



FACULTAD
DE BIOLOGÍA

GRADO EN BIOTECNOLOGÍA

Curso Académico 2022/2023



Trabajo de Fin de
Grado

Caracterización analítica de
compuestos bioactivos en extractos
de origen natural

Autora

Ana Gómez Roel

Índice

CONTENIDO

1. Resumen	1
1.1. Abreviaturas.....	1
2. Introducción.....	2
3. Objetivos	4
4. Metodología de trabajo.....	4
4.1. Microextracción en fase sólida (SPME)	4
4.2. Análisis cromatográfico mediante GC-MS.....	7
4.3. Identificación de compuestos mayoritarios y sus aplicaciones	8
5. Resultados y discusión	9
5.1. <i>Screening</i> de compuestos mayoritarios	9
5.2. Optimización del procedimiento de SPME.....	14
5.3. Aplicación en cosmética	15
6. Conclusiones.....	16
6.1. Conclusions.....	17
7. Bibliografía.....	18

FIGURAS

Figura 1. Esquema del procedimiento de SPME y colocación de la fibra.	5
Figura 2. Perfiles cromatográficos de las muestras tratadas	9
Figura 3. Número de compuestos identificados en cada una de las condiciones experimentales empleadas.....	15
Figura 4. Aplicaciones en cosmética de los compuestos detectados.	16

TABLAS

Tabla 1. Condiciones de extracción en el modo de espacio de cabeza (HS-SPME).	6
Tabla 2. Condiciones de extracción en inmersión directa (DI-SPME).....	7
Tabla 3. Compuestos identificados mediante comparación con la NIST	10

1. Resumen

El desafío a nivel global que supone la lucha contra el cambio climático da lugar a la búsqueda de procesos productivos más sostenibles. Una de las opciones que se está explorando dentro de la industria cosmética es el uso de ingredientes de origen natural. Los hidrolatos suponen una alternativa ecológica para la elaboración de cosméticos, al poder obtenerse como subproductos de origen vegetal y mantener (atenuadamente) muchas de las propiedades de los aceites esenciales. En este trabajo se ha analizado la composición de los hidrolatos de *Filipendula vulgaris*, para comprobar si cuenta con sustancias bioactivas, además de optimizar los parámetros de extracción y discutir la potencialidad de los compuestos obtenidos en la industria cosmética. Para ello, se ha empleado microextracción en fase sólida (SPME) y cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (GC-MS). Los resultados obtenidos han permitido identificar cuáles son los compuestos mayoritarios en la muestra, determinar las condiciones óptimas para realizar la extracción y sus posibles aplicaciones en la industria cosmética.

1.1. Abreviaturas

- °C: grados centígrados
- µm: micrómetros
- CosIng: *Cosmetic Ingredient Database*
- GC-MS: cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
- d.i.: diámetro interno
- DI-SPME: microextracción en fase sólida con inmersión directa
- DVB/CAR/PDMS: divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano
- HS-SPME: microextracción en fase sólida en espacio de cabeza
- ISO: Organización Internacional de Normalización
- m: metros

- min: minutos
- mL: mililitros
- mm: milímetros
- m/z: relación masa carga
- PDMS/DVB: polidimetilsiloxano/divinilbenceno
- psi: libra de fuerza por pulgada cuadrada
- SPME: microextracción en fase sólida

2. Introducción

El cambio climático ha puesto de manifiesto la necesidad de desarrollar procesos productivos sostenibles y ecológicos en prácticamente todos los tipos de industria. Una de las soluciones por las que han optado las empresas dedicadas a la elaboración de cosméticos es la búsqueda de ingredientes de origen natural (1).

Otro concepto que está adquiriendo relevancia recientemente es el de economía circular. Se trata de un sistema cuyo objetivo principal es la eliminación de los residuos, a través de su reintroducción en la cadena productiva, y el reciclado de los productos. Esto permite que el consumo de recursos descienda y se favorezca la conservación del medio ambiente (2). En concreto, los residuos vegetales cuentan con una extensa gama de áreas en las que pueden ser reutilizados debido a que las plantas presentan un metabolismo secundario muy complejo. Actualmente la mayoría de las investigaciones se están centrando en su aplicación en salud humana y alimentación (3).

Dentro de esta filosofía empresarial, la labor de algunas empresas innovadoras consiste en añadir los compuestos bioactivos, presentes en diferentes extractos de plantas, en productos cosméticos. De esta forma, se pueden revalorizar los subproductos procedentes de plantas cultivadas con fines agroalimentarios, como especias o infusiones, pero también de otras plantas silvestres (4). Las sustancias presentes en los extractos cuentan

con diferentes propiedades, por ejemplo, antioxidantes o antimicrobianas, lo que da lugar a que sean buenos candidatos para formar parte de productos cosméticos ecológicos (5).

Por un lado, los aceites esenciales se producen a partir de una destilación al vapor o seca de materia prima natural de origen vegetal. Por otro lado, los hidrolatos, también conocidos como aguas aromáticas, se definen como el destilado acuoso resultante de la destilación al vapor y la separación del aceite esencial (6). Al estar más diluidos que los aceites esenciales, no cuentan con unas propiedades tan marcadas, por lo que, hasta hace poco, eran considerados un subproducto carente de valor. Sin embargo, son obtenidos en grandes cantidades y de manera económica, por lo que pueden emplearse como una alternativa sostenible en diferentes campos de aplicación (7).

