *Origanum majorana* L.

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Lamiales*

Familia: *Lamiaceae*

Género: *Origanum*

Especie: *Origanum majorana* L.

(CONABIO, 2021)

2.3.3 Usos generales y aplicaciones de *Origanum majorana* L.

La mejorana es una de las plantas medicinales conocidas por su uso en la medicina tradicional. La aplicación terapéutica depende de las partes de la planta. En la medicina tradicional marroquí, las hojas representan la parte más utilizada, en particular, como anti-refrescante y antipirético, también contra alergias, fiebre, gripe e hipertensión (Benali *et al.*, 2017). Además, las hojas se utilizan como decocción o polvo en el tratamiento de infecciones respiratorias y regulación del azúcar en sangre (Ennacerie *et al.*, 2017). *O. majorana* se usa en el caso de irritación de garganta, así como para el dolor menstrual, resfriado en el útero, dolor de estómago, tos e hipertensión (Tahraoui *et al.*, 2007).

De acuerdo a las investigaciones realizadas de Bina y Rahimi (2017) es una planta medicinal con varias propiedades farmacológicas comprobadas, que incluyen actividades antioxidantes, antibacterianas, hepatoprotectoras, cardioprotectoras, antiulcerosas, anticoagulantes, antiinflamatorias, antiproliferativas y antifúngicas. Los tallos florales son las partes medicinales. Sus constituyentes incluyen del 1 % al 2 % de un aceite esencial con un contenido de terpineno y terpinol, más taninos, compuestos amargos, carotenos y vitamina C. Estas sustancias dan a la mejorana dulce propiedades estomacales, carminativas, antiespasmódicas y sedantes débiles. En herbolaria, se utiliza principalmente para diversos trastornos gastrointestinales y para ayudar a la

digestión. Nuevas investigaciones mostraron un aumento en las secreciones de ácido y pepsina de esta planta. También la mejorana mostró actividad antiulcerosa y efectos protectores de la mucosidad en el tracto gastrointestinal. El uso etnomedicinal de *Origanum majorana* en la vaginitis y la poliquistosis ovárica puede relacionarse con la restauración del equilibrio hormonal y la reducción de DHEA-S por esta planta. Se demostró el uso eficaz en enfermedades cardíacas y arritmias que pueden estar relacionadas con sus actividades antiplaquetarias y cardioprotectoras a través de la inhibición de la producción de óxido nítrico y la peroxidación lipídica en los tejidos cardíacos. El efecto útil sobre el resfriado de la cabeza, el resfriado, el dolor de oído y los trastornos respiratorios puede estar relacionado con su efecto antimicrobiano.

2.3.4 Composición química *Origanum majorana* L.

Los metabolitos secundarios producidos por *O. majorana* han sido objeto de varios estudios. Casi todos estos estudios se han centrado en las partes aéreas de esta planta. El cribado fitoquímico de extractos y aceites esenciales de *O. majorana* ha demostrado la riqueza de esta planta en compuestos fenólicos. Estos son más comúnmente ácidos fenólicos, flavonoides y terpenoides. Los análisis cromatográficos de los aceites esenciales permitieron identificar una treintena de compuestos terpenoides (Bouyahya *et al.*, 2021).

El aceite esencial de *O. majorana* se compone principalmente de carvacrol, linalol, timol, borneol, alcanfor, terpineno-4-ol, α -pineno, α -tujeno, p-cimeno, terpineno, α -terpineol, sabineno, mirceno, limoneno, canfeno, terpinoleno, verbeneno, β -cariofileno, 1,8-cineol, eucaliptol y felandreno (Xylia *et al.*, 2019).

Ragab *et al.* (2019) observaron en sus investigaciones variabilidad química en la composición de los aceites esenciales de mejorana extraídos por diferentes métodos; además de que éstos son ricos en monoterpenos oxigenados e hidrocarburos monoterpenos. Mientras que, los sesquiterpenos oxigenados tienen el porcentaje más bajo y el terpineno-4-ol es el compuesto principal.

2.4 Aceites Esenciales

El uso de sustancias naturales para la humanidad de las sociedades más primitivas, en particular de las civilizaciones del Antiguo Egipto, Grecorromana y China, donde las sustancias naturales se utilizaron para una variedad de propósitos que van desde la medicina hasta el control de plagas (Murbach-Teles-Machado y Fernandes-Junior, 2011). Entre los productos naturales utilizados para estos fines, los aceites esenciales son reconocidos por sus propiedades farmacológicas y terapéuticas, así como por su baja toxicidad hacia los mamíferos (Costa *et al.*, 2011). Estas sustancias son frecuentemente utilizadas en la cocina para intensificar el sabor de ciertos alimentos y bebidas, para la inhibición de olores y en el control de problemas de salud (Franz, 2010). La variedad de propiedades diferentes atribuidas a los aceites esenciales ha llevado a su uso en una variedad de aplicaciones, que incluyen, entre otras cosas, como astringentes, analgésicos, antidepresivos, antipiréticos, antivirales, bactericidas, bacteriostáticos, desodorantes, estimulantes, fungicidas, fungistáticos e insecticidas (Worwood y Worwood, 2012).

Tales propiedades derivan de productos formados a través de reacciones químicas que ocurren continuamente en las células, dirigidas por la acción de enzimas, que componen el metabolismo de las plantas. La síntesis de compuestos comunes a los seres vivos y esenciales para la supervivencia de especies vegetales, como azúcares, aminoácidos, ácidos grasos, nucleótidos y sus derivados, polímeros, comprende el metabolismo primario. Por otro lado, los compuestos sintetizados por otras vías, y que parecen no tener gran utilidad en la supervivencia de la especie, forman parte del metabolismo secundario, que se caracteriza por la síntesis de compuestos con diversidad, complejidad estructural, producción en una pequeña escala, distribución restringida y especificidad. Por tanto, los aceites esenciales se denominan metabolitos secundarios, al estar constituidos por elementos químicos complejos que, además de estar asociados a la defensa de las plantas en el medio ambiente, son sustancias restringidas en la naturaleza y limitadas a un número menor de especies (Salgado-de-Morais,

2009). Los aceites esenciales, también conocidos como aceites volátiles, son mezclas complejas de compuestos orgánicos lipofílicos, de bajo peso molecular, que se diferencian de los aceites fijos (mezclas de lípidos, generalmente de semillas, aceite de ricino, manteca de cacao y aceite de linaza) debido a su alta volatilidad. naturaleza. Los aceites esenciales son relativamente fluidos, de olor fuerte y poco solubles en agua. Típicamente incoloros o ligeramente coloreados, son estables en presencia de luz, calor y aire, además de tener un olor llamativo y agradable (Salgado-de-Morais, 2009). Estos componentes naturales se derivan de plantas aromáticas y medicinales, abundantes especialmente en las familias Myrtaceae, Rutaceae y Lauraceae, están dispuestos en forma de gotitas entre las células y pueden actuar como hormonas, reguladores y catalizadores. Algunos reportes en la literatura describen su función como ayudar a la planta a adaptarse al medio, habiendo estimulado la producción en situaciones de estrés. Algunas plantas que viven en climas muy cálidos, como en el desierto, usan aceites esenciales para protegerse del sol. Otro ejemplo es la tenue nube de aceites esenciales que se forma alrededor de arbustos de mirra e incienso para filtrar los rayos del sol y refrescar el aire alrededor de la planta (Lavabre, 2009).

2.5 Métodos de extracción

Otro aspecto importante en cuanto al uso de los aceites esenciales se relaciona con el método por el cual se obtienen, ya que la composición química del aceite está relacionada con éste, junto con otros factores como el clima, la estación, las condiciones geográficas y el período de cosecha (Maciel *et al.*, 2002).

