

ESTUDIO FITOQUÍMICO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (ISHPINGO)

PHYTOCHEMICAL STUDY OF ESSENTIAL OIL from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (ISHPINGO)

Yolanda Jibaja A.¹ & María Elena Maldonado R.²

Recibido: 7 mayo 2018 / Aceptado: 11 julio 2018

DOI: 10.26807/ia.v6i2.80

Palabras claves: aceite esencial, fitoquímico, hojas, cálices, *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

Keywords: chalices, essential oil, phytochemical, leaves, *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

RESUMEN

Esta investigación se realizó con una muestra de hojas y cálices de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm., colectados en Archidona, provincia del Napo, Ecuador. Si bien la bibliografía reporta a los cálices del árbol como la parte del vegetal tradicionalmente utilizado para la extracción del aceite esencial, no se tienen datos respecto a la composición química del aceite esencial extraído de las hojas. El objetivo de este trabajo fue extraer el aceite esencial de hojas y cálices para un estudio comparativo de sus propiedades físicas, composición química y propiedades antimicrobianas. El contenido de humedad residual en hojas y

1 Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Químicas, Quito, Ecuador (yjibaja@puce.edu.ec).

2 Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador (mmaldonado@ups.edu.ec).

cálices fue de 8 y 12 % respectivamente. Los resultados del tamizaje fitoquímico realizados en los extractos acuoso y alcohólico de las hojas y cálices permitieron identificar saponinas, azúcares reductores, fenoles y taninos, y flavonoides. La extracción del aceite esencial se realizó mediante hidrodestilación, el rendimiento fue de 1,24 % en cálices después de 2 horas de destilación y en el caso de las hojas de 0,88 %. El análisis por cromatografía de gases del aceite esencial de cálices reveló la presencia de dos picos importantes con tiempos de retención de 12,213 y 13,718 minutos; en tanto que en el aceite esencial de las hojas se observaron también dos picos importantes con una ligera variación en sus tiempos de retención: 12,117 y 13,677 minutos, se asumió que desde el punto de vista cualitativo, las dos partes del material vegetal analizado presentan una composición muy similar.

ABSTRACT

This investigation was carried out with a sample of leaves and chalice of *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm., collected in Archidona, province of Napo, Ecuador. Although the bibliography reports to the chalice of the tree as the part of the vegetable traditionally used for the extraction of the essential oil, there are no data regarding the chemical composition of the essential oil extracted from the leaves. The objective of this work was to extract the essential oil from leaves and chalice for a comparative study of its physical properties, chemical composition and antimicrobial properties. The residual moisture content in leaves and calyxes was 8 and 12 % respectively. The results of the phytochemical screening performed on the aqueous and alcoholic extracts of the leaves and chalice allowed to identify saponins, reducing sugars, phenols and tannins, and flavonoids. The extraction of the essential oil was done by hydrodistillation, the yield was 1.24 % in chalice after 2 hours of distillation and in the case of leaves of 0.88 %. Analysis by gas chromatography of the calyx essential oil revealed the presence of two important peaks with retention times of 12.213 and 13.718 minutes; while in the essential oil of the leaves were also observed two important peaks with a slight variation in their retention times: 12.117 and 13.677 minutes, it was assumed that from the qualitative point of view, the two parts of the plant material analyzed present a very similar composition.

INTRODUCCIÓN

Los componentes volátiles provenientes de las plantas atraen la atención del hombre desde la antigüedad, como principios aromáticos o especies de gran complejidad. El estudio de los aceites esenciales como materia prima para la industria de fragancias y sabores, se ha transformado en una de las áreas de investigación y desarrollo más importantes en muchos países. En la actualidad tienen una demanda creciente para las terapias alternativas. Este mercado está compuesto principalmente por aceites no nativos del Ecuador, como son los de naranja, jazmín y lavanda; en cuanto a recursos nativos, solo se conoce una experiencia que trabaja en la extracción de los aceites del ishpingo, *Ocotea quixos*, para exportar al mercado europeo (Coloma, 2002). Ishpingo es la palabra quichua para el árbol del cinnamom ecuatoriano, *Ocotea quixos*, encontrado solo en una pequeña región de la Amazonía Ecuatoriana. Es un hermoso árbol frondoso que fue conocido y utilizado por los aborígenes de épocas

anteriores a la conquista española. El principal uso en el Ecuador, tanto de los cálices leñosos como de la corteza de las ramas, ha sido como especería para aromatizar ciertas comidas, como la colada morada y algunas preparaciones de chicha de maíz; en el campo de la medicina tradicional se lo ha utilizado en forma de infusión para atenuar dolores estomacales y en forma de tintura para dolores de piezas dentales (White, 1976).

