

## Análisis de Anetol en el Aceite Esencial de Hinojo (*Foeniculum vulgare* Mill.) por Espectroscopía de Resonancia Magnética Protónica.

MARIA M. RODRIGUEZ, MARIA T. PIZZORNO y SEM M. ALBONICO

Facultad de Farmacia y Bioquímica,  
Universidad de Buenos Aires, Junín 956, Buenos Aires 1113, Argentina

**RESUMEN.** Se describe un método para la determinación de anetol en aceites esenciales de hinojo por espectroscopía de resonancia magnética protónica. Los espectros se determinaron en tetracloruro de carbono, conteniendo 1,4-pirazina como estándar interno.

**SUMMARY.** An NMR spectroscopic method for the determination of anethol in fennel essential oils is described. Spectra are determined in carbon tetrachloride containing 1,4-pyrazine as internal standard.

Con el objeto de desarrollar un nuevo método de análisis de anetol en el aceite esencial de algunas variedades de hinojo (*Foeniculum vulgare*, Mill.) en el cual es el principal componente, se utilizó espectroscopía de resonancia magnética protónica.

Este método de análisis presenta varias ventajas que han sido descritas<sup>1,2</sup>. El mismo requiere un estándar interno que debe seleccionarse según la sustancia a analizar, sus probables interferentes y su solubilidad. Además debe originar señales simples que no se superpongan a otras de la muestra. En este caso el mejor estándar interno resultó ser la 1,4-pirazina, que origina una sola señal a 8.48 ppm, ya que sus cuatro protones son equivalentes. Se eligió como solvente tetracloruro de carbono por carecer de señales propias, disolver fácilmente la muestra y el

estándar interno y ser económico.

En la figura 1 observamos el espectro del anetol. Las señales consideradas para la cuantificación fueron las de  $\delta = 1.83$  ppm correspondiente a los protones del metilo  $\alpha$ ,  $\beta$  no saturado, la de  $\delta = 3.75$  ppm correspondiente a los protones del metoxilo y la que aparece a  $\delta = 6.00-6.28$  ppm correspondiente a los protones etilénicos.

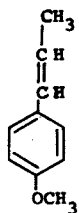
Se utilizó la señal a  $\delta = 1.83$  ppm en la mayoría de los casos, corroborando el resultado con la medición de alguna de las otras dos señales. Esta confirmación es necesaria porque el aceite esencial de hinojo, además de anetol, puede presentar otros componentes en cantidad apreciable como para interferir en el método. Estos componentes son: fenchona<sup>3</sup> y estragol en el caso de aceite esencial de producción argentina<sup>4</sup>.

El estragol carece de C-CH<sub>3</sub> y por

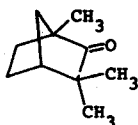
**PALABRAS CLAVE:** Esencia de hinojo, Anetol, determinación por RNM; 1,4-pirazina como estándar interno.

**KEY WORDS:** Fennel essential oil; Anethol, NMR determination; 1,4-pyrazine as internal standard.

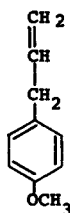
lo tanto no interfiere en la señal a  $\delta = 1.83$  ppm y la fenchona no tiene protones olefínicos o aromáticos y por lo tanto su espectro no presenta señales en la zona de  $\delta = 6.00-6.28$  ppm.



anetol



fenchona



estragol

Las figuras 2 y 3 son ejemplos de esencias con alto y bajo contenido de anetol, respectivamente. La Tabla 1 resume los resultados obtenidos con nueve muestras de distintas variedades y orígenes.

## MATERIAL Y METODOS

El material botánico utilizado y su origen se describe en la Tabla 1, junto con su fecha de recolección.

**Método de extracción.** Cien gramos de semillas secadas a temperatura ambiente fueron colocadas en un balón de 1000 ml y se agregaron 500 ml de agua. El balón se conectó a una trampa de Dean-Stark y su correspondiente refrigerante y se calentó a ebullición durante ocho horas. El aceite esencial obtenido fue secado con tamices moleculares 3 Å y pesado.

**Análisis.** Los espectros de resonancia magnética protónica fueron registrados con un equipo Perkin Elmer R-12 de 60 MHz a la temperatura de 35°C. El análisis fue efectuado pesando directamente en el tubo 80-100mg de muestra a la que se agregó aproximadamente 30 mg de estándar y 0.5 ml de tetracloruro de carbono.

