

**PRÁCTICA VI.4**  
**ANÁLISIS CUANTITATIVO DE MENTOL EN ACEITE ESENCIAL DE MENTA**  
**QUANTITATIVE ANALYSIS OF MENTHOL IN MENTHA ESSENTIAL OIL BY GAS**  
**CHROMATOGRAPHY**

**Morayma Molina, Isabel Cabello, Olga Lock\***

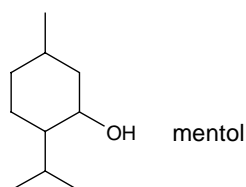
*Pontificia Universidad Católica del Perú, Departamento de Ciencias, Sección Química,  
 Apartado 1761, Lima – Perú*

*\* olock@pucp.edu.pe*

## 1. INTRODUCCIÓN

Con el nombre de aceite esencial de menta se conoce al aceite obtenido de varias especies de menta como la *Mentha arvensis*, *M. spicata* (sin. *M. viridis*), *M. piperita*, *M. pulegium*, entre otras. Sin embargo, debemos señalar que el constituyente principal no es el mismo en todos ellos, por ejemplo se dice que en la *M. arvensis* el aceite esencial contiene de 70 a 90% de mentol, mientras que en la *M. spicata* predomina la (-)-carvona y en *M. pulegium*, la pulegona ; esto se explicaría por la fácil interconversión de sus monoterpenos.

El mentol es un monoterpeno,  $C_{10}H_{20}O$ , con las siguientes características: agujas cristalinas pf 41-43° C, pe 212° C, d 0,89,  $[\eta]^{25}_D$  1,458,  $[\alpha]^{18}_D$  -50 (10% sol. alcohólica), ligeramente soluble en agua, muy soluble en alcohol, cloroformo, éter y éter de petróleo.



Tanto el aceite esencial de menta como el mentol tienen amplio uso en la preparación de formulaciones para la tos e inhalaciones nasales; así como en la industria de licores, confitería y perfumería. El mentol se utiliza también como carminativo y sedativo gástrico.

En el presente experimento se describirán los pasos para el análisis cuantitativo del mentol en el aceite esencial de menta por cromatografía de gas.

## 2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### A. Obtención del aceite esencial

Pese 100g de hojas secas de menta y sométala a una extracción por arrastre con vapor de agua. Separe el aceite obtenido y coloquelo en unos cristales de sulfato de sodio como

deseicante por unos minutos . Decante y anote el volumen del aceite obtenido. Calcule el rendimiento. Obtenga su espectro IR. Analice las absorciones principales.

## B. Análisis cuantitativo por cromatografía de gas

### B.1. Método Estándar Externo (Curva de Calibración)

- a. Tome 10 mg ( o la cantidad necesaria para que la concentración del mentol se encuentre dentro del rango de la curva de calibración) del aceite esencial obtenido en (A) y lleve a volumen con etanol en una fiola de 10 mL (solución M).
- b. Inyecte 1 uL de la solución M en el cromatógrafo de gas, en las condiciones siguientes
  - Columna: HP-5, 30m x 0,32 mm x 0,25 µm (5% - fenilmetilpolisiloxano)
  - Temperatura del inyector: 200 °C
  - Temperatura del detector (FID): 300 °C
  - Temperatura del horno: 110 °C constante por 10 minutos
- c. Prepare la curva de calibración utilizando soluciones etanólicas de mentol estándar en concentraciones de 1,0; 3,0; 5,0; 7,0 y 10,0 mg/mL.
- d. Halle en la curva de calibración el contenido de mentol, m, en mg/mL
- e. Determine el contenido de mentol en el aceite esencial, según la siguiente fórmula

$$\% \text{ mentol} = 10 \times \frac{m}{W} \times \% \text{ st}$$

m : miligramos de mentol en la solución M

W : peso de la muestra, en miligramos

% st : pureza del mentol estándar

### B.2. Método Estándar Interno

- a. Pese 10 mg de estándar Mentol y lleve a volumen con etanol (solución A) en una fiola de 10 mL.
- b. Pese 10 mg de estándar Interno, octanol, y lleve a volumen con etanol (solución B) en una fiola de 10 mL.
- c. Tome 1 mL de la solución A y 1 mL de la solución B, lleve a volumen con etanol en una fiola de 5 mL (solución C).