2.5.1 Destilación por arrastre de vapor

La destilación al vapor es el proceso de extracción más utilizado. Este método implica colocar el material vegetal en el destilador, el cual, mediante el paso del vapor a través del material vegetal, extrae los compuestos aromáticos volátiles de la planta; los compuestos pasan por el sistema de condensación y se recogen en un recipiente de decantación, donde el agua se separa naturalmente del aceite

así formado y el aceite se extrae del recipiente a través de un grifo. El aceite así obtenido se coloca en un embudo de decantación para asegurar una completa separación del agua, antes de ser embotellado en vidrio ámbar y almacenado en un lugar resguardado de altas temperaturas y luminosidades (Da Costa Vieira *et al.*, 2016).



Ilustración 6. Destilador por arrastre de vapor (ARKOLAB, 2021)

2.5.2 Hidrodestilación

La hidrodestilación es uno de los métodos más utilizados a escala de laboratorio. En este método, la planta permanece en contacto con agua hirviendo; el vapor fuerza la apertura de las paredes celulares y se produce la evaporación del aceite entre las células vegetales. El vapor, que consiste en la mezcla de aceite y agua, pasa luego por un condensador donde se enfría y, como los componentes volátiles y el agua son inmiscibles, se produce la formación de dos fases líquidas que pueden separarse (Fernandes-Da-Silva, 2011).



Ilustración 7. Hidrodestilador (Gutiérrez-Domínguez, 2013)

2.5.3 Método enfleurage o enfloración

El método más antiguo de obtención de aceites esenciales es probablemente la extracción mediante el uso de grasas. La técnica de extracción conocida como enfleurage consiste en una capa de pétalos de flores frescas, generalmente sobre una superficie (una placa de vidrio o tela) en contacto con grasa vegetal o animal, que actuará absorbiendo el aceite en cuestión. Las flores muertas se reemplazan por otras nuevas cada 24 horas, hasta obtener la concentración deseada. Esta técnica se utiliza para la extracción de aceites esenciales más inestables, que pueden perder sus componentes aromáticos si se extraen por otros métodos, además de ser ampliamente aplicada a la extracción de aceites esenciales de flores, principalmente para el mercado de perfumes (Lavabre, 2009).



Ilustración 8. Método enfleurage o enfloración (Donahue, 2016)

2.5.4. Método prensado en frío

El prensado o expresión en frío es uno de los métodos más utilizados para la extracción de aceites esenciales de frutas cítricas. En este proceso, los frutos se colocan en una sola pieza directamente en una prensa hidráulica, que recoge el jugo y aceite presentes en la corteza. Después del prensado, el aceite se separa de la emulsión formada con agua mediante decantación, centrifugación o destilación fraccionada. Estos aceites están llenos de nutrientes, como la vitamina E, con acciones antioxidantes y propiedades anti inflamatorias (Almeida-Barbosa *et al.*, 2013).



Ilustración 9. Equipo de extracción prensado (Rojas, 2014)

2.5.5 Método uso de solventes

Algunos tipos de aceites son muy inestables e intolerantes a las elevaciones de temperatura. En estos casos, se pueden utilizar disolventes orgánicos para su extracción, como hexano, benceno, metanol, etanol, propanol, acetona, pentano y varios disolventes clorados. En el proceso de extracción por solvente, las plantas se sumergen en un solvente orgánico adecuado. Después de un intervalo de tiempo suficiente para permitir la transferencia de los componentes solubles presentes en la planta, se produce la separación de las fases sólida y líquida. El aceite se obtiene mediante la evaporación del disolvente presente en la fase líquida (Steffani *et al.*, 2006).

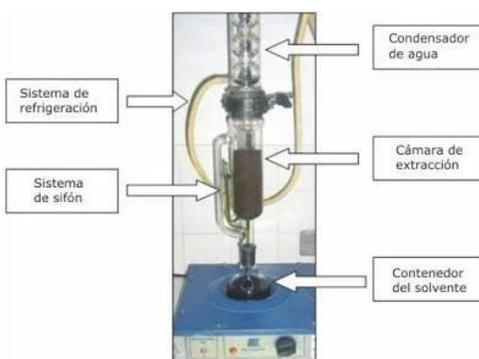


Ilustración 10. Equipo de extracción Soxhlet (Laboratorio, 2017)

2.5.6 Método de extracción dióxido de carbono CO₂ supercrítico

La extracción de dióxido de carbono (CO₂) supercrítico permite obtener aceites de alta calidad, ya que no queda rastro de disolvente en el producto final, por lo que es más puro que los obtenidos por otros métodos. Un fluido supercrítico es aquel en el que el gas se encuentra a una temperatura a la que no puede licuarse mediante compresión isotérmica. La temperatura a la que esto ocurre se conoce como temperatura crítica. Cuando un gas se encuentra en una condición en la que tanto la presión como la temperatura están en niveles superiores a los valores críticos, se dice que el gas está en su estado supercrítico. En estas condiciones, el gas comprimido tiene baja viscosidad (comparable a la de los gases) y alta densidad (alta capacidad de disolución, similar a la de los líquidos), lo que permite su uso en procesos de extracción de solutos a partir de matrices sólidas. Para tal extracción, el CO₂ se lleva al estado de fluido supercrítico en condiciones en las que la presión es de hasta 200 atmósferas y una temperatura de 33 ° C. Una vez realizada la extracción, con el correcto equilibrio entre la presión de la sustancia y la presión del ambiente, la recuperación hace que el CO₂ vuelva a su estado gaseoso, resultando en su total eliminación (Steffani *et al.*, 2006).

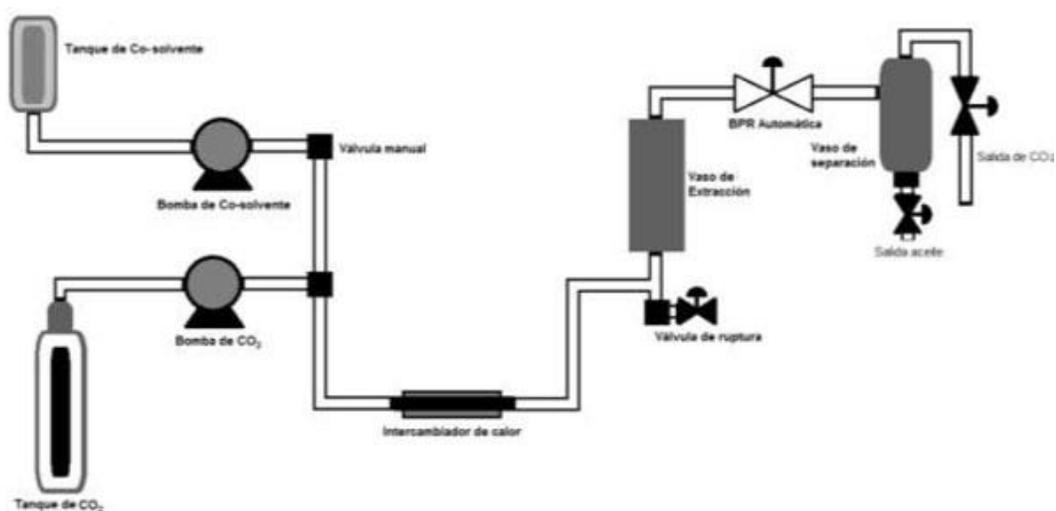
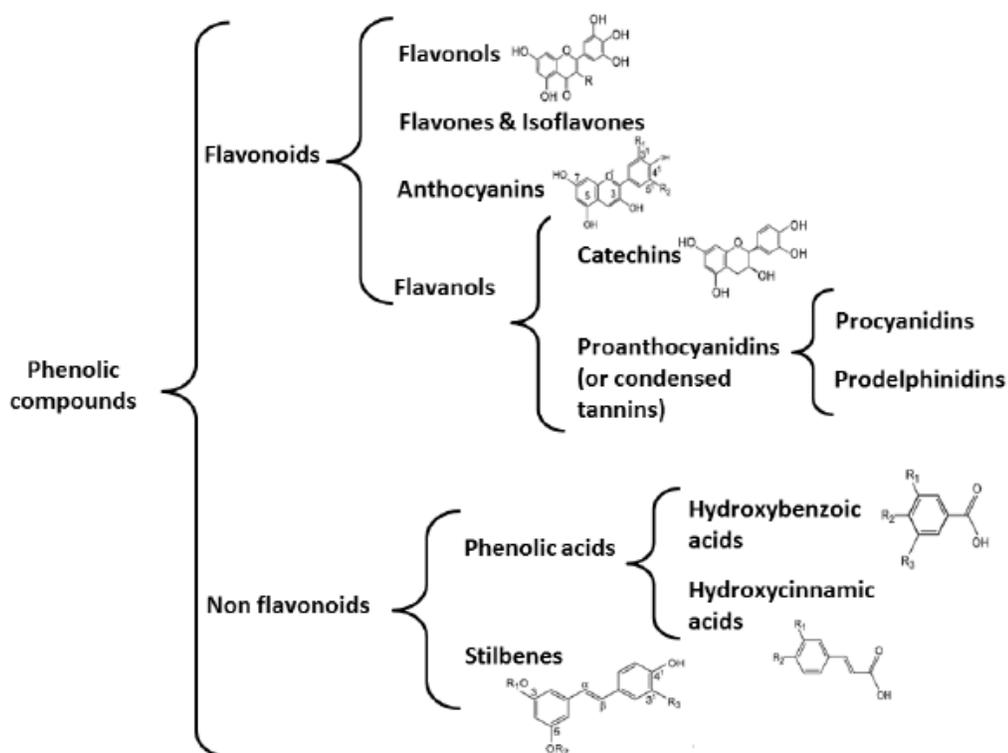