La investigación fitoquímica ha demostrado la presencia de cinamaldehído, o-metoxicinamaldehído, ácido cinámico y metilcinamato en los cálices del fruto. No se tienen datos de estudios farmacológicos ni toxicológicos, en cantidades pequeñas que se utiliza como aromatizante o en infusiones, no se han observado efectos de carácter tóxico. La bibliografía reporta a los cálices del árbol como la parte del árbol tradicionalmente utilizados con olor a canela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención del material

Recolección del material vegetal

Los cálices y las hojas de *Ocotea quixos*, (Lam.) Kosterm. se colectaron según normas establecidas por CYTED (1994), en Archidona (0°55'00''S 77°47'00''O). Los ejemplares colectados se colocaron dentro de hojas de papel periódico dobladas por la mitad, a los cuales se les asignó un número el mismo que se escribió en una esquina de las hojas del papel periódico, así como la identificación del colector. Un ejemplar se acomodó en una cartulina blanca de 30 x 40 cm de tal manera que quede un espacio disponible en el ángulo inferior derecho para la etiqueta de identificación. Se sujetaron los tallos, cálices, ramas de las inflorescencia con cintas de papel de 2 mm de ancho, se reforzaron utilizando cinta engomada o cosiéndolas a la cartulina. La etiqueta de identificación del ejemplar de 12 x 7 cm se colocó en el ángulo inferior derecho. Esta cartulina se colocó dentro de una cartulina de 66 x 44 cm doblada por la mitad, el ejemplar

se envió al Herbario de la Universidad Católica para su comprobación taxonómica.

Secado y lavado del material vegetal

Las hojas y cálices de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. se lavaron con agua y desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 10 % durante 30 minutos, se escurrió el agua y colocaron en bandejas correctamente identificadas para su secado al ambiente. Una vez seco el material se troceó manualmente y guardó en fundas de papel para protegerlo de la luz.

Evaluación de las hojas y cálices de Ocotea quixos (Lam.) Kosterm.

La evaluación permitió identificar y determinar su calidad y pureza, se realizó mediante del empleo de métodos organolépticos, fisicoquímicos y biológicos.

Evaluación macroscópica de hojas y cálices de Ocotea quixos (Lam.) Kosterm.

Las hojas y cálices se evaluaron según especificaciones de Miranda

(2001_a). Para determinar la dimensión se utilizó una muestra de 50 ejemplares, con una regla graduada se determinó el largo y ancho para el posterior análisis estadístico de los mismos.

Evaluación fisicoquímica de hojas y cálices de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

Se determinó el contenido de cenizas totales, cenizas solubles en agua e insolubles en ácido según la Norma Cubana NRSP 309 (1992).

Se utilizó una muestra de 2 gramos que se calentó suavemente, hasta carbonizar y calcinar en una mufla Thermolyne Maxi-Mix III Type 65800 a 700–750 °C. El residuo se pesó en una balanza Metler Toledo A-311 hasta peso constante. La cantidad de cenizas totales se calculó en la muestra seca. Las determinaciones se realizaron por duplicado y se reportó el dato promedio.

Cenizas solubles en agua

Las cenizas totales se trataron con agua (15-20 mL) en un crisol el cual se calentó durante 5 minutos. La solución se filtró a través de papel filtro

MN-d 649, el filtro con el residuo se transfirió al crisol inicial y se carbonizó en una mufla Thermolyne Maxi-Mix III Type 65800 a 700-750 °C, el crisol con el residuo se colocó en un desecador hasta que alcance temperatura ambiente y se pesó hasta masa constante. Las determinaciones se realizaron por duplicado y se reportó el valor promedio.

Cenizas insolubles en ácido clorhídrico

Las cenizas totales se trataron con ácido clorhídrico al 10 % (2-3 mL) en un crisol, el cual se calentó en un baño de agua durante 10 minutos, el residuo se filtró a través de un papel libre de cenizas y se lavó con agua. El filtrado se evaporó a 100-105 °C, el residuo se transfirió al crisol inicial y se incineró en una mufla Thermolyne Maxi-Mix III. El ensayo se realizó por duplicado y se reportó el promedio de dos determinaciones.

