

Influencia de la fertilización nitrogenada sobre la composición química del aceite esencial de albahaca blanca (*Ocimum basilicum* L.)

*Influence of the nitrogen fertilization on chemical composition of the essential oil of white basil (*Ocimum basilicum* L.)*

MSc. Jany Fernández-Delgado^I, Malorie Gely^{II}, Dr. Alain Ratnadass^{III}, Dr. Chantal Menu^{II}, Dra. C. María Isabel Hernández-Díaz^I.

agroecologia@liliana.co.cu

^IInstituto de Investigaciones Hortícolas “Liliana Dimitrova” (IIHLD), Mayabeque, Cuba. ^{II}Institut des Biomolécules Max Mousseron, Facultad de Farmacia, Montpellier, Francia. ^{III}Cirad, UPR HortSys, Montpellier, Francia

Recibido: 17 de enero de 2017

Aprobado: 3 de mayo de 2017

Resumen

La composición química del aceite esencial de albahaca blanca, cultivada con diferentes niveles de nitrógeno fue estudiada por cromatografía de gases-detector de ionización de llama, (GC/FID) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). La extracción del aceite esencial se realizó a muestras de hojas frescas y secas, obteniéndose una disminución significativa en el rendimiento y en el contenido de ciertos compuestos tales como el eugenol en las muestras secas. Los resultados muestran además que un enriquecimiento del suelo con nitrógeno no tiene efecto significativo sobre el rendimiento o la composición química del aceite esencial.

Palabras clave: *Ocimum basilicum* L., aceite esencial, fertilización.

Abstract

Chemical composition of essential oil of white basil, grown with different nitrogen levels it was studied by gas chromatography-flame ionization detector (GC/FID) and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). The extraction of the essential oil was carried out to samples of fresh and dry leaves, being obtained a significant decrease in the yield and in the content of certain compounds such as the eugenol in the dry samples. The results also show that soil enrichment with nitrogen doesn't have significant effect on the yield or the chemical composition of essential oil.

Keywords: *Ocimum basilicum* L., essential oil, fertilization.

Introducción

El género *Ocimum* incluye aproximadamente 150 especies, con una gran variación en el fenotipo, rendimiento de aceite esencial, composición y actividad biológica [1]. Entre todas las especies, la albahaca blanca (*Ocimum basilicum* L.) es de gran aprecio por los consumidores debido a su aroma, propiedades medicinales y sabor característico [2].

Los mayores componentes de los aceites de *O.basilicum* son: metil-chavicol (estragol), cinamato de metilo, metil-eugenol, eugenol, linalol y geraniol [3]. En dependencia de las variaciones en su composición química existen diferentes quimiotipos que definen la dependencia del uso de este aceite en la industria alimentaria, de los cosméticos, en la medicina y en la agricultura [4].

Así mismo, los compuestos químicos de esta especie pueden verse influenciados por la variedad, las condiciones agroclimatólogicas, el estatus nutricional de las plantas, el estado de desarrollo vegetativo y la parte de la planta analizada [5]. Es por ello que el objetivo de este trabajo es estudiar la influencia de la fertilización nitrogenada sobre la composición química del aceite esencial de albahaca blanca (*Ocimum basilicum* L.)

Materiales y métodos

El material empleado, albahaca blanca variedad 'Genovesa', fue cultivado en macetas en la Unidad de Investigaciones de Hortalizas del CIRAD, bajo condiciones controladas de temperatura (28 ± 5 °C) y humedad (65 %). Se estudiaron tres niveles de fertilización, T0 Sin fertilizar (testigo absoluto), T1 50 % de la fertilización nitrogenada (60 kg/ha de N) y T2 100 % de fertilización nitrogenada (120 kg/ha de N), los cuales se distribuyeron en cinco bloques completamente al azar.

Los análisis de laboratorio se hicieron en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Montpellier. Las muestras analizadas para cada tratamiento estuvieron conformadas por hojas provenientes de tres plantas en estado fresco y seco.

Método de extracción

Para la extracción del aceite esencial las muestras se sometieron a hidrodestilación con cohobación (2 L de agua destilada; 3 h de reflujo) usando un equipo Clevenger.

Dadas las pequeñas cantidades de plantas tratadas, los compuestos volátiles arrastrados por el vapor, fueron atrapados en la columna de refrigerado, en 2 mL de una solución de

hexano que contenía un patrón interno, tridecano, a 10 g/L. Estas fracciones orgánicas se decantaron y se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro antes del análisis.

