



JESÚS BURILLO

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA DE ARAGÓN, GOBIERNO DE ARAGÓN

IRENE PAREJO, FRANCESC VILADOMAT, JAUME BASTIDA, CARLES CODINA
DEPARTAMENTO DE PRODUCTOS NATURALES, BIOLOGÍA VEGETAL Y EDAFOLOGÍA, FACULTAD DE FARMACIA, UNIVERSIDAD DE BARCELONA

ALFREDO ROSAS-ROMERO

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD SIMÓN BOLÍVAR DE CARACAS

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

Los cultivos experimentales de plantas aromáticas y medicinales que se vienen desarrollando desde el Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (Burillo y García-Vallejo, 2003), determinan la importancia que puede suponer la utilización de materias primas transformadas de estas plantas para la industria en general (Guillén & Burillo, 1996), contando además con el valor añadido que se obtendría si del material de desecho (material destilado en este caso) se consiguiera una fuente potencial de antioxidantes de origen natural.

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

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

Material y Métodos

Plantas objeto de estudio

El material vegetal utilizado en el presente estudio se obtuvo de especies vegetales, las cuales se cultivaron bajo condiciones agronómicas controladas.

Localización geográfica de las parcelas experimentales

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

Características de la parcela de Cetina (Zaragoza)

- Parcela de riego por inundación
- Altitud de la zona 650 m sobre el nivel del mar

- Precipitación media anual 434 mm
- Temperatura media anual 13.7 °C
- Tipo de suelo de textura franco-arcillo-limosa

Especies cultivadas

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

Características de la parcela de Alacón (Teruel)

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

Especies cultivadas

- Espliego *Lavandula latifolia* (L. Fil.) Medikus

- Lavandín Super Híbrido de *Lavandula angustifolia* x *L. latifolia*

Ensayo de Cetina (Zaragoza)

La plantación se realizó en el mes de octubre de 1999 y la densidad de plantación fue de 20.000 plantas/ha. Puntualmente se realizaron riegos de apoyo por inundación, debido a que durante el período de primavera-verano existe una cierta escasez de lluvias en la zona. El diseño utilizado en la parcela de estudio fue el de bloques al azar con tres repeticiones, y el modelo estadístico aplicado fue el del factorial triple: bloque-especie-año, considerando en todos los casos factores fijos.

El marco de plantación fue de 1m de separación de filas x 0.50 m de planta a planta (0.50 m²/planta).

Ensayo de Alacón (Teruel)

Las muestras estudiadas corresponden al final del ciclo productivo de las especies o ecotipos ensayados en secano.

Lavandín Super

Familia botánica: Lamiaceae

Nombre científico: Híbrido de *Lavandula angustifolia* x *Lavandula latifolia*

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

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



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

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

- Época de recolección del cultivo: julio
- Estadio fenológico en el momento de la recolección: plena floración
- Porcentaje de marras al final del ciclo: 16.9 %

Tabla 2. Resultados de productividad de Lavandín Super

DATOS PRODUCTIVOS			
Mat. Vegetal Produc. Acumulada kg	Aceite esencial Produc. Acumulada Litros	Mat. Vegetal Media/anual Kg/ha	Aceite esencial Media/anual Litros/ha
35512	543.29	3551	54.30

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

Espliego

Familia botánica: Lamiaceae

Nombre científico: *Lavandula latifolia* (L. Fil) Medikus

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

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



Espliego (*Lavandula latifolia*)

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

- Época de recolección del cultivo: agosto
- Estadio fenológico en el momento de la recolección: plena floración
- Porcentaje de marras al final del ciclo: 46.9 %.

Tabla 1. Resultados de productividad de Espliego

DATOS PRODUCTIVOS			
Mat. Vegetal Produc. Acumulada kg	Aceite esencial Produc. Acumulada Litros	Mat. Vegetal Media/anual Kg/ha	Aceite esencial Media/anual Litros/ha
14092	107.4	2818	21.48

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

El diseño utilizado en la parcela de estudio fue el de bloques al azar con tres repeticiones, y el modelo estadístico aplicado fue el del factorial triple: bloque-especie-año, considerando en todos los casos factores fijos.

El marco de plantación fue de 1.50 m x 0.70m (1.05 m²/planta), es decir, una densidad de plantación de 9.600 plantas/ha.