Ilustración 11. Diagrama de proceso extracción con CO₂ supercrítico (Dorado *et al.*, 2016)

2.6 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos están ampliamente presentes en el reino vegetal y pueden tener estructuras más simples o complejas. Hasta ahora se han identificado unas diez mil estructuras fenólicas, y están representadas en casi todas las clases de metabolitos secundarios. Estos compuestos son de considerable importancia en la fisiología y morfología de las plantas. Son esenciales en el crecimiento y la reproducción, y también son responsables de los mecanismos de defensa de la planta frente a factores externos estresantes, como infecciones, lesiones, radiación ultravioleta, entre otros. Además, también contribuyen a la pigmentación y características sensoriales como el sabor y la astringencia de frutas y verduras (García-Guzmán *et al.*, 2015; Gonzales *et al.*, 2015). Los compuestos fenólicos constituyen la clase principal de antioxidantes y se encuentran en casi todas las plantas, aunque en concentraciones más altas en frutas y verduras (Oancea *et al.*, 2012). Inhiben la oxidación de lípidos y, por su capacidad de neutralizar los radicales libres, pueden brindar protección frente a enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, luchando contra el envejecimiento celular (Garaguso y Nardini, 2015). Además, los compuestos fenólicos exhiben una gran gama de otras propiedades fisiológicas tales como efectos antidiabéticos, antialérgicos, antifúngicos, antiinflamatorios, anticancerígenos, antimicrobianos, cardioprotectores y vasodilatadores (Cao *et al.*, 2015; Kamiloglu *et al.*, 2015). Pandareesh *et al.* (2015) han informado efectos protectores sobre la osteoporosis, enfermedades degenerativas y enfermedades del sistema nervioso central. Estructuralmente, los compuestos fenólicos comprenden uno o más anillos aromáticos con grupos hidroxilo que originan una amplia variedad de estructuras químicas, desde moléculas simples hasta

compuestos altamente polimerizados (Liu *et al.*, 2015). De acuerdo a la clasificación de Waterman y Mole (1994) se describen fenoles simples (con un solo anillo aromático), metabolitos más complejos basados en esqueleto C_6C_3 , metabolitos con esqueleto carbónico $C_6C_3-2C_6$, metabolitos con esqueleto $C_6C_3C_6$, quinonas, benzofenonas y sustancias relacionadas, alcaloides y terpenos. Debido a sus estructuras variables, se consideran compuestos multifuncionales y pueden realizar una amplia variedad de combinaciones. Este complejo grupo de moléculas se puede dividir en compuestos no flavonoides o



flavonoides.

Ilustración 12. Principales clases y subclases de compuestos fenólicos (Ferreira-Guiné, 2017)

El grupo de compuestos flavonoides comprende flavanoles, flavonoles, isoflavonas, flavonas, flavanas, flavanonas, proantocianidos y antocianinas. A su vez, los compuestos no flavonoides incluyen tocoferoles, ácidos fenólicos (ácido benzoico, ácido cinámico y sus derivados), taninos hidrolizables, estilbenos, cumarinas y lignanos. Los ácidos fenólicos, flavonoides y taninos se consideran

importantes compuestos fenólicos de la dieta. En esta diversidad, los polifenoles se pueden encontrar asociados con varios carbohidratos y ácidos orgánicos (Belitz *et al.*, 2009).

2.7 Flavonoides

Los flavonoides constituyen el grupo más grande de compuestos fenólicos de plantas y representan más de la mitad de los diez mil compuestos fenólicos que se producen de forma natural. Los flavonoides están distribuidos en el reino vegetal, sin embargo, la concentración de estos compuestos varía dependiendo de varios factores según la especie. Es importante destacar que los factores abióticos naturales como la radiación solar, los rayos UV, la sequía o la lluvia, los nutrientes y las estaciones influyen en el metabolismo y la producción de estos compuestos (Rice-Evans y Packer, 2003). También los factores artificiales, como los contaminantes, pueden interferir con estos mecanismos (Degáspari y Waszczyński, 2004). Generalmente, un mismo compuesto puede exhibir diferentes concentraciones dependiendo de la parte de la planta donde se encuentre. Los flavonoides que se encuentran en las hojas pueden ser diferentes de los presentes en las flores, ramitas, raíces y frutos, y también estar presentes en diferentes cantidades. Se atribuyen varias funciones a los flavonoides en las plantas. Entre ellos destacan la protección frente a la incidencia de los rayos UV, protección frente a microorganismos patógenos, actividad antioxidante, acción alelopática e inhibición enzimática (Ferreira-Guiné, 2017).

2.8 Capacidad antioxidante

Actualmente, existe un gran interés en estudiar los compuestos antioxidantes, ya que son sustancias que en pequeñas cantidades pueden prevenir y tratar enfermedades causadas por radicales libres.

Los radicales libres de oxígeno o, más generalmente, las especies reactivas de oxígeno (ROS) son productos del metabolismo normal de las células que están asociados con procesos como la generación de energía, la fagocitosis, la

regulación del crecimiento celular, la señalización intracelular y la síntesis de importantes sustancias biológicas. Sin embargo, cuando están en exceso, tienen efectos nocivos, como la peroxidación de los lípidos de la membrana y el ataque a los tejidos y proteínas de las membranas, a las enzimas, a los carbohidratos y al ADN. Los ROS más comunes incluyen el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical peroxilo ($ROO\cdot$) y los radicales reactivos hidroxilo ($OH\cdot$). Estas especies reactivas juegan un papel importante en la patogénesis de diversas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, tales como carcinogénesis, enfermedades cardiovasculares, artritis reumatoide, colitis ulcerosa y enfermedades neurológicas degenerativas. La reducción del riesgo de desarrollar enfermedades crónicas y la prevención de la progresión de la enfermedad es posible mejorando las defensas antioxidantes naturales del cuerpo o complementando con antioxidantes dietéticos. Los antioxidantes ofrecen resistencia contra el estrés oxidativo al eliminar los radicales libres, inhibir la peroxidación de lípidos y mediante muchos otros mecanismos y así prevenir la progresión de la enfermedad (Pavithra y Vadivukkarasi, 2015).