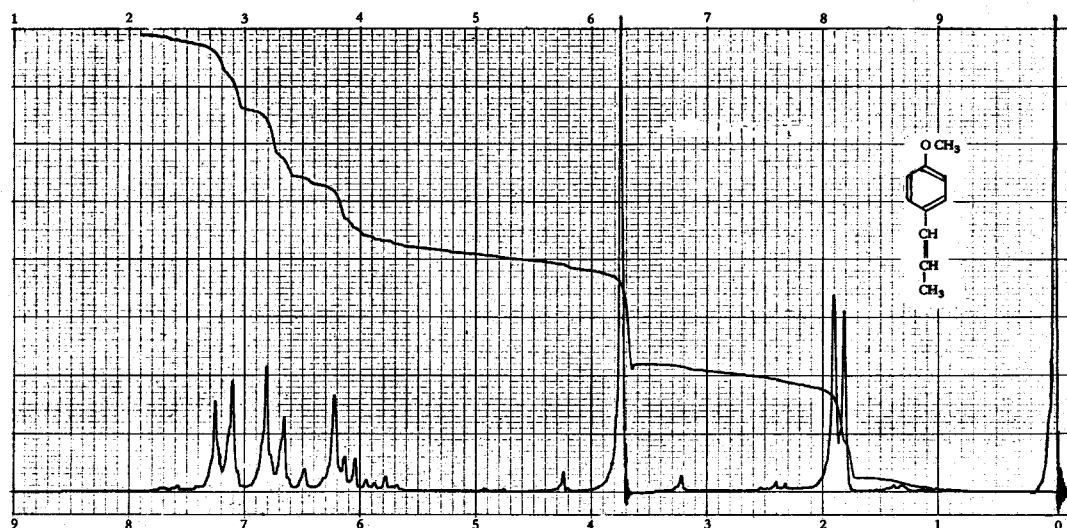


Figura 1. Espectro de resonancia magnética del anetol en tetracloruro de carbono.

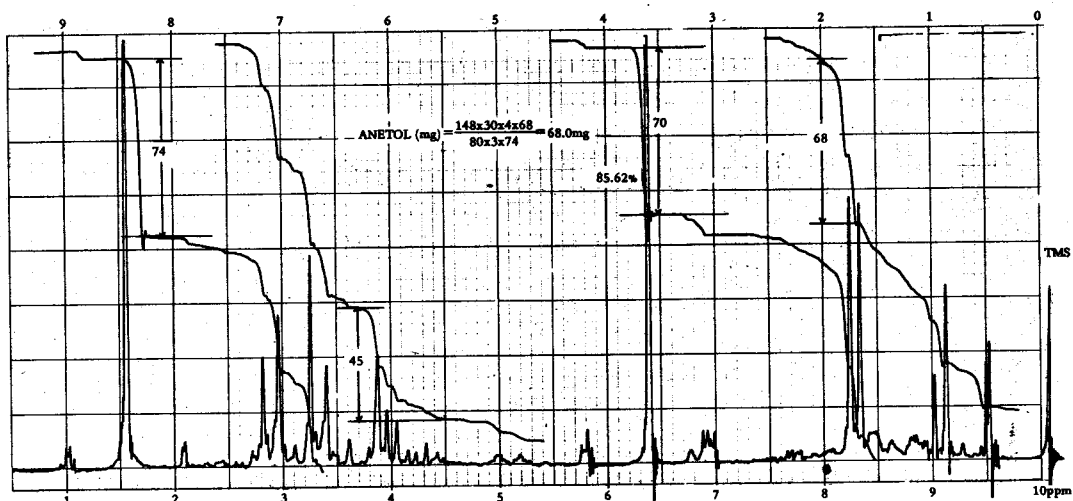


Figura 2. Espectro de resonancia magnética de esencia de hinojo de alto contenido de anetol. Obsérvese la señal a  $\delta = 8.48$  correspondiente a la 1,4-pirazina.