Hasta el momento, una gran variedad de hidrolatos de diferentes especies han sido analizados para determinar los componentes volátiles que contienen. Por un lado, como método de separación, se suelen emplear diferentes extracciones líquido-líquido o SPME; por otro lado, la técnica analítica predominante es GC-MS (8).

Cabe destacar que este tipo de extractos están formados por composiciones complejas de diferentes moléculas (7). En este sentido, la Comisión Europea, a través del Comité Científico para la Seguridad del Consumidor (SCCS), refleja en una lista un total de 82 compuestos caracterizados como alérgenos de contacto para seres humanos (SCCS/1459/11) (9). Actualmente, del total de los compuestos de dicha lista, 26 están incluidos en la regulación de cosméticos (10) y se espera que en una próxima modificación de la misma sean añadidos los 56 restantes.

Filipendula vulgaris es una planta perenne que se puede encontrar mayoritariamente en praderas secas no áridas y laderas soleadas en Europa, Asia y el noroeste de África. Forma parte de la familia *Rosaceae* y presenta flores de color blanco rosado (1). La composición de los aceites esenciales en esta especie ya ha sido estudiada previamente mediante GC-MS, destacando como componentes mayoritarios el benzaldehído y el n-nonanal (11). Sin embargo, todavía no se ha hecho con los hidrolatos.

A pesar de que se está investigando el uso de ambos extractos como antimicrobianos o antioxidantes (5,7), también son relevantes en la industria cosmética debido a su gran capacidad aromática (8,12). La hipótesis que se plantea en este trabajo es que los

hidrolatos de *Filipendula vulgaris* también presentan compuestos bioactivos con propiedades perfumantes, lo que abriría las puertas a su posible uso en cosmética. Para demostrar esto, se analizarán dichas muestras empleando la microextracción en fase sólida (SPME) seguido por un análisis mediante GC-MS.

3. Objetivos

Los objetivos para este trabajo son los siguientes:

- Investigar la composición de un extracto natural de *Filipendula vulgaris* (procedente de cultivo orgánico de origen gallego) obtenido como hidrolato.
- Optimizar un procedimiento de SPME para la identificación de los componentes del hidrolato mediante cromatografía de gases con detección de espectrometría de masas (GC-MS).
- Discutir la potencialidad de los compuestos identificados en el extracto para su aplicación en cosmética natural.

4. Metodología de trabajo

4.1. Microextracción en fase sólida (SPME)

La microextracción en fase sólida (*solid phase microextraction*, SPME) es una técnica analítica desarrollada en la década de 1990, que permite combinar el muestreo, la preconcentración y extracción, característicos de la preparación de muestras, en un solo paso. Posteriormente, los analitos pueden ser desorbidos e inyectados en el equipo de análisis, que en este caso es un cromatógrafo de gases. Algunas de sus posibles aplicaciones son las muestras ambientales, como los pesticidas, las de plantas y productos de herboristería, las biológicas o las de productos farmacéuticos (13).

Entre sus principales ventajas se encuentra su rapidez, sencillez, poco volumen de muestra necesario, automatización sencilla y su posible aplicación a elementos sólidos, líquidos o gaseosos. Sin embargo, la más destacada de todas ellas es que el uso de disolventes orgánicos no es un requisito para llevarla a cabo, o en todo caso, el volumen empleado es bajo (del orden de microlitros) (14). Todo lo expuesto anteriormente la

convierte en una técnica barata y medioambientalmente más sostenible que los métodos de extracción tradicionales (13).

El dispositivo está formado por una fibra de sílice fundida, recubierta por una capa polimérica ab/adsorbente. Según las características del recubrimiento, la afinidad por un tipo de analitos u otros será distinta. La fibra está recubierta por un émbolo de acero inoxidable, que está unido a un soporte con forma análoga a la de una jeringuilla (Figura 1). Esto va a permitir que la fibra adopte dos posiciones: retraída y expuesta; en la primera está protegida y es la que se usa para perforar el septum del cromatógrafo o la cápsula del vial (13,14).

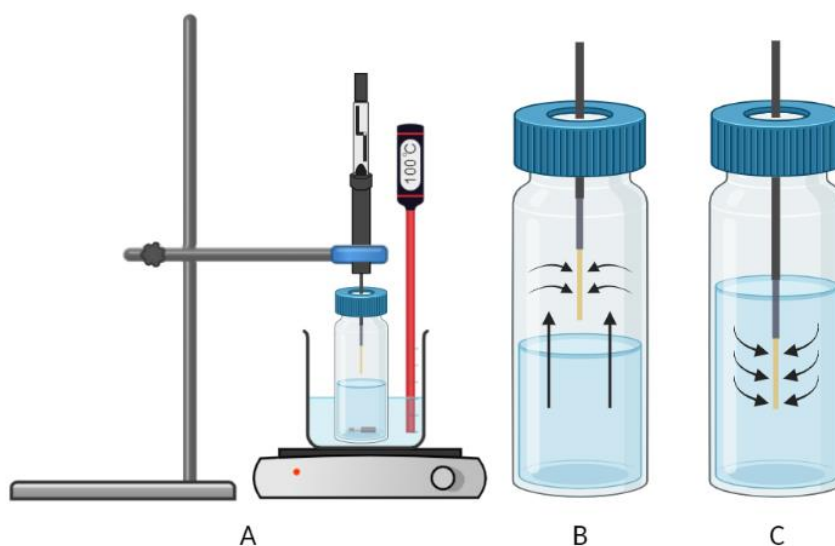


Figura 1. A: Esquema del procedimiento de SPME. B: Colocación de la fibra en el modo espacio de cabeza (*headspace*, HS-SPME). C: colocación de la fibra en el modo inmersión directa (*direct immersion*, DI-SPME). Imagen creada con BioRender.com.