Métodos analíticos

Los componentes volátiles fueron analizados por cromatografía de gases (detector de ionización de llama) (GC/FID) y por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS).

Cromatografía de gases (GC/FID)

Los análisis se realizaron en un cromatógrafo de gases modelo Varian (serie CP-3380) acoplado a un detector de ionización de llama, equipado con una columna capilar de sílice fundida: HP-5 Agilent J & W (5 % fenil metil-polisiloxano) (30 m x 0,25 mm de diámetro. x 0,25 μ m). Se usó el nitrógeno como gas portador con una velocidad de flujo de 0,8 mL/min. El inyector se mantuvo a una temperatura de 200 °C y el detector a una de 230 °C. La inyección se realizó en modo split (cociente de fugas: 1: 100) con 1,5 μ L de la solución de aceite esencial recogida después de la destilación al vapor.

Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS)

Los espectros de masa se realizaron en un equipo Hewlett-Packard (GC 5890 serie II), equipado con una columna capilar HP-5 no polar de sílice fundida (5 % de fenilo y 95 % de siloxano de metilo) y una columna Carbowax (30 m x 0,25 mm de diámetro x 0,25 μ m), polar.

Identificación y análisis cuantitativo

La identificación de los compuestos se realizó comparando los índices de retención relativo (LRI) con el tiempo de retención de una serie de n-alcanos (C9-C20) y un examen de los espectros de masas obtenido por GC/MS. Los datos se comparan con los de la literatura [6] y de la base de datos [7].

El análisis cuantitativo se realizó a partir de los datos obtenidos por GC/FID. Los porcentajes se obtuvieron por integración electrónica del área de los picos, suponiendo que el factor de respuesta es igual a uno, para todos los compuestos detectados (Normalización interna).

Se calcularon los rendimientos de aceites esenciales basado en la cantidad de patrón interno (tridecano) utilizada en la destilación de vapor.

Resultados y discusión

Los rendimientos del aceite esencial obtenidos de albahaca blanca var. Genovesa varían en dependencia del tipo de muestra evaluada. Se observa una pérdida de casi el 50 % entre las muestras frescas y las secas (tabla 1).

Sin embargo, al comparar estos rendimientos con respecto a los tres niveles de fertilización estudiados los resultados son semejantes, por lo que la adición de nitrógeno mineral al suelo no parece influir en el rendimiento del aceite esencial. Estos resultados son similares a los reportados por Ramírez *et al.* [8] quienes no encontraron diferencias significativas en el rendimiento del aceite esencial al comparar tres niveles de fertilización (un testigo sin fertilizar y dos tratamientos con fuentes orgánicas e inorgánicas).

TABLA 1. RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL DE ALBAHACA BLANCA

Rendimiento (%)	T0 (testigo)		T1 (60 kg N/ha)		T2 (120 kg N/ha)	
	Muestra Fresca	Muestra Seca	Muestra Fresca	Muestra Seca	Muestra Fresca	Muestra Seca
Seco		0,026		0,037		0,038
Fresco	0,058	0,021	0,052	0,028	0,052	0,031

En la caracterización química del aceite esencial de las hojas de albahaca blanca se encontraron 52 compuestos, de los cuales se identificaron 51. Se destacaron cuatro compuestos mayoritarios por igual tanto en muestras frescas, como secas: linalol, eugenol, 1,8-cineol y (E) - α -bergamoteno (tabla 2). Estos resultados se corresponden con los obtenidos por Rojas *et al.* [9] quienes identificaron dentro de los componentes mayoritarios de esta especie el linalol, eugenol y el 1,8 cineol.

Este tipo de composición química donde el monoterpeno oxigenado linalol presenta una abundancia relativa superior al 20 % sugiere que *Ocimum basilicum* L. var. 'Genovesa' corresponde al quimiotipo rico en linalol [10].

