

## ESTUDIO DE ACEITES ESENCIALES COLOMBIANOS III ACEITES ESENCIALES DE EUCALIPTUS I

EDUARDO CALDERÓN GÓMEZ, Profesor.  
STELLA DE NIGRINIS, Profesora Asociada.  
JAIRO CALLE A., Profesor Asistente.

### INTRODUCCION

*Dentro del programa de investigación de aceites esenciales colombianos, copatrocinado por Colciencias, se inició el estudio del aceite esencial de eucaliptus. En el presente trabajo se exponen los primeros resultados obtenidos. Actualmente se están investigando otras especies y se está haciendo un estudio comparativo de los eucaliptus procedentes de las distintas regiones del país.*

#### 1. MATERIALES.

##### 1.1. Muestras.

Se recolectaron hojas de diferentes variedades de eucaliptus que crecen en la Sabana de Bogotá, las cuales se numeran de la manera siguiente:

*Nº de la muestra.*

1	Eucaliptus globulus.
2	Eucaliptus pulverulenta.
3	Eucaliptus sp.

Se estudió también un aceite adquirido en el comercio de Bogotá y, según informaciones, extraído en una pequeña planta industrial en el Departamento de Boyacá; esta muestra fue identificada con el número 5. Los aceites

procedentes de las distintas regiones del país se están obteniendo en pequeñas cantidades usando métodos bastante primitivos, pero han cumplido en parte las necesidades comerciales de ese producto.

1.2. *Patrones de referencia.*

Se utilizó como patrón primario de referencia, un aceite esencial de eucaliptus procedente de la Casa E. Merck (Alemania), el cual fue designado como muestra N° 4. Igualmente se empleó un patrón de cineol suministrado especialmente por la Casa Lucta; y una muestra de cineol obtenido en nuestro laboratorio a partir de aceite esencial Merck, siguiendo la técnica propuesta por Guenther (1).

2. METODOS.

2.1. *Obtención del aceite.*

Las muestras fueron procesadas inmediatamente después de su recolección mediante arrastre de vapor, recogiendo el destilado y separando el aceite por decantación. Este se filtró por sulfato de sodio anhidro y se almacenó bajo refrigeración en recipientes adecuados. Cada aceite se designó con el número correspondiente a la muestra original.

2.2. *Determinación de constantes físicas.*

Siguiendo las técnicas indicadas por Guenther (2) se determinó el índice de refracción, la rotación angular y la solubilidad.

2.3. *Ensayos químicos.*

Se determinaron los índices de acidez y saponificación siguiendo la técnica de Guenther (3).

2.4. *Ensayos de pureza.*

Para investigar la presencia de metales pesados se siguió la técnica de la USP XVIII (4).

2.5. *Estudio espectroscópico.*

2.5.1. *Espectros infrarrojos.*

Se empleó un espectrofotómetro IR Perkin Elmer, modelo 700. Las muestras se colocaron en forma de película entre dos cristales de cloruro de sodio.

## 2.6. *Ensayos cromatográficos.*

### 2.6.1. *Cromatografía en capa delgada (5).*

Después de varios ensayos se estableció la siguiente técnica:

Adsorbente: Sílica Gel G. sobre placas de vidrio de 20 x 20 cms.; con espesor de 250 micrones. Las placas se activaron por calentamiento a 150°C. durante media hora.

Solventes: Hexano, acetato de etilo 85:15.

Condiciones de la cámara: Saturación 24 horas, temperatura 22°C.

Recorrido: 15 cms. (tiempo aproximado 45 mins.).

Muestra: 5 microlitros de solución al 10% del aceite esencial, o del patrón en acetona.

Reveladores: (6, 7).

Compuestos carbonílicos: 2,4 dinitrofenilhidrazina.

Fenoles: Acido sulfanílico.

Alcoholes: Acido fosfomolibdico.

Terpenos: Anisaldehído.

La localización del cineol en la placa se logró empleando como revelador una mezcla de 0.5 ml. de anisaldehído, 50 ml. de ácido acético y 1 ml. de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. El revelador debe prepararse en el momento de empleo.

Una vez aplicado el revelador, las placas deben calentarse a 110°C. hasta aparición de las manchas.

### 2.6.2. *Cromatografía en fase gaseosa.*

Se empleó un cromatógrafo Perkin Elmer, modelo 820 con detector de conductividad.

