DEPARTAMENTO DE FARMACOGNOSIA Y FARMACODINAMIA
Prof. Dr. J. CABO TORRES

ESTUDIO CROMATOGRAFICO DE LA ESENCIA DE ROMERO ESPAÑOLA. Nota Preliminar (*)

ROSARIO MALDONADO y J. CABO TORRES

Ars Pharm. X, 57 (1969)

I. JUSTIFICACION Y OBJETO DEL TRABAJO

La producción de aceite esencial de Romero en nuestro país tiene gran importancia.

Los datos de exportación son elocuentes respecto al futuro de la producción española de esencias. Una vez logradas mejores calidades en estos aceites, bajo la vigilancia analítica, es de presumir la expansión de esta industria y lo que es así mismo importante la de los derivados. Tanto desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo, los aceites plantean un doble tipo de problemas: el del rendimiento en determinados componentes, y el de su tipificación.

Objeto del presente trabajo, es el realizar un estudio comparativo por cromatografía en capa fina del aceite esencial de Romero procedentes de distintos pueblos de las provincias de Granada y Murcia, como principales productores de España (sobre todo esta última). Así aportaríamos datos interesantes para el mencionado problema de tipificar estas esencias naturales.

II.—PARTE EXPERIMENTAL.

La técnica que nosotros hemos utilizado es el método más generalizado preconizado por E. STAHL (1) en las siguientes condiciones de trabajo:

II, 1. *Material.*—Equipos Desaga y Shandon constituídos ambos por el siguiente material:

Cubetas cromatográficas de vidrio con tapadera ajustada a esmeril de dimensiones apropiadas para empleo de placas de 20 x 20 cms.

Placas de vidrio de 20 x 20 cm. Soporte metálico para el transporte de las mismas.

Desecador de dimensiones suficientemente amplias, para que quepan las placas anteriormente citadas con su correspondiente soporte.

(*) Trabajo presentado al VIII Congreso Internacional Farmacéutico Mediterráneo Latino. Granada, mayo 1968.

Extensores para la preparación de las placas con posibilidad de regular el espesor de la capa adsorbente.

Plantilla de trabajo, de material plástico para 5 placas de 20 x 20 cm. con placa inicial y final de 5 x 20 cm. Diferencia general entre los equipos estriba en su plantilla para poner las placas: (*).

Micropipetas: 2 μ l y 5 μ l.

La pulverización en vitrina de gases y con pulverizador QUICKFIT.

II, 2. *Fases móviles.*—Se ha realizado un estudio entre gran número de disolventes, que podían ser empleados como fase móvil en cromatografía en capa fina.

Para ello unas veces hemos variado la naturaleza del disolvente y otras las proporciones relativas de los mismos.

En algunos casos, se ha establecido el poder eluyente por grupos químicos, permitiendo prever, cual es el más idóneo según el tipo de sustancia a detectar.

Dado que las esencias son mezclas muy complejas, se ha llegado a la conclusión de que el empleo de un solo disolvente no sería adecuado más que en el caso de estudiar fracciones de cola o de cabeza.

Para la obtención de cromatogramas con buena separación del mayor número posible de manchas y nitidez de ellas, es conveniente la mezcla de dos o más.

Se han seleccionado entre las fases móviles que cumplen este último cometido las siguientes:

Cloroformo.

Benzol-Acetato de Etilo 85/15

Benceno-Eter 75/25

Cloroformo-Alcohol 98/2

El aceite esencial se emplea en solución etérea al 10 %.

II, 3. *Muestras utilizadas.*—Proceden de los pueblos de: Hellín, Cádiar, Totana, Lorca, Puerto Lumbreras, Sabinar y Cieza.

Algunas de estas muestras han sido obtenidas en el Laboratorio utilizando para ello el método de CLEVENGER (2), modificado por uno de nosotros (3). Como es sabido consiste en la obtención de la esencia en pequeña cantidad y medición directa del volumen obtenido. Conocida la densidad del aceite esencial fácilmente se puede calcular el peso de dicho volumen.

