

MEDICINAL PLANT COMMUNICATIONS

Med. plant commun

3 (1): 1 - 4 (2020)

© / ISSN 2452 4433

Short Communication

EL ANÁLISIS ENANTIOSELECTIVO Y OLFATOMÉTRICO DE FRACCIONES VOLÁTILES VEGETALES EN ECUADOR

[The enantioselective and olfactometric analysis of vegetal volatile fractions in Ecuador]

Gianluca Gilardoni

Departamento de Química y Ciencias Exactas, Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL), Loja, Ecuador

gianluca.gilardoni@gmail.com

Abstract: Essential oils are natural products of biological and commercial interest, whose importance in the field of pharmaceutical chemistry, cosmetology and food chemistry is well known. The classical analysis of essential oils mainly consists in the application of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) for the qualitative analysis, and gas chromatography-flame ionization detection (GC-FID) for the quantitative one. However, chemical composition is not the only important aspect of an essential oil; a complete study requires also the determination of the enantiomeric composition of its chiral constituents. Furthermore, being the aroma the main property of most essential oils, an olfactometric study through gas chromatography-olfactometry (GC-O) technique should be important. Both the enantioselective analysis and the GC-O profile are yet quite neglected by most of the authors describing the chemical composition of new essential oils. The present communication describes the works published so far in Ecuador about these items.

Keywords: Essential oils; Enantioselective analysis; GC-O; AEDA; Ecuador.

Resumen: Entre los productos naturales de interés biológico y comercial podemos citar los aceites esenciales, cuya importancia en el ámbito de la química farmacéutica, de la cosmetología y de la química de alimentos es bien conocida. El análisis clásico de los aceites esenciales consiste básicamente en la aplicación de la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS) para la caracterización cualitativa, y a la detección por ionización de llama (GC-FID) en cuanto a la caracterización cuantitativa. Sin embargo, además de la simple composición química, un estudio completo y exhaustivo de un aceite esencial requiere también la caracterización de la composición enantiomérica de sus constituyentes quirales. Además, al ser el aroma la propiedad más importante en la mayoría de los aceites esenciales, sería oportuno realizar un estudio olfatométrico, aplicando la técnica de la cromatografía de gases acoplada a la olfatometría (GC-O). Tanto el análisis enantioselectivo como el estudio olfatométrico siguen siendo descuidados por la mayoría de los autores que estudian la composición química de nuevos aceites esenciales. La presente comunicación describe los trabajos publicados en estos ámbitos en Ecuador hasta el día de hoy.

Palabras clave: Aceites esenciales; Análisis enantioselectivo; GC-O; AEDA; Ecuador.

Received: 3 de Septiembre de 2019

Accepted: 12 de Septiembre de 2019

Published online: 30 de Septiembre de 2019

This article must be cited as: Gilardoni G. 2020. El análisis enantioselectivo y olfatométrico de fracciones volátiles vegetales en Ecuador. *Med Plant Commun* 3 (1): 1 – 4. Conferencia dada en VII Congreso Latinoamericano de Plantas Medicinales, Cuenca, Ecuador, 4 al 6 de Septiembre de 2019.

INTRODUCCIÓN

Ecuador es uno de los 17 países con la mayor biodiversidad en el mundo. Con respecto al reino vegetal, esta biodiversidad convierte Ecuador en un valiosísimo reservorio de especies, caracterizadas por la producción de metabolitos secundarios de relevante actividad biológica [1]. De hecho, la mayoría de dichas especies no ha sido nunca estudiada desde el punto de vista químico y la posibilidad de encontrar nuevos productos naturales a través de una prospección sistemática es una posibilidad concreta.

Entre los productos naturales de mayor interés podemos citar los aceites esenciales, que representan la parte de la fracción volátil de una planta obtenible por destilación por arrastre de vapor (o presión mecánica en el caso de los cítricos). Estos aceites son productos de interés científico y comercial, debido a sus aplicaciones farmacéuticas, cosmetológicas y alimenticias, además de las múltiples actividades biológicas y fisiológicas, siendo el aroma la más importante. Muchas plantas inéditas de Ecuador presentan una fracción volátil interesante y constituyen por tanto posibles fuentes de aceites esenciales.