Según su modo de acción, los antioxidantes se clasifican en dos tipos principales: primarios y secundarios. Los antioxidantes primarios pueden inhibir o retrasar la oxidación, eliminando las especies reactivas de oxígeno mediante procesos de reducción. Actúan interrumpiendo la reacción en cadena donando electrones o hidrógeno a los radicales libres, convirtiéndolos en especies termodinámicamente estables y / o reaccionando con productos de radicales libres, formando el complejo lípido-antioxidante que puede reaccionar con otro radical libre. Los antioxidantes secundarios actúan retrasando la etapa de iniciación de la autooxidación mediante diferentes mecanismos que incluyen la complejación de metales, el secuestro de oxígeno, la descomposición de hidroperóxido a especies no formadoras de radicales, la absorción de ultravioleta o la inhabilitación del singlete de oxígeno. Entre los diversos tipos de antioxidantes naturales, los polifenoles son los que más atención han recibido (Angelo y Jorge, 2007).

2.9 Método ABTS.

Es uno de los métodos reportado por Miller *et al.* (1993) y es con la finalidad de establecer el radical catión ABTS con la capacidad similar antioxidante, viene en forma por metamioglobina, oxidación ABTS y peróxido de hidrógeno. Se expresan los resultados en Trolox o TEAC (Trolox Capacidad Antioxidante Equivalente). Este método tiene como ventajas que una gran variedad de alimentos está investigada y esto nos puede ayudar a realizar comparaciones en las investigaciones. Además, se puede usar fuerza iónica y un gran rango de pH y por último el ABTS se puede incluir en un medio acuoso orgánico que puede evaluar la capacidad antioxidante de los hidrofílicos y los lipofílicos. Por desventaja cabe mencionar que el ABTS lo debemos preparar con anticipación ya que no es un radical fisiológico y su reacción puede ser muy lenta, por consiguiente, esto queda a decisión del investigador.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material vegetal empleado para la extracción de aceites esenciales.

Las plantas provienen de diferentes regiones de Coahuila, Durango y Nuevo León.

1. Orégano de Anáhuac, Nuevo León.
2. Orégano de Peñón Blanco, Durango.
3. Orégano de Cuatrociénegas, Coahuila.
4. Mejorana de Barreal de Guadalupe, Coahuila.
5. Tomillo de Villa Juárez, Durango.

3.2 Extracción de aceites esenciales.

La obtención de aceites esenciales, se realizó mediante la técnica de destilación por arrastre de vapor (Figura 13), que consiste en colocar el material vegetal en el destilador, el cual, mediante el paso del vapor a través del material vegetal, extrae los compuestos aromáticos volátiles de la planta; los compuestos pasan por el sistema de condensación y se recogen en un recipiente de decantación, donde el agua se separa naturalmente del aceite así formado y el aceite se extrae del recipiente a través de un grifo (Da Costa Vieira *et al.*, 2016).



Ilustración 13. Destilador por arrastre de vapor propiedad del Centro de Terapias Alternativas y Orientación a la Salud de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna.

3.3 Compuestos fenólicos totales

Este método lo propuso Folín Ciocalteu, descrito por Singleton *et al.* (1999) . El reactivo Folin es una mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y de ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), el cual se reduce por oxidación de los fenoles, a una mezcla de ácidos azules de tungsteno y molibdeno en presencia de un álcali (Na_2CO_3). Se pesó 110 mg de la muestra y se agregaron 10 mL de metanol al 30 %, después se centrifugó en un vórtex por 15 minutos. Después, se centrifugó en las mismas condiciones. 120 μ L se tomaron y se colocaron en un tubo de ensaye y se agregaron 550 μ L de agua des-ionizada y se volvió a agitar en un vortex. A continuación, se agregó 120 μ L del reactivo Folin Ciocalteu y se agitaron de nuevo en el vortex y se dejó reposar en un lugar oscuro por seis minutos. Ya pasado el tiempo se agregaron 1.30 μ L de Na_2CO_3 al 7 % y 2 mL de agua des-ionizada, se agitó en un vórtex y se dejó reposar por 1.5 horas en un lugar oscuro a temperatura ambiente. Pasado el tiempo de reposo se leyó en el espectrofotómetro a una absorbancia de 750 nm. Los dos se hicieron en otro tubo de ensaye y el factor de corrección fue de 125 μ L de la muestra y los demás reactivos y fue el mismo procedimiento excluyendo Folin Ciocalteu. En cuestión de la calibración se procedió a la misma metodología se alistaron dos tubos de ensaye, uno para el factor corrección y uno para muestra, se agregó lo mismo, sin embargo, se reemplazaron los 125 μ L de la muestra por 120 del solvente el cual es metanol al 35 % y los demás reactivos en las condiciones similares. Para finalizar en los fenólicos totales se efectuó la curva de calibración de ácido gálico a concentraciones distintas y se graficaron contra la concentración de absorbancia y lo que se obtiene es un gráfico con la ecuación utilizada para el cálculo de la concentración final de fenólicos en mg EAG/110 mg de muestra.

3.4 Flavonoides

Para identificar flavonoides se prosiguió con la técnica de Dewanto *et al.* (2002). En la báscula se ponderaron 210 mg de muestra, se adicionó 10 mL de metanol acuoso y se colocó en un vórtex por 15 minutos. Se agitó a temperatura ambiente por 20 minutos con el fin de proseguir a centrifugar a 1000 rpm a temperatura de 5°C por 20 minutos. Lo que restó de sobrante se tomaron 260 µL y se colocaron en un tubo de ensaye y se agregó 80 µL de NaNO₂ al 5 % y se turbó levemente. Transcurrido el tiempo se agregaron 160 µL de AlCl₃ al 10 % y pasado el tiempo 550 µL de NaOH 1M moviendo de nuevo y para finalizar 1520 µL de agua des-ionizada se agregó para un resultado final de 3 mL. Se movió y reposó alrededor de cinco minutos. Después se hicieron dos testigos, en el prioritario fue un tubo de ensaye se adicionaron 260 µL de metanol y continuamos con todos los reactivos en condiciones similares. Tubo segundo se preparó testigo por el factor de corrección y se empleó factor de corrección y metanol completamente en todos los reactivos, excepto del AlCl₃ con todo lo mismo.

Cada una de las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro a una absorbancia de 515 nm y en cuestión de la evaluación final la concentración fue en (mg EC/110 mg de muestra), se hizo una curva de catequina estándar adquirida con solución de catequina en metanol de diferentes concentraciones.

3.5 Capacidad antioxidante método ABTS^{•+}.

La capacidad antioxidante de los aceites se evaluaron usando la investigación de decoloración del catión-radical ABTS^{•+}, descrito por Londoño-Londoño (2012), mediante espectrofotometría VIS a 740 nm. Se hicieron triplicado todas las muestras y se utilizaron todos los compuestos de referencia que aparecen en las tablas. (*Total Antioxidant Activity* – TAA) (mmol de Trolox/mg sustancia evaluada), que en español es Actividad Antioxidante Total, se determinaron así todas las muestras.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

De los aceites esenciales de orégano se obtuvieron las siguientes cantidades: Anáhuac 8.5 ml, Peñón Blanco 4 ml, Cuatrociénegas 6.5 ml. Con ácido gálico fueron cuantificados los fenoles, se efectuó una curva estándar, que está en Ilustración 14, en color rosa se muestran las concentraciones de los aceites de orégano, en donde Anáhuac tiene una concentración de 0.225 μg equivalentes de ácido gálico/g de muestra, mientras que Peñón Blanco tiene una concentración de 0.1697 μg y Cuatrociénegas con 0.1699 μg . Es indicativo que la calidad de los aceites varían de un lugar a otro y como se mencionó antes, es por ello el resultado de las diferentes condiciones ambientales de los lugares donde se colectaron las plantas.

