

DIATOMEAS DEL MONCAYO

H. MARCO MOLL *

* Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza (Sección de Ciencias Naturales)

**ANALISIS DE LOS COMPONENTES VOLATILES
DE LA SAXIFRAGA MONCAYENSIS**

M. A. SANTA CECILIA*
F. CARCELLER**
G. REGLERO***
J. SANZ****

* Centro de Estudios Turiasonenses. Tarazona (Zaragoza).

**Facultad de Biología. Univ. de Barcelona.

***Instituto de Fermentaciones Industriales. C.S.I.C.

****Instituto de Química Orgánica. C.S.I.C.

ANALISIS DE LOS COMPONENTES VOLATILES DE LA SAXIFRAGA MONCAYENSIS

M. A. SANTA CECILIA*
F. CARCELLER**
G. REGLERO***
J. SANZ****

La familia de las saxifragáceas incluye 58 especies que crecen en la Península Ibérica, de las cuales 32 son endemismos. Entre ellas se encuentra *Saxifraga moncayensis* D. A. Webb, cuyo nombre se debe a que crece, de forma casi exclusiva, en las fisuras de las rocas silíceas y calcáreas en una franja situada entre 1.200 y 1.700 m. en el área del Moncayo.

La mayor parte de estas especies presentan hojas recubiertas de glándulas y pelos glandulosos. Muchas de ellas exudan un aceite viscoso, y algunos presentan un olor característico. Estos hechos suelen indicar la presencia de compuestos volátiles de tipo terpénico, que forman los denominados aceites esenciales, comunes sobre todo en plantas de la familia de las labiadas. Parece pues posible la presencia en las saxífragas, y más concretamente en la *S. moncayensis*, de compuestos de este tipo; sin embargo, y al tratarse de otra familia botánica cabe esperar que las plantas de esta especie contengan compuestos volátiles cuyas estructuras difieran de las comunes en aceites esenciales.

El objetivo de este trabajo es la caracterización y determinación de los componentes

* Centro de Estudios Turiasonenses. Tarazona (Zaragoza).

**Facultad de Biología. Univ. de Barcelona.

***Instituto de Fermentaciones Industriales. C.S.I.C.

****Instituto de Química Orgánica. C.S.I.C.

volátiles de la *Saxifraga moncayensis*. Dada la escasez de esta planta, se ha utilizado un método de trabajo que permite, a partir de muestras del orden de 2 g. caracterizar y a veces identificar componentes presentes en cantidades del orden de partes por millón.

MATERIAL Y METODOS

Muestra

Las muestras de *S. moncayensis*¹ se recogieron en su periodo de floración (12-6-88), en fisuras de roquedos silíceos en la zona denominada «Cucharón», situada en las proximidades del Santuario de Ntra. Sra. del Moncayo (Zaragoza). El suelo era fisural, con un solo horizonte orgánico de espesor variable. El sustrato (conglomerados cuárcicos del Buntsandstein) era ácido, con relación C/N baja (M.O. humificada), y se clasificó como litosuelo. Como características podemos señalar:

PROF. (cm.)	pH H ₂ O	pH KCl.	M. O. %	N. TOTAL %	C/N	GRAVAS %
0-4	5,20	4,41	23,16	1,119	12,00	5,29

COLOR seco	COLOR hum.	ACIDEZ ext	Al _C	Al _P %	Al _D %	Fe _P %	Fe _D %
10YR 4/1	10YR 2/1	31,2	0,149	0,34	0,20	2,22	8,84

El clima es frío, con varios meses de nieve, precipitaciones superiores a 1.000 mm. y temperatura media anual de 8°C.

La planta se secó en oscuridad a temperatura ambiente durante 20 días.

Extracción

La obtención de un aceite esencial incluye la separación de sus componentes del resto de compuestos no volátiles de la planta. Este proceso debe llevarse a cabo mediante una destilación de uno u otro tipo. El proceso de destilación se basa siempre en la aplicación de calor a la muestra, lo que en el caso de compuestos terpénicos puede ser causa de descomposición. Por este motivo, la mayor parte de los procesos de destilación

de aceites esenciales buscan evitar el contacto de la planta o el aceite con zonas de temperatura elevada y minimizar el tiempo durante el que los componentes lábiles están sometidos a ellas.

El procedimiento clásico es la destilación o arrastre en corriente de vapor. En él, una corriente de vapor de agua destila y arrastra los componentes volátiles, que se separan fácilmente del agua condensada al ser insolubles en ella. El principal problema es la elevada cantidad de agua que se requiere, lo que implica el uso de cantidades relativamente altas de muestra para reducir la presencia relativa de posibles contaminantes y para evitar problemas en la recuperación.

La destilación-extracción simultánea, desarrollada por Likens y Nickerson², busca reducir estos problemas mediante el empleo de una menor cantidad de agua, que se recicla, y la extracción continua con un disolvente apolar, que retira la mayor parte de los componentes volátiles evitando su calentamiento. En su versión a escala reducida (Chrompack³), este procedimiento permite el empleo de pequeñas cantidades de material, por lo que ha sido elegido en este estudio, en el que la planta no es muy abundante.

La muestra (2 g.) se destila en un matraz con agua, condensándose simultáneamente este destilado con el procedente de un pequeño recipiente (2 ml.) de pentano. Las dos fases del condensado se separan por densidades, reciclándose el agua al matraz donde se encuentra la planta y el pentano a su correspondiente recipiente, en que se va concentrando el aceite. Tras 1 hora de operación, el extracto se concentra hasta 1 ml. por eliminación del disolvente en corriente de nitrógeno. El concentrado puede inyectarse directamente en un cromatógrafo.

Análisis cualitativo y cuantitativo.

Las determinaciones de retención y cuantitativas se han llevado a cabo en un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer 8320 con inyector PTV⁴, dotado de un detector de ionización de llama. Los espectros de masas se han registrado en un espectrómetro VG 12-250, acoplado a un cromatógrafo de gases Konik 2000, en el modo de impacto electrónico. Se ha empleado una columna capilar de sílice fundida, de 20 m x 0,22 mm, impregnada con SE-30. La columna se programó desde 60°C hasta 270°C a una velocidad de 5°C/min. El gas portador fue helio.

La muestra (0,2 1 del extracto concentrado) se inyectó en la modalidad de cold split (inyector a 30°C, división de flujos 1/10, 2 ml/min de purga de septum). Inmediatamente después de la inyección, el inyector se calienta a razón de 15°C/min hasta 375, temperatura a la que se mantiene durante 3 minutos. Se ha comprobado que en estas condiciones la exactitud y precisión del análisis son satisfactorias⁵.

RESULTADOS Y DISCUSION

El género *Saxifraga* ha sido muy poco estudiado hasta la fecha desde el punto de vista químico. Los componentes volátiles sólo se han determinado para la *S. stolonifera* (6,7), en la que se han encontrado compuestos monoterpénicos, ácidos grasos y n-alcanos.

Caracterización e identificación de los componentes.

La figura 1 muestra el cromatograma obtenido con el empleo de la columna y condiciones de trabajo que figuran en el apartado anterior.

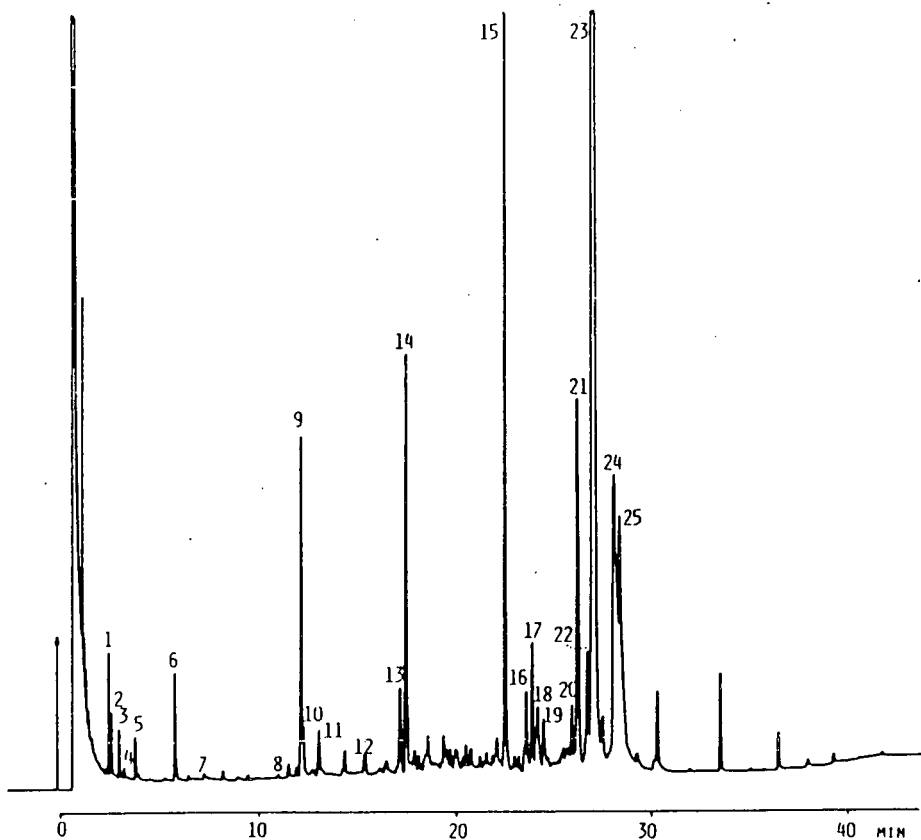


Figura 1. Cromatograma de un extracto SDE de *S. Moncayensis*. (Ver condiciones en el texto)

Aunque las fases más utilizadas en la separación de los compuestos terpénicos

propios de aceites esenciales son los polietilenglicoles (Carbowax, Superox, FFAP), las columnas preparadas con ellas no dieron buenos resultados con el aceite de Saxífraga. La razón se encuentra en la baja volatilidad de sus componentes mayoritarios, que requiere que, en el caso de las columnas con SE-30, la temperatura de la columna se incremente hasta cerca de 270°C. Al ser imposible alcanzar estas temperaturas con los polietilenglicoles, dichos componentes se eluirían en un tiempo prohibitivo.

Por esos motivos, si se deseara efectuar la separación utilizando una fase más polar (p. ej., para conseguir una mejor separación en la zona eluída entre 25 y 30 minutos), deberían emplearse siliconas termoestables, como la OV-17.

La cantidad de aceite recogida a partir de 2 g. de planta es del orden de miligramos, y sus componentes están presentes en cantidades muy bajas. Ello impide su aislamiento y purificación por los medios clásicos. La única información analítica que se puede obtener es la que proporcionan la cromatografía de gases y la espectrometría de masas.

El cromatograma de la figura 1, correspondiente al extracto de la *S. moncayensis*, presenta una distribución de picos similar a la de un aceite esencial; junto a algunos picos mayoritarios, aparecen numerosos de tamaño inferior, que en ciertas zonas del cromatograma aparecen solapados.

TABLA 1
RELACION DE COMPUESTOS VOLATILES
CARACTERIZADOS O IDENTIFICADOS EN SAXIFRAGA MONCAYENSIS

N.	ESTRUCTURA	% AREA
1	α -Pineno	0,3
2	Canfeno	0,2
3	β -Pineno	0,1
4	Mirceno	0,05
5	1,8-Cineol	0,2
6	Alcanfor	0,6
7	Verbenona	0,04
8	Solanona	0,07
9	— dihiroionona	1,8

N.	ESTRUCTURA	% AREA
10	— dihidroionona (der. acet.)	0,3
11	Solanfuranona	0,05
12	Chamigreno	0,2
13	$C_{15}H_{24}O_2$	0,7
14	$C_{15}H_{24}O_2$	1,9
15	$C_{20}H_{32}O$	4,4
16	Kaur-16-eno (mezcla)	0,5
17	1, 3, 6, 10-ciclotetradecatetraeno 3, 7, 11-trimetil-14- (1-metiletil)	0,8
18	$C_{20}H_{32}$	0,8
19	1, 5, 9-ciclotetradecatrieno 1, 5, 9-trimetil-12-isopropileno	0,4
20	$C_{20}H_{32}O$	0,4
21	$C_{20}H_{34}O$	2,9
22	$C_{20}H_{34}O$	1,6
23	$C_{20}H_{34}O$	58,2
24	$C_{20}H_{34}O$	7,4
25	$C_{20}H_{34}O$	4,3

En la tabla 1 se indica la información analítica obtenida para los picos numerados en la figura 1. Si se supone que la respuesta cromatográfica es similar para todos los compuestos, lo que ocurre cuando sus estructuras son también similares, puede tomarse como concentración relativa para cada uno de ellos la relación entre su área y el área total, que figura, expresada en tanto por ciento, en la última columna de la tabla. Así, aparece como componente fundamental del aceite el pico n. 23 (58,2 % del total). El límite de detección es inferior al 0,1%.