**TABLA 2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE
ALBAHACA BLANCA**

Componente	Muestras Frescas (%)		Muestras Secas (%)			
	T0	T1	T2	T0	T1	T2
α -pineno	0,4	0,4	0,5	0,2	0,7	0,7
Sabineno	0,4	0,7	0,7	0,2	0,7	0,7
β -pineno	0,7	1,0	0,9	0,3	1,5	1,6
Mirceno	0,8	1,1	1,2	0,5	1,5	1,5
Limoneno	0,3	0,3	0,4	0,2	0,4	0,6
1,8-cineol	7,4	9,9	8,2	6,3	14,2	14,8
(Z)- β -ocimeno	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(E)- β -ocimeno	1,3	3,2	2,4	0,3	0,4	0,3
γ -terpineno	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6
Hidrato de Cis - sabineno	0,3	0,4	0,3	0,3	0,6	0,0
Terpinoleno	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1
Linalol	37,2	29,6	37,5	45,5	46,9	45,6
Alcanfor		0,0	0,4	0,0	0,0	0,7
Borneol	0,5	0,3	0,2	0,5	0,4	0,6
Terpinen-4-ol	0,1	0,1	0,1	0,2	0,0	0,1
α -terpineol	0,9	1,1	0,8	1,2	1,5	1,5
Acetato de octilo	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3
Geraniol	0,4	0,1	0,1	0,3	0,3	0,3
Geranial	0,1	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0
Acetato de Isobornilo	0,4	0,0	0,1	0,7	0,0	0,6
Tridecano						
Eugenol	28,3	30,6	28,2	7,3	3,9	3,0
α -copaeno	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
(E)- β -damasceno		0,0	0,0	0,2	0,0	0,0
β -elemeno	0,4	0,6	0,5	0,7	0,6	0,4
Metil eugenol	0,9	0,3	0,7	1,2	0,3	1,2
(Z)- α -bergamoteno	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
(E)- β -cariofileno	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,0
(E)- α -bergamoteno	6,9	8,3	5,8	12,3	8,6	8,4
Aromadendreno	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,3
(Z)- β -farneseno		0,1	0,0	0,2	0,0	0,0
α -humuleno	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
(E)- β -farneseno	0,4	0,6	0,2	0,7	1,0	0,7
Cis-cadina-1(6),4- diene	0,3	0,4	0,2	0,5	0,6	0,4
α -acoradieno	0,3	0,3	0,1	0,3	0,3	0,1
Germacreno-D	2,0	3,2	2,7	2,4	2,0	1,6
Biciclogermacreno	0,7	0,6	0,6	0,5	0,4	0,3
α -bulneseno	0,5	0,7	0,4	0,8	0,7	0,6
γ -cadineno	1,5	1,4	1,0	2,5	1,4	1,6
β -sesquifelandreno	0,4	0,6	0,4	0,8	0,6	0,6
10-epi-cubebol	0,1	0,1	0,1	0,2	0,0	0,0
Trans-nerolidol	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
Spathulenol		0,0	0,0	0,3	0,4	0,4
NI		0,0		0,2	0,1	0,1
1,10-di-epi-cubenol	0,4	0,3	0,3	0,7	0,4	0,4

(continuación tabla 2)

α -muurolol	2,9	2,1	1,6	5,0	3,8	3,6
α -eudesmol		0,0	0,0	0,2	0,0	0,1
α -cadinol	0,1	0,1	0,3	0,2	0,3	0,3
α -bisabolol		0,0	0,0	0,2	0,1	0,1
Phytone		0,0	0,0	0,2	0,0	0,0
Acido Palmítico		0,0	0,0	0,2	0,0	0,0
Fitol	0,8	0,6	1,1	4,3	3,9	4,2
% Total identificado	99,3	99,9	99,2	99,8	99,9	99,7

T0 (Testigo); T1 (60 kg N/ha); T2 (120 kg N/ha)

Al analizar la concentración de los compuestos mayoritarios en los tratamientos estudiados en muestras frescas se pudo observar que el eugenol, 1,8 cineol y (E)- α -bergamoteno alcanzaron valores superiores cuando se aplicó el 50 % de la fertilización nitrogenada, contrario a lo ocurrido con el linalol. Sin embargo, en las muestras secas cuando se incrementó los niveles de fertilizantes el eugenol y el (E)- α -bergamoteno disminuyeron su concentración, el 1,8 cineol aumentó y el linalol mantuvo un comportamiento similar (figura 1).