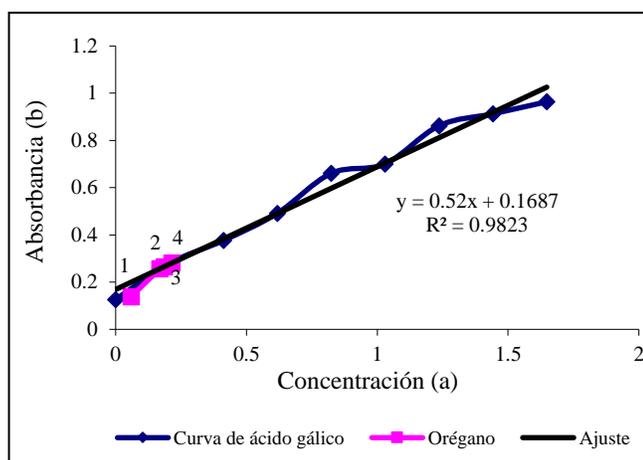


Ilustración 14. Gráfica fenólicos

a) Concentración en μg equivalentes de ácido gálico / g de muestra.

b) Resultados espectrofotómetro a 760 nm.

1-Blanco, 2-Peñón Blanco, 3-Cuatrociénegas, 4-Anáhuac

En la Ilustración 15 se pueden observar que las concentraciones de catequina, en azul la curva estándar y las concentraciones equivalentes de catequina en los aceites de orégano (color rosa). De nuevo se observa que Anáhuac contiene una mayor concentración al presentar 2.6760 μg equivalentes de catequina/gr. de muestra, y Cuatrociénegas presenta 2.3499 μg y Peñón Blanco tiene 2.2217 μg .

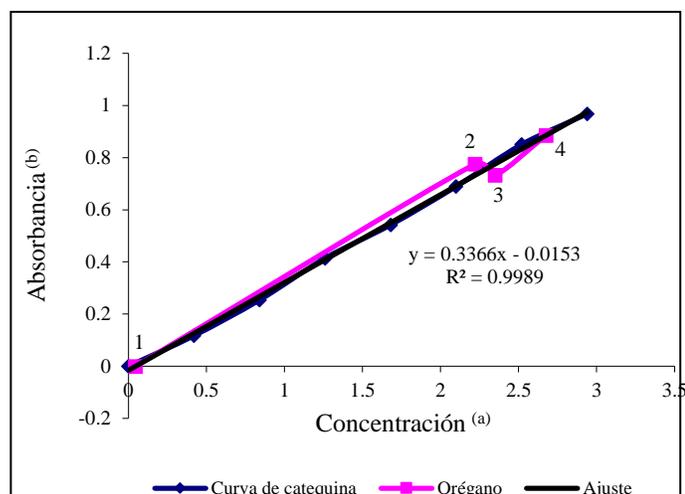


Ilustración 15. Gráfica flavonoides

a) Resultados en μg de catequina / g.

b) Resultados en espectrofotómetro a 510 nm

1-Blanco, 2-Cuatrociénegas, 3-Peñón Blanco, 4-Anáhuac

La cuantificación de los resultados obtenidos de fenólicos y flavonoides de distintas regiones se da a conocer en la Tabla 1 y se observó que Anáhuac contiene 0.0088 gr. de fenoles/gr. de muestra, por lo tanto, se demuestra que hay una gran cantidad de fenoles en esta población, seguido de Cuatrociénegas y después de Peñón Blanco.

Tabla 1. Fenólicos y flavonoides orégano de tres localidades.

Origen aceites orégano	Fenólicos (g de fenoles / g de muestra)	Flavonoides (g de flavonoides / g de muestra)
Cuatrociénegas, Coah.	0.0076	0.0942
Anáhuac, N.L.	0.0086	0.1070
Peñón Blanco, Dgo.	0.0068	0.0889

En flavonoides, se puede observar que Anáhuac de nuevo contiene mayores flavonoides totales, con respecto a Cuatrociénegas y Peñón Blanco, en orden menor.

Es interesante resaltar que como los flavonoides contienen propiedades químicas y biológicas, las cantidades que se obtuvieron de la investigación no nos similares entre sí, se puede deber a las diferentes condiciones ambientales y climáticas que se puede llegar a tener por los lugares de recolección. Además, es preciso resaltar si estaban en etapa de floración.

Tabla 2. Contenido de fenoles y flavonoides totales en tomillo y mejorana.

Origen	Fenoles (g de fenoles / g de muestra)	Flavonoides (g de flavonoides / g de muestra)
Barreal de Guadalupe, Coah. mejorana	0.0081	0.0894
Villa Juárez, Dgo. tomillo	0.0089	0.0947

Los resultados obtenidos de la cuantificación de fenólicos y flavonoides que nos arroja en la tabla 2, es para las distintas poblaciones, el tomillo de Villa Juárez presenta 0.0089 g de fenoles/g de muestra, evidenciando que existe una gran cantidad de fenoles en esta población, después de la mejorana de Barreal de Guadalupe.

En cuestión de los flavonoides, se observa que el tomillo de Villa Juárez de nuevo contiene gran cantidad de flavonoides, comparado con la mejorana de Barreal de Guadalupe.

Se usó Vitamina E, BHA, BHT en variadas concentraciones con la finalidad de atrapar los radicales libres y su evaluación. La absorbancia del catión-radial ABTS⁺ y la similitud en la respuesta y concentración de las muestras se inhiben de acuerdo a la ecuación: **Inhibición de A₇₃₄ (% = (1 - A_f/A_o) x 100**; donde A_o es el catión-radial sin impedir la absorbancia y A_f es la capacidad de absorbancia

después de la adición del antioxidante medida a los 7 minutos. Para concluir en términos de TAA (mmol de Trolox/kg de sustancias evaluada), quedan mostrados los resultados evaluados y obtenidos en la Tabla 3.

Sustancias utilizadas	Promedio \pm s
	TAA (mmol Trolox/kg SE)
Butilhidroxianisol BHA	2590 \pm 34
Butilhidroxitolueno BHT	990 \pm 32
α -Tocoferol	6900 \pm 488
Orégano Anáhuac	2040 \pm 22
Orégano Cuatrociénegas	800 \pm 25
Orégano Peñón Blanco	670 \pm 25
Tomillo Villa Juárez	890 \pm 32
Mejorana Barreal de Guadalupe	810 \pm 24

Tabla 3. Valores de capacidad antioxidante (mmol Trolox/kg sustancia) obtenidos por el método ABTS⁺ para los aceites esenciales de orégano, tomillo, mejorana y sustancias de referencia.

Para la evaluación de los aceites esenciales se dieron a entender de menor actividad de atrapar radicales libres que las sustancias referenciadas, α -Tocoferol y BHA. Por otro lado, cuatro de los aceites (Orégano Cuatrociénegas, Orégano Peñón Blanco, Tomillo Villa Juárez y Mejorana Barreal de Guadalupe) mostraron un eficaz atrapamiento de antioxidantes BHT y (Orégano Anáhuac) demostró mayor actividad que el BHT. Al comparar los cinco aceites esenciales se evaluó que su capacidad antioxidante decrece así: AE Orégano Anáhuac > AE Tomillo > AE Mejorana > AE Orégano Cuatrociénegas > AE Orégano Peñón Blanco. En relación con la capacidad antiradicalaria del aceite esencial de orégano de Anáhuac fue 3,5 mayores números de veces que del aceite esencial de tomillo. La facultad para encapsular el catión-radical ABTS⁺ por los aceites esenciales ya mencionados, determinados por este método, se reportan por primera vez.

En la Tabla 3 se presentan las investigaciones de la capacidad de atrapar la actividad antioxidante de las muestras y algunas sustancias mencionadas individuales por el método ABTS. Es por eso mencionar la importancia de mencionar que los aceites esenciales son mezclas muy complicadas por sus actividades químicas, ya que tienen diferentes funciones que pueden ostentar actividades muy diversas en relación a otras especies de radicales libres. Una de las competencias entre la cinética de reacción y las cantidades de los reactivos, dan finalizada la capacidad antioxidante que se realizó en esta investigación. Por ello, el métodos ABTS nos indica y tiene como objetivo atrapar o matar los radicales libres en alimentos, medio ambientes (Huang *et al.*, 2005).

V. CONCLUSIONES

Las plantas medicinales de orégano, tomillo y mejorana, son ampliamente distribuidas mundialmente y México, el cual es el tercer país que cosecha estas plantas. Además, de que el orégano, tomillo y mejorana tienen diferentes usos culinarios y medicinales. Por el contrario, en México se tiene la desventaja que desconocer el poder de estas plantas medicinales y no se les pone atención en la investigación para demostrar sus capacidades químicas.

