

CONTENIDO DE ACEITE ESENCIAL Y ALCALOIDES EN DIFERENTES POBLACIONES DE BOLDO (*Peumus boldus* Mol.)

ESSENTIAL OIL AND ALKALOID CONTENTS OF DIFFERENT POPULATIONS IN BOLDO (*Peumus boldus* Mol.)

HERMINE VOGEL, IVAN RAZMILIC B. Y URSULA DOLL

Universidad de Talca
Casilla 747, Talca, Chile

Summary

Boldo (*Peumus boldus* Mol.) is a medicinal plant native of Chile. Its leaves, which contain essential oils and alkaloids, are collected from the wild to satisfy national and international demand for this drug. Variation of the essential oil and alkaloid concentrations among different populations was studied: from North to South (Vth, VIIth, and IXth regions of Chile), and from West to East (coast, central valley and a mountain site, VIIth region). Seasonal variation in essential oil and alkaloid concentration and in the composition of essential oils, particularly in limonene and terpinen-4-ol was observed. The population of the South showed the lowest essential oil and alkaloid concentrations, while the populations of the North and the Center had the highest alkaloid and essential oil concentration, respectively. From West to East the population located in the Central Valley showed both, highest essential oil and alkaloid concentration. Essential oil composition varied in proportion of limonene, 1,8-cineole, and ascaridol among the populations, while no difference among collecting sites could be observed in the percentage of α -terpineol and terpinen-4-ol.

INTRODUCCION

El boldo (*Peumus boldus* Mol.) es una especie nativa de Chile, que por su contenido de aceite esencial y alcaloides tiene propiedades medicinales reconocidas en muchos países del mundo (Pabst, 1887; Montes y Wilkomirsky 1977, 1987; Wagner, 1988). Los volúmenes de exportación de hojas de boldo deshidratadas logran valores de aproximadamente 875 t como promedio anual de los últimos once años. Las normas de calidad en hojas de boldo exigen clasificaciones según el color, presencia de daños o contenido de humedad (SAG, 1975), pero no se estipulan valores mínimos en los principios activos.

Montes et al. (1992) informan sobre concentraciones de aceite esencial y alcaloides en hojas de boldo entre 1-2% y 0,2 - 0,5%, respectivamente. Trabajos anteriores hablan de un 2 - 2,6% de aceite esencial y entre 1-3% de alcaloides (Pabst, 1887; Montes y Wilkomirsky, 1977; Wagner, 1988). Montes y Wilkomirsky (1977) identificaron como componentes del aceite esencial: cineol (30%),

ascaridol (45%), terpineol, p-cimol, eugenol y α -pineno.

Para establecer normas de calidad respecto a estos compuestos activos es necesario conocer la variabilidad existente en hojas de boldo. En el presente trabajo se estudian diferencias entre poblaciones y variaciones estacionales de las concentraciones de aceite esencial y alcaloides, además de los componentes mayoritarios del aceite esencial.

MATERIALES Y METODOS

Ubicación geográfica de las poblaciones de boldo en estudio

En el presente trabajo se estudiaron tres diferentes poblaciones de boldo de alta densidad: en el Norte de su hábitat (Cuesta La Dormida, V Región), en el Sur (Galvarino, IX Región) y en el Centro (Pencahue, VII Región).

Dentro de la Séptima Región se eligieron otras tres poblaciones, ubicadas en la costa, a orillas del mar (Constitución), en el Valle Central (San Rafael) y

en la Precordillera (Lago Colbún) donde se realizó el estudio de la fluctuación anual de las concentraciones de alcaloides y aceite esencial, además del comportamiento de los componentes mayoritarios de este último.

Diseño experimental

Para evaluar la fluctuación anual del contenido de principios activos se realizó un ensayo en tres localidades ubicadas en la VII Región (Constitución, San Rafael y Lago Colbún) considerados como bloques. En cada una de las poblaciones se eligieron tres individuos al azar. Se tomaron muestras de hojas en nueve fechas consecutivas, cada seis semanas durante un año, desde Mayo 1995 hasta Abril 1996, que se consideraron como tratamientos. Estas muestras se sometieron a los análisis de concentración del aceite esencial y alcaloides y un análisis cuantitativo de los componentes mayoritarios del aceite esencial.