## 2.7. *Valoración del cineol (8).*

Después de varios ensayos, se establecieron dos técnicas:

### 2.7.1. *Separación por cromatografía en capa delgada y determinación colorimétrica.*

Utilizando las condiciones descritas en 2.6.1., se colocaron volúmenes exactamente medidos de solución acetónica al 10% del aceite esencial. Una vez desarrollado el cromatograma, se reveló una de las manchas colocadas en cada placa, para lo-

calizar el cineol. Se marcó el sitio correspondiente y se rasparon cuidadosamente las zonas, recibiendo el material en un matraz aforado de 25 ml. Se adicionó 1 ml. de metanol anhidro, se agitó y se completó a la marca con reactivo de p-dimetil-amino-benzaldehído al 0.5% en ácido sulfúrico al 75%.

Después de 30 minutos de haber adicionado el reactivo se lee a  $555 \mu$  la absorbancia de la coloración roja desarrollada. Para la elaboración de la curva de valoración se procedió de modo similar, pero utilizando una serie de diferentes volúmenes de solución acetónica de cineol patrón.

### 2.7.2. Por cromatografía en fase gaseosa.

La valoración del cineol se efectuó construyendo previamente una curva de calibración relativa utilizando como patrón interno n-hexanol y como referencia el cineol patrón.

## 3. RESULTADOS.

### 3.1. Rendimiento en la obtención del aceite.

Nº de la muestra	Peso de las hojas (kg)	Vol. de aceite obtenido (ml)	Peso del aceite (g)	% en peso
1	10	190	180	1.8
2	10	219	200	2.0
3	10	161	140	1.4

NOTA: Según la bibliografía (9), el rendimiento normal en la obtención del aceite de eucaliptus oscila entre 0.8 y 5%.

### 3.2. Solubilidad.

Las cinco muestras cumplen con las especificaciones de la USP para la solubilidad.

### 3.3. Constantes físicas.

Nº de muestra	Indice de refracción	Densidad	Rotación angular
1	1.4672	0.9455	+ 8.40
2	1.4658	0.9160	+ 9.0
3	1.4660	0.9320	+ 9.25
4	1.4668	0.9404	+ 2.90
5	1.4632	0.8979	+ 9.0

3.4. *Ensayos químicos.*

Nº de muestra	Indice de acidez	Indice de saponificación
1	0.35	52
2	1.7	81.34
3	1.6	92.56
4	10.7	71
5	0.05	31

3.5. *Metales pesados.*

Todas las muestras dan ensayos negativos para metales pesados.

3.6. *Espectros infrarrojos.*

De acuerdo a los espectros de absorción de las cinco muestras se pudo observar que parecen existir algunas diferencias tanto en la naturaleza de los componentes como en la proporción en la cual se encuentran los que son comunes a las cinco muestras (figuras 1, 2, 3, 4, 5), caso del cineol y de los alfa y beta pinenos.

3.7. *Cromatografía en capa delgada.*

Nº de la muestra	Terpenos	Compuestos carbonílicos	Fenoles	Alcoholes	Peróxidos
1	+	—	—	+	—
2	+	—	—	+	—
3	+	—	—	+	—
4	+	—	—	+	—
5	+	—	—	+	—