Las variables controladas para cada especie fueron las siguientes:

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

Recolección y tratamiento del material vegetal

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

Una parte del material vegetal recolectado se sometió a un proceso de secado a la sombra, bajo corriente de aire, durante un período de 7 días. El resto del material se destinó a la obtención de aceites esenciales por arrastre de vapor a escala de planta piloto y por hidrodestilación en laboratorio por el método Clavenger acogido a Farmacopea Europea. De todo el material procesado se enviaron muestras a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona, para su estudio químico.

Procesamiento de las muestras

El procedimiento metodológico diseñado consistió en un proceso de extracción y fraccionamiento secuencial, obtuvimos los siguientes extractos y fracciones: EC1, extracto crudo inicial (metanólico); EC2, extracto crudo desengrasado (resultante del tratamiento del EC1 con hexano); y las fracciones FHX, fracción hexánica; FC3, fracción clorofórmica, y FCA, fracción acetato de etilo, obtenidas por la partición sucesiva del EC1 con dichos solventes. La

fracción acuosa residual se codificó como FOH.

Análisis de la capacidad antioxidante

En cada muestra se determinó el contenido de fenoles totales (CFT), la capacidad captadora de radicales libres (por el método del DPPH), radicales hidroxilo (por el método de quimioluminiscencia) y del anión superóxido (por el sistema superóxido-azul de nitrotetrazolio hipoxantina/xantina oxidasa), así como la actividad antioxidante (por el método de decoloración del β-caroteno).

Las actividades antioxidante y captadora de radicales determinadas en cada una de las muestras estudiadas se compararon con las de diferentes productos de referencia, la quercetina (Q), un antioxidante de origen natural, el butilhidroxianisol (BHA), uno de los antioxidantes sintéticos más ampliamente utilizados en la industria alimentaria, y tres extractos comerciales de origen natural con elevada actividad antioxi-

Estragón

Familia botánica: Asteraceae

Nombre científico: *Artemisia dracunculus* L.

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

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



Estragón (*Artemisia dracunculus*)

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

Tabla 3. Resultados de productividad de Estragón

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

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

dante: romero (R), té verde (TV) y pepitas de uva (PU).

Todos los análisis (extracciones y fraccionamientos) se realizaron por triplicado, y los resultados se sometieron a un análisis multifactorial de ANOVA para la comparación de los resultados correspondientes al material destilado y sin destilar, a los extractos y fracciones, así como a las seis plantas estudiadas. Las diferencias se consideraron significativas para valores de $P < 0.05$.

Resultados y discusión

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

Parcela de secano

Espliego: Las muestras de Espliego corresponden al final del ciclo productivo de la parcela experimental de Alacón. El Espliego empieza a producir al segundo año de su plantación. La vida en cultivo del Espliego puede alargarse

por encima de los 10 años, aunque en realidad las producciones de materia vegetal son interesantes los primeros cuatro años, para descender posteriormente y hacer que la producción sea muy baja a partir del séptimo año. El comportamiento productivo del aceite esencial se mantiene en unos parámetros similares. En base a los resultados obtenidos y según precios del mercado del aceite esencial de Espliego, los seis primeros años del cultivo se pueden considerar rentables, ya que se estima un rendimiento neto por hectárea y año de unos 500 euros. La producción cerealista de la zona es baja, lo cual hace difícil su rentabilidad, ya que se estima en 2200 kg/ha año.

Lavandín Super: Al igual que el Espliego, las muestras estudiadas de Lavandín super corresponden al final del ciclo productivo de la parcela experimental de Alacón. El Lavandín super entra en producción el segundo año, va aumentando la producción hasta llegar a un máximo en el cuarto año, se mantiene estable

hasta el sexto año, para disminuir a continuación. El comportamiento de la producción de aceite esencial es similar a la del rendimiento en materia vegetal. Según los resultados experimentales obtenidos, el ciclo productivo del Lavandín super se puede considerar rentable durante once años de cultivo, ya que el rendimiento neto estimado por hectárea y año es de más de 600 euros.