El análisis clásico de un aceite esencial se realiza principalmente por cromatografía de gases, acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y a detección por ionización de llama (GC-FID). La utilización de índices lineales de retención (además de los espectros de masa) y la normalización interna o el cálculo de los factores de respuesta relativos, basados en la entalpía de combustión, constituyen respectivamente las herramientas principales en la elaboración de los resultados cualitativos y cuantitativos [2,3]. Sin embargo, existen dos aspectos muy importantes que, a pesar de ser bien conocidos desde hace mucho tiempo, son descuidados por la mayoría de los autores: la composición enantiomérica y el perfil olfatorio del aceite esencial [4,5]. La importancia de la composición enantiomérica reside en las diferentes propiedades biológicas y fisiológicas de los enantiómeros. En el caso específico de los aceites esenciales, los dos enantiómeros de un mismo constituyente pueden percibirse con olores diferentes [6]; este fenómeno explica por qué aceites que presentan una composición parecida pueden presentar un aroma muy distinto. Si consideramos que el aroma es la propiedad más relevante en la mayoría de los aceites esenciales, se puede fácilmente entender la importancia del perfil enantiomérico en la descripción del producto. En cuanto al estudio olfatométrico, este permite determinar, a través del método AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis), la jerarquía de los constituyentes según la relativa importancia en la producción del aroma [7,8]. El método AEDA se utiliza por ejemplo en la reconstitución artificial de un aroma natural utilizando el menor número posible de compuestos.

En esta presentación se describen los estudios publicados en Ecuador hasta la fecha en cuanto a la caracterización enantiomérica y olfatométrica de los aceites esenciales.

METODOLOGÍA

Material vegetal: Las especies vegetales, cuya distribución enantiomérica o perfil olfatorio del aceite esencial fueron publicados en Ecuador hasta la fecha, son las siguientes: *Clinopodium tomentosum* (Kunth) Govaerts [9], *Lepechinia mutica* (Benth.) Epling [10,11], *Niphogeton dissecta* (Benth.) J.F. Macbr. [12], *Hedyosmum scabrum* (Ruiz & Pav.) Solms [13], *Lepechinia heteromorpha* (Briq.) Epling. [14] y *Myrteola phyllicoides* (Benth.) Landrum [15]. Todas las especies fueron recolectadas en la provincia de Loja excepto *Clinopodium tomentosum*, que en su primer estudio fue recolectado en la provincia de Chimborazo.

Materiales y equipos: Todos los análisis cromatográficos fueron realizados con un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 6890N (Santa Clara, CA 95051, USA), acoplado a un espectrómetro de masas 5973 y a un detector por ionización de llama. Las condiciones de análisis de cada aceite están detalladas en las respectivas publicaciones. Las composiciones químicas fueron determinadas en una columna con fase fija de 5% fenilpolidimetilsiloxano (DB-5MS, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm). Los análisis de las plantas en proceso de publicación contarán también con la caracterización cromatográfica en columna polar, basada en una fase fija de polietilenglicol (HP-Innovax, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm). El poder rotatorio específico se midió con un polarímetro automático Hanon MRC P810 (Jinan Hanon Instruments Co. Ltd., Jinan, China). Los disolventes utilizados en general fueron de grado analítico (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA), el gel de sílice y las placas de CCF se adquirieron en Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania), mientras que los disolventes para purificaciones preparativas fueron de grado técnico (Brenntag, Guayaquil, Ecuador), destilados antes de la utilización.

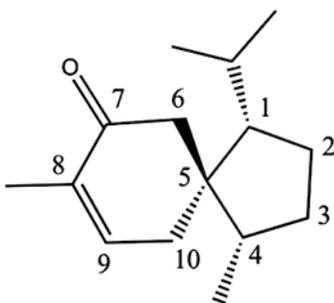
Metodología de análisis: Los análisis cualitativos se realizaron por comparación de los índices lineares de retención, según Van den Dool y Kratz, y de los espectros EIMS de cada constituyente con los datos descritos en la literatura [2]. Los análisis cuantitativos se realizaron con estándar interno n-nonano y calibración externa, basada en el uso de un compuesto isómero como estándar de cuantificación para cada familia de compuestos terpénicos. En otros casos, la cuantificación se basó en el cálculo del factor de respuesta relativa. Las cuantificaciones se expresaron como promedio y desviación estándar de al menos cuatro repeticiones de destilación. En algunos casos las repeticiones se realizaron por arrastre de vapor sobre una cantidad masiva de material vegetal, obteniendo cantidades discretas de aceite esencial; en otros casos las repeticiones se llevaron a cabo como hidrodestilaciones en pequeña escala, utilizando un equipo tipo Marcusson [16].

Los análisis de distribución enantiomérica se realizaron con columnas enantioselectivas, basadas en fase fija de β -ciclodextrinas: dietiltertbutilsilil- β -ciclodextrina y diacetiltertbutilsilil- β -ciclodextrina (ambas de 25 m x 0.25 mm x 0.25 μ m, Mega, Legnano, MI, Italia). El orden de elución de los enantiómeros se determinó por inyección de estándares enantioméricamente puros.

Los perfiles olfatorios se determinaron por GC-O, aplicando el método AEDA a soluciones de aceites esenciales de dilución creciente. El cromatógrafo de gases estuvo equipado con una puerta olfatoria Gerstel (GERSTEL GmbH & Co.KG, Mülheim an der Ruhr, Alemania), las diluciones fueron percibidas por un equipo de catadores entrenados de al menos dos personas y los resultados fueron elaborados aceptando las percepciones confirmadas en al menos dos diluciones consecutivas por al menos un panelista.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los análisis químicos, enantioselectivos y sensoriales están detallados en la publicación de cada aceite esencial [8-15].