Conjuntos: ADRIAN KLEIN, GARCIA DE LA FUENTE (**).

II, 4. *Método seguido.*—El estudio cromatográfico del aceite esencial, se realizó de la siguiente manera: se depositó con ayuda de una micropi-

(*) El "Desaga" es una plantilla de plástico sobre la que descansan las placas, alineadas lateralmente por un resalte longitudinal. Es muy importante que las placas de vidrio sean *idénticas* dimensiones, tanto lineales como de grosor. El sistema "Shandon" no requiere estas exigencias, tolerándose pequeñas diferencias de dimensión entre unas y otras placas, porque, mediante un sistema neumático son empujadas contra 2 guias superiores quedando alineadas por la cara sobre la que se extiende (superior) y no la opuesta (inferior).

(**) Agradecemos a ambas firmas comerciales el habernos facilitado las muestras.

peta, la muestra en estudio sobre la placa convenientemente preparada, llevándose a cubetas que previamente hemos saturado y en las que hemos colocado uno de los disolventes anteriormente citados. Se retira dicha placa cuando el disolvente ha recorrido la distancia de 10 cm., se revela y se lleva a la estufa durante tres o cuatro minutos a 120° apareciendo así las manchas correspondientes a los distintos componentes de la muestra.

II, 5. *Reveladores utilizados.—Luz ultravioleta.* Se han examinado todos los cromatogramas antes y después de haber usado cualquier revelador.

Vainillina sulfúrica.— Preparamos una solución alcohólica al 3 % a la cual le añadimos por cada 100 ml. de esta solución 4 ml. de ácido sulfúrico concentrado.

p-Dimetil-amino benzaldehido.— En solución sulfúrica, preparado igual que la vainillina sulfúrica.

Iodo metálico.—Algunas sustancias poseen dobles enlaces etilénicos capaces de fijar iodo; puede revelarse colocando la placa en una cubeta de desarrollo, cerrada herméticamente y sometiéndola a la acción de los vapores de iodo, que se desprenden de los cristales depositados en el fondo de la cubeta. Aparecen las manchas de color marrón cuya intensidad disminuye paulatinamente.

III. RESULTADOS

La observación conjunta de éstos revela:

a) Constancia en todos los resultados.

b) Reproductibilidad en todas las muestras.

No se diferencian unas muestras de otras como puede observarse en los cromatogramas adjuntos. A simple vista, todos tienen igual número de componentes, variando sin embargo, las proporciones relativas de alguno de éstos, según procedencia del aceite esencial.

Respecto a las fases móviles estudiadas, podemos decir que todas ellas son igualmente buenas aunque en la del benzol-acetato de etilo (85/15) se aprecie con mayor nitidez y separación las manchas.

Aportamos los registros de los cromatogramas n.° 72, 78, 187 que son tipos de los obtenidos con las muestras empleadas, desarrollando con tres de las mejores y más sencillas fases móviles: benzol-acetato de etilo, (85/15) benceno-éter (75/25) y cloroformo respectivamente, así como un ejemplo de cromatogramas con muestras comerciales y esta última fase móvil. Tres de los cuatro cromatogramas cuyos resultados se exponen, van acompañados de una reproducción fotográfica que da idea de la calidad conseguida en nuestras experiencias.

IV. CONCLUSIONES

1) La cromatografía en capa fina es, por los resultados obtenidos y rapidez de ejecución, una técnica adecuada para el estudio de las esencias de romero, como lo muestran las diversas manchas así como la constancia y reproductibilidad de los cromatogramas.

2) Las muestras estudiadas, procedentes de ocho localidades distintas de las provincias de Granada y Murcia (principales productores de romero) dan resultados bastante constan-

tes, no mostrando entre ellas variaciones cualitativas en su composición.