La caracterización e identificación de los picos se han basado en los datos obtenidos por la espectrometría de masas. Se ha podido registrar el espectro de la mayor parte de los picos detectados por cromatografía de gases, aunque en varios casos no han resultado útiles debido a interferencias con otros picos o con el fondo de la columna. El espectro de masas permite la identificación a partir de relaciones entre fragmentación y estructura cuando se trata de compuestos sencillos o por comparación con datos bibliográficos cuando los compuestos son conocidos.

En la figura 2 se muestra el espectro de masas del componente fundamental de la Saxífraga. Este espectro no coincide con los registrados en las bibliotecas de espectros más completas (8,9). Su ión molecular ($m/z=290$) junto a los picos a 272 y 275 (traza) indican, teniendo en consideración su procedencia, una posible fórmula elemental $C_{20}H_{34}O$, que corresponde a un compuesto diterpénico oxigenado (éter o más probablemente alcohol). Su fragmentación se caracteriza por la presencia de numerosos picos de intensidad media, lo que es compatible con una estructura posiblemente monocíclica (pico a 177) con sustituyentes ramificados. La gran complejidad de los compuestos terpénicos, junto con la falta de picos significativos en el espectro, impiden progresar más en la identificación.

Una interpretación similar puede darse a los espectros de los compuestos 20-25, que presentan características semejantes al anterior.

En el caso de compuestos que han sido hallados previamente en otros productos naturales, la identificación es más sencilla, resumiéndose sus resultados en la tabla 1. En ella figuran los compuestos identificados, señalándose con un asterisco aquellos cuya identidad no es segura. Para los compuestos no identificados, se indica la composición elemental cuando ha podido deducirse del espectro de masas. Se puede señalar la presencia de tres grupos:

En primer lugar se encuentran los compuestos mono- y sesquiterpenos, típicos de aceites esenciales y que ya se habían detectado en otra saxífraga⁶, pero que aquí aparecen en proporciones muy bajas.

Los compuestos 8-11 presentan una estructura peculiar, basada en un esqueleto de 13 átomos de carbono. Estos compuestos, junto con los sesquiterpenos n. 17 y 19, han sido encontrados previamente en el análisis de los componentes volátiles del tabaco.

Destaca la gran abundancia de compuestos de tipo diterpénico o diterpénico oxigenado, estructura que parece también ser la de la mayor parte de los compuestos que se eluyen entre 20 y 30 minutos, cuyos iones a 272 y 290 se han registrado a veces en espectrometría de masas. La determinación de este tipo de estructuras que presentan una gran complicación requiere la utilización de otras técnicas, como RMN, que, al necesitar de una cantidad de muestra relativamente elevada no son aquí aplicables.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican el interés desde el punto de vista químico de la *S.*

moncayensis. La continuación de este estudio requeriría el empleo de mayor cantidad de planta, lo que plantea problemas debido a su escasez. La aplicación del método de análisis aquí indicado a otras saxifragas permitiría conocer si las peculiaridades químicas de la *S. moncayensis* se extienden a otras plantas del género, en cuyo caso el trabajo podría continuarse a partir de plantas más abundantes.

BIBLIOGRAFIA

- VARGAS, P., 1987.- **Anales del Jardín Botánico de Madrid**. 44 (2): 540.
- LICKENS, S. T., y G. B. NICKERSON, 1964.- **Am. Soc. Brewing Chem. Proc.**, 5.
- GODEFROOT, M.; SANDRA, P., y VERZELA, M., 1981.- **J. Chromatog.**, 217: 81.
- POY, F.; VISANI, S., y TERROSI, F. 1981.- **J. Chromatogr.**, 217: 81.
- REGLERO, G.; HERRAIZ, M.; HERRAIZ, T., y LOYOLA, E., 1988.- **J. Chromatogr.**, 438: 243.
- KAMEOKA, H.; MIYAZAWA, M.; ANDOU, Y., y ODA, T. 1974.- **Yukagaku**, 23 (4): 246.
- KAMEOKA, H., y KITAGAWA, I., 1976.- **Yukagaku**, 25 (8): 490.
- Biblioteca de espectros. NBS. (VG 12-250).**
- Eight Peak Index of Mass Spectra. Mass Spectrometry Data Centre, **R.S.C.**, 1983.

**CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES
DE ALGAS DE AGUA DULCE DEL MONCAYO**

J. CAMBRA*

* Depto. Biología Vegetal. Fac. Biología. Univ. Barcelona.

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES DE ALGAS DE AGUA DULCE DEL MONCAYO

J. CAMBRA*

ABSTRACT

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGMENT OF FRESHWATER ALGAE COMMUNITIES IN THE MONCAYO VALLEYS

The present study of freshwater algae from Moncayo valleys is based on three samples collected along the spring of 1987 and 1988. The freshwater systems are formed mainly by creeks and streams at the north side of the Moncayo. Springs, temporary pools and peat bogs are also very widespread. All these aquatic systems are placed between 600 and 1600 m. above sea level, flowing on siliceous sandstone substrat.

The running waters were cold and very unpolluted at the high altitude, becoming slightly temperate and less soft downstreams.

The algal communities on rocky substrates were formed by *Hildenbrandia rivularis* and higrophilous lichens. Frequently on this encrusting surface it grew a diatom community dominated by *Diatoma hiemale* var. *mesodon*. *Batrachospermum moniliferum* and *Fontinalis antipyretica* grew in fast flowing waters, with a low lighting degree. *Fontinalis* appear commonly covered by many diatoms as *Achnanthes lanceolata* or *Gomphonema angustum*. Several *Klebsormidium* were very widespread in ephemorous streams and sources, occasionally accompanied by *Oscillatoria*. *Hydrocoleus brebissonii*, *Phormidium* sp. pl. and *Nostoc sphaericum* growth in dripping walls and sources among

* Depto. Biología Vegetal. Fac. Biología. Univ. Barcelona.

several mosses as *Brachythecium rutabulum* and *Bryum schleicherii*. The *Desmidiaceae* species are abundantly recorded in peat bogs of *Sphagnum recurvum* var. *mucronatum*, among them *Cosmarium* sp. pl., *Euastrum verrucosum*, *Pleurotaenium ehrenbergii*, *Staurastrum pyramidatum* and *S. dejectum* form important populations. *Hantzschia amphioxys* and *Achnanthes lanceolata* were recorded in temporary pools, especially in some low altitude places.

INTRODUCCION

El patrimonio natural de la Sierra del Moncayo tiene un notable interés, tanto desde el punto de vista biocenológico, como biogeográfico. Desde hace años, el conocimiento de su flora y fauna ha despertado la curiosidad de numerosos naturalistas, que han contribuido a su estudio. Sin embargo, las algas de agua dulce se encuentran prácticamente inéditas, aunque paradójicamente DOSSET (1888) recoje una primera aportación al estudio diatomológico de la región.

En la presente comunicación se aportan datos para el conocimiento algológico del Moncayo, así como se describen las poblaciones algales que se desarrollan entre los 600 y 1.600 m. de altitud.

MATERIAL Y METODO

La recolección se ha efectuado durante la primavera de 1987 y la de 1988. Las algas se han fijado con formaldehído al 4% y se encuentran depositadas en el herbario del Dept. Biología Vegetal, Univ. Barcelona, bajo la identificación BCC-JC.

Paralelamente a la recolección de las algas, se han registrado los parámetros limnológicos siguientes: Temperatura, pH, conductividad y concentración de oxígeno disuelto. Así mismo, también se han obtenido muestras de agua fijada con unas gotas de cloroformo, para el posterior análisis de las concentraciones de cloruros, sulfatos y nitratos.

AREA DE ESTUDIO

Se han prospectado un total de 19 puntos, situados en la vertiente norte de la Sierra del Moncayo (Fig. 1), los cuales se describen a continuación:

1. Torrente a 15 Km. del Santuario. Localidad muy sombría, bosques de *Pinus sylvestris*. En el agua se desarrollan matas de *Fontinalis*.
2. Fuente de la Teja. Aguas corrientes frías, en general ambiente muy sombrío. Comunidades epilíticas de *Hildenbrandia* y también matas importantes de *Batrachospermum*.

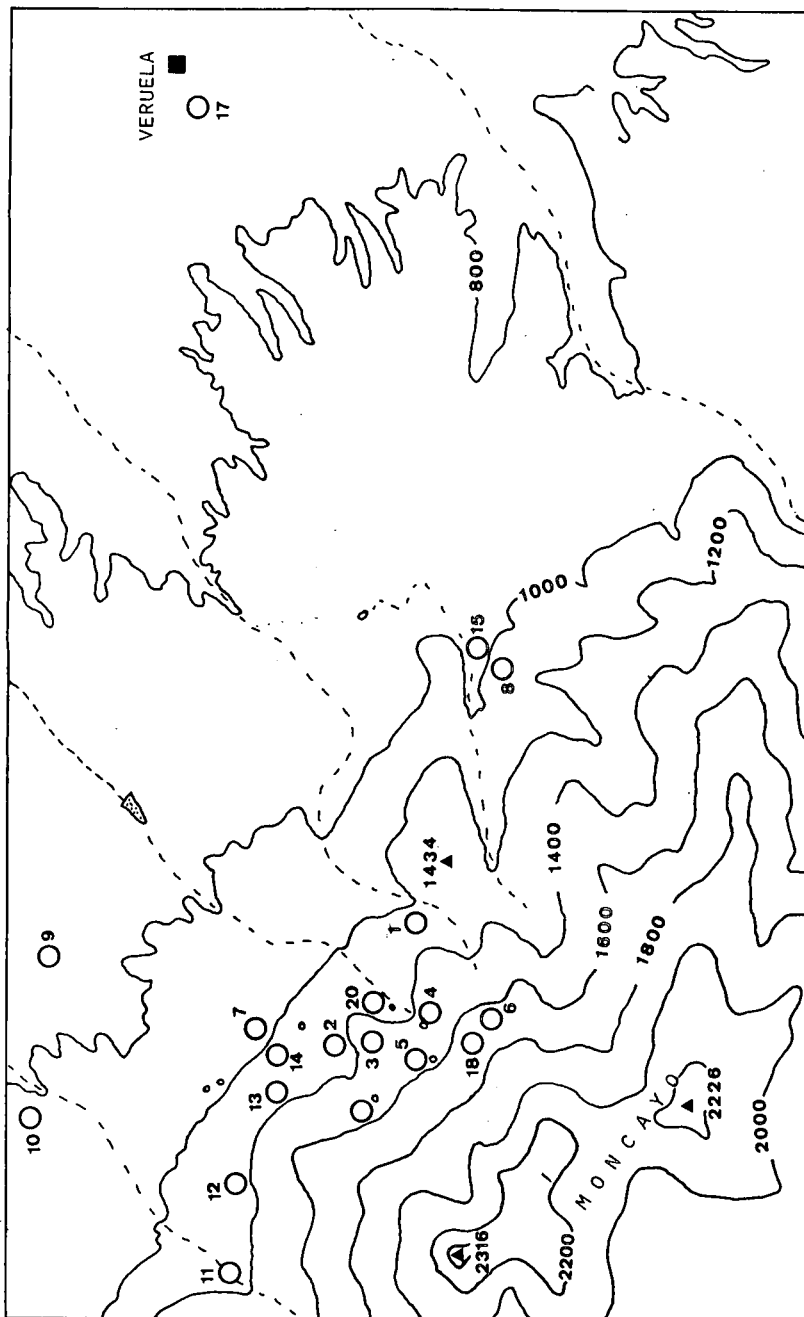


Figura 1. Distribución de las localidades estudiadas.