En este trabajo se han usado recubrimientos de polidimetilsiloxano-divinilbenceno (PDMS-DVB) y divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS). Estas están recomendadas para detectar analitos volátiles, aminas y compuestos aromáticos o volátiles y semivolátiles, respectivamente (13).

Existen 2 modos para realizar la técnica (Figura 1): inmersión directa (*direct immersion*, DI-SPME) y espacio de cabeza (*headspace*, HS-SPME), en ambas, se pone en contacto la fibra con la muestra de interés durante un periodo de tiempo determinado. El primero de ellos consiste en introducir en la matriz la fibra y que los compuestos se trasladen a la fase de extracción directamente; en la HS-SPME la fibra se expone al espacio de cabeza

que deja la muestra y se absorben los compuestos volátiles o semivolátiles que han pasado a la fase gaseosa (13).

Cabe destacar que en esta técnica no se produce una extracción completa de las sustancias de interés, sino que se llega a un equilibrio entre la fibra y la muestra. El tiempo necesario para llegar a esta condición depende de la naturaleza de la muestra, pero se puede ver reducido modificando diferentes parámetros experimentales, como la temperatura o la presencia de agitación (14).

4.1.1. Procedimiento experimental

En primer lugar, se prepara el vial con la cantidad de muestra determinada según el modo de SPME que se va a llevar a cabo. Los hidrolatos de *Filipendula vulgaris* han sido obtenidos a nivel industrial, a partir de las flores de un cultivo orgánico de origen gallego. Después se añade un clavo en el interior del vial para que la agitación se vea favorecida, luego se sumerge en un vaso de precipitados lleno de agua, hasta que el líquido de la muestra quede totalmente cubierto. La temperatura de la muestra se controla a través de una placa calefactora y se mide mediante un termómetro.

El soporte que contiene la fibra se introduce en el tapón del vial controlando la profundidad. Si se trabaja en DI-SPME se busca que la fibra quede totalmente cubierta por la muestra, mientras que si es en HS-SPME se evita que exista contacto entre la fibra y el líquido. Este se mantiene con la fibra retraída durante un tiempo determinado (5 min en este trabajo concreto) para que se establezca un equilibrio de temperaturas entre el soporte y el vial. A continuación, se expone la fibra durante un tiempo establecido, en este momento es cuando se produce el traspaso de los analitos. Una vez transcurrido, se retrae de nuevo la fibra y es desorbida en el inyector del GC-MS.

Para determinar las mejores condiciones, se decide probar con los parámetros recogidos en la Tabla 1 para el modo de espacio de cabeza:

Tabla 1. Condiciones de extracción en el modo de espacio de cabeza (HS-SPME).

Fibra	Condiciones		
PDMS-DVB	25 °C 30 min	100 °C 30 min	100 °C 15 min
DVB/CAR/PDMS	25 °C 30 min	100 °C 30 min	100 °C 15 min

Obtenidos los resultados de estas experiencias, se determina que las mejores condiciones para la extracción de los analitos son en ambas fibras 100 °C y 15 min. El experimento se repite otras dos veces, manteniendo dichos parámetros, para comprobar la robustez de los datos. El siguiente paso es analizar si los compuestos detectados son similares en el modo de inmersión directa (Tabla 2).

Tabla 2. Condiciones de extracción en inmersión directa (DI-SPME).

Fibra	Condiciones
PDMS-DVB	100 °C 15 min
DVB/CAR/PDMS	100 °C 15 min

Además, para comprobar la repetibilidad del experimento se decide realizar por duplicado el análisis con la fibra PDMS-DVB en espacio de cabeza (100 °C, 15 min).

Tanto para el modo de espacio de cabeza, como inmersión directa se usan viales de 4 mL. En el primer caso se usa 1 mL de muestra, mientras que en el segundo se usan 4 mL de muestra para asegurar que la totalidad de la fibra queda sumergida. Una vez terminada la experiencia, tanto los viales como la muestra se desechan.

4.2. Análisis cromatográfico mediante GC-MS

La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas permite identificar cuantitativa y cualitativamente aquellos compuestos, volátiles o semivolátiles, que se encuentren en una mezcla, además de aportar información sobre su estructura química (15).

La estructura básica de un GC-MS es la siguiente: en primer lugar, se encuentra el inyector, que es el lugar donde se introducen las muestras que van a ser analizadas; es posible automatizar este proceso, pero en este trabajo se ha realizado manualmente. Una vez hecha la inyección, se produce la volatilización de los compuestos (15).

Dentro del equipo, una corriente de gas (nitrógeno, helio, hidrógeno...) empuja los analitos hacia la columna cromatográfica. Este es el punto donde va a tener lugar la separación propiamente dicha, ya que los compuestos van a tener diferentes afinidades según sus propias características y la fase estacionaria que componga la columna, dando

lugar a diferentes tiempos de elución. Estos van a ser característicos de cada analito según la fase estacionaria y la columna empleada (15).

