

Becaria: Gomez, Natalia Andrea

Informe de Beca de Entrenamiento

Becaria: Gomez, Natalia Andrea

Directora: Murray, Ana Paula

Título: Análisis de la calidad de aceites esenciales de orégano producido en el sudoeste bonaerense

Área temática: Física, Matemática, Química y Astronomía

Lugar de trabajo: Departamento de Química – Universidad Nacional del Sur

Periodo de Beca: octubre 2015 – septiembre 2016

Trabajo realizado

Se realizó un estudio cuyo objetivo fue evaluar la calidad de aceites esenciales de dos variedades de orégano cultivadas en Bahía Blanca, proporcionados por investigadores del Departamento de Agronomía. Las especies estudiadas fueron *Origanum vulgare spp vulgare*, denominado Don Bastías, y un híbrido, el ecotipo mendocino. Se realizaron cortes en los meses de diciembre de 2014 y 2015 para ambas especies y en marzo de 2015 y 2016 sólo para el ecotipo mendocino.

La calidad de los aceites esenciales se determina por su composición química, en el caso del orégano, los principales componentes son el timol y el carvacrol. Los aceites esenciales fueron obtenidos por hidrodestilación en un equipo tipo Clevenger y su composición se determinó utilizando un cromatógrafo gaseoso acoplado a un espectrómetro de masas (CG-EM).

Entre ambas especies se lograron identificar 42 compuestos, de los cuales, 36 son comunes a los aceites esenciales de las dos especies. El compuesto predominante fue el timol (1,2-35,3%), seguido de γ -terpineno (0,2-32,6%), p-ment-2-en-1-ol (3,8-31,9%), terpinen-4-ol (8,1-29,5%), p-cimeno (1,3-15,0%) y carvacrol (0-9,7%).

Los aceites esenciales estudiados, tanto las distintas variedades como los cortes realizados, poseían altas concentraciones de timol, por lo cual se puede concluir que son de buena calidad en comparación con otros oréganos, no solo a nivel nacional, sino también, internacional. Esto le permitiría ser utilizado por industrias farmacéuticas o alimenticias, ya que el timol posee propiedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas y otras.

Se escogió uno de los aceites esenciales, del que se disponía mayor cantidad, para realizar una separación de sus componentes. A esta muestra se la sometió a una cromatografía en columna de sílica gel. En esta cromatografía se logró aislar un compuesto puro e identificarlo como espatulenol utilizando ^1H -RMN. A dos fracciones de esta primera cromatografía se decidió efectuarles cromatografías tipo flash. En ellas, se obtuvieron los compuestos puros timol, nuevamente espatulenol y otro compuesto que no pudo ser identificado por la escasa masa. El timol fue identificado utilizando ^1H - y ^{13}C -RMN. Luego se realizó

Becaria: Gomez, Natalia Andrea

otra cromatografía en columna de sílica gel utilizando la misma muestra, donde se aislaron siete compuestos puros. De estos compuestos, se identificaron por RMN, timol, espatulenol, 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona (fitona), cariofileno e hidrato de cis-sabineno. Para este último, se obtuvieron espectros mono- (^1H , ^{13}C y DEPT) y bidimensionales (COSY, NOESY, HSQC, HMBC) de RMN.

Instrumental y métodos

Cromatografía gaseosa acoplada a espectrómetro de masas:

En cromatografía de gases, la muestra se inyecta en la fase móvil, la cual es un gas inerte (He). En esta fase, los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna. Cada soluto presente en la muestra tiene una diferente afinidad hacia la fase estacionaria, lo que permite su separación. El espectrómetro de masas, además de proporcionar los espectros, actúa como detector cromatográfico.

Los análisis de cromatografía gaseosa – espectrometría de masa se realizaron en un cromatógrafo de gases Agilent GC 7890B acoplado detector selectivo de masas 5977A, equipado con una columna capilar (HP-5, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m), usando helio como gas carrier (1mL/min). Los espectros de masa se registraron a 70 eV.

Cromatografía en columna:

Es una técnica de purificación que utiliza una columna de vidrio vertical que se llena con un soporte sólido adsorbente. La muestra que se quiere separar se deposita en la parte superior de este soporte. El resto de la columna se llena con el eluyente (disolvente que constituye la fase móvil) que, por efecto de la gravedad se desplaza a través de la columna. La separación de los componentes se basa en la diferente afinidad de los mismos por las fases móvil y estacionaria. En general, la fase estacionaria debe tener polaridad semejante a la de los analitos y la fase móvil se escoge de diferente y variable polaridad.

Las cromatografías realizadas fueron de fase normal, es decir, que la fase estacionaria era polar y la fase móvil, poco polar. Para la fase estacionaria se utilizó silica gel 60 (70-230 mesh) o silica de 200-450 mesh para las de tipo flash. Como eluyentes se utilizaron mezclas de hexano y acetato de etilo de polaridad creciente.

Cromatografía en capa fina:

La cromatografía en capa fina (CCF) es una técnica analítica y tiene como objetivo el análisis de una mezcla de componentes. En la CCF, la fase

estacionaria consiste en una capa delgada de un adsorbente depositada sobre un soporte plano. La muestra a analizar se deposita cerca de un extremo de una lámina que se coloca en una cubeta cerrada que contiene uno o varios disolventes mezclados (fase móvil). A medida que la mezcla de disolventes asciende por capilaridad a través del adsorbente, se produce un reparto diferencial de los productos presentes en la muestra entre el disolvente y el adsorbente.

Para las CCF se utilizaron cromatofolios de silica gel 60 F₂₅₄ con soporte de aluminio, con un espesor de capa de 0,2 mm, de 20x20. Como solventes eluyentes se utilizaron mezclas de hexano y acetato de etilo o tolueno y acetato de etilo. Para el revelado de las placas de cromatografía en capa fina se utilizó una solución de *p*-anisaldehído [p-anisalaldehído:H₂SO₄:AcOH glacial:etanol 5:5:1:90 (v/v)] y posterior calentamiento con pistola de aire caliente.

Resonancia magnética nuclear:

La resonancia magnética nuclear (RMN), es una técnica física, que se basa en las propiedades mecánico cuánticas que poseen los núcleos atómicos. Esta técnica espectroscópica puede utilizarse sólo para estudiar núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones (o de ambos). Esta situación se presenta en los átomos de ¹H, ¹³C, ¹⁹F y ³¹P. Los espectros de RMN proporcionan una gran información estructural, permitiendo deducir la estructura de los compuestos.

Los espectros de RMN fueron obtenidos en un espectrómetro multinuclear BRUKER ARX a 300 MHz para ¹H y a 75 Mhz para ¹³C, utilizando como solvente deuterado CDCl₃ y TMS como patrón interno.

Hidrodestilación en equipo tipo Clevenger

Es un proceso para obtener el aceite esencial de una planta aromática, mediante el uso del vapor saturado a presión atmosférica. Es el método más utilizado para la obtención de aceites esenciales. El equipo está compuesto por un recipiente de vidrio donde se deposita la materia prima molida y un balón del mismo material donde se coloca agua. El agua se calienta a ebullición y por arrastre de vapor se extrae el aceite esencial de la planta que se recoge en la zona de condensación del equipo.