En esta tesis de maestría podemos demostrar que nos hace falta investigación y más esfuerzo en el sector de biotecnología de alimentos y agronomía para profundizar en el conocimiento de la fitoterapia de las especies mexicanas. Si realmente hiciéramos esto, generaríamos mayor información para el sector privado para que esto se disperse en todas las escuelas de cualquier nivel y centros de investigación para implementar mejoras y consolidar la mejor producción sustentable, beneficiando a todas las comunidades que se dedican a la siembra y cosecha de estas plantas medicinales y culinarias.

En esta investigación ha quedado demostrado que el orégano, tomillo y mejorana contiene innumerables maravillas a la salud y por consiguiente a la detección y tratamiento de trastornos crónico-degenerativos y son una excelente fuente de compuesto fenólicos que nos protegen contra la oxidación celular, atrapando a los radicales libres, además con una excelente acción antibacteriana que podemos incluir a los alimentos para alargar su vida.

Todo esto presenta una única oportunidad en Coahuila y México de extender y utilizar todas las aplicaciones biomédicas y en comercio de estas plantas mexicanas.

Resumido, el orégano, tomillo y mejorana ofrecen un producto de alto valor que se puede convertir en un excelente Fito terapéutico con demasiado valor en el comercio nacional e internacional y esperemos haya más investigaciones en México.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, D., M. Navarro y L. Monroy 2013. "Composición química del aceite esencial de hojas de orégano (*Origanum vulgare*)." Información Tecnológica 24: 43-48
- Agronegocios 2015. Producción de orégano en fresco para exportación en malla sombra experiencia de productores en Baja California Sur. <https://agronegociosintegrados.blogspot.com/2015/09/produccion-de-oregano-en-fresco-para-el.html>, Consultoría Profesional para Negocios en Industrias de Agricultura, Ganadería y Forestales(16 de junio de 2020):
- Almeida-Barbosa, L. C., C. J. Silva, R. R. Teixeira, R. M. S. Alves-Meira y A. L. Pinheiro 2013. "Chemistry and biological activities of essential oils from *Melaleuca* L. species." *Agriculturae Conspectus Scientificus* 78: 11-23.
- Angelo, P. M. y N. Jorge 2007. "Phenolic compounds in foods – a brief review." *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 66: 1-9.
- Arcila-Lozano, C. C., G. Loarca-Piña, S. Lecona-Urbe y E. González de Mejía 2004. "El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes." *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 54: 100–111.
- ARKOLAB 2021. Equipo de destilación por arrastre de vapor. <https://www.olx.com.pe/item/equipo-de-destilacion-por-arrastre-de-vapor-iiid-1041786238>. 26 de abril de 2021
- Bandoni, A. L., D. Retta, P. M. Di Leo Lira y C. M. Van Baren 2009. "¿Son realmente útiles los aceites esenciales? ." *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile 8: 317-322.
- Barbosa-Chaves, R. D. S., R. Lopes-Martins, A. B. Lobato-Rodrigues, E. de-Menezes-Rabelo, A. L. Ferreira-Farias, C. M. D. C. Vieira-Araújo, T. Fernandes-Sobral, A. K. Ribeiro-Galardo y S. S. M. da-Silva-de-Almeida 2019. "Larvicidal evaluation of the *Origanum majorana* L. essential oil against the larvae of the *Aedes aegypti* mosquito." *BioRxiv*: 1-20.
- Baydar, H., O. Sağdıç, G. Özkan y T. Karadoğan 2004. "Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey." *Food Control* 15: 169-172.
- Belitz, H. D., W. Grosch y P. Schieberle 2009. "Food Chemistry." Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 1-1070.
- Bello, A. 1999. "Estudios de aceites esenciales de especie *Myrtaceae* de la flora de Pinar del Río." Tesis de Maestría, Departamento de Ciencias Químicas, Universidad del Río, Río, Brasil
- Benali, T., A. Khabbach, A. Ennabili y K. Hammani 2017. "Ethnopharmacological prospecting of medicinal plants from the Province of Guercif (NE of Morocco)." *Moroccan Journal of Biology* 14: 1-14.
- Bertelli, D., M. Plessi y F. Miglietta 2003. "Effect of microwaves on volatile compounds in *Origanum*." *Journal of Food Science and Technology* 36: 555–560.

- Bina, F. y R. Rahimi 2017. "Sweet marjoram: a review of ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities." *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine* 22 175-185.
- Bouyahya, A., I. Chamkhi, T. Benali, F. E. Guaouguaou, A. Balahbib, N. El-Omari, D. Taha, O. Belmehdi, Z. Ghokhan y N. El-Menyiy 2021. "Traditional use, phytochemistry, toxicology, and pharmacology of *Origanum majorana* L." *Journal of Ethnopharmacology* 265: 1-31.
- Brown, M., D. Henderson y C. Hunt 2006. "Comparison of antioxidant properties of supercritical fluid extracts of herbs and the confirmation of pinocembrin as a principle antioxidant in Mexican oregano (*Lippia graveolens*)." *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 5: 1265–1277.
- Burt, S. 2004. "Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review." *International Journal of Food Microbiology* 94: 223-253.
- Burt, S. A. 2007. "Antibacterial activity of essential oils: potential applications in food." Institute for Risk Assessment Sciences, Division of Veterinary Public Health Utrecht University ,The Netherlands 1-3.
- Cao, H., Y. Xie y X. Chen 2015. "Type 2 diabetes diminishes the benefits of dietary antioxidants: evidence from the different free radical scavenging potential." *Food Chemistry* 186: 106-112.
- Cid-Pérez, T. S., G. V. Nevárez-Moorillón, J. V. Torres-Muñoz, E. Palou y A. López-Malo 2016. "Mexican oregano (*Lippia berlandieri* and *Poliomintha longiflora*) oils." *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* Chapter 63: 551-560.
- CONABIO 2017. Tomillo. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/96342/Tomillo_monografias.pdf, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (17 de julio de 2020):
- CONABIO 2020. Enciclovida. <http://enciclovida.mx/especies/169720-thymus-vulgaris>, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad(02 de julio de 2020):
- CONABIO 2021. Enciclovida. <https://enciclovida.mx/especies/169604-origanum-majorana>, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad(07 de abril de 2021):
- Costa, A. R. T., M. F. Z. J. Amaral, P. M. Martins, J. A. M. Paula, T. S. Fiuza, L. M. F. Tresvenzol, J. R. Paula y M. T. F. Bara 2011. "Essential oil action *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. and L.M.Perry on the hyphae of some pathogenic fungi." *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 13: 240-245.
- Da Costa Vieira, G. H., B. Barbosa-Dias y D. C. Ozório-Leonel 2016. "Essential oils: properties, applications, extraction methods, and perspectives." *Nova Science Publishers, Inc.* 1: 1-18.
- Degáspari, C. H. y N. Waszczynskyj 2004. "Antioxidants properties of phenolic compounds." *Visão Acadêmica* 5: 33-40.
- Dewanto, V., X. Wu, K. K. Adom y R. H. Liu 2002. "Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 3010-3014.