A continuación, estos se traspan a la cámara de ionización del espectrómetro de masas, donde se van a generar moléculas ionizadas, después de que los analitos procedentes de la separación cromatográfica sean bombardeados con electrones. Los iones avanzan hacia la cámara de vacío donde son alineados, gracias a un campo magnético creado por el cuadrupolo. Después se hace un barrido con una señal de radiofrecuencia concreta, que provoca que solo un rango estrecho de iones m/z alcancen el detector. El cambio gradual de la frecuencia provoca que los iones avancen de uno en uno, dando lugar al espectro de masas (14,15). Por último, la señal se amplifica y se traspa al sistema informático como una corriente iónica, respecto a una m/z determinada y respecto al tiempo (15).

4.2.1. Procedimiento experimental

El hidrolato seleccionado es analizado mediante la inyección de las muestras en un cromatógrafo de gases Agilent 7890A acoplado a un detector selectivo de masas Agilent 5975C. La columna usada en la separación es apolar ZB-Semivolátiles (30 m x 0.25 mm d.i., 0.25 μm de espesor de película).

El método empleado tiene una duración total de 50 min. El inyector se encuentra a 260 °C y a una presión de 30 psi, mientras que las temperaturas del horno comienzan en 50 °C (durante 3 min), luego asciende a razón de 4 °C/min hasta alcanzar los 200 °C, se mantiene durante 2 min, y a continuación la velocidad de calentamiento aumenta a 20 °C/min hasta los 290 °C, manteniéndose durante 3 min.

4.3. Identificación de compuestos mayoritarios y sus aplicaciones

Los espectros de masas que se obtuvieron experimentalmente se comparan con los disponibles en la base de datos de la librería NIST, únicamente se admiten como válidas las coincidencias que superan 850 (85%).

En el caso de las aplicaciones se realizó una búsqueda en una base de datos de la Comisión Europea (*Cosmetic Ingredient Database*, CosIng), que permite buscar información sobre sustancias e ingredientes cosméticos (16).

5. Resultados y discusión

5.1. *Screening* de compuestos mayoritarios

La identificación cualitativa del hidrolato de *Filipendula vulgaris* ha permitido determinar en total 68 compuestos diferentes y una media de 34 entre todas las condiciones. Cada uno de ellos y las condiciones en las que han sido identificados aparecen reflejados en la Tabla 3. Por un lado, el menor número son 26, que se identifican usando el modo de espacio de cabeza con la fibra triple (DVB/CAR/PDMS), 25 °C y 30 min. Por otro lado, se detectan 38 compuestos en espacio de cabeza, con la fibra PDMS-DVB, 100 °C y 30 min.

En espacio de cabeza, en ambas fibras, hay diferencias en la intensidad de la señal de los picos resultantes respecto a usar 100 °C o 25 °C como temperatura de extracción, pero al usar 100 °C los perfiles cromatográficos de 30 min de exposición o de 15 son muy similares (Figura 2). En este modo, el compuesto mayoritario siempre es el salicilato de metilo, seguido del salicilato bencílico, si se realiza el experimento con la fibra PDMS-DVB, o el timol si se analiza con la fibra triple. En inmersión directa (fibra PDMS-DVB y 100 °C, 15 min), los picos de ácido n-hexadecanoico, ácido linolénico, heneicosano y oleamida son más intensos que en espacio de cabeza.

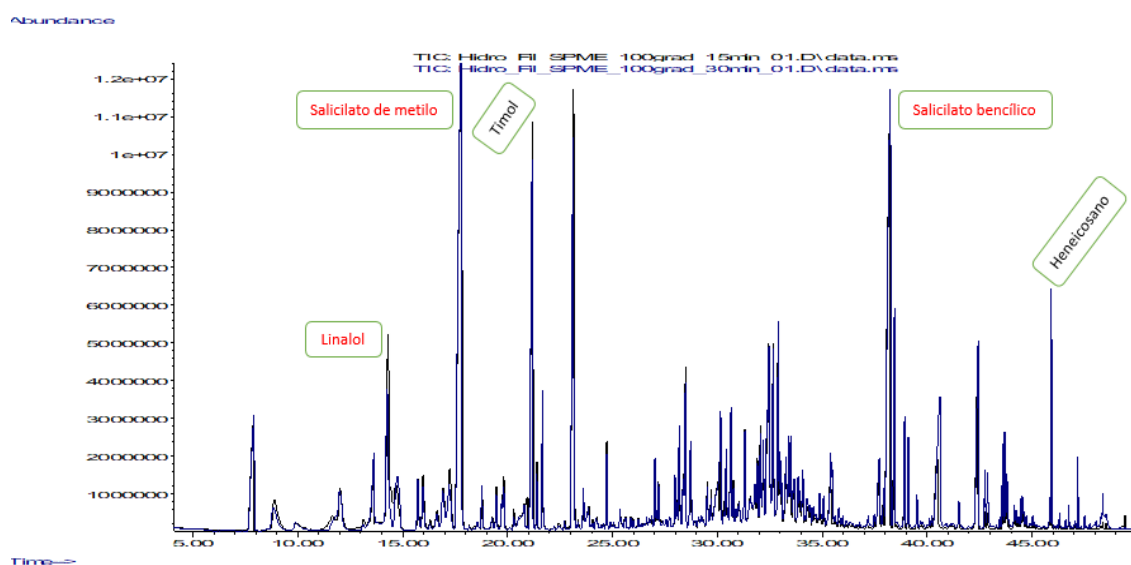


Figura 2. Perfiles cromatográficos de las muestras tratadas a 100 °C durante 15 (línea negra) y 30 min (línea azul), en el modo espacio de cabeza y con la fibra PDMS-DVB. Los metabolitos mayoritarios están detectados y los etiquetados en rojo están incluidos en la lista elaborada por el Comité Científico para la Seguridad del Consumidor (9).