En un segundo ensayo se tomaron muestras de las poblaciones Norte, Sur y Centro (tratamientos) en un diseño completamente al azar, en 30 individuos por localidad (repeticiones), para determinar si hay diferencias en la concentración de alcaloides y aceite esencial y sus componentes mayoritarios entre estas poblaciones distantes.

Todos los valores obtenidos se evaluaron estadísticamente mediante el programa computacional STATGRAFICS.

Análisis químico

El aceite esencial se extrajo por destilación por arrastre de vapor en hojas frescas, según la Farmacopea Europea III, 1978. Se fijó como tiempo estándar de extracción 60 minutos por muestra y el contenido de aceite esencial se midió directamente en la bureta graduada del equipo de extracción. Los valores obtenidos son expresados en ml/100 g de materia seca.

La composición del aceite esencial extraído se analizó mediante cromatografía gaseosa (Shimadzu GC-9A y Hewlett-Packard HP 5890; columna HP-5 de 30 m de longitud; 0,32 mm de diámetro interno y 0,25 μ m). Se utilizó una rampa de temperatura de 60°C hasta 250°C, con una velocidad de 10°/min, temperatura del inyector 250°C, gas de arrastre Helio (33 cm/seg) y detector FID. El volu-

men de inyección fue de 1 μ l en modo con división (65:1). Los componentes mayoritarios se identificaron mediante co-cromatografía con los respectivos patrones y mediante análisis GC-EM (HP 5890 serie II, detector HP-5972, condiciones indicadas anteriormente).

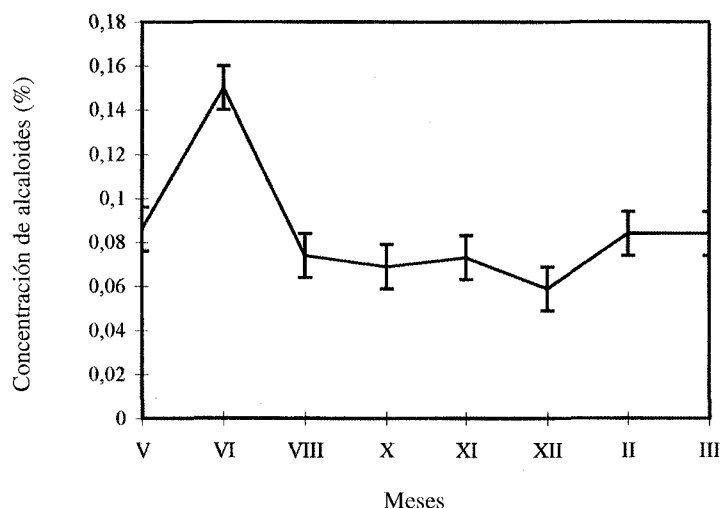
Para el análisis de alcaloides las hojas se secaron a 40° - 45°C. Se extrajo bajo reflujo 1 g de hojas molidas por 10 min con HCl 0,1 N, agregando buffer citrato pH 5,6 y solución indicadora de negro de eriocromo T. Se extrajo con cloroformo y la concentración de alcaloides se determinó fotométricamente a 520 nm (Franz y Koehler, 1992).

RESULTADOS

Uno de los factores ambientales que altera los contenidos de principios activos en hojas de boldo es la estación del año. Un máximo significativo en la concentración de alcaloides fue observado en invierno durante el mes de Junio, momentos antes de la floración cuando los árboles presentan sus yemas florales ya desarrolladas (Figura 1). Esta medición se repitió al año siguiente (Junio de 1996) confirmando el presente resultado. La concentración de aceites esenciales mostró un mínimo significativo durante el mes de Diciembre (verano) (Figura 2).