3) Pese a ello, se observan posibles variaciones de tipo cuantitativo en algunos de los componentes, de las muestras estudiadas, según su procedencia.

4) De las cuatro fases móviles previamente seleccionadas para emplear en este trabajo cabe afirmar que todas dan buenos resultados. Se destaca especialmente el benzol-acetato de etilo (85/15).

BIBLIOGRAFIA

(1) STAHL, E.: Thin-Layer Chromatography., 27, (1965).

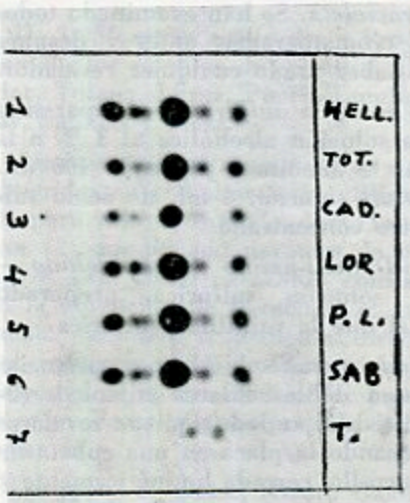
(2) CLEVENGER, S. F.: Amer pharm. Ass., 17, 345, (1939).

(3) CABO TORRES y PARDO GARCIA: Guía de prácticas de Farmacognosia, 155, 3 ed., Granada (1968).

CROMATOGRAFIA CAPA FINA N.º 187

FECHA.....

Sustancia: Aceite esencial de Romero.
Soporte: Silicagel 6.
Tamaño: 20 x 20.
Grosor de la capa: 250.
Activación: A la estufa a 105°.
Revelador: Vainillina sulfúrica.
Tipo cámara: SHANDON.
Técnica: Ascendente.
Estado de saturación de la cámara: Saturado con papel de filtro.
Longitud de desarrollo: 10 cm.
Tiempo de desarrollo: 13 minutos.
Temperatura: 21°.
Fase móvil: Benzol-Acetato de Etilo 85/15.
Disolventes usados para los productos estudiados y concentración: Solución de esencia de éter al 10 %.
Cantidades aplicadas: 2 μ l.
Observaciones:



(R-7-69)

PRODUCTOS CROMATOGRAFIADOS	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k
1) Hellín	38	44	47	53	60	67	71	81			
2) Totana	38	44	47	53	61	67	71	81			
3) Cádiar	38	44	47	53	60	66	72	81			
4) Lorca	38	44	47	52	61	67	72	82			
5) P. Lumbreras	38	44	47	52	61	67	72	82			
6) Sabinar	38	44	47	53	62	67	72	82			
7) Testigo	62	66	76								
8)											
9)											
10)											
11)											

CROMATOFRAFIA CAPA FINA N.° 52
FECHA.....

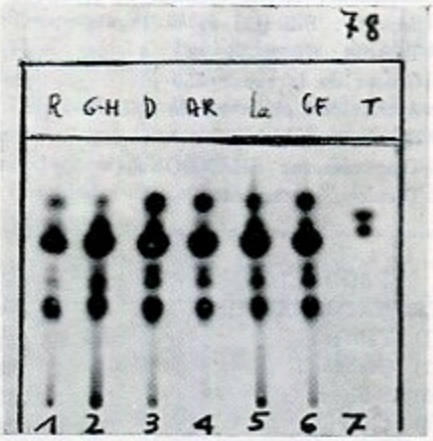
Sustancia: Aceite esencial de Romero.
Soporte: Silicagel 6.
Tamaño: 20 x 20.
Grosor de la capa: 250 μ.
Activación: A la estufa a 105°.
Revelador: Vainillina sulfúrica.
Tipo cámara: SHANDON.
Técnica: Ascendente.