Tabla 3. Compuestos identificados por orden de elución cromatográfica, mediante comparación con la NIST, en las diferentes condiciones experimentales. Las casillas marcadas en verde y azul muestran los compuestos presentes en espacio de cabeza e inmersión directa, respectivamente.

Compuesto	CAS	Espacio de cabeza						Inmersión directa	
		PDMS-DVB			Triple			PDMS-DVB	Triple
		25 °C 30 min	100 °C 30 min	100 °C 15 min	25 °C 30 min	100 °C 30 min	100 °C 15 min	100 °C 15 min	100 °C 15 min
Benzaldehído	100-52-7								
Alcohol bencílico	100-51-6								
Linalol	78-70-6								
Nonanal	124-19-6								
Alcohol feniletílico	60-12-8								
Tujona	546-80-5								
Ácido sórbico	110-44-1								
Alcanfor	464-48-2 464-49-3								
(±)-Lavandulol	58461-27-1								
Isomentona	491-07-6								
Endo-borneol	507-70-0								
Terpinen-4-ol	562-74-3 20126-76-5								
Salicilato de metilo	119-36-8								
Ácido benzoico	65-85-0								
Salicilato de etilo	118-61-6								
1-Decanol	112-30-1								
Anetol	104-46-1								
Carvona	99-49-0 6485-40-1								

Tabla 3 (Continuación). Compuestos identificados por orden de elución cromatográfica, mediante comparación con la NIST, en las diferentes condiciones experimentales. Las casillas marcadas en verde y azul muestran los compuestos presentes en espacio de cabeza e inmersión directa, respectivamente.

Compuesto	CAS	Espacio de cabeza						Inmersión directa	
		PDMS-DVB			Triple			PDMS-DVB	Triple
		25 °C 30 min	100 °C 30 min	100 °C 15 min	25 °C 30 min	100 °C 30 min	100 °C 15 min	100 °C 15 min	100 °C 15 min
Geraniol	106-24-1 106-25-2								
β-Acetato de fenetilo	103-45-7								
Felandral	21391-98-0								
Resorcinol	108-46-3								
Timol	89-83-8								
Carvacrol	499-75-2								
2,4-Decadienal, (E,E)	25152-84-5								
2,6-Diisocianato de tolueno	91-08-7								
Eugenol	97-53-0								
Metileugenol	93-15-2								
Cariofileno	87-44-5								
Dihidropseudoionona	689-67-8								
Benceno etilpentametil	2388-04-07								
1-Dodecanol	112-53-8								
β-Ionona	14901-07-6								
Miristicina	607-91-0								
Ácido dodecanoico	143-07-7								
(-)-Espatuleno	77171-55-2								
Óxido de cariofileno	1139-30-6								

Tabla 3 (Continuación). Compuestos identificados por orden de elución cromatográfica, mediante comparación con la NIST, en las diferentes condiciones experimentales. Las casillas marcadas en verde y azul muestran los compuestos presentes en espacio de cabeza e inmersión directa, respectivamente.

Compuesto	CAS	Espacio de cabeza						Inmersión directa	
		PDMS-DVB			Triple			PDMS-DVB	Triple
		25 °C 30 min	100 °C 30 min	100 °C 15 min	25 °C 30 min	100 °C 30 min	100 °C 15 min	100 °C 15 min	100 °C 15 min
Ftalato de dietilo	84-66-2								
τ -Cadinol	5937-11-1								
Ar-turmerona	532-65-0								
α -Bisabolol	515-69-5								
Ácido mirístico	544-63-8								
Hidrochalcona	1083-30-3								
Salicilato de bencilo	118-58-1								
1-Hexadecanol	36653-82-4								
2-Heptadecanona	2922-51-2								
Ácido palmítico, éster metílico	112-39-0								
Ftalato de dibutilo	84-74-2								
Salicilato de feniletilo	87-22-9								
Ácido n-hexadecanoico	57-10-3								
Alcohol elaidolinoleílico	506-43-4								
Alcohol elaidolinoléico	506-44-5								
Linoleato de metilo	112-63-0								
Linolenato de metilo	301-00-8								
Ácido linoléico	463-40-1								
2-Nonadecanona	629-66-3								
Ácido octadecanoico	57-11-4								

Tabla 3 (Continuación). Compuestos identificados por orden de elución cromatográfica, mediante comparación con la NIST, en las diferentes condiciones experimentales. Las casillas marcadas en verde y azul muestran los compuestos presentes en espacio de cabeza e inmersión directa, respectivamente.

Compuesto	CAS	Espacio de cabeza						Inmersión directa	
		PDMS-DVB			Triple			PDMS-DVB	Triple
		25 °C 30 min	100 °C 30 min	100 °C 15 min	25 °C 30 min	100 °C 30 min	100 °C 15 min	100 °C 15 min	100 °C 15 min
Hexadecanamida	629-54-9								
Heneicosano	629-94-7								
Oleamida	301-02-0								
Estearato de isobutilo	646-13-9								
Norfitano	1921-70-6								
Heptacosano	593-49-7								
Fitano	638-36-8								

Ciertos compuestos son detectados en todas las condiciones en espacio de cabeza. Estos son los siguientes: benzaldehído, linalol, alcohol feniletílico, endo-borneol, terpinen-4-ol, salicilato de metilo, carvona, β -acetato de fenetilo, timol, carvacrol, β -ionona, τ -cadinol, ar-turmerona, salicilato de bencilo y ácido n-hexadecanoico.