Parcela de regadío eventual

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

En la **Tabla 7** se ordenan priorizadas las tres plantas, separadamente por material destilado y sin destilar, que han mostrado

Hinojo amargo

Familia botánica: Apiaceae

Nombre científico: *Foeniculum vulgare* Mill

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

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



Hinojo amargo (*Foeniculum vulgare*)

- Fecha de recolección: 17/09/2000
- Estadio fenológico en el momento de la recolección: 60-65 % en semilla, y resto de la planta en flor
- Porcentaje de marras: 1.3 % de media

Tabla 4. Resultados de productividad de Hinojo amargo

DATOS PRODUCTIVOS - AÑO 2000				
Bloque	Materia vegetal (kg/Ha)	Materia seca (kg/Ha)	Rendimiento de materia seca (%)	Producción aceite esencial (L/Ha)
I	10000	2375	23.75	21.37
II	12727	3023	23.75	27.21
III	22273	5290	23.75	47.61
Media	15000	3563	23.75	32.06

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

Meliloto

Familia botánica: Fabaceae

Nombre científico: *Melilotus officinalis* Lam.

Descripción de la planta: Es una planta herbácea, anual o bianual, lampiña, con hojas compuestas, trifoliadas, que recuerdan a la de la alfalfa, ligeramente dentadas, con estípulas lanceoladas. Las flores son pequeñas, amarillas, olorosas y agrupadas en racimos delgados, que arrancan de la axila de las hojas superiores y son más largos que ellas. El fruto es una legumbre pequeña, de unos 3 mm, ovoidea, de color verde-amarillenta, con arrugas transversales, que contiene una o dos semillas redondeadas. Florece en verano. La planta tiene un sabor ligeramente amargo y al secarse desprende un intenso olor a cumarina (Muñoz, 1987).

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



Meliloto (*Melilotus officinalis*)

- Fecha de recolección: 25/07/2000
- Estadio fenológico en el momento de la recolección: plena floración
- Porcentaje de marras: 0.2 %

Tabla 5. Resultados de productividad de Meliloto.

DATOS PRODUCTIVOS - AÑO 2000				
Bloque	Materia vegetal (kg/Ha)	Materia seca (kg/Ha)	Rendimiento de materia seca (%)	Producción aceite esencial (L/Ha)
I	29204	10864	37.2	19.57
II	30454	11329	37.2	20.40
III	35000	13020	37.2	23.45
Media	31553	11738	37.2	21.14

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

Milenrama

Familia botánica: Asteraceae

Nombre científico: *Achillea millefolium* L.

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

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



Milenrama (*Achillea millefolium*)

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

Tabla 5. Resultados de productividad de Meliloto.

DATOS PRODUCTIVOS - AÑO 2000				
Bloque	Materia vegetal (kg/Ha)	Materia seca (kg/Ha)	Rendimiento de materia seca (%)	Producción aceite esencial (L/Ha)
I	33727	9686	28.72	35.08
II	31636	9086	28.72	32.90
III	28409	8159	28.72	29.55
Media	31257	8977	28.72	32.51

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

los mejores resultados en cada uno de los ensayos efectuados. De la observación de dicha tabla puede concluirse que resulta bastante difícil decidir cuál de las seis especies estudiadas en este trabajo puede considerarse la mejor fuente potencial de antioxidantes, puesto que cada una de ellas presente diferentes propiedades antioxidantes y/o captadora de radicales.

En general, el material destilado de estas seis especies mediterráneas ha mostrado contener unos niveles de compuestos fenólicos mayores que los del material sin destilar. Estas sustancias fenólicas se concentran principalmente en las fracciones de acetato de etilo y clorofórmicas, las cuales son las

que también han mostrado la mayor actividad antioxidante y captadora de radicales. Algunos de los extractos o fracciones estudiadas han mostrado una actividad incluso superior a la de compuestos o extractos de reconocido valor antioxidante. Estos resultados refuerzan la posibilidad de que estas plantas, las cuales se utilizan comúnmente en la dieta mediterránea como condimentos o decocciones, puedan contribuir positivamente en la protección de la salud humana. Alguno de los residuos resultantes de la destilación de estas plantas para sus aceites esenciales puede constituir una fuente fácilmente accesible de nuevos compuestos antioxidantes, especialmente en el caso del

Espliego y del Estragón, ya que sus extractos crudos han mostrado una elevada actividad antioxidante y captadora del anión superóxido, respectivamente, no siendo necesario llevar a cabo ningún proceso posterior de fraccionamiento.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Gobierno de Aragón a través de las Ayudas a la Experimentación, por el Decanato de Investigaciones y Desarrollo de la Universidad Simón Bolívar, Venezuela, y por la Generalitat de Catalunya (referencia 2001SGR-00124), y se ha realizado en el marco del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED, proyecto IV.11).

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

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