3. Canal de agua con un flujo moderado en la cuneta de la carretera hacia el Santuario, a unos 9 Km. Sobre las piedras submergidas crecían pequeñas matas de *Draparnaldia*.
4. Fuente de los Frailes. Comunidades epilíticas e higropétricas.
5. Fuente del Chorro. Comunidades higropétricas con briófitos.
6. Fuente de San Gaudioso. Aguas corrientes y rezumantes, con desarrollos aparentes de *Batrachospermum* y diversas Ulotricales respectivamente.
7. Torrente cerca del cruce de Veruela a Tarazona. Localidad muy sombría, donde predominan las comunidades epilíticas junto con el musgo *Scapania*.
8. Charca temporal con precipitados de hierro, situada a unos 9 Km. del Santuario.
9. Cruce de la carretera de Tarazona a Agramonte. Cuneta de la carretera y charcas temporales, donde aparecen talos de Cianofíceas.
10. Charca sobre materiales arcillosos en el cruce de Agramonte a Soria.
11. Torrente de Agramonte, en su curso medio. Aguas corrientes con diversos musgos y ambiente sombrío (hayedo).
12. Riachuelo temporal en el margen de un camino, a 1 Km. del torrente de Agramonte.
13. Turberas con *Sphagnum recurvum* var. *mucronatum*, cerca de la localidad anterior.
14. Riachuelo en el cruce de Veruela hacia Agramonte. Aguas corrientes.
15. Canal artificial cerca del punto 8.
16. Cruce de la carretera de Veruela a San Martín, comunidades epilíticas y talos aparentes de *Vaucheria*.
17. Canal artificial cerca de Veruela, con comunidades manifestadas de Cianofíceas recubriendo las paredes del canal.
18. Torrente de Agramonte, cerca de Beratón (Soria). Aguas corrientes con *Batrachospermum*.
19. Fuente del Sacristán, comunidades higropétricas en ambiente sombrío.

CARACTERISTICAS ECOLOGICAS GENERALES

La red hidrográfica de la vertiente norte del Moncayo está formada por numerosos

torrentes y riachuelos, que en general presentan un caudal elevado. Debido a la fuerte pendiente, son abundantes las pequeñas cascadas y rápidos, que generan un flujo de agua intenso. El substrato es irregular, formado por bloques de piedras constituidos por arenisca silícea en general.

La mayor parte de estos sistemas lóticos atraviesan los bosques cerrados por *Fagus sylvatica*, *Pinus sylvestris* y roble, hecho que produce ambientes muy sombríos en diversos tramos de los torrentes. Los manantiales y fuentes están muy extendidos, así como los charcos efímeros, que suelen aparecer en gran número después de períodos lluviosos.

Los sistemas acuáticos de las cuencas estudiadas se caracterizan por presentar aguas rápidas, frías y muy bien oxigenadas (Tab. I). El pH de estos medios es notablemente variable (4.9-7.5), con una ligera tendencia a la acidez (Tab. I). Debido a que el substrato por el que circulan las aguas es de tipo silíceo, cabe suponer que tendrán una baja reserva alcalina y por tanto un escaso poder tamponador, lo que explica el amplio rango de valores observado.

TABLA 1
VALORES DE LOS PARAMETROS FISICO-QUIMICOS
DE LOS DISTINTOS AMBIENTES ESTUDIADOS

	TEMPERATURA (°C)	PH	OXIGENO (mg.l ⁻¹)	CONDUCTIVIDAD (μS.cm ⁻¹)	CLORUROS (mg.l ⁻¹)	SULFATOS (mg.l ⁻¹)	NITRATOS (mg.l ⁻¹)
TORRENTES Y RIACHUELOS	7,0-18,0	6,6-7,2	7,4-11,1	7,0-28,0	1,0-3,0	1,0-4,0	1,0
FUENTES	—	—	—	8,0-20,0	1,4-2,4	1,7-1,4	1,0
CHARCAS	18,0-19,0	5,4-7,1	4,8-12,5	20,0-140,0	—	—	—
TURBERAS	16,0-17,0	4,9	7,0	44,5	1,0	1,0	0,0
CURSO INFERIOR DE RIOS	13,0-17,5	7,2-7,5	9,2-10,7	73,0-98,0	3,2	9,0	3,2
RANGO	7,0-19,0	4,9-7,5	4,8-12,5	7,0-140,0	1,0-3,2	1,0-9,0	0,0-3,2

En los torrentes y manantiales de la parte alta las aguas son muy puras, registrándose unos valores de conductividad muy bajos (7.0-28.0 μS. cm⁻¹). A medida que descendemos en altitud las aguas se mineralizan progresivamente, incrementándose en consecuencia la conductividad, que puede llegar hasta los 75 μS. cm⁻¹. A pesar de este

valor más elevado, las aguas circulantes de estos cursos inferiores también pueden considerarse bastante puras.

En sistemas de aguas estancadas se registra un descenso significativo de los valores oxígeno disuelto (hasta 4.8 mg. l⁻¹), debido a la respiración animal y a la escasa renovación del agua. Así mismo se observa un grado de mineralización superior respecto de las aguas corrientes, sobre todo en aquellas localidades situadas junto a cultivos y carreteras.

RESULTADO

Las poblaciones algales de los torrentes y riachuelos no alcanzan casi nunca biomásas importantes, hecho que atribuimos a la baja concentración de nutrientes (Tab. I) y a la escasa iluminación. No obstante, en este tipo de ambientes se favorece el crecimiento de algunas especies de rodofíceas (*Batrachospermum moniliforme* y *Hildenbrandia rivularis*), adaptadas a las condiciones de baja iluminación y temperatura. Los talos de *Batrachospermum* pueden llegar a recubrir extensos bloques de roca sumergidos, pero sus poblaciones se encuentran muy localizadas. *Hildenbrandia* en cambio, se encuentra mucho más extendida, formando comunidades epilíticas junto con diversos líquenes higrófilos. En la ribera de estos mismos ambientes es relevante el desarrollo de numerosas especies de musgos y hepáticas, que se encuentran semisumergidos o recubriendo bloques de piedra cercanos al flujo de agua. Entre ellos cabe destacar *Brachythecium rivulare*, *Hylocomium splendens*, *Thuidium tamariscinum* y la hepática *Plagiochila porelloides*.

En las aguas corrientes en general aparece con frecuencia *Fontinalis antipyretica*, formando densas matas de hasta 20 cm de longitud. Entre los caulidios y los filidios de este musgo suelen quedar retenidas diversas diatomeas como *Diatoma hiemale* var. *mesodon*, *Frustulia rhomboides*, *Eunotia lunaris*, *E. arcus*, *Fragilaria virescens*, *Cymbella silesiaca*, *Surirella angustata* y *Stauroneis legumen*. Así mismo también se desarrolla un pequeño grupo de especies epifíticas como *Oedogonium* sp. pl., *Gomphonema clavatum*, *Achnanthes lanceolata* y más raramente *Cocconeis placentula* (Fig. 2).

Las escorrentías temporales o aguas corrientes procedentes de riachuelos desbordados son muy frecuentes y suelen circular por caminos y sendas. En estos ambientes efímeros se desarrollan, en pocas, semanas, diversas algas filamentosas como *Klebsormidium mucosum*, *K. flaccidum* y *Zygnema* sp., que suelen estar acompañadas por *Oscillatoria granulata* y algunas desmidiáceas propias de ambientes subaéreos como *Mesotaenium chlamydosporum*.

En las paredes húmedas de las fuentes y manantiales, en general, están muy extendidas las comunidades higrópétricas, dominadas en su mayor parte por Cianofíceas como *Hydrocoleus brebissonii*, que forma tapices aparentes de color violáceo, *Gloeocapsa rupestris*, *Nostoc sphaericum*, *Calothrix parietina*, *Gloeothece palea*, así como talos de *Vaucheria sessilis*, entre cuyos filamentos aparece *Mesotaenium mirificum* y numerosas

HILDENBRANDIA RIVULARIS

C. DIATOMA HIEMALE MESODON

MANANTIALES
C. CIANOFICEAS Y DIATOMEAS

C. ULOTRICALES Y TRIBONEMA

C. DESMIDIACEAS

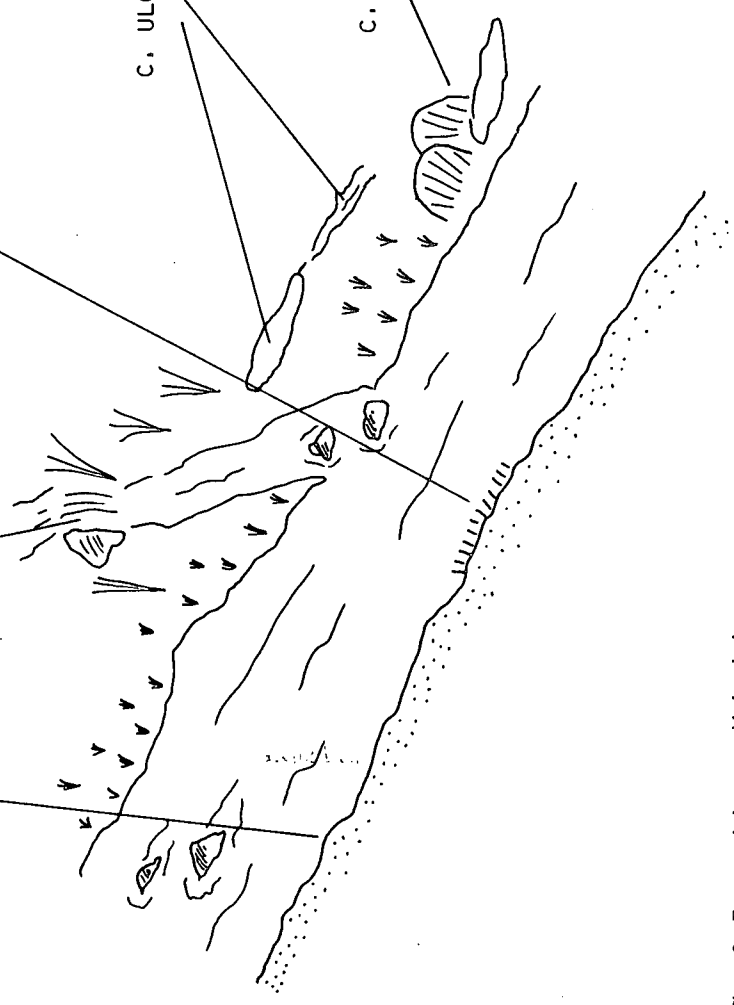


Figura 2 Esquema de las comunidades algales en un torrente.

diatomeas como *Diatoma hiemale* var. *mesodon*, *Meridion circulare*, *Frustulia rhomboides*, *Pinnularia microstauron*, *Stauroneis anceps* y *Neidium ampliatum*. En estos ambientes suele haber un microgradiente, debido al grado de humedad desde el centro hacia la zona de las salpicaduras (Fig. 3).

En los canales artificiales, las aguas están más mineralizadas y las comunidades anteriores son substituidas por *Phormidium ambiguum* var. *maior*, que forma tapices verde-azulados sobre las paredes de cemento, junto con diversas diatomeas *Cyclotella comta*, *Cocconeis pediculus*, *Epithemia turgida*, *Navicula cincta* y *Cymbella cymbiformis*.

Los sistemas de aguas estancadas están poco extendidos y desaparecen durante el verano. En el litoral de estos sistemas pueden aparecer poblaciones importantes de desmidiáceas, como *Euastrum verrucosum*, *Staurastrum pyramidatum*, *S. dejectum*, *Cosmarium abbreviatum*, *C. pyramidatum*, *C. reniforme*, *C. tetraophthalmum* y *Pleurotaenium ehrenbergii*. En estos medios suelen producirse precipitados de hierro, debido a los procesos bacterianos de oxireducción. El contenido en hierro de estas aguas se refleja en la presencia de *Trachelomonas volvocina*, *Tribonema microchloron*, *T. vulgare*, *T. affine* y *Oedogonium*. Paralelamente, el grado de mineralización de estas aguas suele ser superior, hecho que explica la presencia de *Euglena spirogyra* var. *fusca*.