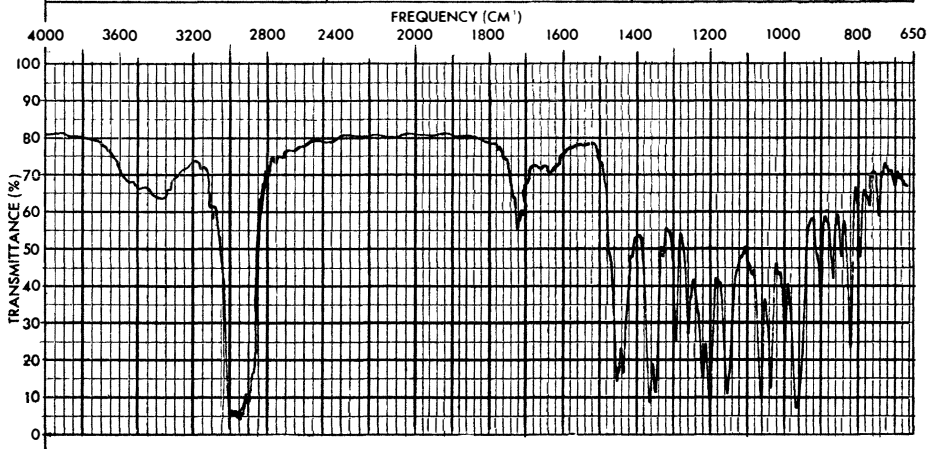
3.8. *Valoración del cineol.*

3.8.1. *Método colorimétrico.*

Nº de la muestra	% de cineol (p/p)
1	53
2	49
3	43
4	73
5	60

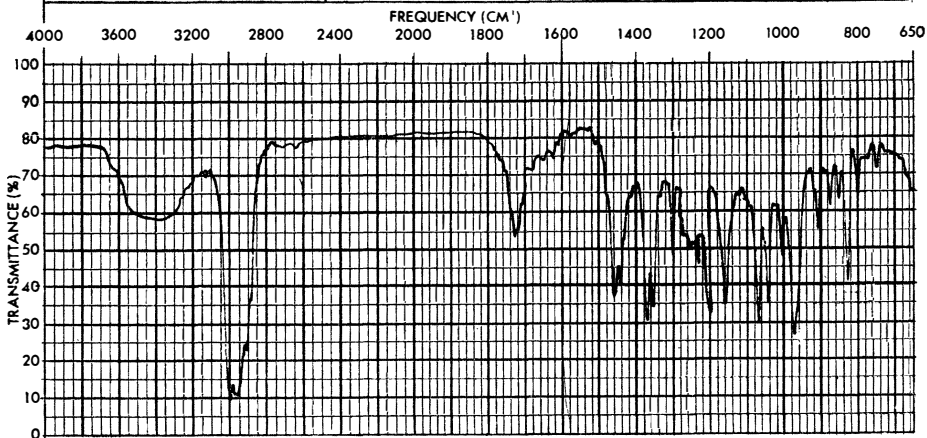
NO. 007-1061

REMARKS  Aceite obtenido por destilación  con arrastre de vapor	ORIGIN <u>Cundinamarca</u>	<b>PERKIN-ELMER</b> MODEL 700  SPECTRUM NO. <u>1</u>  SAMPLE 1 <u>Aceite esencial de Eucaliptus</u>  SAMPLE 2 _____
	PURITY _____	
	PHASE <u>Líquida</u>	
	CONCENTRATION _____	
	THICKNESS _____	
	DATE <u>Febrero de 1974</u>	
OPERATOR <u>L. S. de Nigrinis</u>		



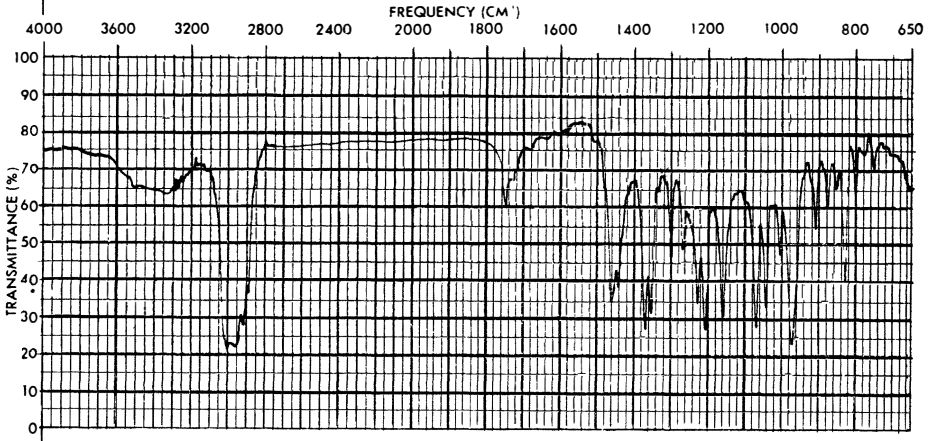
NO. 007-1061

REMARKS  Aceite esencial obtenido por destilación  con arrastre de vapor.	ORIGIN <u>Cundinamarca</u>	<b>PERKIN-ELMER</b> MODEL 700  SPECTRUM NO. <u>2</u>  SAMPLE 1 <u>Aceite esencial de Eucaliptus</u>  SAMPLE 2 _____
	PURITY _____	
	PHASE <u>Líquida</u>	
	CONCENTRATION _____	
	THICKNESS _____	
	DATE <u>Febrero de 1974</u>	
OPERATOR <u>L. S. de Nigrinis</u>		