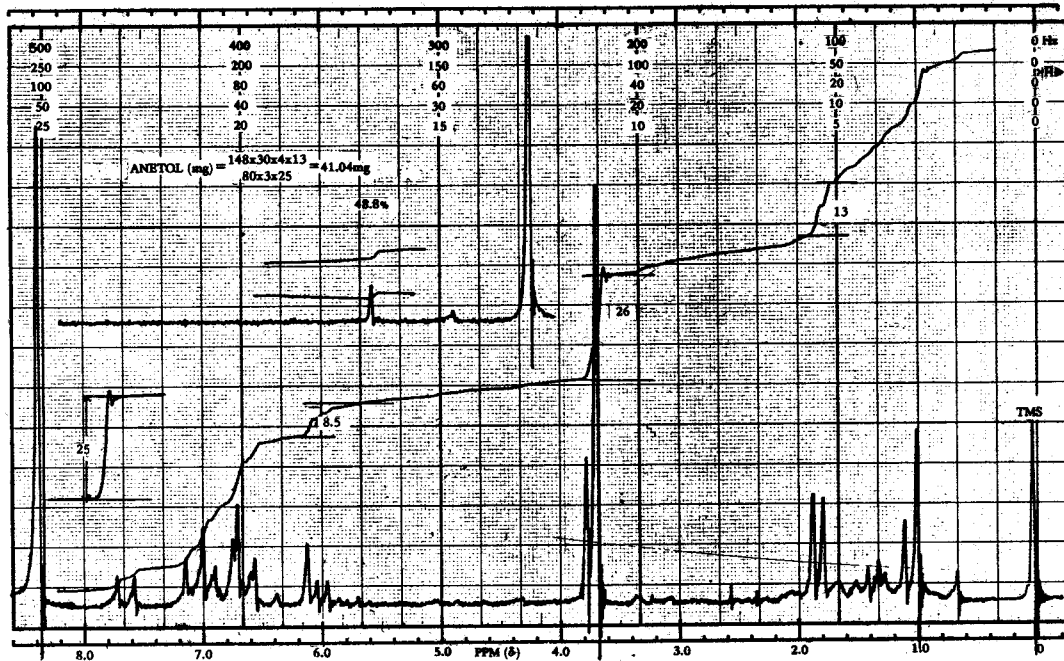


Figura 3. Espectro de resonancia magnética de esencia de hinojo de bajo contenido de anetol. Obsérvese la señal a  $\delta = 8.48$  correspondiente a la 1,4-pirazina.

VARIEDAD	CONTENIDO DE ACEITE ESENCIAL %	CONTENIDO DE ANETOL %
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill., var. <i>azoricum</i> (Mill.) Thellung, origen Villa María, Córdoba.	1.93	99.76
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill., var. <i>azoricum</i> (Mill.) Thellung, origen Villa María, Córdoba.	1.73	85.62
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill., var. <i>dulce</i> (Mill.) Fiori (Hinojo de Sajonia), origen Alemania, plantado 2 veces en Atocha, Pcia. de Buenos Aires. (Ext. industrial).	2.2	89.66
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill., var. <i>dulce</i> (Mill.) Fiori (Hinojo de Sajonia), origen Alemania, plantado 2 veces en Atocha, Pcia. de Buenos Aires. (Ext. industrial).	2.6	81.4
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill., var. <i>dulce</i> (Mill.) Fiori (Hinojo de Sajonia), origen Las Flores, Pcia. de Buenos Aires.	1.6	67.40
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill., var. <i>azoricum</i> (Mill.) Thellung, origen Mercedes, Pcia. de Buenos Aires.	1.27	88.82
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill., var. <i>capillaceum</i> (Gilib.) Paoletti (Hinojo silvestre), origen Alcaraz, Pcia. de Entre Ríos.	2.73	89.0
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill., var. <i>dulce</i> (Mill.) Fiori (Hinojo de Sajonia), origen Concepción, Pcia. de Entre Ríos.	0.62	48.8
<i>Foeniculum piperitum</i> Mill., origen Hungría, plantado en Mercedes, Pcia. de Buenos Aires.	0.83	33.63

Tabla 1. Contenido de aceite esencial y de anetol de distintas variedades de hinojo.

**Cálculos.** Una vez calculada mediante integración electrónica el área bajo la señal seleccionada para cuantificar, se calcula el contenido de anetol mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Anetol (mg)} = \frac{PM A}{n^\circ A} \cdot \frac{n^\circ St}{PM St} \cdot \frac{AA}{A St} \cdot P St \text{ (mg)}$$

donde:  $PM A$  es el peso molecular del anetol  
 $PM St$  es el peso molecular del estándar  
 $n^\circ A$  número de protones del anetol  
incluidos en la señal seleccionada  
 $n^\circ St$  número de protones del estándar  
 $AA$  área bajo la señal seleccionada  
para el anetol

A St    área bajo la señal del estándar  
P St    peso del estándar en mg

Debido al sistema de integración electrónica, el área bajo la curva se expresa en mm (ver figuras 2 y 3).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Rodríguez, M. R., M. T. Pizzorno y S. M. Albónico (1977) *J. Pharm. Sci.* 66:121-3
2. Chiarelli, S. N., M. T. Rossi, M. T. Pizzorno y S. M. Albónico (1982) *J. Pharm. Sci.* 71:1178-80
3. Karlsen, J., A. Baerheim Svendsen, B. Chingova y G. Zolotovitch (1969) *Planta Med.* 17: 281-93
4. Toth, L. (1967) *Planta Med.* 15:157-72