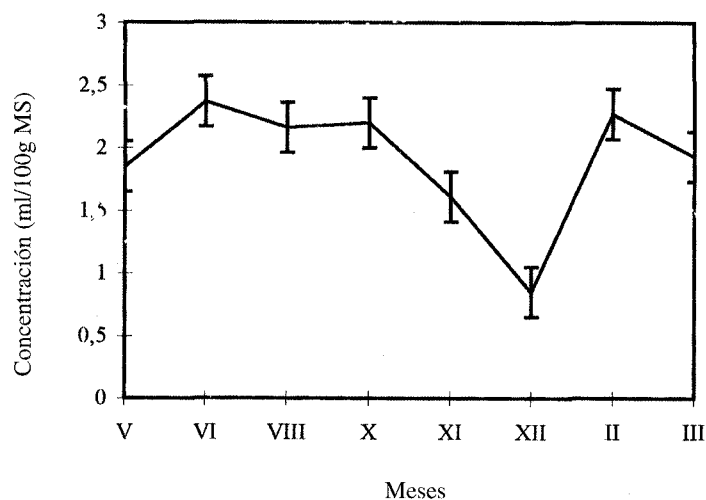
Los componentes 1,8-cineol, α -terpineol y ascaridol del aceite esencial se mantuvieron sin cambio significativo durante el año. El porcentaje de limoneno mostró solamente diferencias significativas entre la colecta de Agosto, con un 25,0%, y de Febrero, con un 3,1%. El porcentaje de terpinen-4-ol logró un máximo en Diciembre, formando una diferencia significativa en los valores obtenidos durante los meses Mayo hasta Octubre (Cuadro 1).

En el porcentaje de los componentes mayoritarios en el aceite esencial se observaron diferencias significativas entre las tres poblaciones. Los mayores valores de limoneno y 1,8-cineol se encontraron en Galvarino (Sur), presentando esta población a la vez los menores porcentajes en ascaridol. El mayor porcentaje de ascaridol mostró la población del Norte (Cuesta La Dormida). Las correlaciones entre los diferentes componentes no fueron significativas.

**FIGURA 1**

CONCENTRACION DE ALCALOIDES EN HOJAS DE BOLDO EN EL CURSO DE UN AÑO.

Alkaloid concentration in boldo leaves in the course of the year.

**FIGURA 2**

CONCENTRACION DE ACEITE ESENCIAL EN EL CURSO DE UN AÑO.

Essential oil concentration in boldo leaves in the course of the year.

Entre las poblaciones ubicadas en la Costa, en el Valle Central y en la Precordillera la localidad "Constitución" mostró las menores concentraciones de aceite esencial y "Lago Colbún" las concentraciones de alcaloides más bajas (Cuadro 2).

En la composición del aceite esencial el porcentaje de limoneno encontrado en San Rafael difirió estadísticamente con el valor de Constitución, con 21,9% y 10,1%, respectivamente. Los componen-

tes 1,8-cineol, α -terpineol, terpinen-4-ol y ascaridol no presentaron diferencias significativas entre estas poblaciones (Cuadro 2).

Entre las poblaciones Norte, Centro y Sur los árboles del Centro ("Pencahue") presentaron valores de aceite esencial significativamente más altos que las demás localidades, mientras que los individuos del Norte ("Cuesta La Dormida") tenían las mayores concentraciones de alcaloides.

CUADRO 1**COMPONENTES MAYORITARIOS DEL ACEITE ESENCIAL EXTRAIDO DE HOJAS DE BOLDO EN DIFERENTES EPOCAS DE COSECHA***Principal components of the essential oil in boldo leaves at different harvest times*