NO. 007-1061

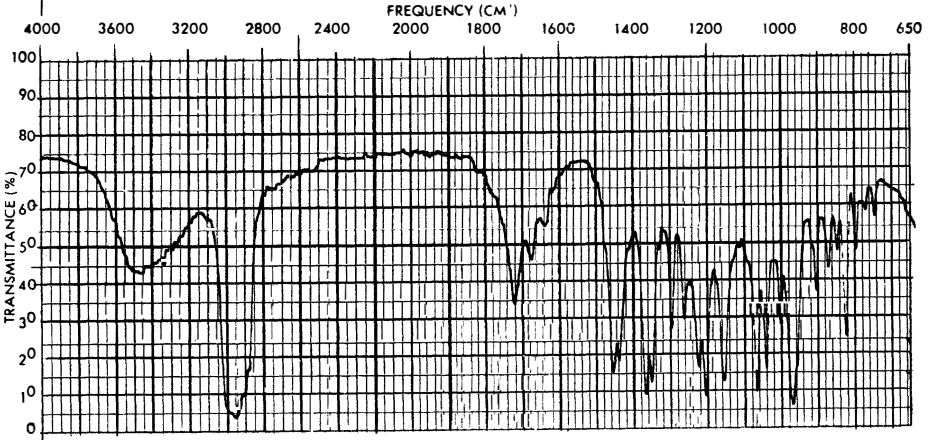
REMARKS  Aceite esencial obtenido por destilación con arrastre de vapor.	ORIGIN <u>Cardinamarca</u>	<b>PERKIN-ELMER</b> MODEL 700 SPECTRUM NO <u>3</u> SAMPLE 1 <u>Aceite esencial de Eucaliptus</u> SAMPLE 2 _____
	PURITY _____	
	PHASE <u>Líquida</u>	
	CONCENTRATION _____	
	THICKNESS _____	
	DATE <u>Febrero de 1974</u> OPERATOR <u>L. S. de Nigrinis</u>	



SAMPLE \_\_\_\_\_  
SPECTRUM NO \_\_\_\_\_

NO. 007-1061

REMARKS  Aceite esencial obtenido por destilación con arrastre de vapor.	ORIGIN <u>Casa Merch</u>	<b>PERKIN-ELMER</b> MODEL 700 SPECTRUM NO <u>4</u> SAMPLE 1 <u>Aceite esencial de Eucaliptus</u> SAMPLE 2 _____
	PURITY _____	
	PHASE <u>Líquida</u>	
	CONCENTRATION _____	
	THICKNESS _____	
	DATE <u>Febrero de 1974</u> OPERATOR <u>L. S. de Nigrinis</u>	



SAMPLE \_\_\_\_\_  
SPECTRUM NO \_\_\_\_\_

NO. 007-1061

REMARKS

Aceite esencial obtenido por destilación con arrastre de vapor.

ORIGIN Boyacá

PURITY \_\_\_\_\_

PHASE Líquido

CONCENTRATION \_\_\_\_\_

THICKNESS \_\_\_\_\_

DATE Febrero de 1974

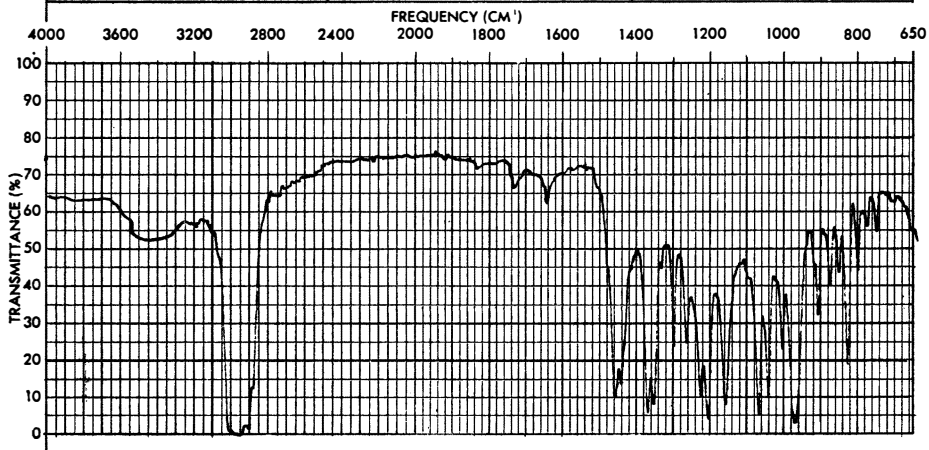
OPERATOR L. S. de Nigrinis

**PERKIN-ELMER**  
MODEL 700

SPECTRUM NO. 5

SAMPLE 1 Aceite esencial de Eucalyptus

SAMPLE 2 \_\_\_\_\_



SAMPLE

SPECTRUM NO.