Por otro lado, los que se detectan en inmersión directa, pero no en espacio de cabeza son: ácido sórbico, ácido benzoico, 1-decanol, salicilato de etilo, anetol, resorcinol, ftalato de dibutilo, salicilato de feniletilo, ácido linolénico, hexadecanamida, heptacosano y fitano.

Los resultados obtenidos muestran que los hidrolatos de *Filipendula vulgaris* efectivamente presentan compuestos bioactivos, como el timol o el salicilato de metilo (17,18). Cabe destacar que se ha detectado un número mayor de compuestos respecto al aceite esencial (34 de media en este trabajo vs. 17 en la bibliografía) (11), pero esto puede deberse a diferencias en los parámetros y en la parte de la planta empleada para realizar los extractos. También hay cambios respecto a la abundancia, en el aceite esencial el mayoritario es el benzaldehído (11), mientras que en los hidrolatos es el salicilato de metilo.

5.2. Optimización del procedimiento de SPME

Después de realizar una comparación entre todos los perfiles resultantes (Figura 3), como ya se ha mencionado anteriormente, se ha determinado que las condiciones óptimas para el análisis son el modo de espacio de cabeza, a 100 °C y 15 min de extracción. Además, es preferible el uso de la fibra de polidimetilsiloxano-divinilbenceno (PDMS-DVB), ya que permite la extracción de un mayor número de compuestos que con la de divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS). En cuanto al modo de SPME, se ha optado por el de espacio de cabeza, ya que el número de compuestos respecto a inmersión directa es similar, pero la cantidad de muestra necesaria por cada experiencia es menor (1 mL vs. 4mL).

Estos resultados indican que la microextracción en fase sólida (SPME) es una técnica rápida y sencilla, en la que el uso de disolventes orgánicos no es imprescindible y el volumen de muestra necesario es bajo; por lo que se trata de un método medioambientalmente sostenible. Unida a la cromatografía de gases acoplada a un

espectrómetro de masas se trata de un método eficaz para la determinación de los compuestos mayoritarios presentes en el hidrolato de *Filipendula vulgaris*.

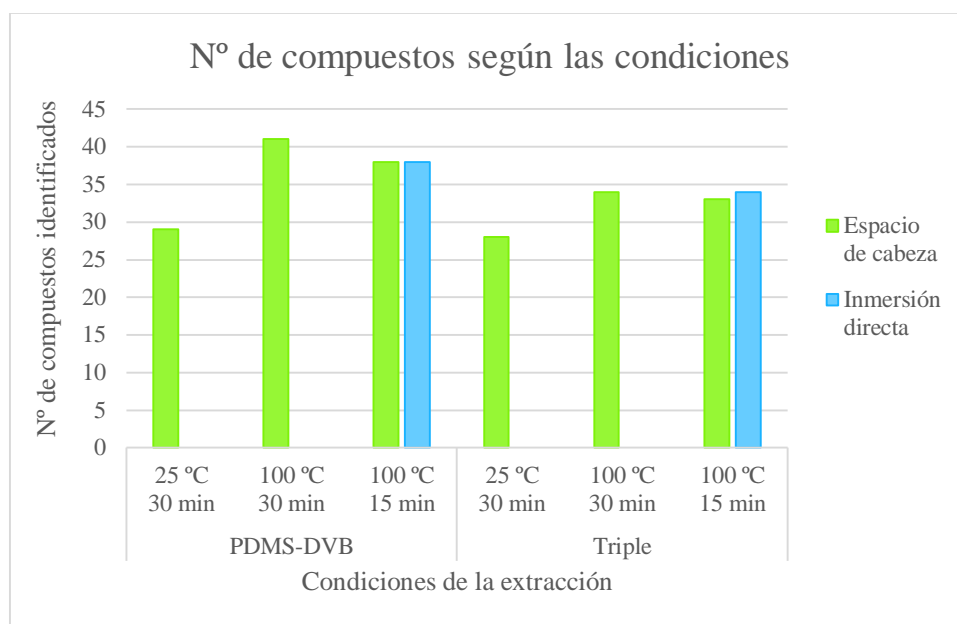


Figura 3. Número de compuestos identificados en cada una de las condiciones experimentales empleadas.

5.3. Aplicación en cosmética

De todos los compuestos determinados hay 10 que son considerados por la Unión Europea como alérgenos de contacto en humanos (10): benzaldehído, alcohol bencílico, linalol, alcanfor, salicilato de metilo, carvona, geraniol, eugenol y salicilato bencílico.

Además, se han consultado los datos disponibles de cada compuesto en la base de datos CosIng (16). La gran mayoría de ellos tienen varias funciones, entre las que prevalecen la de perfumante, fragancia y acondicionador de la piel. El resto de las aplicaciones y el número de compuestos que se podrían usar con ese objetivo aparecen reflejados en la Figura 4.

Algunos como el timol, el ftalato de dietilo o el ácido mirístico están usándose actualmente en cosméticos (19–21). Por lo tanto, los hidrolatos de *Filipendula vulgaris* pueden servir como fuente de estos para su elaboración.