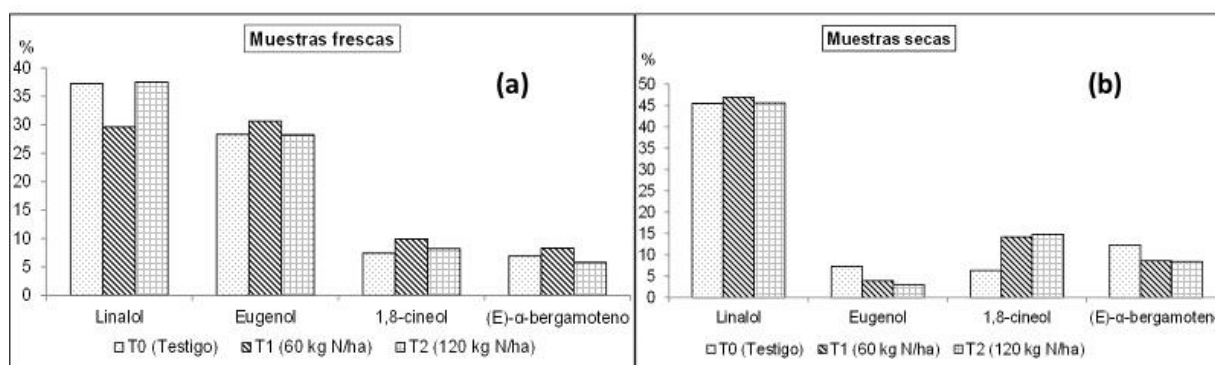


Fig. 1. Porcentaje de concentración de los compuestos mayoritarios en muestras frescas (a) y secas (b) por tratamiento

Desde una perspectiva cualitativa, la composición química de los aceites esenciales es casi idéntica, ya que se han encontrado los mismos compuestos independientemente del tipo de muestra (ya sea fresca o seca). En nivel cuantitativo, se observa en la desecación, un aumento en el porcentaje relativo de los compuestos más pesados, (E)- α -bergamoteno, (E)- β -farneseno, γ -cadinneno, α -muurolol, Fitol, y una pérdida de algunos de los productos más volátiles (en su mayoría eugenol). Se observa que no hay cambios significativos en los porcentajes de cada compuesto entre tratamientos.

Conclusiones

El enriquecimiento de nitrógeno en el suelo no parece influir significativamente sobre el rendimiento y el perfil químico de los aceites esenciales de la albahaca blanca. Se identificaron 51 compuestos, destacándose como mayoritarios el linalol, eugenol, 1,8-cineol y (E)- α -bergamoteno los cuales pudieran constituir un potencial de interés en los programas de manejo de suelos y plagas.

Referencias bibliográficas

1. ZHELJAZKOV, V. D. *et al.* "Content, composition, and bioactivity of the essential oils of three basil genotypes as a function of harvesting". *Journal Agric Food Chem.* 2008, **56** (2), 380-385.
2. KOKA, K. *et al.* "Chemical composition and antimicrobial properties of different basil essential oils chemotypes from Togo". *Bangladesh Journal Pharmacol.* 2009, **4**, 1-8. ISSN: 1991-007X
3. WOSSA, S. W.; RALI, T.; LEACH, D. N. "Volatile chemical constituents of three *Ocimum* species (Lamiaceae) from Papua New Guinea". *The South Pacific Journal of Natural Science.* 2008, **26**, 25-27.
4. DAMBOLENA, J. S. *et al.* "Essential oils composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisin production by *Fusarium verticillioides*". *Innovative Food Science and Emerging Technologies.* 2010, **11** (2), 410-414.
5. KLIMANKOVA, E. *et al.* "Aroma profiles of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown under conventional and organic conditions". *Food Chemistry.* 2008, **107** (1), 464-472.
6. ADAMS, R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry.* 4ta edición. Allured publishing corporation, Carol Stream, IL, 2007.
7. NIST. *EPA/NIH Mass Spectral Library Upgrade provided by Hewlett Packard with the GC/MS control and data processing software.* 7th Ed. 1998.
8. RAMÍREZ, R. *et al.* "Relación entre la composición química y la actividad antioxidante del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. cultivado bajo diferentes tratamientos de fertilizantes". *Revista. Cubana de Plantas Medicinales.* 2013, **8** (1), 47-56.

9. ROJAS, M. *et al.* “Caracterización química y actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. y *Ocimum basilicum* var. *genovese*. L”. *Rev. Protección Veg.* 2012, **27** (2), 130-134.
10. LAWRENCE, B. M. “Progress in essential oils”. *Perfumer & Flavorist.* 1992, **17**, 45-56.