3.8.2. *Cromatografía de gases.*

Nº de la muestra	% de cineol (p/p)
1	56
2	51.5
3	46
4	70
5	63

4. DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

De los resultados anteriores se puede deducir:

- 4.1. Los rendimientos en la obtención de los aceites esenciales, aunque no muy elevados, se encuentran dentro de los valores aceptables citados en la bibliografía como normales.
- 4.2. La variación en los índices de acidez y saponificación, en los aceites obtenidos por nosotros, podría atribuirse a variaciones en la especie y a la edad de las hojas procesadas.
- 4.3. El alto índice de acidez de la muestra número 4, podría deberse al tiempo de almacenamiento del producto.
- 4.4. El porcentaje de cineol en todos los aceites de eucaliptus colombianos estudiados es menor que el límite fijado en la USP. Se observa también variación en los resultados individuales de cada aceite.
- 4.5. De acuerdo con los resultados de la cromatografía en capa delgada la composición cualitativa es similar en los aceites colombianos y en el patrón, observándose algunas diferencias especialmente en la composición cuantitativa. Actualmente se trabaja en el estudio de los principales componentes de los aceites y de sus posibles aplicaciones; los resultados serán objeto de otra comunicación.

5. CONCLUSIONES.

Puesto que solamente se han estudiado tres variedades de eucaliptus colombianos, no se pueden sacar conclusiones generales, hasta tanto no haya avanzado lo suficiente el estudio.

Como el principal producto comercial actualmente no es el aceite esencial, sino el cineol puro, y los aceites obtenidos tienen un porcentaje de este último que permite el empleo del aceite para

la obtención del cineol, puede pensarse en el aprovechamiento comercial para este fin, de las hojas de eucaliptus que en muchos casos son desechadas por la industria moderna.

### RESUMEN

Se estudiaron cuatro muestras de aceite esencial de eucaliptus colombianos, tres de ellas obtenidas en nuestro laboratorio, y una adquirida en el comercio procedente del Departamento de Boyacá. Se utilizó como referencia una esencia de eucaliptus procedente de la casa E. Merck A. G. Darmstadt. Como patrones se utilizaron dos muestras de cineol: una suministrada por la casa Lucta y otra obtenida en el laboratorio a partir de la esencia de eucaliptus Merck.

El estudio consistió originalmente en determinar las mejores condiciones para la obtención del aceite esencial y un buen rendimiento. A las esencias obtenidas se les determinó las constantes físicas y químicas; se valoró el cineol por dos métodos:

a) Separación del cineol por cromatografía en capa fina y posterior valoración por un método colorimétrico.

b) Separación y valoración del cineol por cromatografía en fase gaseosa. También se hizo un estudio cromatográfico y espectrofotométrico de los aceites esenciales.

### SUMMARY

Four samples of essential oil of Colombian species of *eucalyptus* were studied. Three of these samples were distilled in our laboratory and the other one was purchased in the local market. The standard sample was the essential oil from Merck A. G.

The best possible conditions for obtaining the oils were established. The physical-chemical constants were determined. The cineol content was determined using two methods:

a) Isolation by TLC and the quantitative determination by a colorimetric method.

b) Isolation and quantitative determination by GLC.

The chromatographic and the spectrophotometric studies of the essential oils are also included.

### RÉSUMÉ

Quatre échantillons d'huile essentielle d'eucalyptus colombiens ont été étudiés: trois furent obtenues dans notre laboratoire et le

quatrième provenait du département de Boyacá. Comme substance de référence on a utilisé deux échantillons de cinéol: l'un obtenu dans notre laboratoire à partir d'essence d'eucalyptus Merck (Darmstadt), l'autre fourni par Lucta.

On a déterminé les conditions optimales pour l'obtention de l'huile et on a déterminé ses constantes physiques et chimiques. Le cinéol a été dosé par deux méthodes:

a) Séparation par chromatographie en couche mince et dosage colorimétrique.

b) Séparation et dosage par chromatographie en phase gazeuse.

De plus une étude chromatographique et spectrophotométrique des essences a été effectuée.

#### BIBLIOGRAFIA

1. GUENTHER. The Essential Oils, D. Van Nostrand Company, New York, 1948. Vol. 1. Pág. 294.
2. GUENTHER. The Essential Oils, D. Van Nostrand Company, New York, 1948. Vol. 1. Pág. 236.
3. GUENTHER. The Essential Oils, D. Van Nostrand Company, New York, 1948. Vol. 1. Pág. 263.
4. The United States Pharmacopeia XVIII. Pág. 897.
5. E. STAHL. Thin Layer Chromatography, Springer Verlag Berlin. Segunda edición. 1969. Pág. 212.
6. E. STAHL. Thin Layer Chromatography, Springer Verlag Berlin. Segunda edición. 1969. Págs. 857-872.
7. M. R. FIGUEROA, F. M. MONTES. Farmacia Nueva. 1966, XXXI. Pág. 249.
8. M. S. KARAWYA & S. K. Nahba, J. Pharm. Sc. U. A R. 1962, III, 1. Pág. 181
9. U. GARCÍA. Esencias Naturales, Aguilar, S. A., Madrid, 1953. Pág. 337.