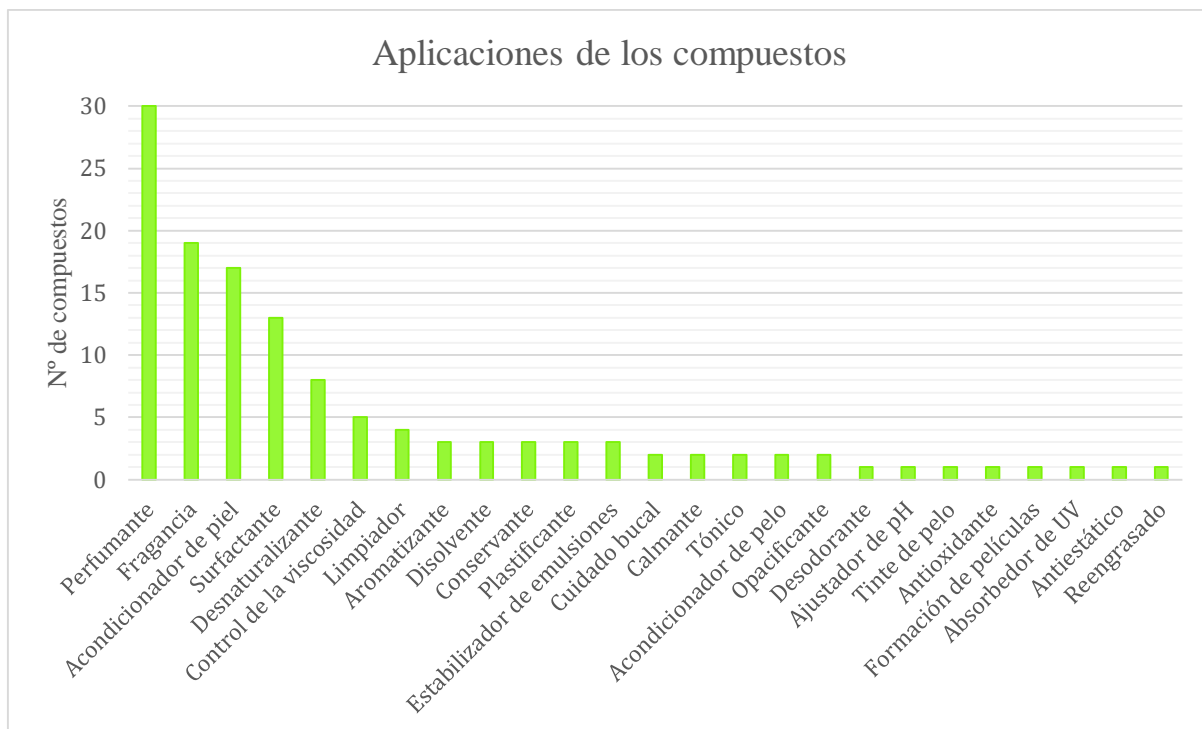


Figura 4. Aplicaciones en cosmética de los compuestos detectados.

Para algunos de los compuestos identificados en el hidrolato de *Filipendula* como, por ejemplo, felandral, alcohol elaidolinolénico, miristicina o fitano existe información limitada, por lo que queda abierto un enorme campo de investigación sobre la potencial aplicación en cosmética u otros sectores.

6. Conclusiones

Los resultados obtenidos muestran un total de 68 compuestos identificados en los hidrolatos de *Filipendula vulgaris*, siendo los mayoritarios el salicilato de metilo, seguido del salicilato de bencilo o del timol, dependiendo de si se usa la fibra PDMS-DVB o DVB/CAR/PDMS, respectivamente. Además, también se puede determinar que las mejores condiciones de experimentación son: muestreo del espacio de cabeza con la fibra PDMS-DVB, exponiendo la fibra a 100 °C durante 15 min.

En cuanto a su posible aplicación en cosmética, una búsqueda en la base de datos CosIng, indica que 54 de los compuestos han sido utilizados en la industria cosmética con diversos fines, siendo predominantes los de perfumante y fragancia. Es preciso mencionar que, de

todos ellos, hay 10 que están recogidos como alérgenos de contacto en la lista elaborada por el Comité Científico para la Seguridad del Consumidor (SCCS), entre los que se encuentran el propio salicilato de metilo o el benzaldehído.

Con todo lo expuesto anteriormente se puede concluir que la hipótesis establecida al inicio de este trabajo es correcta, por lo que los hidrolatos de *Filipendula vulgaris* podrían emplearse como un ingrediente natural y sostenible en cosméticos.

6.1. Conclusions

The results obtained show a total of 68 compounds identified in the *Filipendula vulgaris* hydrolates, the main ones being methyl salicylate, followed by benzyl salicylate or thymol depending on whether the PDMS-DVB or DVB/CAR/PDMS fiber is used, respectively. In addition, it can also be determined that the best experimental conditions are: headspace sampling with PDMS-DVB fiber, exposing the fiber to 100 °C for 15 min.

Regarding their possible application in cosmetics, a search in the CosIng database indicates that 54 of the compounds have been used in the cosmetic industry for various purposes, being predominantly perfuming and fragrance. It is worth mentioning that among all of them, 10 are listed as contact allergens in the list elaborated by the Scientific Committee for Consumer Safety (SCCS), which includes methyl salicylate itself or benzaldehyde.