Contenido de humedad

Se empleó el Método Azeotrópico (Norma Cubana NRSP 309, 1992). Se utilizó una muestra de 10 g (pulverizada y tamizada), se transfirió a un balón de 500 mL que contenía 200

mL de tolueno saturado con 2 mL de agua y se destiló hasta que el volumen de agua en el tubo colector permanezca constante. El ensayo se realizó por duplicado y el contenido de humedad reportado fue el promedio de las determinaciones expresado en porcentaje.

Estudio químico cualitativo de hojas y cálices de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

La planta fresca se sometió a tres extracciones sucesivas con éter, alcohol y agua. En los extractos etéreo, alcohólico y acuoso, se realizaron los ensayos de identificación de metabolitos según la técnica de Miranda & Cuellar (2001).

Extracción y cuantificación del aceite esencial de hojas y cálices de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

Se pesaron 100 gramos de material vegetal (seco y troceado manualmente) y se colocaron en un balón de destilación de 2 litros. Se agregó agua destilada (1200 mL), 3 o más perlas de vidrio y se armó el equipo de hidroddestilación.

La destilación se realizó por dos

horas. La emulsión fría (aceite - agua) se saturó con cloruro de sodio, se añadió éter etílico, se agitó y dejó en reposo hasta que se separen las fases. Se secó la capa etérea con sulfato de sodio anhidro y el éter se retiró por evaporación. Se pesó la cantidad de aceite obtenido y determinó el rendimiento.

Las muestras de aceite esencial se almacenaron en frascos de vidrio ámbar con tapa de teflón y colocaron en un refrigerador.

Caracterización física del aceite esencial de hojas y cálices

Se determinaron el olor, color, densidad e índice de refracción del aceite esencial de hojas y cálices (Norma Cubana NRSP 309). La determinación de la densidad e índice de refracción se realizaron por triplicado y se reportó el valor promedio.

Análisis cromatográfico del aceite esencial de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

Se utilizaron las siguientes condiciones experimentales:

- Muestra de ensayo: 25 mL de aceite

- esencial diluido en 1 mL de CH₂Cl₂
- Equipo: Varian CP-3380
 - Columna: DB-5 (polydimethylsiloxane bonded phase), diámetro interno 0.32 mm, largo 30 m, espesor 0.15 mm.

Las condiciones de operación fueron:

- Temperatura del inyector: 280 °C
- Temperatura de FID 280 °C
- Gas portador: Nitrógeno, flujo 159 mL/min, split 1:40

Programación de temperatura:

- Inicial: 45 °C, se incrementa a 100 °C con una rampa de 1 °C/min, y sucesivamente a 250 °C con una rampa de 5 °C/min, esta temperatura se mantiene hasta el final del análisis. La corrida demoró 95 minutos.

Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm

Se utilizó la técnica basada en el método de Bauer-Kirby de difusión en placas con agar y en tubos para caldo para cultivo.

El método consistió en impregnar 50 mL de extracto vegetal en discos de

papel secante de 6 mm de diámetro y 0,6 mm de grosor. Se aplicaron los discos en el cultivo e incubaron a 35 °C durante 24 horas. Se observaron halos de inhibición que se midieron en mm.

Se prepararon diluciones del aceite esencial a 1500, 750, 375 y 187,5 ppm; se prepararon cajas Petri con 100 mL de las soluciones diluidas del aceite esencial, se utilizó Agar Muller Hinton y sembró en cada una los microorganismos siguientes: *E. Coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus Epidermis*, *Streptococcus sp*, *Pseudomona aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Proteus*.

Las cajas Petri se incubaron 35-37 °C durante 24 horas y se reportó el crecimiento de los microorganismos en base a comparaciones con los blancos utilizados: Agar, Estreptomycin y Dimetilsulfóxido (Sacaquispe & Velásquez, 2002) .

RESULTADOS

Evaluación macromorfológica de hojas de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

Se evaluaron hojas frescas de 13,4 x 4,1 cm. Se caracterizan por ser muy brillantes, pecioladas, acuminadas, agudas, enteras, cuniformes, palmi-nervias, coriáceas, glabras, de color verde- amarillento por el envés, olor muy agradable y dulces al masticar. Los cálices semejan pequeños embudos con los bordes dirigidos al exterior de 3 cm de diámetro x 4 cm de largo resistentes a la presión manual, de color café oscuro, olor muy agradable y con un peso promedio de 2,67 g. Presentan rugosidades en los bordes externos.

