

CARACTERIZACIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE DOS ESPECIES DE *OCIMUM* (FAM. LABIATAE), EN FUNCIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN

RESUMEN

Los metabolitos secundarios volátiles y semivolátiles de dos especies de *Ocimum* de la familia Labiatae fueron aislados por hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD), destilación-extracción simultánea con solventes (SDE), extracción con fluido supercrítico (SFE), *headspace* estático (S-HS) y microextracción en fase sólida en el modo *headspace* (HS-SPME). La identificación se realizó usando criterios cromatográficos (GC) (I_K en columna apolar), y espectroscópicos (MS) (espectros de masas, EI, 70 eV). Los componentes mayoritarios para *Ocimum sp.1* (sígueme blanco) fueron: *trans*-cinamato de metilo, linalol, eucaliptol y *cis*-cinamato de metilo, y para *Ocimum sp.2* (sígueme morado): estragol, linalol y eucaliptol.

PALABRAS CLAVES: *Ocimum sp.*, MWHD, SDE, SFE, S-HS, HS-SPME.

ABSTRACT

Secondary metabolites of two Ocimum species (Labiatae) were obtained by microwave-assisted hydrodistillation (MWHD), simultaneous distillation-solvent extraction (SDE), supercritical fluid extraction (SFE), static headspace (S-HS) and headspace solid-phase microextraction (HS-SPME). Identification was performed using chromatographic (GC- I_K and t_R) and spectroscopic (MS, EI 70 eV) criteria. The main components of Ocimum sp.1 (sígueme blanco) were trans-methyl cinnamate, linalool, eucaliptol and cis-methyl cinnamate; and of Ocimum sp.2 (sígueme morado) were estragole, linalool and eucaliptol.

KEYWORDS: *Ocimum sp.*, MWHD, SDE, SFE, S-HS, HS-SPME.

1. INTRODUCCIÓN

El género *Ocimum* perteneciente a la familia labiatae, se caracteriza por una gran variabilidad morfológica y de quimiotipos. Este género ofrece entre sus más de 50 especies una amplia diversidad de características de crecimiento, tamaño de la hoja, color de la flor, aspecto físico y aroma [1]. El carácter aromático de cada tipo de albahaca (*Ocimum basilicum*), está determinado por el genotipo, y depende de los compuestos químicos presentes en los aceites esenciales, los cuales consisten básicamente en monoterpenos y fenilpropanoides [2,3].

Los aceites de *Ocimum* presentan marcadas diferencias en la composición, y algunos quimiotipos de diversos orígenes geográficos se han clasificado: el quimiotipo Europeo, considerado como el de olor más fino, presentando el linalol y estragol como componentes principales; el quimiotipo Reunión, se caracteriza por altas concentraciones de estragol; el quimiotipo tropical, es rico en cinamato de metilo; y un quimiotipo de África del norte y de la antigua Unión Soviética es rico en eugenol [4].

JOHAN AUGUSTO REYES

Estudiante de Química

JOSÉ GREGORIO PATIÑO

Estudiante de Química

JAIRO RENÉ MARTÍNEZ

Químico, Ph.D.
Profesor Titular

ELENA. E. STASHENKO

Química, Ph.D.
Profesora Titular
elena@tucan.uis.edu.co

Laboratorio de Cromatografía, CIBIMOL, Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM, Universidad Industrial de Santander, Carrera 27 calle 9. Bucaramanga, Colombia. Tel: 57(7)6456737, Fax: 57(7)6358210.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Material Vegetal

La identificación taxonómica se realizó en el Instituto de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia (Bogotá). Se caracterizaron dos plantas a saber: "Sígueme blanco", *Ocimum sp.1*, familia Labiatae, N° registro COL 512283, y "Sígueme morado", *Ocimum sp.2*, familia Labiatae, N° registro COL 512280.

2.2. Extracción

La hidrodestilación asistida por radiación de microondas (MWHD), se llevó a cabo utilizando un equipo de destilación tipo Clevenger, empleando un horno microondas (LG, modelo MS-1242ZK, 1200 W), siguiendo la metodología de Stashenko *et al.* [5].

La destilación-extracción con solvente simultánea (SDE), se llevó a cabo en un equipo a micro-escala para solventes de alta densidad, usando como solvente diclorometano (grado analítico) [6].

La extracción con fluido supercrítico (SFE), se llevó a cabo en un extractor Soxhlet de alta presión (J&W Scientific, Folsom CA, EE.UU) y empleando CO₂ sólido comercial (hielo seco) como fluido de extracción, siguiendo la metodología de Stashenko *et al.* [7].

2.3. Obtención de volátiles

La obtención de la fracción volátil se realizó por dos técnicas *headspace*, *headspace* estático (S-HS) y microextracción en fase sólida en modo *headspace* (HS-SPME), usando como recubrimiento PDMS; para el estudio comparativo se emplearon las mismas condiciones de extracción (t: 30 min, T: 40 °C) [8,9].

2.4. Análisis Cromatográfico

Los compuestos fueron separados e identificados por cromatografía de gases (GC) (I_k en columnas apolar DB-5MS y polar DB-WAX) y espectrometría de masas (EI, 70 eV), comparando los espectros de masas e índices de retención obtenidos, con los reportados en las bases de datos: NBS 75K, WILEY 138K, ADAMS 2004 y NIST 2002, y los índices de retención reportados en la literatura [10].

3. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Las dos especies de *Ocimum* se caracterizan por su alto contenido de fenilpropanos y monoterpenos oxigenados, sobresaliendo como compuestos mayoritarios, para *Ocimum sp.1* (sígueme blanco): *trans*-cinamato de metilo (11-43%), linalol (6-13%) eucaliptol (6-55%) y *cis*-cinamato de metilo (3-11%), y para *Ocimum sp.2* (sígueme morado): estragol (50-67%), linalol (5-12%) y eucaliptol (6-18%).

En relación con la composición química obtenida de las dos especies de *Ocimum*, se puede clasificar el *Ocimum sp.1* (sígueme blanco) como quimiotipo *trans*-cinamato de metilo y el *Ocimum sp.2* (sígueme morado) como quimiotipo estragol.

La composición de los metabolitos secundarios volátiles y semivolátiles de las dos especies de *Ocimum*, se estudió mediante la técnica de análisis de *clusters* utilizando distancias euclidianas completas (STATISTICA, Versión 6.0, StatSoft, Tulsa, OK, USA), con el fin de apreciar el efecto de la técnica de extracción en la composición final.

Para el sígueme blanco (*Ocimum sp.1*), (Figura 1), el dendrograma de *clusters* muestra una relación entre las técnicas MWHd, SDE y SFE, las cuales se caracterizaron por la obtención de un alto contenido de fenilpropanos (FP, 53-55%) y monoterpenos oxigenados (MO, 15-22%), a diferencia de las técnicas *headspace*, en las cuales se obtuvo un alto contenido de MO (39-62%), sesquiterpenos (S, 21%) para HS-SPME y monoterpenos (M, 22%) para S-HS.

Para el sígueme morado (*Ocimum sp.2*), (Figura 2), el dendrograma de *clusters* muestra la relación entre las cinco técnicas de extracción, las cuales presentan similitud en el alto contenido de FP (50-66%) y MO (18-24%) en la composición obtenida. De igual manera se

observa la diferencia entre las técnicas MWHd, SDE y SFE, y las técnicas *headspace*, por el contenido de S (7-13%) y M (6-9%) respectivamente.

4. AGRADECIMIENTOS

A Colciencias-CENIVAM Contrato RC 432 de 2004.

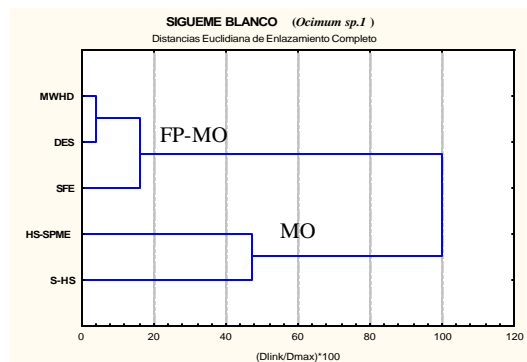


Figura 1. Dendrograma de clusters para *Ocimum sp.1*.

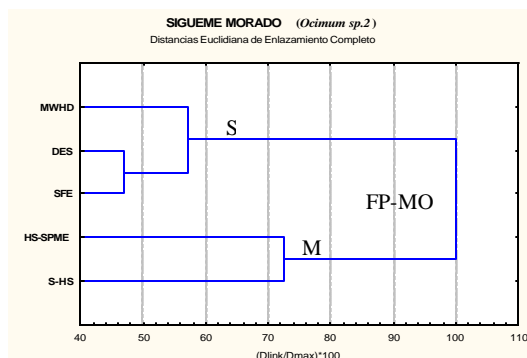


Figura 2. Dendrograma de clusters para *Ocimum sp.2*.

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] LAWRENCE, Brian M. Essential Oils 1995-2000. Editor Natural Flavor and Fragrance Materials, Perfumer & Flavorist. Published by Allured Publishing Corporation. 2003. pp. 26-29. 146-148. 225-235.
- [2] GUENTER, E. The Essential Oils. Volume I y III, Ed. Van Nostrand, New York, 1995, Vol. I p. 427 y Vol. III p. 7773.
- [3] TATEO, F. The Composition of Various Oils of *Ocimum basilicum* L. *J. Essent. Oil Res.* 1989, 1, 137-138.
- [4] MAROTTI, M., PICCAGLIA, R., GIOVANNELLI, E. Differences in Essential Oil Composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian Cultivar Related to Morphological Characteristics. *J. Agric. Food Chem.* 1996, 44, 3926-3929.

[5] STASHENKO, E. E., JARAMILLO, B. E., MARTÍNEZ, J. R. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1025, 93–103.

[6] GODEFROOT, M., SANDRA, P. and VERZELE, M., New Method for Quantitative Essential Oil Analysis. *J. Chromatogr.*, 1981, 203, 325-335.

[7] STASHENKO, E. E., ACOSTA, R., MARTÍNEZ, J. R. High-resolution gas-chromatographic analysis of the secondary metabolites obtained by subcritical-fluid extraction from Colombian rue (*Ruta graveolens* L.). *J. Biochem. Biophys. Methods*, 2000, 43, 379–390.

[8] STASHENKO, E. E., JARAMILLO, B. E., MARTÍNEZ, J. R. Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian *Xylopiá aromática* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1025, 105–113.

[9] STASHENKO, E. E., MARTÍNEZ, J. R. Sampling volatile compounds from natural products with headspace/solid-phase micro-extraction. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 2007, 70, 235-242.

[10] ADAMS, Robert, Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, Ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 1995, 456 p.