Por último, en las charcas temporales que se forman accidentalmente después de períodos lluviosos, aparecen poblaciones algales adaptadas a períodos indeterminados de sequedad e inundación. En estas charcas efímeras (Fig. 4) suelen ser abundantes las diatomeas como *Hantzschia amphioxys*, *Achnanthes coarctata*, *Pinnularia borealis*, *Gomphonema clavatum*, *G. parvulum*, *Navicula cryptocephala*, *N. tridentula*, *Fragilaria brevistriata*, *Achnanthes subatomoides*, *Gomphonema angustum*, *Cymbella sinuata*, *Pinnularia gibba*, *Navicula pupula* var. *pupula*, *Caloneis bacillum*, *Neidium ampliatum* y *Achnanthes affinis*, cianofíceas como *Oscillatoria subbrevis* y desmidiáceas como *Actinotaenium curtum* y *A. globosum*. En estos medios suele aparecer con relativa frecuencia la tribofícea *Heterothrix montana*, propia de estos ambientes edáficos y que no había sido encontrada con anterioridad en nuestro país.

En general, podemos concluir que las comunidades observadas están extendidas dentro de la media y alta montaña. La mayor parte de ellas son parecidas a las descritas en el Pirineo Catalán (MARGALEF, 1948, 1952, 1956; CARTER, 1970), en Ordesa (CAMBRA, 1987) y en los alpes (KANN, 1978, 1985).

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi gratitud a la Dra. Empar Carrillo y al Dr. Enric Gràcia por su colaboración en la recolección de muestras, a Victor Canalís la amable determinación de los briófitos y a Marina Bacaicoa su ayuda durante una de las excursiones. Asimismo, agradezco a Marta López su inestimable ayuda en la realización de éste trabajo.

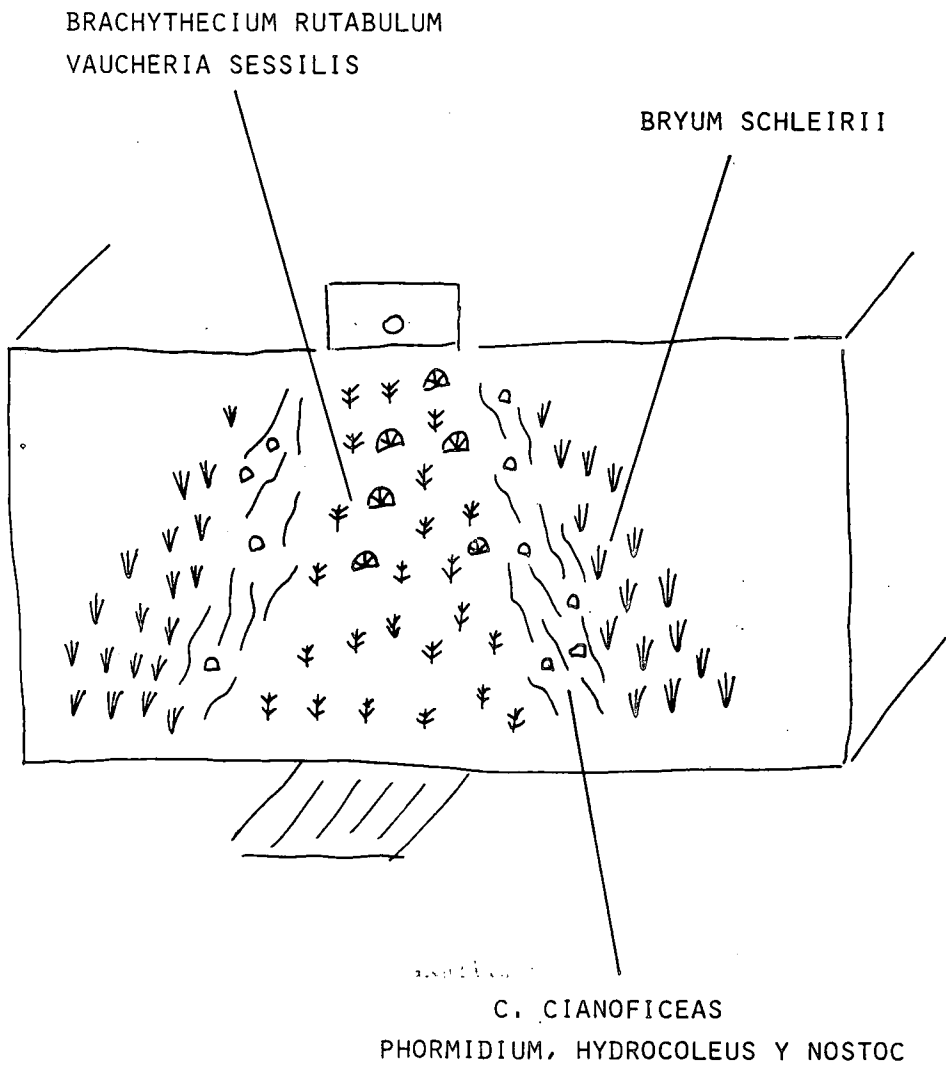


Figura 3. Esquema de las comunidades criptogámicas en las paredes de fuentes y manantiales.

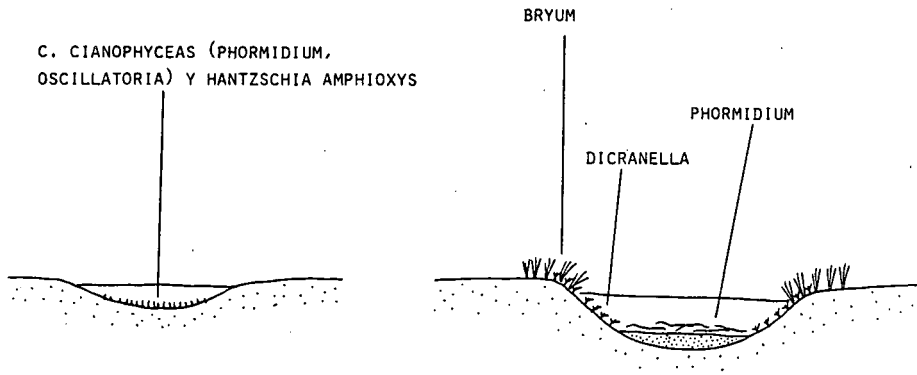


Figura 4. Esquema de las comunidades de charcos efimeros (derecha) y lagunas semipermanentes (izquierda).

BIBLIOGRAFIA

- CAMBRA, J., 1987.- Flore et végétation algologiques des eaux épicontinentales de la Réserve naturelle des vallées d'Ordesa (Pyrénées aragonaises). *Candollea*, 42 (2): 475-490.
- CARTER, J.R., 1970.- Diatoms from Andorra. *Nova Hedwigia*, 31: 605-632.
- DOSSET, J.A., 1888.- **Datos para la sinopsis de las diatomeas de Aragón.** Miedes Ed. Zaragoza. 32 pp.
- KANN, E., 1978.- Typification of Austrian streams concerning algae. *Verh. Int. verein. Limnol.*, 20: 1523-1526.
- KANN, E., 1985.- Benthische Cyanophyten-Gemeinschaften in Bächen und Seen. *Arch. Hydrobiol.*, 71: 307-310.
- MARGALEF, R., 1948.- Flora, fauna y comunidades bióticas de las aguas dulces de Pirineo de la Cerdaña. *Monogr. Estac. Est. Pirenaicos*, 11: 1-226.
- MARGALEF, R., 1952.- **La vida en las aguas dulces de Andorra.** C.S.I.C. Ed. Zaragoza. 107.
- MARGALEF, R., 1956.- Estudios hidrobiológicos en los valles de Boí. *Act. II. Congr. Inst. Est. Pirenaicos*, 87-108.

**ESTUDIO DE LA COMPOSICION DEL ACEITE ESENCIAL
DE ROMERO PROCEDENTE DE PLANTAS RECOGIDAS
EN DIFERENTES EPOCAS DEL AÑO EN DISTINTAS ZONAS
DE LA COMARCA DEL MONCAYO**

M. A. SANTA CECILIA*
F. CARCELLER**
G. REGLERO***
J. SANZ****

* Centro de Estudios Turiasonenses. Tarazona (Zaragoza).

**Facultad de Biología. Univ. de Barcelona.

***Instituto de Fermentaciones Industriales. C.S.I.C.

****Instituto de Química Orgánica General. C.S.I.C.

ESTUDIO DE LA COMPOSICION DEL ACEITE ESENCIAL DE ROMERO PROCEDENTE DE PLANTAS RECOGIDAS EN DIFERENTES EPOCAS DEL AÑO EN DISTINTAS ZONAS DE LA COMARCA DEL MONCAYO

M.A. SANTA CECILIA*

F. CARCELLER**

G. REGLERO***

J. SANZ****

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos volátiles, generalmente terpénicos, originados en el metabolismo secundario de las plantas. Su composición depende no sólo de factores genéticos, sino también de otras características propias del entorno en que la planta se desarrolla, como son el clima y tipo de suelo.

El romero (*Rosmarinus officinalis L.*) es una planta de la familia de las Labiadas, común en nuestra península, cuyo aceite esencial presenta interés comercial.

El objetivo de este trabajo es el estudio de las variaciones de composición debidas al clima, suelo y fecha de recogida de la planta, así como las causadas por el empleo de distintos procedimientos de análisis, en distintas muestras de aceite esencial de romero procedente de plantas de la comarca del Moncayo.

* Centro de Estudios Turiasonenses. (Zaragoza).

**Facultad de Biología. Univ. de Barcelona.

***Instituto de Fermentaciones Industriales. C.S.I.C.

****Instituto de Química Orgánica General. C.S.I.C.

MATERIAL Y METODOS DE ANALISIS

Muestras

Las muestras de romero se recogieron en las siguientes zonas y épocas del año:

Muestras 1 (enero), 10, 11, 12, (junio); «Carrascal» (zona próxima al polígono «Industrial de Tarazona»).

Altitud, 500 m. Temp. media anual, 15°C. Precipitaciones, 400 mm.

Suelo. (Tabla 1). El perfil, formado por tres horizontes, se desarrolla sobre un sustrato carbonatado compuestos por materiales detríticos del mioceno. El pH es básico. En el horizonte B se observa una acumulación de sales hasta niveles tóxicos para plantas no tolerantes. Las raíces se encuentran en el horizonte HA1 y A1. La textura facilita la entrada de las raíces y del agua: humus del tipo mull calizo. Se trata de un suelo carbonatado. Torriorthent (Soil taxonomy).

Muestras 2 (enero), 7, 8, 9, (junio); «Veruela».

Altitud, 785 m. Temp. medida anual, 12°C. Precipitaciones, 600 mm.

Suelo. (Tabla 2). Desarrollado a partir de materiales aluviales, de edad jurásica. Débil grado de diferenciación vertical tanto morfológica como físico-química. Existencia de material heterométrico suelto que facilita la circulación y penetración de raíces hasta el horizonte B. Humus de tipo mull calizo, pH moderadamente básico y baja disponibilidad de nutrientes esenciales como P y Fe. Cierta descarbonatación en los niveles superiores. Se clasifica como un suelo pardo calizo. (C.P.C.S.) y como Xerochrepts según la sistemática U.S.A. (Soil taxonomy).

Muestras 3 (enero), 4, 5, 6, (junio); «Altirón» (Sierra del Moncayo).

Altitud, 900 m. Clima similar al anterior.