Evaluación de las hojas y cálices de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

En la Tabla 1 constan los resultados de los parámetros fisicoquímicos determinados en las hojas y cálices de la especie analizada.

Tabla 1. Contenido de cenizas totales, cenizas solubles y humedad obtenidos de hojas y cálices de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

Parámetro	Hojas	Cálices
Cenizas totales	4,8 %	2,8 %
Cenizas solubles en agua	2,8 %	2,7 %
Humedad	8,0 %	12,0 %

La Tabla 2, reporta los resultados del tamizaje fitoquímico realizado en los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de las hojas y cálices.

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico de hojas (H) y cálices (C) de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

METABOLITO	EXTRACTOS					
	Etéreo		Alcohólico		Acuoso	
	H	C	H	C	H	C
Aceites y grasas	+/-	-				
Lactonas y coumarinas	-	-				
Alcaloides	-	-	-	-	-	-
Triterpenos-Esteroides	-	-	-	-		
Saponinas			+	+	+	+
Azúcares Reductores			+	+	+	+
Fenoles y taninos			+	+	+	+
Aminoácidos			-	-		
Flavonoides			+	+	+	+
Cardenólidos			-	+		
Quinonas			-	-		
Antocianidinas			+	-		
Mucilagos					-	-

En la Tabla 3, se presentan las propiedades físicas determinadas en el aceite esencial de hojas y cálices.

Tabla 3. Rendimiento y características físicas del aceite esencial de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

Parámetro	Hojas	Cálices
Rendimiento (%)	0,88	1,24
Olor	Dulce, agradable	Dulce, agradable
Color	Amarillo	Amarillo
Índice de refracción	1,335	1,551
Densidad (g/mL)	0,938	0,777

La Tabla 4 resume la información obtenida del análisis antimicrobiano del

aceite esencial de hojas y cálices frente a diferentes microorganismos.

Tabla 4. Análisis antimicrobiano del aceite esencial de hojas (H) y cálices (C) de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

Microorganismo	Concentración (ppm)							
	1500		750		375		187	
	H	C	H	C	H	C	H	C
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+/-	+/-	+/-	-	+	-	+/-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+/-	-	-	-	-	+/-	-	+/-
<i>Streptococcus sp.</i>	+	+/-	+	+/-	+/-	+	+/-	+/-
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	+	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	+/-	-	+/-	+/-	+	+	+/-
<i>Proteus sp.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+

Control: Estreptomicina

Análisis cromatográfico del aceite esencial de hojas y cálices de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

El análisis cromatográfico del aceite esencial de cálices revela la presencia de dos grandes picos con tiempos

de retención de 12,213 y 13,718 minutos; en tanto que en el aceite esencial de las hojas se observaron también dos picos representativos por su tamaño, con una ligera variación en sus tiempos de retención (12,117 y 13,677 minutos)

DISCUSIÓN

La evaluación macromorfológica de las hojas y las observaciones registradas, se corresponden con las señaladas por Gupta (1995). Respecto a los cálices, la misma fuente se refiere a las flores frescas de la planta, estas no se observaron ni colectaron, debido a que el momento de la recolección no coincidió con la época de floración de la especie. El contenido de cenizas totales en hojas y cálices (4,78 y 2,8 % respectivamente) se encuentran dentro de los límites establecidos por Claus (1985) y de esos valores más del 50 % son solubles en agua en el caso de las hojas y casi la totalidad, 96,42 % en los cálices.

El contenido de humedad residual en hojas y cálices 8 y 12 % son valores comprendidos dentro del rango establecido para drogas vegetales por Miranda y Cuellar (2001) y Sharapin (2000).

Con los datos de densidad e índice de refracción se pueden hacer deducciones con respecto al tipo de compuestos presentes en el aceite. Densidades menores de 0,9 e índices de refracción menores de 1,47 sugie-

ren un alto porcentaje de hidrocarburos terpénicos o compuestos alifáticos. Si la densidad es mayor de 0,9 y el índice de refracción menor de 1,47 deben estar presentes compuestos oxigenados alifáticos. La densidad del aceite de las hojas de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. fué 0,938 g/mL y el índice de refracción 1,335. Los ensayos se realizaron por duplicado y no se consideró el cálculo de la desviación estándar por la similitud de los valores obtenidos.