Mes	Porcentaje de componentes mayoritarios en el aceite esencial				
	Limoneno *	1,8-Cineol	α -Terpineol	Terpinen-4-ol *	Ascaridol
Mayo	18,0 abc	8,2	1,9	1,1 a	40,0
Junio	22,6 c	8,2	2,2	1,1 a	38,4
Agosto	25,0 c	8,1	2,1	1,4 a	36,3
Octubre	17,1 bc	14,9	2,9	2,4 ab	37,1
Noviembre	24,1 c	6,4	3,4	3,4 ab	36,0
Diciembre	6,0 ab	12,6	4,3	6,4 c	36,4
Febrero	3,1 a	19,1	9,6	4,3 bc	26,3
Marzo	4,9 ab	11,3	11,1	3,1 ab	40,7

* Diferencia significativa entre fechas; valores seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente según test Tukey con $p \leq 0,05$.**CUADRO 2****CONTENIDO DE ALCALOIDES Y ACEITE ESENCIAL Y SUS COMPONENTES MAYORITARIOS EN HOJAS DE BOLDO PROVENIENTE DE DIFERENTES POBLACIONES***Alkaloid concentration and content of essential oil and its principal components in different populations of boldo.*

Localidad	Concentración de alcaloides (%)	Concentración de aceite esencial (ml/100 g MS)	Porcentaje de los componentes mayoritarios del aceite esencial (%)				
			Limoneno	1,8-Cineol	α -Terpineol	Terpinen-4-ol	Ascaridol
VII Región: Costa - Pre-cordillera - Valle Central							
Constitución	0,10 b	1,31 a	10,1 a	11,3 a	5,7 a	3,6 a	32,5 a
Lago Colbún	0,06 a	2,18 b	13,3 ab	8,1 a	3,5 a	2,9 a	41,8 a
San Rafael	0,10 b	2,22 b	21,9 b	14,0 a	5,1 a	2,3 a	34,8 a
Poblaciones: Norte - Centro - Sur							
La Dormida	0,30 b	1,21 a	6,4 a	7,5 a	3,9 a	2,2 a	58,1 b
Pencahue	0,21 a	1,98 b	4,8 a	9,4 ab	4,8 a	5,3 a	50,3 b
Galvarino	0,20 a	1,26 a	15,3 b	14,2 b	5,3 a	5,1 a	29,9 a

Columnas seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente según test Tukey con $p \leq 0,05$ **DISCUSION**

La mejor fecha de cosecha en términos del contenido de principios activos sería el mes de Junio cuando se logra el máximo en la concentración de alcaloides y, a la vez, los contenidos de aceite esencial son altos. El mínimo en la concentración

observado en el mes de Diciembre coincide con el informado por Montes et al. (1980) en Noviembre, sin embargo, estos autores encontraron otro mínimo en el mes de Junio sin poder reforzar este resultado estadísticamente.

La fluctuación anual del componente terpinen-4-ol

muestra contenidos bajos durante el invierno y principios de primavera para aumentar y lograr un máximo en Diciembre. A partir de este momento vuelve a disminuir hasta Marzo, mes en que se presentan valores similares a los encontrados en Noviembre. Este comportamiento se podría interpretar como efecto de la temperatura o de la luz.

Los valores de cineol de todas las muestras fueron considerablemente menores a los informados por Montes y Wilkomirsky (1977) y Montes *et al.* (1980). Este hecho puede deberse al empleo de diferentes métodos de identificación. Al momento no se puede decir cuáles componentes del aceite esencial representan una mejor calidad de la hoja de boldo.

En los ensayos ubicados en la Costa, el Valle Central y la Precordillera, la población de San Rafael mostró los valores más altos tanto en la concentración de aceite esencial como en los alcaloides. Esto indica que ambos caracteres de calidad son combinables. En el análisis de las poblaciones del Norte hasta el Sur, la proveniente de Pencahue tenía la más alta concentración de aceite esencial y aquella muestreada en la Cuesta La Dormida de alcaloides, siendo Galvarino la localidad con contenidos mínimos tanto en alcaloides como en aceites esenciales.

Esta última población presentaba diferencias significativas respecto a la composición del aceite esencial con los valores más altos de limoneno y los porcentajes más bajos de ascaridol, fenómeno observado también en uno de los árboles en Constitución. Sin embargo, un análisis de correlación no demuestra relaciones directas entre los diferentes compuestos del aceite esencial.