TABLA 1.
CARACTERISTICAS DEL SUELO «CARRASCAL»

HORIZONTE	PROFUND. cm	pH H ₂ O	pH KCl	MAT. OR. %	N. TOTAL %	C/N	CO ₂ Ca %	GRAVAS %	ARENA GRUESA	ARENA FINA
HA ₁	0-3	7,20	6,64	34,85	1,146	17,45	—	4,82	7,79	22,55
A ₁₁	3-33	7,79	7,47	2,28	0,192	11,84	33,84	39,69	17,35	21,02
A ₁₂	33-50	7,57	7,47	1,14	0,167	6,81	37,47	33,99	14,71	19,73

LIMO GRUESO	LIMO FINO	ARCILLA %	TEXTURA	COLOR SECO	COLOR HUM	CONDUC. ms	Cl ⁻ meq/l	NO ₃ ⁻ meq ^{1/2} /l	SO ₄ ⁻² meq ^{1/2} /l	% SATUR HUM
11,47	37,70	20,29	FRANCO LIMOSA	10YR 3/3	—	—	—	—	—	—
12,13	28,94	20,56	FRANCA	10YR 6/4	10YR 4/4	1,088	3,93	< 0,3	5,65	29,31
16,87	31,92	16,76	FRANCA	10YR 6/4	10YR 5/5	5,240	27,96	0,0	35,78	32,10

TABLA 2
CARACTERISTICAS DEL SUELO «VERUELA»

HORIZONTE	PROFUND. cm	pH H ₂ O	pH KCl	MAT.OR. %	N. TOTAL %	C/N	CO ₂ Ca %	GRAVAS %	ARENA GRUESA	ARENA FINA
H	—	—	—	33,92	1,20	16,41	—	—	—	—
A ₁₁	0-3	7,00	6,74	12,23	0,52	13,66	2,23	2,43	8,48	36,79
A ₁₂	3-13	7,47	6,91	4,90	0,24	11,79	2,15	25,03	9,80	32,41
B	13-30	7,83	7,16	3,22	0,19	9,97	12,44	20,38	13,15	21,14
C ₁ (B ₂)	30-47	8,01	7,48	2,56	0,16	9,38	28,03	16,90	15,85	24,14
C ₂	47-57	7,85	7,45	1,97	0,12	9,70	35,87	4,76	14,48	22,36

LIMO GRUESO	LIMO FINO	ARCILLA %	TEXTURA	COLOR SECO	COLOR HUM	CONDUC. ms	Cl ⁻ meq/l	NO ₃ ⁻ meq ^{1/2} /l	SO ₄ ⁻² meq ^{1/2} /l	% SATUR HUM
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6,31	15,07	31,38	FRANCO ARENO ARCILLO.	—	—	0,7694	2,05	0,02	1,78	37,52
5,79	27,21	24,78	FRANCO ARCILLO.	10YR 5/1	10YR 3/2	1,0401	1,95	0,01	6,35	35,69
12,61	33,81	18,68	FRANCO-LIMO ARCILLO.	10YR 5/1	10YR 4/2	0,5356	1,01	0,01	1,39	32,88
23,03	18,24	18,72	FRANCA	10YR 5/1	10YR 4/1	0,5356	1,47	0,01	1,49	31,45
8,5	28,36	25,97	FRANCO LIMOSA	10YR 5,5/1	10YR 4/1	—	—	—	—	—

Suelo. (Tabla 3). Altiron 812 m. Desarrollado sobre el piedemonte pliocuaternario del Moncayo, se compone de tres horizontes; uno orgánico y dos minerales. Se observa una cierta migración de arcillas y óxidos de Fe y Al, que se acumulan en el horizonte B₂. Es de destacar que las raíces del romero se horizontalizan en el límite entre los horizontes HA₁ y B₁, no penetrando las raíces principales (en este suelo el % de materia orgánica y el nivel de nutrientes decrecen rápidamente con la profundidad). Suelo con una edafogénesis pretérita (cierta migración de arcillas y óxidos de Fe y Al) que ha sufrido procesos de erosión más recientes (ausencia de horizonte de eluviación). Suelo lavado débilmente podsólico (C.P.C.S.) y Haploxerult (S.T.)

Extracción (SDE)

Para distinguir la variación en la composición del aceite esencial de plantas de distintas características de la existente entre ejemplares individuales de plantas similares se requiere un método de extracción del aceite que pueda aplicarse a pequeñas muestras de planta. La extracción/destilación simultánea (SDE)¹, y sobre todo su versión a escala muy reducida², permite trabajar con cantidades de planta inferiores a 5 g. lo que, en el caso del romero, posibilita su recogida sin producir daños a la mata escogida. El método presenta la ventaja adicional de reducir el volumen de disolvente empleado y disminuir el tiempo durante el que el aceite esencial se encuentra a temperaturas elevadas, con un riesgo menor de contaminación por impurezas o por productos de degradación.

Se han utilizado 2 g. de planta previamente seca y molida, que se han extraído durante una hora con 2 ml. de pentano. El extracto se ha concentrado hasta 1 ml. mediante eliminación del disolvente en corriente de nitrógeno a temperatura ambiente. El extracto concentrado se ha analizado por cromatografía de gases en las siguientes

TABLA 3
CARACTERISTICAS DEL SUELO «ALTIRON»

HOR	Profund. cm	pH H ₂ O	pH KCl	M.O.R. %	N. Tot.	C/N	CO ₂ Ca %	Gravas %	Arena gruesa	Arena fina	Limo grueso	Limo fino	Arcilla %	Textura
HA ₁	0-3	5,83	5,26	33,73	1,047	18,69	0,0	8,69	—	—	—	—	—	—
B ₁	3-9	6,45	5,55	1,71	0,089	11,15	0,0	41,9	27,27	25,44	4,46	24,73	18,08	franco arenosa
B ₂	9-	5,15	3,86	0,84	0,071	6,81	0,0	10,20	8,99	11,30	22,08	26,60	31,02	franco- limo arcillosa

1. LIKENS, S. T., y NICKERSON, G. B., *Am. Soc. Brewing Chem. Proc.* 1964 (1964): 5.
2. GODEFROOT, M.; SANDRA, P., y VERZELE, M., *J. Chromatog.* 203 (1981): 325.

Color Seco	Color Hum.	Ca meq/100 g.	Mg meq/100 g.	Na meq/100 g.	K meq/100 g.	Bases	Acidez ext.	C.L.C. total	AL %	Fe _p %	Fe _{tot} %	Al _p %	Al _{tot} %	Saturación %
10yR 4/4	—	33,2	5,2	0,15	0,3	39,01	32,0	71,01	0,08	0,4	11,5	0,6	1,6	54,94
5YR 6/6	5YR 4/6	8,7	1,9	0,13	0,2	11,06	8,8	19,90	0,09	1,6	19,4	1,4	1,6	55,61
2,5YR 6/8	2,5YR 5/8	6,4	2,8	0,19	0,2	9,64	14,4	24,00	0,29	5,6	29,3	2,1	0,1	40,21

condiciones: (0.2 μ l) se han inyectado en la modalidad de cold split (inyector a 30°C, relación de split 1/10, purga de septum 2 ml/min). El inyector se calienta a 15°C/s hasta 375°C, temperatura a la que se mantiene durante 3 minutos. La temperatura de la columna se programa desde 50°C (5 min.) hasta 180°C a razón de 5°C/min.

Introducción directa (PTV)

Los métodos clásicos de análisis de aceites esenciales requieren, como paso previo obligatorio, su separación de resto de materiales de la planta. Esta se lleva a cabo siempre mediante algún tipo de destilación, aprovechando la mayor volatilidad de los componentes del aceite esencial. En el proceso general de análisis, esta etapa es la que mayor tiempo consume y la causa más probable de introducción de impurezas procedentes de los disolventes y de descomposición de los componentes lábiles del aceite. Por otro lado, y según el método utilizado, puede ser necesario recurrir a cantidades elevadas de planta para la obtención del aceite, lo que impide su uso con especies escasas o protegidas. El método SDE, descrito anteriormente, reduce estos problemas.

Una vez obtenido el aceite, el análisis suele llevarse a cabo por CG, siendo imprescindible el empleo de columnas capilares. La introducción de muestras en estas columnas presenta diversos problemas, siendo recomendables las técnicas de introducción en frío.

En 1981³ se desarrolló un inyector basado en la introducción en frío de la muestras y su posterior vaporización mediante un calentamiento balístico. Se trata del denominado inyector PTV (Vaporizador con temperatura programada) que mejora los resultados de anteriores sistemas⁴ y ofrece múltiples posibilidades de inyección^{5,6} permitiendo la

3. POY, F.; VISANI, S., y TERROSI, F., *J. Chromatog.* 217 (1981): 81.

4. REGLERO, G.; HERRAIZ, M., y CABEZUDO, M. D., *Chromatographia* 22 (1986): 333.

5. LOYOLA, E.; HERRAIZ, M.; REGLERO, G., y MARTIN, P., *J. Chromatog.* 398 (1987): 53.

supresión de la etapa de concentración del extracto trabajando en la modalidad de la eliminación del disolvente⁷.

Con el fin de suprimir la etapa de aislamiento y concentración se ha utilizado la técnica de introducción directa, vaporizando los componentes volátiles de la planta por calentamiento en la corriente de gas portador que los arrastra y concentra en la cabeza de la columna capilar. Para ello, se introduce la muestra (2 mg de romero seco y molido) en el inyector a 30°C, entre dos tapones de lana de vidrio silanizada, con una relación de flujo 1/20 y 2 ml/min de purga de septum. El inyector se calienta a 15°C/s hasta 200°C, manteniéndose a esta temperatura durante 3 minutos. La columna se mantiene a 35°C durante 1 min. programándose su temperatura hasta 180°C a 6°C/min.

Análisis

En el análisis se ha utilizado un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer 8320, con inyector PTV y detector de ionización de llama con una columna capilar de sílice fundida desactivada, de 50 m x 22 mm, con Carbowax 20M como fase estacionaria (0,25 mm. de espesor). Para el registro de los espectros de masas, se ha empleado un espectrómetro VG 12-250, en el modo de impacto electrónico, acoplado a un cromatógrafo Konik 2000.

Tratamiento de datos

Se ha llevado a cabo utilizando el paquete de programas ARTHUR⁸, ejecutado en el ordenador CDC CYBER 180/855 del Centro de Cálculo del C.S.I.C. (Madrid).

RESULTADOS Y DISCUSION

Composición cualitativa

la identificación de los compuestos volátiles presentes en las muestras de romero analizadas se ha llevado a cabo fundamentalmente por comparación de sus espectros de masas con los de patrones y con datos bibliográficos. En algunos casos se ha confirmado esta identificación en base a la retención cromatográfica.

6. REGLERO, G.; HERRAIZ, M.; HERRAIZ, T., y LOYOLA, E., *J. Chromatog.* 438 (1988): 243.

7. HERRAIZ, M.; REGLERO, G.; LOYOLA, E., y HERRAIZ, T., *HRC & CC.* 10 (1987): 598.

8. WOLFF, D. D., y PARSONS, M. L., *Pattern Recognition Approach to Data Interpretation*, Plenum Press, New York, 1983.

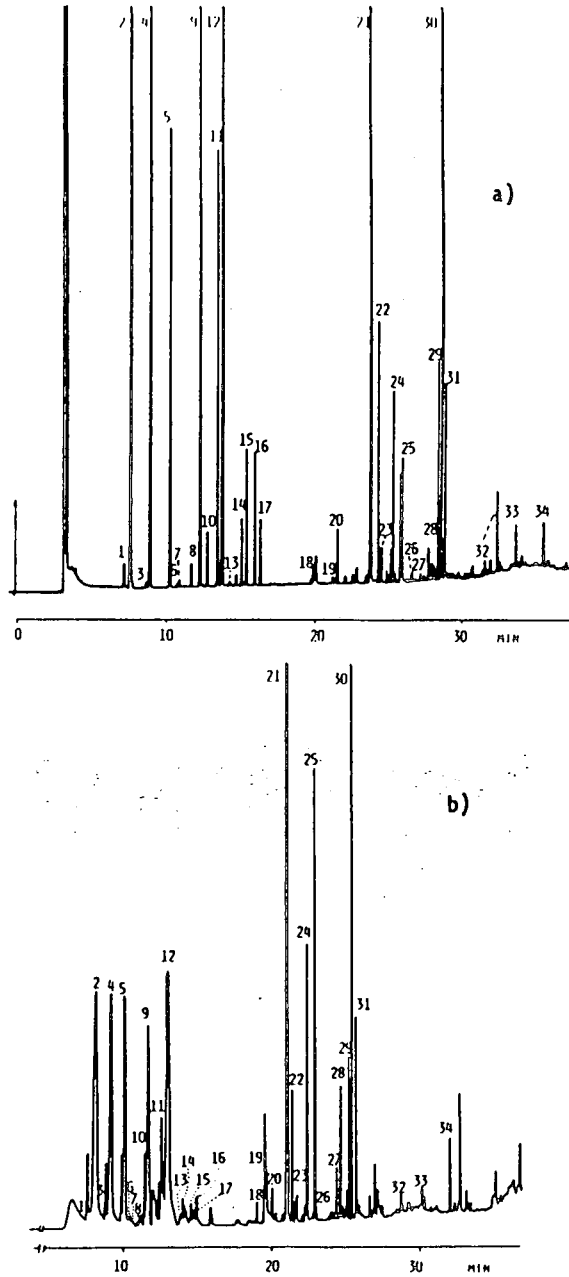


Figura 1. Cromatogramas del aceite esencial de Romero: a) Extracto SDE; b) Introducción directa PTV.