- Donahue, B. 2016. Aromatherapy: make your own fragrances with enfleurage. <https://www.northatlanticbooks.com/blog/diy-aromatherapy-fragrances-enfleurage/>. 06 de mayo de 2021
- Dorado, D. J., A. M. Hurtado-Benavides y H. A. Martínez-Correa 2016. "Extracción con CO₂ supercrítico de aceite de semillas de guanábana (*Annona muricata*): cinética, perfil de ácidos grasos y esteroides." *Información tecnológica* 27: 37-48.
- Dorman, H. J. y S. G. Deans 2000. "Antimicrobials agent from plants: antibacterial activity of plants volatile oils. ." *Journal of Applied Microbiology* 88: 303-316.
- Dunford, N. T. y R. Silva-Vazquez 2005. "Effect of water stress on plant growth and thymol and carvacrol concentrations in Mexican oregano grown under controlled conditions." *Journal of Applied Horticulture* 7: 20-22.
- Ekoh, S. N., E. I. Akubugwo, V. C. Ude y N. Edwin 2014. "Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effect of spices (*Thymus vulgaris*, *Murraya koenigii*, *Ocimum gratissimum* and *Piper guineense*) in alloxan-induced diabetic rats." *International Journal of Biosciences* 4: 179-187.
- El-Hela, A. A. 2007. "Chemical composition and biological studies of the essential oil of *Thymus decussatus* benth growing in Egypt." *Egyptian Journal of Biomedical Sciences* 23: 146-153.
- Ennacerie, F. Z., F. F. Rhazi y A. Rahou 2017. "Ethnobotanical study of medicinal plants used in traditional medicine in the province of Sidi Kacem, Morocco." *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 10: 121-130.
- Evers, T. y S. Millar 2002. "Cereal grain structure and development: some implications for quality." *Journal of Cereal Science* 36: 261-284.
- Fachini-Queiroz, F. C., R. Kummer, C. F. Estevao-Silva, M. D. De Barros-Carvalho, J. M. Cunha, R. Grespan, C. A. Bersani-Amado y R. K. Nakamura-Cuman 2012. "Effects of thymol and carvacrol, constituents of *Thymus vulgaris* L. essential oil, on the inflammatory response." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1: 1-10.
- Fernandes-Da-Silva, M. G. 2011. "Antioxidant and antimicrobial activity in vitro of essential oils and hydroalcoholic extracts of marjoram (*Origanum majorana* L.) and basil (*Ocimum basilicum* L.)." *Universidade Tecnológica Federal do Paraná*: 1-70.
- Ferreira-Guiné, R. D. P. 2017. "Bioactive phenolic compounds: extraction procedures and methods of analysis." *Phenolic Compounds Nova Science Publishers, Inc.* 3: 57-89.
- Fonnegra, R. y S. L. Jiménez 2007. "Plantas medicinales aprobadas en Colombia." *Revista Universidad de Antioquia* 2da edición: 193–194.
- Franz, C. M. 2010. "Essential oil research: past, present and future." *Flavour and Fragrance Journal* 25: 112–113.
- Garaguso, I. y M. Nardini 2015. "Polyphenols content, phenolics profile and antioxidant activity of organic red wines produced without sulfur dioxide/sulfites addition in comparison to conventional red wines." *Food Chemistry* 179: 336-342.

- García-Guzmán, J. J., M. P. Hernández-Artiga, L. Palacios-Ponce de León y D. Bellido-Milla 2015. "Selective methods for polyphenols and sulphur dioxide determination in wines." *Food Chemistry* 182: 47-54.
- Gonzales, G. B., K. Raes, H. Vanhoutte, S. Coelus, G. Smagghe y J. Van-Camp 2015. "Liquid chromatography-mass spectrometry coupled with multivariate analysis for the characterization and discrimination of extractable and nonextractable polyphenols and glucosinolates from red cabbage and Brussels sprout waste streams." *Journal of Chromatography A* 1402: 60-70.
- González-Güereca, M. C., M. Soto-Hernández, G. Kite y M. Martínez-Vázquez 2007. "Actividad antioxidante de flavonoides de tallo de orégano mexicano (*Lippia graveolens* HBK var. *berlandieri* Schauer)." *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 43-49.
- Grespan, R., R. P. Aguiar, F. N. Giubilei, R. R. Fuso, M. J. Damião, E. L. Silva, J. G. Mikcha, L. Hernandez, C. B. Amado y R. K. Nakamura-Cuman 2014. "Hepatoprotective effect of pretreatment with *Thymus vulgaris* essential oil in experimental model of acetaminophen-induced injury." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1: 1-8.
- Gutiérrez-Domínguez, M. A. 2013. Guía básica para instalación y operación de destiladora de aceites esenciales. <https://es.slideshare.net/Yerbero/guia-basica-para-instalacion-y-operacion-de-destiladora-de-aceites-esenciales>. 26 de abril de 2021
- Hosseinzadeh, S., A. J. Kukhdan, A. Hosseini y R. Armand 2015. "The application of *Thymus vulgaris* in traditional and modern medicine: A review." *Global Journal of Pharmacology* 9: 260–266.
- Huang, D., B. Ou y R. L. Prior 2005. "The chemistry behind antioxidant capacity assays." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 1841-1856.
- Huerta, C. 2007. "Orégano mexicano: oro vegetal." <http://maph49.galeon.com/biodiv2/oregano.html>.
- Ietswaart, J. H. 1980. "A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae)." *Springer Netherlands* 4: 1-154.
- Jäger, S., H. Trojan, T. Kopp, M. N. Laszczyk y A. Scheffler 2009. "Pentacyclic triterpene distribution in various plants - rich sources for a new group of multi-potent plant extracts." *Molecules* 14: 2016–2031.
- Juárez-Rosete, C. R. 2010. "Fertilización orgánica e inorgánica en la producción y calidad de aceites esenciales en manzanilla, menta y tomillo." *Colegio de Postgraduados*: 10-25.
- Kamiloglu, S., A. A. Pasli, B. Ozcelik, J. Van-Camp y E. Capanoglu 2015. "Influence of different processing and storage conditions on in vitro bioaccessibility of polyphenols in black carrot jams and marmalades." *Food Chemistry* 186: 74-82.
- Laboratorio 2017. Extracción con equipo soxhlet. <https://laboratorioquimica1.wordpress.com/extraccion-con-equipo-soxhlet/>, Laboratorio de toma y tratamiento para el análisis de muestras. 07 de mayo de 2021

- Lavabre, M. 2009. "Aromatherapy: healing by essential oils." Editora Laszlo 7: 1-370.
- Lin, L. Z., S. Mukhopadhyay, R. J. Robbins y J. M. Harnly 2007. "Identification and quantification of flavonoids of Mexican (*Lippia graveolens*) oregano by LC-DAD-ESI/MS analysis." Journal of Food Composition and Analysis 20: 361-369.
- Liu, Y., P. Wang, F. Chen, Y. Yuan, Y. Zhu, H. Yan y X. Hu 2015. "Role of plant polyphenols in acrylamide formation and elimination." Food Chemistry 186: 46-53.
- Londoño-Londoño, J. 2012. "Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad." Lasallista 9: 129-162.
- Maciel, M. A. M., A. C. Pinto, V. F. Veiga-Jr, N. F. Grynberg y A. Echevarria 2002. "Medicinal plants: The need for multidisciplinary studies." Química Nova 25: 429-438.
- Manach, C., A. Mazur y A. Scalbert 2005. "Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases." Current Opinion in Lipidology 16: 77-84.
- Mandal, S. y M. DebMandal 2016. "Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Oils." Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety Chapter 94: 825-834.
- Mastelić, J., I. Jerković, I. Blazević, M. Poljak-Blazi, S. Borović, I. Ivancić-Baće, V. Smrecki, N. Zarković, K. Brcić-Kostic, D. Vikić-Topić y N. Müller 2008. "Comparative study on the antioxidant and biological activities of carvacrol, thymol and eugenol derivatives." Journal of Agricultural and Food Chemistry 56: 3989–3996.
- Mendoza-Días, S. y M. E. Mora-Mora 2005. "Aislamiento de compuestos bioactivos de *Lippia graveolens*. ." Facultad de Ciencias Químicas/Centro de Investigación y Estudios de Posgrado/Universidad Autónoma de Querétaro 1-3.
- Messina, M. y G. Redmond 2006. "Effects of soy protein and soybean isoflavones on thyroid function in healthy adults and hypothyroid patients: a review of the relevant literature." Thyroid Journal Archives 16: 249-258.
- Miller, N. J., C. Rice-Evans, M. J. Davies, V. Gopinathan y A. Milner 1993. "A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates." Clinical Science 84: 407-412.
- Müller, W. O. 1897. Köhler's Medizinal-Pflanzen. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Thymus_vulgaris_-_K%C3%B6hler%E2%80%93s_Medizinal-Pflanzen-271.jpg, Wikimedia Commons(17 de julio de 2020):
- Murbach-Teles-Machado, B. F. y A. Fernandes-Junior 2011. "Essential oils: general aspects and uses natural therapies. ." Cadernos Acadêmicos 3: 105-127.
- Newall, C. A., L. A. Anderson y J. D. Phillipson 1996. "Herbal medicines: a guide for health-care professionals." London: Pharmaceutical Press: 256–257.
- Oancea, S., M. Stoia y D. Coman 2012. "Effects of extraction conditions on bioactive anthocyanin content of *Vaccinium Corymbosum* in the perspective of food applications." Procedia Engineering 42: 489-495.