Hay que recalcar que los análisis enantioselectivos se refieren principalmente a los compuestos monoterpénicos, debido a que hay una escasa disponibilidad comercial de patrones sesquiterpénicos enantioméricamente puros. Con respecto a este problema, un enfoque interesante se aplicó en el estudio de *Niphogeton dissecta* [12]. El aceite esencial de esta planta demostró contener hasta el 41% de acorenona B (fig.1), una cetona sesquiterpénica no común como compuesto mayoritario. Además, dicho terpeno fue el único sesquiterpeno oxigenado presente en la mezcla, cuya polaridad resultó claramente mayor con respecto a los demás componentes. Este fenómeno hizo que la acorenona B fuera fácilmente separable de los demás constituyentes por cromatografía líquida preparativa, lo que no es común en los aceites esenciales. La aplicación de este método permitió obtener 1.48 g de acorenona B prácticamente pura, que fue sometida a análisis polarimétrica. El cálculo del poder rotatorio específico y la comparación con los datos de literatura permitió determinar que este terpeno se encuentra en el aceite esencial en su forma levógira enantioméricamente pura. La identificación de la acorenona B fue además confirmada por espectroscopia de resonancia magnética nuclear.

CONCLUSIÓN

Se realizó la primera descripción de los aceites esenciales de *Clinopodium tomentosum*, *Lepechinia mutica*, *Niphogeton dissecta*, *Hedyosmum scabrum*, *Lepechinia heteromorpha* y *Myrteola phylloides*. Además de la composición química y de algunas propiedades físico-químicas y biológicas, se determinó la distribución enantiomérica de algunos constituyentes quirales y, en algunos casos, el perfil sensorial por GC-O según el método AEDA. Cabe resaltar que los análisis enantioselectivos

y olfatométricos descritos en esta comunicación han sido los primeros de este género realizados en Ecuador. Resultados análogos están en proceso de publicación para los aceites esenciales de *Clinopodium tomentosum* (actualización del análisis anterior), *Coreopsis triloba*, *Gynoxys verrucosa*, *Myrcianthes myrsinoides*, *Myrcia mollis*, *Myrcianthes rhopaloides* and *Siparuna echinata*.

AGRADECIMIENTOS

Se agradecen a todos los autores de las publicaciones citadas sobre *Clinopodium tomentosum*, *Lepechinia mutica*, *Niphogeton dissecta*, *Hedyosmum scabrum*, *Lepechinia heteromorpha* y *Myrteola phyllicoides*. De manera especial se agradece al Dr. Carlo Bicchi, de la Universidad de Turín en Italia, por el soporte técnico y el asesoramiento brindado.

REFERENCIAS

- [1] O Malagón et al. 2016. Nat Prod Comm 11: 297. <https://doi.org/10.1177/1934578X1601100307>
- [2] RP Adams. 2007 Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, USA. [https://doi.org/10.1016/s1044-0305\(97\)00026-3](https://doi.org/10.1016/s1044-0305(97)00026-3)
- [3] C Bicchi et al. 2008. Flavour Fragr J 23: 382. <https://doi.org/10.1002/ffj.1905>
- [4] WA König et al. 2004. J Chrom Sci 42: 423.
- [5] M Brattoli et al. 2013 Sensors 13: 16759. <https://doi.org/10.3390/s131216759>
- [6] E Brenna et al. 2003 Tetrahedron: asymmetry 14: 1. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(02\)00713-9](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(02)00713-9)
- [7] W Grosch. 1993 Trends Food Sci Technol 4: 68. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(93\)90187-F](https://doi.org/10.1016/0924-2244(93)90187-F)
- [8] W Grosch. 2007. Gas chromatography-olfactometry of aroma compounds. In: RG Berger (eds) Flavours and fragrances. Springer, Berlin, Heidelberg, Germany. https://doi.org/10.1007/978-3-540-49339-6_16
- [9] M Benzo et al. 2007. J Chromatography A 1150: 131. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.02.031>
- [10] J Ramírez et al. 2017. Chem Biodivers 14: e1700292. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201700292>
- [11] J Ramírez et al. 2018. Pharmaceuticals 11: 33. <https://doi.org/10.3390/ph11020033>
- [12] J Calva et al. 2017. Pharmaceuticals 10: 84. <https://doi.org/10.3390/ph10040084>
- [13] C Herrera et al. 2018. Chem Biodivers 15: e1700423. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201700423>
- [14] G Gilardoni et al. 2019. Plants 8: 1. <https://doi.org/10.3390/plants8010001>
- [15] J Calva et al. 2019. Rec Nat Prod 13: 355. <http://doi.org/10.25135/rnp.112.18.09.893>
- [16] C Bicchi et al. 1983. J Chromatography A 279: 409. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)93640-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)93640-4)