La figura 1 (a) muestra el cromatograma del aceite esencial obtenido mediante SDE a partir de la muestra n.º 6. En él aparecen numerados los picos más importantes que han sido identificados o caracterizados por GC y GC/MS. Las condiciones del registro del cromatograma son las citadas en la parte experimental.

La composición cualitativa es básicamente similar para todas las muestras de romero analizadas. En la tabla 4 se da como ejemplo la obtenida para el aceite esencial anterior (muestra n.º 9). Los compuestos reseñados en la tabla aparecen también en las restantes muestras, aunque en diferentes concentraciones.

Al final de la tabla se reseñan los compuestos identificados por espectrometría de masas que, debido a su escasa concentración en el aceite (inferior al 0.1%) no han podido ser asignados con seguridad a picos del cromatograma. La identificación de los componentes señalados con un asterisco no es segura: en otros casos, sólo ha sido posible determinar la composición elemental del compuesto.

TABLA 4
RELACION DE COMPUESTOS PRESENTES EN EL ACEITE ESENCIAL
DE ROMERO (muestra 9) OBTENIDO MEDIANTE SDE

N.	Compuesto	Concentración
1	* Triciclano	0,2
2	α -Pinoeno	10,3
3	α -Fencheno	< 0,1
4	Canfeno	6,7
5	β -Pinoeno	3,9
6	* α -Felandreno	< 0,1
7	C ₁₀ H ₁₄	0,1
8	* Oxido de mesitilo	< 0,1
9	Mirceno	6,4
10	α -Terpipeno	0,4
11	Limoneno	2,6
12	1,8-Cineol	15,5
13	Car-3-eno	< 0,1
14	γ -Terpineno	0,5
15	3-Octanona	1,8
16	p-Cimeno	0,8
17	Terpinoleno	0,4
18	6-metil-3-heptanol	0,2
19	Fenchona	0,1
20	C ₆ H ₁₂ O	0,4
21	Alcanfor	31,0
22	Linalol	1,2

N.	Compuesto	Concentración
23	Pinocarvona	0,4
24	Acetato de bornilo	0,3
25	Cariofileno	0,8
26	Carvona	< 0,1
27	Pulegona	< 0,1
28	C ₁₅ H ₂₄	0,8
29	α-Terpineol	1,5
30	Borneol	3,1
31	Verbenona	3,2
32	Piperitona	0,6
33	p-Cimen-8-ol	0,6
34	Oxido de cariofileno	0,3
	*Car-2-en-4-ona	< 0,1
	*Neral	< 0,1
	*α-Copaeno	< 0,1
	*Piperitol	< 0,1
	*Nojigokuol	< 0,1
	*Octadecano	< 0,1
	*Nonadecano	< 0,1
	*α-Humuleno	< 0,1
	*Oxido de humuleno	< 0,1
	*Timol	< 0,1
	*Carvacrol	< 0,1
	*Pinocarvona	< 0,1
	*Isopinocanfona	< 0,1
	*Terpinen-4-ol	< 0,1

Prácticamente todos los compuestos anteriores aparecen en los aceites esenciales de diversas plantas de la familia de las Labiadas.

Composición cuantitativa

La mayor parte de los compuestos de la tabla 2 presentan una estructura terpénica, lo que permite suponer que sus factores de respuesta cromatográfica deben ser similares. Dado que su determinación precisa el uso de patrones, se ha recurrido a utilizar, como una aproximación de la medida de la concentración de cada componente en el aceite el porcentaje de área de su pico cromatográfico frente al área total. Aunque la determinación mediante este procedimiento es menos exacta, tiene la ventaja de su

sencillez, sobre todo teniendo en cuenta el elevado número de componentes presentes. La medida de las áreas se obtiene directamente mediante un integrador.

Se ha determinado la composición cuantitativa de los 20 compuestos más representativos de los aceites estudiados, para un total de 19 muestras de aceite, que incluyen 12 procedentes de las plantas que figuran en la tabla 1, 6 obtenidas mediante el método PTV (a partir de las muestras de plantas 1, 2, 3, 6, 9 y 10), y la recogida en Madrid. En la tabla 5 figura un resumen de los resultados obtenidos, en el que junto a cada componente, identificado por el número que se le asignó en la tabla 1, figura el valor mínimo, máximo y medio de su concentración en las 19 muestras estudiadas.

TABLA 5
VALOR MINIMO, MEDIO Y MAXIMO DE LA CONCENTRACION (EN %) DE ALGUNOS COMPONENTES DE ROMERO

N. del compuesto	Valor mínimo (%)	Valor máximo (%)	Valor medio (%)
2	6,6	16,8	10,7
4	4,7	8,6	6,8
5	1,6	7,0	3,9
9	3,9	7,5	6,7
10	0,2	3,7	2,7
11	2,0	0,7	0,4
12	11,7	18,9	14,1
14	0,4	1,0	0,5
15	0,0	4,0	1,3
16	0,4	2,0	0,9
17	0,3	0,5	0,4
21	24,9	44,5	33,5
22	0,2	2,2	1,1
23	0,2	0,6	0,4
24	0,2	1,1	0,4
25	0,6	1,3	0,8
29	1,0	2,1	1,5
30	2,4	6,7	3,5
31	1,3	8,4	2,9
33	0,2	0,9	0,5

Las diferencias entre las composiciones de los distintos aceites son básicamente de tipo cuantitativo. Parece lógico pensar que muestras recogidas en el mismo suelo, o en la misma época del año, se distinguen del resto por las concentraciones de algunos de sus componentes. Para estudiar la influencia de distintos factores en la composición del aceite

esencial, se han aplicado a los datos cuantitativos técnicas de análisis multivariante (análisis jerárquico, separación por regiones, representación) orientadas a conseguir la separación en grupos de los aceites analizados. Para ello se han utilizado distintas rutinas de cálculo pertenecientes al paquete de programas ARTHUR. En este caso se han aplicado definiendo como grupos conjuntos de muestras que comparten una determinada propiedad, como un mismo tipo de suelo, una misma época de recogida, o un mismo método de análisis.

Estudio general de la composición

Parece lógico suponer que puedan existir correlaciones entre los valores de componentes de los aceites que presenten un origen metabólico común. Una forma de poner de manifiesto la presencia de parejas o grupos de compuestos altamente relacionados es el diagrama jerárquico (HIER⁸). La figura 2 muestra de forma gráfica estos grupos; en ella, dos compuestos o grupos de compuestos se unen (líneas verticales) a un valor de «similaridad» dado por el máximo coeficiente de correlación existente entre sus elementos.

Puede observarse la correlación existente en el grupo p-cimeno, cariofileno y α - y γ -terpineno, los tres últimos de estructura muy relacionada. Otro grupo que aparece es el formado por α -pineno, alcanfor y linalol. La correlación existente entre los restantes componentes es poco significativa.

El análisis de componentes principales indica que el primer componente explica el 96,6% de la varianza y el segundo el 2,0 % lo que confirma la gran similaridad de las composiciones encontradas. La representación gráfica que utiliza como ejes estos dos primeros componentes y que se muestra en la figura 3 no muestra agrupaciones marcadas, distribuyéndose los aceites a lo largo de una banda que comienza con las cuatro muestras recogidas en terreno arcilloso y concluye con la recogida en Madrid.

La representación NLM⁸ permite también mostrar de forma gráfica las semejanzas entre aceites, de modo que los de composición parecida se encuentran próximos en la gráfica. En la que aparece en la figura 4 figuran las 12 muestras obtenidas mediante SDE y, aunque no se observan grupos marcados, las muestras pueden agruparse según su suelo de origen (arcilloso, calcáreo o silíceo).

Influencia del tipo de suelo

Las 12 muestras obtenidas por el método SDE proceden de suelos arcillosos, silíceos y calizos, según se indica en la tabla 1, 2, y 3. Para correlacionar su composición química con su pertenencia a uno de estos tres grupos se han utilizado los programas SELECT, PLANE y MULTI de ARTHUR⁸.

Los compuestos que han resultado presentar más relevancia en la clasificación son

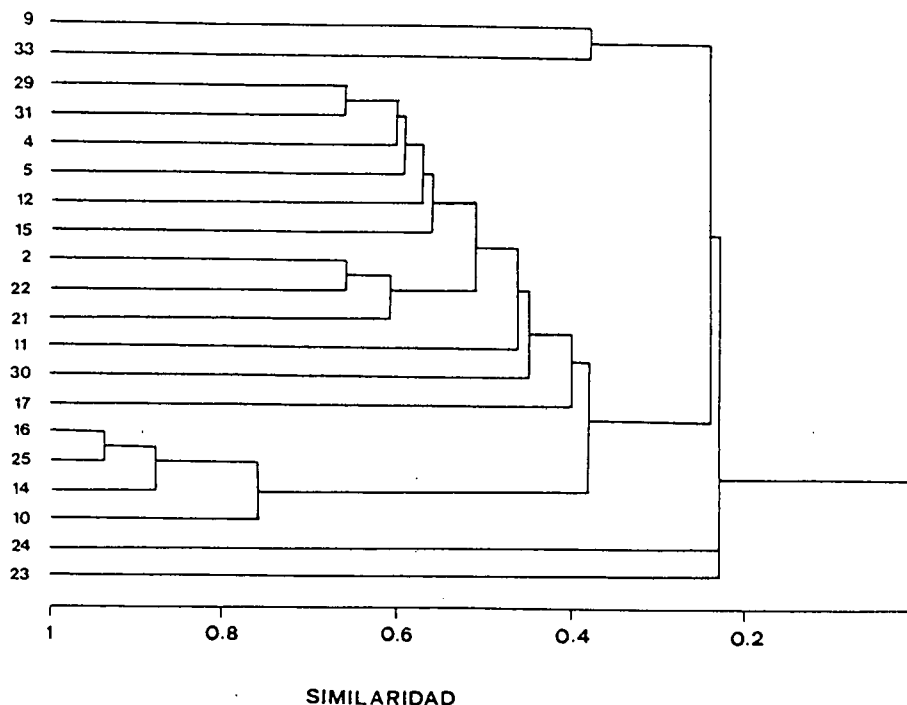


Figura 2. Representación jerárquica (HIER) de las concentraciones de los componentes del aceite esencial de Romero.

el alcanfor, más abundante en las muestras arcillosas, y el α -pineno y el p-cimeno, más característicos, sobre todo este último, de las silíceas. A partir de las concentraciones de estos tres componentes se puede distinguir si un aceite procede de una de las zonas citadas.

Influencia de la época de recogida

En este caso se trata de distinguir entre las tres primeras muestras de la tabla 1, recogidas a comienzos de un año, y las restantes recogidas en primavera. En cada uno de los grupos aparecen muestras procedentes de los tres tipos de suelos.

También aquí se observa una correlación entre composición y pertenencia a uno de estos grupos, que permite la asignación a uno u otro de ellos en base a la concentración de algunos componentes. Entre ellos, y por orden de importancia, se encuentran el cariofileno y el α -pineno, propios de las muestras recogidas en primavera, y el α -terpineno, borneol y verbenona, que son más representativos de las muestras de invierno.