- Olivero-Verbel, J., T. González-Cervera, J. Güette-Fernandez, B. Jaramillo-Colorado y E. E. Stashenko 2010. "Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants." *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 20: 568-574.
- Ortega, N. M. M. 2011. "Caracterización del aceite esencial del orégano *Lippia palmeri* Watts y su actividad biológica." Tesis Universidad de Baja California. Instituto de Ciencias Agrícolas. Baja California, México.: 11-12.
- Osorno, H. T., J. D. Flores, S. L. Hernández y R. Cisneros 2009. "Management and extraction of *Lippia graveolens* in the arid lands of Queretaro, Mexico. ." *The Society for Economic Botany* 63: 314-318.
- Özgüven, M. y S. Tansi 1998. "Drug yield and essential oil of *Thymus vulgaris* L. as influenced by ecological and ontogenetical variation." *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 22: 537 - 542.
- Pandareesh, M. D., R. B. Mythri y M. M. Srinivas-Bharath 2015. "Bioavailability of dietary polyphenols: factors contributing to their clinical application in CNS diseases." *Neurochemistry International* 89: 198-208.
- Pascual, M. E., K. Slowing, E. Carretero, D. Sánchez-Mata y A. Villar 2001. "*Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review." *Journal of Ethnopharmacology* 76: 201-214.
- Pavithra, K. y S. Vadivukkarasi 2015. "Evaluation of free radical scavenging activity of various extracts of leaves from *Kedrostis foetidissima* (Jacq.) Cogn." *Food Science and Human Wellness* 4: 42-46.
- Pérez, C. R. 2009. "Frutas y hortalizas orgánicas de la red de mercados y tianguis orgánicos de México." *Revista Claridades Agropecuarias* 194: 25-45.
- Peter, K. V. 2012. "Handbook of herbs and spices." Woodhead Publishing Limited 1: 499–525.
- Prasanth-Reddy, V., K. Ravi-Vital, P. V. Varsha y S. Satyam 2014a. "Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties." *Medicinal and Aromatic Plants* 3: 1-3.
- Prasanth-Reddy, V., K. Ravi-Vital, P. V. Varsha y S. Satyam 2014b. "Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. ." *Medicinal and Aromatic Plants* 3: 1-3.
- Prerna y N. Vasudeva 2015. "*Origanum majorana* L. -phyto-pharmacological review." *Indian Journal of Natural Products and Resources* 6: 261-267.
- Ragab, T. I. M., A. N. G. El Gendy, I. A. Saleh y M. A. Esawy 2019. "Chemical composition and evaluation of antimicrobial activity of the *Origanum majorana* essential oil extracted by microwave-assisted extraction, conventional hydro-distillation and steam distillation." *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 22: 563-573.
- Rice-Evans, C. y L. Packer 2003. "Flavonoids in health and disease." CRC Press 2 ed: 1-504.
- Rojas, M. 2014. Prensado. <https://grasas-y-aceites-vegetales.webnode.com.co/procesos/extraccion-de-aceites/prensado/>, Grasas y aceites vegetales. 07 de mayo de 2021
- Sagdic, O. 2003. "Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols." *Journal of Food Science and Technology* 36: 467–473.

- Salgado-de-Morais, L. A. 2009. "Essential oils in phytosanitary control." *Biocontrol of plant diseases: use and perspectives* 1: 139-152.
- Sánchez, O., R. Medellín, A. Aldama, B. Goesttsh, J. Soberón y M. Tambutti 2007a. "Métodos de evaluación del riesgo de extinción de las especies silvestres en México (MER)." *Instituto Nacional de Ecología*: 104–105.
- Sánchez, O., R. Medellín, A. Aldama, B. Goesttsh, J. Soberón y M. Tambutti 2007b. "Métodos de evaluación del riesgo de extinción de las especies silvestres en México (MER). ." *Instituto Nacional de Ecología*: 104–105.
- Singleton, V. L., R. Orthofer y R. M. Lamuela-Raventós 1999. "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent." *Methods in Enzymology* 299: 152-178.
- Soković, M. y L. J. L. D. Van Griensven 2006. "Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*." *European Journal of Plant Pathology* 116: 211–224.
- Soliman, K. M. y R. I. Badeaa 2002. "Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi." *Food and Chemical Toxicology* 40: 1669-1675.
- Stahl-Biskup, E. y F. Saez 2002. "Thyme-The genus *Thymus*." London: CRC Press 1st Edition: 1-346.
- Stashenko, E. E., J. R. Martínez, C. A. Ruíz, G. Arias, C. Durán, W. Salgar y M. Cala 2010. "*Lippia origanoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis." *Journal of Separation Science* 33: 93-103.
- Steffani, E., A. C. Atti-Santos, L. Atti-Serafini y L. T. Pinto 2006. "Extraction of ho-sho (*Cinnamomum camphora* nees and eberm var. *Linaloolifera fujita*) essential oil with supercritical CO₂: experiments and modeling." *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 23: 259-266.
- Tahraoui, A., J. El-Hilaly, Z. H. Israili y B. Lyoussi 2007. "Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province)." *Journal of Ethnopharmacology* 110: 105-117.
- Thompson, J. D., J. C. Chalchat, A. Michet, Y. B. Linhart y B. Ehlers 2003. "Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes." *Journal of Chemical Ecology* 29: 859–880.
- Uribe-Hernández, C. J., J. B. Hurtado-Ramos, E. R. Olmedo-Arcega y M. A. Martínez-Sosa 1992. "The essential oil of *Lippia graveolens* H.B.K. from Jalisco, México." *Journal of Essential Oil Research* 4: 647-649
- Valdés-Oyervides, F. J. 2012. "Efecto de estrés inducido con NaCl, Cu²⁺ y Fe²⁺ en biomasa, timol, carvacrol y prolina en orégano mexicano (*Lippia graveolens* HBK)." *Universidad Autónoma de Nuevo León/Facultad de Ciencias Biológicas/Subdirección de Posgrado*: 57-58.
- Villavicencio-Gutiérrez, E. E., O. U. Martínez-Burciaga, A. Cano-Pineda y C. A. Berlanga-Reyes 2007. "Orégano, recurso con alto potencial." *Revista Ciencia y Desarrollo* 33: 60-66.

- Waterman, P. G. y S. Mole 1994. "Analysis of phenolic plant metabolites." Wiley: 1-248.
- Wood, P. J. 1986. "Oat β -glucan:structure, location and properties." Oats: chemistry and technology: 121-152.
- Worwood, S. y V. A. Worwood (2012). Essential Aromatherapy: A Pocket Guide to Essential Oils and Aromatherapy, New World Library.
- Xylia, P., A. Clark, A. Chrysagyris, G. Romanazzi y N. G. Tzortzakis 2019. "Quality and safety attributes on shredded carrots by using *Origanum majorana* and ascorbic acid." Postharvest Biology and Technology 155: 120-129.
- Zougagh, S., A. Belghiti, T. Rochd, I. Zerdani y J. Mouslim 2019. "Medicinal and aromatic plants used in traditional treatment of the oral pathology: the ethnobotanical survey in the economic capital Casablanca, Morocco (North Africa)." Natural Products and Bioprospecting 9: 35-48.