Los resultados del tamizaje fitoquímico realizados en los extractos acuoso y alcohólico de las hojas y cálices permitieron identificar saponinas, azúcares reductores, fenoles y taninos y flavonoides. Investigaciones realizadas por Cárdenas *et al.* (2016), evidenciaron la presencia de flavonoides, saponinas, y alcaloides en el extracto etanólico de ramas y hojas de *Ocotea quixos*; la misma fuente reporta la presencia de cumarinas y quinonas a más de los metabolitos anteriores en el extracto acuoso. Las pruebas realizadas en el extracto etéreo fueron negativas en el presente estudio, la bibliografía no reporta

datos de la presencia de metabolitos en el extracto etéreo de hojas y cálices

El rendimiento del aceite esencial de cálices fue del 1,24 %, después de 2 horas de destilación, empleando los cálices troceados manualmente. Bruni (2002) reportó el 1,9 % de rendimiento mediante hidrodestilación acoplada al aparato comercial Clevenger después de 8 horas de destilación, Noriega (2008) reporta un rendimiento de 3 mL/10 kg de hojas frescas, en este estudio el rendimiento fue de 0,88 %.

La capacidad antimicrobiana del aceite esencial, se determinó a base del diámetro de los halos de inhibición medidos en mm y los datos estándares para interpretación de ensayos para susceptibilidad en discos de

difusión. Se identificó como Susceptible (S) si el halo es ≥ 10 mm, intermedio (I) si el halo alcanza valores de 7-9 mm y resistente (R) con halos de 6 mm.

Con este método se determinó la concentración mínima inhibitoria, CIM, de aceite esencial que se requiere para inhibir la actividad del microorganismo.

De acuerdo con los resultados del análisis cromatográfico, el aceite esencial de los cálices presentó dos picos de mayor altura, los tiempos de retención fueron de 12,213 y 13,718 y el aceite esencial extraído de las hojas presentó también dos picos con tiempos de retención muy cercanos a los anteriores 12,117 y 13,677.

CONCLUSIONES

Las hojas y los cálices de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. colectados en Archidona cumplen con las características morfológicas aceptadas para esta especie.

Los parámetros fisicoquímicos deter-

minados en este estudio concuerdan con los límites establecidos para drogas vegetales.

De acuerdo con el tamizaje fitoquímico realizado, se puede establecer que en los extractos alcohólico y

acuoso de las hojas y de los cálices, están presentes saponinas, azúcares, fenoles y taninos y flavonoides.

El estudio microbiológico indica que el aceite esencial obtenido de las hojas inhibe el crecimiento de *Bacillus subtilis* y el de los cálices inhibe el crecimiento de *Staphylococcus*

epidermidis. La concentración mínima inhibitoria en los dos casos es de 750 ppm.

Los resultados del análisis cromatográfico indican que las dos partes del material vegetal analizado presentan una composición química muy similar.

LITERATURA CITADA

- Coloma, L. (2002). Biodiversidad del Ecuador. *Diners*.
- CYTED. (1994). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo Manual de Técnicas de Investigación. Bogotá.
- Cárdenas-Tello, C., Pozo-Rivera, W., Almirall, E. y Roque, A. (2016). Fitoquímica de extractos de *Ocotea quixos* y *Piper carpunya*, potenciales fungocontroladores. *Quilias* 11: 56-83. ISSN: 1390-6569.
- Gupta, M. (1995). *270 Plantas Medicinales Iberoamericanas*. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo.
- MINSAP, Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) 309. 1991. "Droga Cruda. Métodos de ensayos", La Habana, Cuba.
- Miranda, M. y Cuellar, A. (2001). *Farmacognosia y Productos Naturales*. Editorial Félix Varela. Cuba.
- Miranda, M. y Cuellar, A. (2001). Manual de prácticas de laboratorio de Farmacognosia y productos naturales. Editorial MES. Cuba.
- Noriega, P. y Dacarro, C. (2008). Aceite foliar de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.: actividad antimicrobiana y antifúngica. *La granja*, 7(1), 3-8.
- Sacsquispe, R. y Velásquez; J. (2002). *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de discos de difusión*. Ministerio de Salud. Lima, Perú.
- Sharapin, N. (2000). Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. CYTED. Bogotá, Colombia
- White. A. (1982). *Hierbas del Ecuador: plantas medicinales*. Libri Mundi. The New York Botanical Garden; Ministerio de Cultura y Patrimonio: Red de Bibliotecas. Quito.