Influencia del método de análisis

El método PTV presenta notables ventajas frente al SDE para la obtención de la muestra a partir de la planta, ya que, como se indicó anteriormente, elimina el paso de aislamiento y concentración del aceite y utiliza mínimas cantidades de planta. Por este motivo, es de gran interés comparar los resultados obtenidos por ambos métodos. Desde un punto de vista cualitativo, los resultados son similares, como se puede apreciar en la figura 1, que compara los aceites esenciales obtenidos a partir de la muestra 9 por el método SDE (a) y mediante PTV (b), y en la que aparecen los mismos picos mayoritarios. Cromatográficamente, se observa una distorsión en los picos correspondientes a los compuestos más volátiles en el caso del PTV, que, aunque no interfiere en este caso debido al elevado poder separador de la columna, debiera ser eliminada, posiblemente mediante criofoque.

La composición cuantitativa de las muestras 1, 2, 3, 6, 9 y 10 analizadas utilizando el PTV se ha comparado con la de las otras 12 muestras obtenidas mediante el SDE utilizando las rutinas de cálculo citadas anteriormente. También aquí se observa la correlación de las concentraciones de algunos compuestos con la pertenencia a uno u otro de los grupos. Destaca el caso del cariofileno, cuya concentración es muy superior en el análisis mediante PTV.

Por otro lado, aunque la dispersión causada por el empleo del método no es elevada, es superior a la diferencia existente entre las distintas muestras de romero, como se puede apreciar en la figura 3, en la que las muestras obtenidas mediante el PTV no aparecen próximas entre sí ni, por lo general, a las correspondientes obtenidas por SDE. Un aceite extraído por SDE puede ser más similar al obtenido por el mismo método a partir de otra muestra que al obtenido de la misma muestra mediante PTV.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que, a pesar de la poca variabilidad existente entre las composiciones de los aceites senciales de romero obtenidos de distintas muestras, es posible seleccionar unos compuestos cuya concentración ponga de manifiesto la presencia de diversos factores.

El método PTV permite un análisis cualitativo rápido a partir de una mínima cantidad de planta. Sus resultados cuantitativos son comparables con los obtenidos mediante el SDE: sin embargo, las diferencias existentes entre ambos indican que debe usarse con cuidado cuando se trate de distinguir entre aceites de composición muy similar.

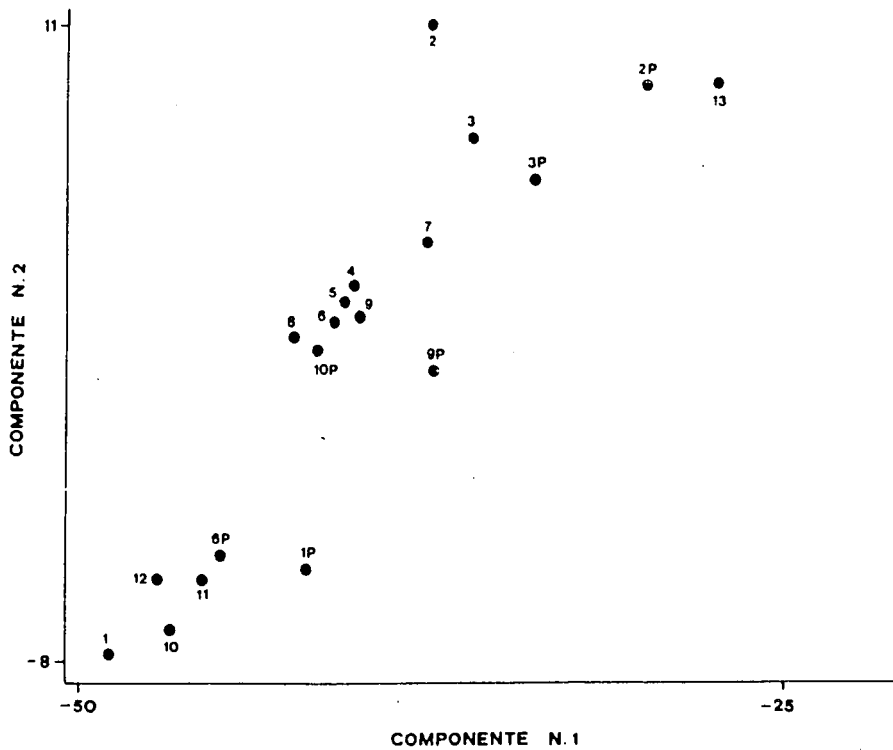


Figura 3. Representación de las muestras de Romero utilizando los dos primeros Componentes Principales. (1-12 extractos SDE, 1P... 10P introducción directa PTV).

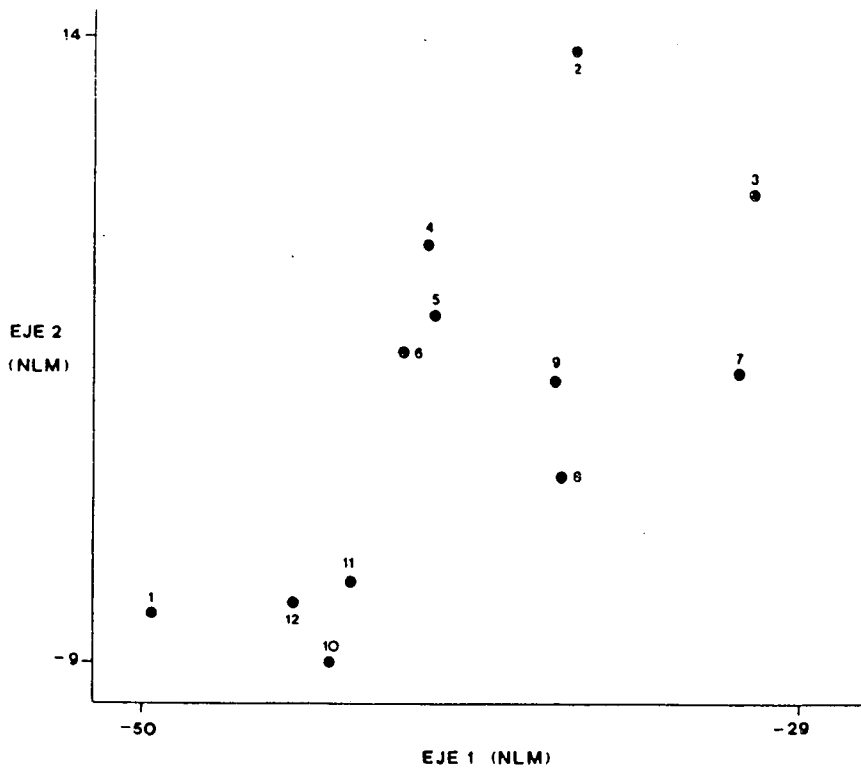


Figura 4. Representación de las muestras analizadas utilizando el Mapa No Lineal (NLM) (1-12 extractos SDE).

DIATOMEAS DEL MONCAYO

H. MARCO MOLL *

GENERALIDADES

Las Diatomeas constituyen un grupo de algas, caracterizadas por su caparazón de sílice, con una forma y esculturas tan típicas que ofrecen multitud de variantes. Se encuentran tanto en las aguas dulces como marinas; y particularmente en éstas últimas, al depositarse sus caparazones en los fondos marinos, constituyen lo que se denominan los barros de Diatomeas, que en eras anteriores han constituido la llamada harina fósil o trípoli.

Se desenvuelven muy bien en toda clase de medios acuáticos, aun cuando la presencia de cobre, ácido sulfhídrico y un exceso de materia orgánica, puedan ser motivo de restringir su desarrollo.

Están especialmente capacitadas para metabolizar la sílice, aun cuando en el medio en que se desenvuelven sea prácticamete insignificante la presencia de sílice asimilable.

Son fácilmente detectables en los fondos limosos, en las orillas de las aguas libres así como asociadas a otras algas, particularmente filamentos de Clorofíceas y Conjugadas. Suelen tapizar la superficie de las piedras sumergidas.

Estan bien adaptadas a las variaciones estacionales, aun cuando durante el verano, se puede observar una clara disminución en su frecuencia en las aguas continentales.

Las Diatomeas ofrecen adaptaciones especiales, según el contenido químico de las aguas, el pH, temperatura y posiblemente la presencia de otras algas.

* Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza (Sección de Ciencias Naturales)

Existen variaciones en lo que concierne a la frecuencia de las especies, ya que en un mismo tramo de una corriente fluvial, pueden aparecer en unas zonas, dominancia de una o varias especies determinadas, que son apenas detectables en otros tramos, aun cuando la composición química sea la misma, por lo que es de tener muy en cuenta las condiciones ecológicas del medio.

El conocimiento de las Diatomeas correspondientes a Aragón se inició por los años 1886 al 1889 por el R. P. BLAS AINSA conjuntamente con D. ANTONIO DOSSET.

Posteriormente el Dr. CAMARA NIÑO amplió estos estudios en distintas zonas aragonesas, ricas en aguas minero-medicinales, como son las de Alhama y Jaraba de aguas bicarbonatadas. Las de Mediana de Aragón, Fuentes de la Junquera y la Teja correspondientes al tipo de aguas sulfatado-cálcicas y finalmente las oligometálicas de Panticosa.

DOSSET estudió muestras procedentes del Moncayo, en las localidades citadas de la Fuente Melera, Soto Marqués, Palencar y Peña Esquiladora.

Recientemente el autor de esta Comunicación ha realizado un estudio ecológico en las aguas del río Huecha, así como una ampliación, expresamente realizada para este trabajo, en las acequias del Monasterio de Veruela y el Santuario de Misericordia.

RESEÑA DE LAS ESPECIES DE DIATOMEAS

Gen. *Achnantes* Bory

A. affinis. Muy abundante en todas las aguas del Moncayo.

A. minutsi. Muy abundante.

A. lanceolata. En las acequias del Monasterio de Veruela.

Gen. *Amphiprora* Ehr.

A. allata. Algunos ejemplares en el río Huecha.

Gen. *Amphora* Ehr.

A. ovalis. En el río Huecha.

Gen. *Asterionella*

A. formosa. Rara en el río Huecha. Abundante en las acequias del Monasterio de Veruela.

Gen. Ceratoneis Ehr.

C. arcus. Citada por DOSSET como muy abundante en las aguas del Moncayo y corroborada por su amplia presencia en el río Huecha.

Gen. Clycotella

C. kuetzingiana. En aguas del Monasterio de Veruela.

Gen. Cymatopleura W. Sm.

C. solea. Muy abundante en el río Huecha.

Gen. Cymbella Ag.

C. cymbiformis. Abundante en las aguas del río Huecha.

C. prostrata. Poco frecuente en el río Huecha.

C. naviculiformis. En Soto Marqués, Palencar y acequias del Monasterio de Veruela.

Cymbella sp. Muy abundante en las acequias del Monasterio de Veruela

Gen. Denticula Kutsing

D. tenuis. Muy dispersa en el río Huecha.

Gen. Diatoma De Candolle

D. hiemale. Citada en Soto Marqués, Palencar, Fuente Meneras y río Huecha.

D. vulgare. Muy abundante en el río Huecha, Santuario de Misericordia y acequias del Monasterio de Veruela.

Gen. Encyonema Kutz

E. caespitosa. Abundante en los remansos del río Huecha.

E. gracilis. Escasa en el río Huecha. Abundante en las aguas del Monasterio de Veruela.

E. ventricosum. Abundante en Fuente Meneras y otras localidades del Moncayo.

Gen. Epithemia Breb.

E. argus. Río Huecha y otras localidades del Moncayo.

E. gibba, var. *paralela*. Identificada por DOSSET como especie abundante en

Peña Esquiladora. Se cita su presencia en Soto Marqués, Palencar y en las acequias del Monasterio de Veruela.

Gen. Eunotia Ehr.

E. arcus. Río Huecha y otras localidades del Moncayo.

E. lunaris. Citada por DOSSET en Soto Marqués y Palencar.

Gen. Fragillaria Lyngbye

F. sataurosira. Abundante en todas las estaciones del muestreo del Moncayo.

F. mutabilis. Igualmente abundante como la especie anterior.

Gen. Gomphonema Ag.

G. constrictum var. *capitatum*. Frecuente en el río Huecha y Santuario de Misericordia.

G. intricatum. Detectada en los remansos del río Huecha.

G. olivaceum. Especie poco frecuente, se ha encontrado sobre la superficie de las piedras sumergidas del río Huecha.

Gen. Gyrosigma

G. acuminatum. En el río Huecha.

Gen. Hantzschia Grunow

H. capitata. Solamente encontrada y muy abundante en las acequias del Monasterio de Veruela.

Gen. Melosira

M. arenaria. Citada por DOSSET en las distintas muestras que estudió de las aguas del Moncayo y muy abundante en zonas muy localizadas del río Huecha.