Estado de saturación de la cámara: Saturada con papel de filtro.
Longitud de desarrollo: 10 cm.
Tiempo de desarrollo: 15 minutos.
Temperatura: 20°.
Fase móvil: Benceno-Eter 75/25.
Disolventes usados para los productos estudiados y concentración: Solución de esencia de éter al 10 %.
Cantidades aplicadas: 2 μ 1.
Observaciones:

PRODUCTOS CROMATOGRAFIADOS	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k
1) Testigo	50	55	61								
2) Socovos	25	30	34	39	52	63	76				
3) Sabinar	25	30	33	39	52	63	75				
4) Cieza	25	30	34	40	52	62	75				
5) Hellín	25	30	34	40	53	63	75				
6) Totana	25	30	34	40	53	63	75				
7) P. Lumbreras	25	30	34	40	53	63	75				
8) Lorca	25	30	34	40	53	63	75				
9)											
10)											
11)											

CROMATOGRAFIA CAPA FINA N.º 78
FECHA.....

Sustancia: Aceite esencial de Romero.
Soporte: Silicagel 6.
Tamaño: 20 x 20.
Grosor de la capa: 250 μ.
Activación: A la estufa a 105º.
Revelador: Vainillina sulfúrica.
Tipo cámara: SHANDON.
Técnica: Ascendente.
Estado de saturación de la cámara: Saturada con papel de filtro.
Longitud de desarrollo: 10 cm.
Tiempo de desarrollo: 15 minutos.
Temperatura: 18º.
Fase móvil: Cloroformo.
Disolventes usados para los productos estudiados y concentración: Solución de esencia de éter al 10 %.
Cantidades aplicadas: 2 μ l.
Observaciones:



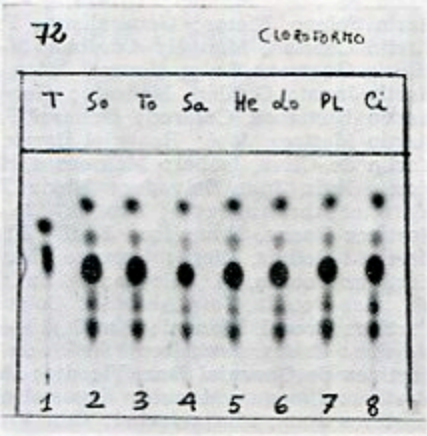
(R-8-69)

PRODUCTOS CROMATOGRAFIADOS	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k
1) Romero 627	25	31	38	51	60	68					
2) Gómez-Her.	25	31	38	51	60	68					
3) Determinada	25	30	38	50	60	68					
4) Adrian Klein	25	31	38	50	60	68					
5) Lasa	25	31	37	51	60	67					
6) García Fuente	25	31	38	50	60	68					
7) Testigo	50	53	73								
8)											
9)											
10)											
11)											

CROMATOGRAFIA CAPA FINA N.º 72
FECHA.....

Sustancia: Aceite esencial de Romero.
Soporte: Silicagel 6.
Tamaño: 20 x 20.
Grosor de la capa: 250 μ.
Activación: A la estufa a 105º.
Revelador: Vainillina sulfúrica.
Tipo cámara: SHANDON.
Técnica: Ascendente.
Estado de saturación de la cámara: Saturada con papel de filtro.
Longitud de desarrollo: 10 cm.
Tiempo de desarrollo: 20 minutos.
Temperatura: 17º.
Fase móvil: Cloroformo.
Disolventes usados para los productos estudiados y concentración: Solución de esencia de éter al 10 %.

Cantidades aplicadas: 2 μ l.
Observaciones:



(R-9-69)

PRODUCTOS CROMATOGRAFIADOS	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k
1) Testigo	50	57	68								
2) Socovos	25	31	35	40	50	60					
3) Totana	25	31	35	40	50	60					
4) Sabinar	25	31	35	40	50	59					
5) Hellín	25	31	35	40	50	59					
6) Lorca	25	31	35	40	50	60					
7) P. Lumbreras	25	31	35	40	50	60					
8) Ciera	25	31	35	40	50	60					
9)											
10)											
11)											