With all of the above, it can be concluded that the hypothesis established at the beginning of this work is correct, which means that the hydrolate of *Filipendula vulgaris* could be used as a natural and sustainable ingredient in cosmetics.

7. Bibliografía

1. Rubio L, Valiño M del C, Expósito MJ, Lores M, Garcia-Jares C. Sourcing New Ingredients for Organic Cosmetics: Phytochemicals of *Filipendula vulgaris* Flower Extracts. *Cosmetics* [Internet]. dic 2022 [citado 8 may 2023];9(6):132. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-9284/9/6/132>
2. Kümmerer K, Clark JH, Zuin VG. Rethinking chemistry for a circular economy. *Science* [Internet]. 24 ene 2020 [citado 8 may 2023];367(6476):369-70. Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aba4979>
3. Chiocchio I, Mandrone M, Tomasi P, Marincich L, Poli F. Plant Secondary Metabolites: An Opportunity for Circular Economy. *Molecules* [Internet]. ene 2021 [citado 8 may 2023];26(2):495. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/2/495>
4. Dini I, Laneri S. The New Challenge of Green Cosmetics: Natural Food Ingredients for Cosmetic Formulations. *Molecules* [Internet]. ene 2021 [citado 8 jun 2023];26(13):3921. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/13/3921>
5. Bolouri P, Salami R, Kouhi S, Kordi M, Asgari Lajayer B, Hadian J, et al. Applications of Essential Oils and Plant Extracts in Different Industries. *Molecules* [Internet]. ene 2022 [citado 14 jun 2023];27(24):8999. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/24/8999>
6. ISO 9235:2021(en), Aromatic natural raw materials — Vocabulary [Internet]. [citado 8 may 2023]. Disponible en: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9235:ed-3:v1:en>
7. D'Amato S, Serio A, López CC, Paparella A. Hydrosols: Biological activity and potential as antimicrobials for food applications. *Food Control* [Internet]. 1 abr 2018 [citado 9 jun 2023];86:126-37. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713517305157>
8. Tavares CS, Gameiro JA, Roseiro LB, Figueiredo AC. Hydrolates: a review on their volatiles composition, biological properties and potential uses. *Phytochem Rev*

- [Internet]. 1 oct 2022 [citado 15 jun 2023];21(5):1661-737. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11101-022-09803-6>
9. Directorate-General for Health and Consumers (European Commission) Now known as. Opinion on fragrance allergens in cosmetic products [Internet]. LU: Publications Office of the European Union; 2012 [citado 8 may 2023]. Disponible en: <https://data.europa.eu/doi/10.2772/77628>
 10. Reglamento (CE) No 1223/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 30 de noviembre de 2009, sobre los productos cosméticos [Internet]. [citado 8 may 2023]. Disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=CELEX%3A02009R1223-20221217&qid=1682532649754>
 11. Fandakli S, Korkmaz B, Faiz Ö, Kiliç G, Erik İ, Terzioğlu S, et al. Chemical Variation, Antimicrobial, Nitric Oxide Scavenging Activities and Tyrosinase Inhibition of Essential Oils and Solvent Extracts from *Filipendula vulgaris* Moench Growing in Turkey. *Iran J Pharm Res IJPR* [Internet]. 2021 [citado 16 jun 2023];20(3):110-20. Disponible en: <https://brieflands.com/articles/ijpr-124306.html#abstract>
 12. Sarkic A, Stappen I. Essential oils and their single compounds in cosmetics-a critical review. *Cosmetics*. 2018;5(1).
 13. Jalili V, Barkhordari A, Ghiasvand A. A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews. *Microchem J* [Internet]. 1 ene 2020 [citado 8 may 2023];152:104319. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X19319186>
 14. Lamas Castro JP. Determinación de fragancias, conservantes y otros aditivos regulados en productos de uso cotidiano y atmósferas interiores. 7 feb 2012 [citado 20 abr 2023]; Disponible en: <https://minerva.usc.es/xmlui/handle/10347/3682>
 15. McMaster MC. *Gc/Ms: A Practical User's Guide* [Internet]. 1.^a ed. John Wiley & Sons, Ltd; 2008 [citado 8 may 2023]. 192 p. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470228357>

16. CosIng - Cosmetics - GROWTH - European Commission [Internet]. [citado 8 may 2023]. Disponible en: <https://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing/index.cfm?fuseaction=search.simple>
17. Kachur K, Suntres Z. The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2020;60(18):3042-53.
18. Giménez MJ, Valverde JM, Valero D, Zapata PJ, Castillo S, Serrano M. Postharvest methyl salicylate treatments delay ripening and maintain quality attributes and antioxidant compounds of «Early Lory» sweet cherry. *Postharvest Biol Technol*. 2016;117:102-9.
19. Salehi B, Mishra AP, Shukla I, Sharifi-Rad M, Contreras M del M, Segura-Carretero A, et al. Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. *Phytother Res [Internet]*. 2018 [citado 16 jun 2023];32(9):1688-706. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.6109>
20. Api AM. Toxicological profile of diethyl phthalate: a vehicle for fragrance and cosmetic ingredients. *Food Chem Toxicol [Internet]*. 1 feb 2001 [citado 16 jun 2023];39(2):97-108. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691500001241>
21. Ledwoń P, Errante F, Papini AM, Rovero P, Latajka R. Peptides as Active Ingredients: A Challenge for Cosmeceutical Industry. *Chem Biodivers [Internet]*. 2021 [citado 16 jun 2023];18(2):e2000833. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.202000833>