M. roseana. Muy abundante en muestras procedentes de Peña Esquiladora. Igualmente observada en los remansos del río Huecha, sobre masas mucilaginosas.

M. varians. Abundante en algunos puntos del río Huecha.

Gen. Meridion Agardh

M. circulare. En las aguas del río Huecha.

M. circularre var. *constrictum*. Sumamente abundante en todas las muestras que se han recogido del Moncayo así como a lo largo del curso del río Huecha.

Gen. *Navicula* Bory

N. borealis. Frecuente en Soto Marqués, Palencar y aguas del río Huecha.

N. cuspidata. En Soto Marqués, Palencar y río Huecha.

N. cryptocephala. Soto Marqués, Palencar, río Huecha y aguas del Monasterio de Veruela.

N. elliptica. En Soto Marqués, Palencar, río Huecha.

N. limosa. Soto Marqués, Palencar, río Huecha y Santuario de Misericordia.

N. oblonga. Abundante en charcas y en el río Huecha.

N. pusila. Detectada en el río Huecha.

N. radiosa. Diatomea abundante en todas las aguas de Aragón.

N. rhynchocephala. Muy abundante en el río Huecha. Citada por DOSSET en Soto Marqués y Palencar.

N. sphaerophora. Detectada como poco abundante en el río Huecha.

N. subcapitata. Frecuente en todas las muestras procedentes de distintas zonas del Moncayo.

N. viridis. En las aguas del río Huecha.

N. vulgaris. Muy dispersa en las aguas del río Huecha. Detectada en las muestras procedentes del Santuario de Misericordia y acequias del Monasterio de Veruela.

N. borealis. Citada por DOSSET en algunas muestras procedentes del Moncayo.

N. iridis var. *amphigomphus*. Citada por DOSSET como muy abundante en Soto Marqués y Palencar.

Gen. *Nitzschia*

N. acicularis. Muy dispersa en las aguas del río Huecha.

N. actinastroides. Abundante en el Santuario de Misericordia.

N. hungarica. Río Huecha y acequias del Monasterio de Veruela.

N. linearis. En ejemplares bastante robustos. Citado en Soto Marqués y Palencar por DOSSET. Presente en las aguas del río Huecha.

N. sigmoidea. En el río Huecha y Santuario de Misericordia.

N. sinuata. Río Huecha y acequias del Monasterio de Veruela.

Gen. Pleurosigma

P. attenuatum. Aparece como especie esporádica, en las muestras observadas.

Gen. Pinnularia

P. viridis. Únicamente detectada en el río Huecha.

P. dactylus. En las acequias del Monasterio de Veruela y aguas del Santuario de Misericordia.

Gen. Stauroneis Ehr.

St. Poenicenteron. Detectada por DOSSET en Soto Marqués.

St. anceps. Río Huecha y aguas del Santuario de Misericordia.

Gen. Surirella Turpin

S. elegans. Especie muy abundante en todos los lugares del Moncayo.

S. ovalis. Río Huecha, aguas del Santuario de Misericordia y acequias del Monasterio de Veruela.

S. ovata. En los mismo lugares de la especie anterior.

S. robusta. Especie considerada como muy abundante en el Moncayo por DOSSET y corroborado por el autor de esta Comunicación.

S. espiralis. Esporádica en Soto Marqués, Palencar y río Huecha.

S. ulna. Abundante en el río Huecha, Santuario de Misericordia y acequias del Monasterio de Veruela.

Gen. Tabellaria Ehr.

T. flocculosa. Muy abundante en el río Huecha.

Debemos resaltar que en los remansos del río Huecha situados en las localidades de Bulbunte y Magallón, aparecen en grandes cantidades, las especies de *Navicula cryptocephala*, *N. elliptica* y *N. cuspidata*. En los remansos del río Huecha localizados en Bulbunte, los ejemplares de *Melosira arenaria* y *M. varians* se agrupan en densas formaciones del filamentos, sobre los que se cobijan Infusorios y diversos tipos de algas azules y verdes.

BIBLIOGRAFIA

DOSSET y MONZON, J. A., 1888.- **Datos para la sinopsis de las Diatomeas de Aragón.** Zaragoza.

MARCHO MOLL, H., 1988.- Estudio ecológico del río Huecha. **Rev. Acad. Ciencias de Zaragoza.** Vol 43: 257-284.

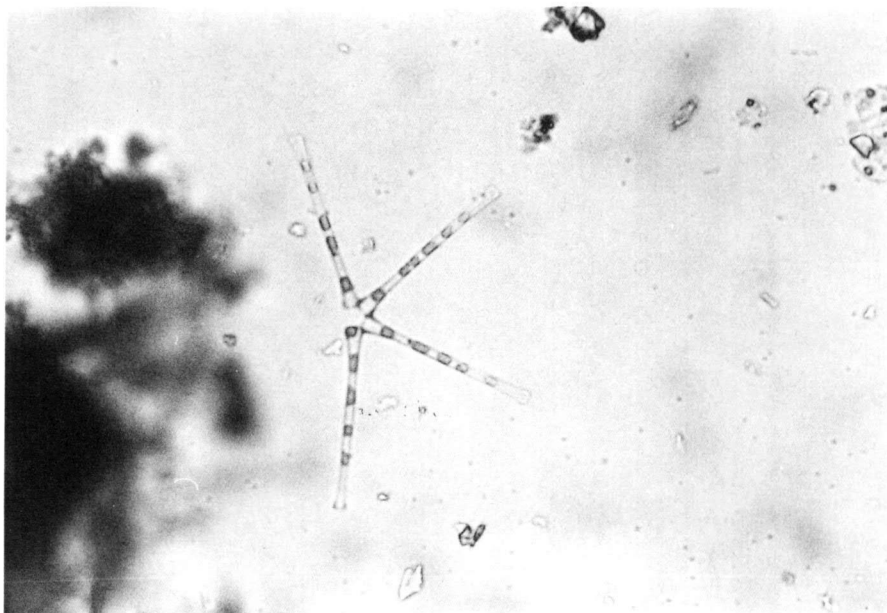


Foto 1: *Asterionella formosa*. Muy abundante en las acequias del Monasterio de Veruela. 400 x

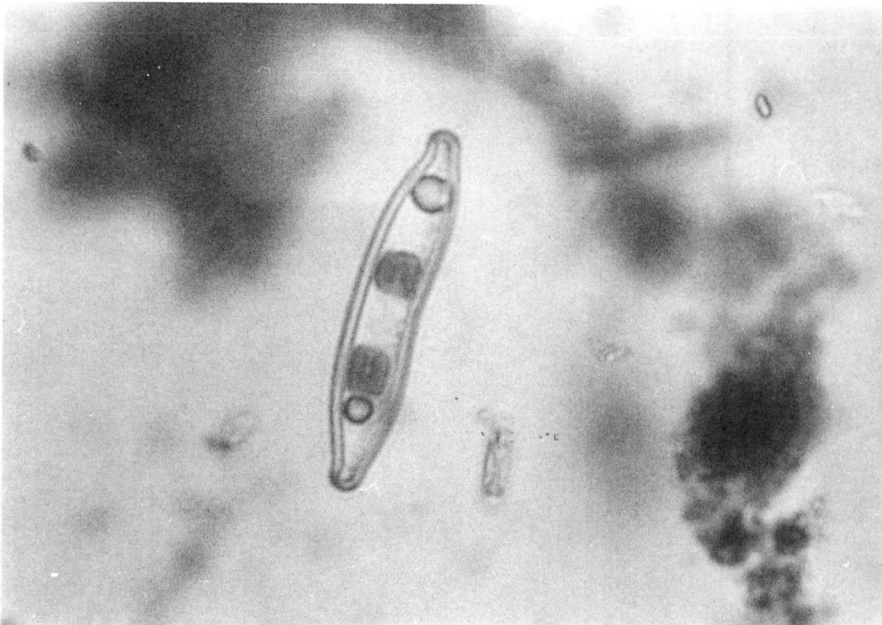


Foto 2: *Hantzschia capitata*. Muy abundante en las acequias del Monasterio de Veruela. 800 x.

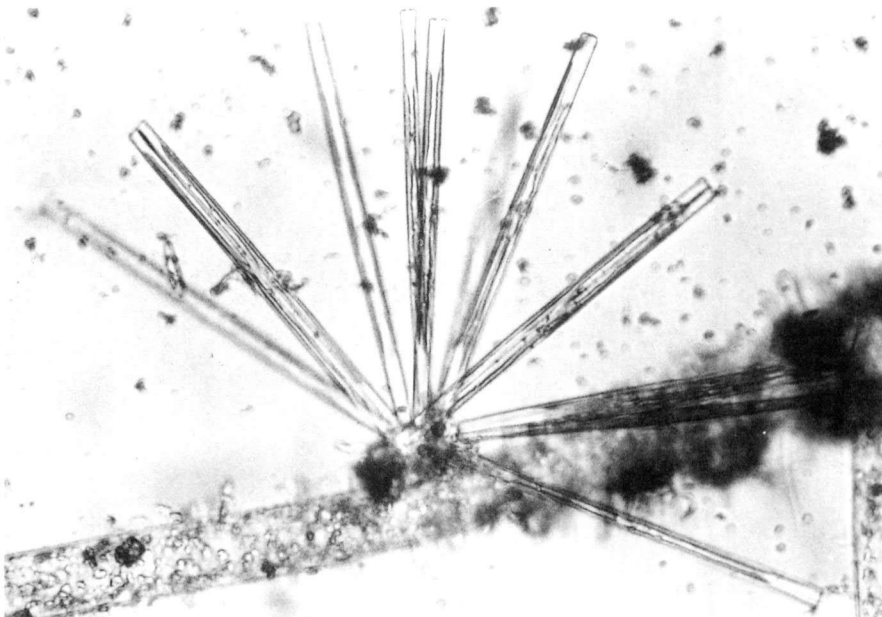


Foto 3: *Nitzschia actinastroides*. Muy abundante en las aguas correspondientes al Santuario de Misericordia. 200 x.

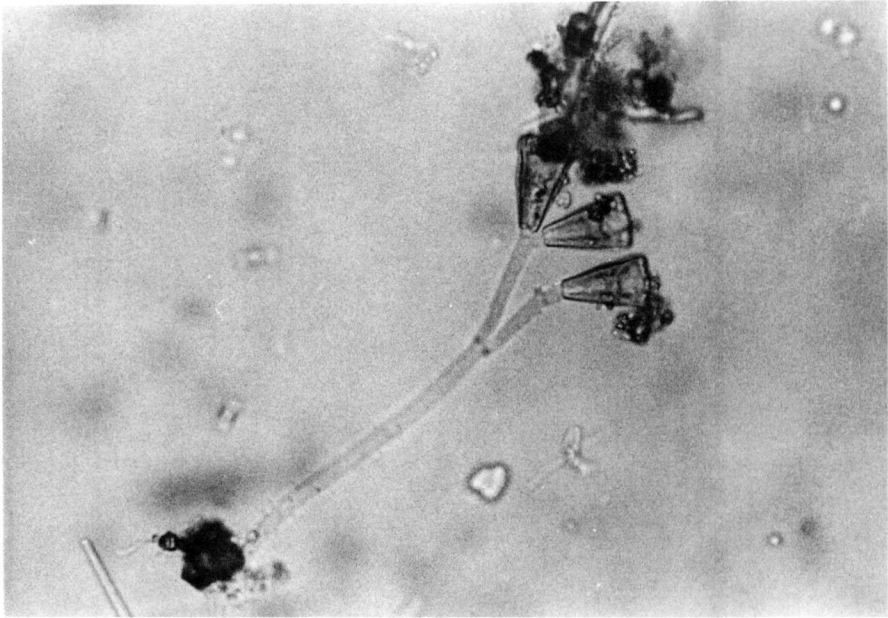


Foto 4: *Gomphonema constrictum* var. *capitatum*. Procedente de muestras del Santuario de Misericordia. 400 x.