Toda diferencia entre poblaciones encontrada en el presente estudio se basa en la variación fenotípica incluyendo los respectivos efectos ambientales como el clima y el suelo.

CONCLUSIONES

Para obtener altas concentraciones tanto de aceite esencial como de alcaloides, la fecha indicada de cosecha sería el mes de Junio. En Diciembre las

concentraciones de ambos compuestos son las más bajas durante todo el año.

La composición del aceite esencial muestra fluctuaciones estacionales en los componentes limoneno y terpinen-4-ol, mientras los porcentajes de 1,8-cineol, α -terpineol y ascaridol se mantienen constantes durante todo el año. Sin embargo, a la fecha no se puede decir cuál sería la composición óptima del aceite esencial.

Las diferencias entre poblaciones son significativas, presentando Pencahue (VII Región) las mayores concentraciones de aceite esencial y Cuesta La Dormida (V Región) de alcaloides. Dentro de la VII Región la población del Valle Central (San Rafael) reúne altas concentraciones de aceite esencial y alcaloides.

RESUMEN

El boldo (*Peumus boldus* Mol.), componente de los bosques esclerófilos de Chile, es una de las especies nativas más explotadas para el uso medicinal tanto a nivel nacional como internacional. Las hojas de boldo contienen aceites esenciales y alcaloides como principios activos. En el presente trabajo se estudian la fluctuación anual de los contenidos de estos productos naturales y diferencia entre algunas poblaciones en el país desde el Norte hasta el Sur de su hábitat natural y, en la VII Región, desde la Costa hasta la Cordillera.

El contenido de aceites esenciales y alcaloides dentro de las poblaciones sufre variaciones en el curso de un año, con las concentraciones más altas en invierno, en alcaloides específicamente durante el mes de Junio.

Entre las poblaciones se detectaron diferencias significativas, presentando la población del Sur (IX Región) los menores contenidos de alcaloides y aceite esencial, pero rico en limoneno y 1,8-cineol, mientras las poblaciones del Norte (V Región) y del Centro (VII Región) tenían las mayores concentraciones de alcaloides y aceites esenciales, respectivamente, con mayores porcentajes de ascaridol. Dentro de la VII Región la población ubicada en la Costa presentó las menores concentraciones de aceite esencial y la de la Precordillera las concentraciones de alcaloides más bajas.

BIBLIOGRAFIA

- FRANZ, G. y H. KOEHLER. 1992. Drogen und Naturstoffe. Springer-Verlag, Berlin, New York, p.39-41.
- MONTES, M. y T. WILKOMIRSKY. 1977. Plantas chilenas en medicina popular, Ciencia y Folklore. Ed. Universidad de Concepción, p. 31-39.
- MONTES, M., T. WILKOMIRSKY y L. VALENZUELA. 1980. Aceite esencial de hojas de boldo (*Peumus boldus* Mol.) Rendimiento y variación estacional. An. Real. Acad. Farm. 46: 325-334.
- MONTES, M. y T. WILKOMIRSKY. 1987. Medicina tradicional chilena. Ed. Universidad de Concepción, p. 120.
- MONTES, M., T. WILKOMIRSKY y L. VALENZUELA. 1992. Plantas medicinales. Ed. Universidad de Concepción, p. 141.
- PABST, G. (Ed.). 1887. Köhler's Medizinal Pflanzen. Verlag Eugen Köhler, Alemania, p. 163-167.
- SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO. 1975. Norma chilena de exportación; requisitos para hojas de boldo de exportación.
- VOGEL, H., I. RAZMILIC, U. DOLL y R. RUIZ. 1996. Variability of some active compounds in boldo (*Peumus boldus* Mol.). Beiträge zur Züchtungsforschung 2 (1): 364-367.
- WAGNER, H. 1988. Pharmazeutische Biologie. Gustav Fischer Verlag (Ed), Stuttgart, New York, EUA, p. 214.