- d. Pese de 12 a 15 mg de aceite esencial y lleve a volumen con etanol en una fiola de 10 mL (solución D).
- e. Tome 1 mL de la solución D y 1 mL de la solución B, lleve a volumen con etanol en una fiola de 5 mL (solución M).
- f. Inyecte 1 uL de la solución C en el cromatografo de gases, en las condiciones señaladas en el Método B.1. De igual manera proceda con 1 uL de la solución M.
- g. Determine el contenido de mentol en el aceite esencial, según la siguiente formula..

$$\% \text{ mentol} = 5 \times \frac{\frac{A_m}{A_{\text{sti M}}}}{\frac{A_{\text{st}}}{A_{\text{sti C}}}} \times \frac{W_{\text{st}}}{W_m} \times \% \text{ st}$$

- $A_m$  : Area del mentol en la muestra, solución M
- $A_{\text{sti M}}$  : Area del estándar interno, octanol, solución M
- $A_{\text{st}}$  : Area del estándar mentol, solución C
- $A_{\text{sti C}}$  : Area del estándar interno, octanol, solución C
- $W_{\text{st}}$  : Peso del mentol, en mg, en la solución C
- $W_m$  : Peso de la muestra, en mg, en la solución M
- $\% \text{ st}$  : Porcentaje de pureza del mentol estándar

### 3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lock O. 1994. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima, Perú. pp. 24-52
- Gil P. 2002. Productos Naturales. Ed. Universidad Pública de Navarra, Pamplona, España, pp.122-128.
- The Merck Index 1983 An Encyclopedia of Chemical, Drugs, and Biologicals, Merck & Co., Inc., N.J., U.S.A. 10° Ed. p. 832.
- Separatas CURSO – TALLER “Control de Calidad de Plantas Medicinales y de Fitofármacos: Métodos Químicos y Cromatográficos”, PUCP. Lima, 21 - 25 de Setiembre de 1998.

**Olga Lock\***

*olock@pucp.edu.pe*

El trabajo en los laboratorios de Medicinal Chemistry debe mantener altos estándares de precaución y buen uso.

El manejo de instrumental eléctrico, la utilización de calor, el material de cristal y los disolventes no presentan un especial problema, si se siguen las instrucciones del supervisor.

Este documento ha sido supervisado por el Prof. OLGA LOCK SING ([olock@pucp.edu.pe](mailto:olock@pucp.edu.pe)) quien informa que no existen problemas específicos de seguridad en la realización de este ejercicio, incluyendo toxicidad, inflamabilidad y explosión, ni cualquier otro destacable, dentro de lo usual en un laboratorio de Medicinal Chemistry.

Se agradecerá comunicar al Editor cualquier posible incidencia.

## EXERCISE VI.4

### QUANTITATIVE ANALYSIS OF MENTHOL IN *MENTHA* ESSENTIAL OIL BY GAS CHROMATOGRAPHY

**Morayma Molina, Isabel Cabello, and Olga Lock\***

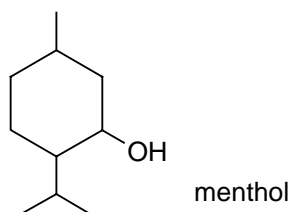
*Pontificia Universidad Católica del Perú, Departamento de Ciencias, Sección Química,  
Apartado 1761, Lima, Perú*

\*E-mail: olock@pucp.edu.pe

#### 1. INTRODUCTION

"Mint oil" is obtained from several mint species: *Mentha arvensis*, *M. spicata* (sin. *M. viridis*), *M. piperita*, *M. pulegium*, among others. Nevertheless, its main constituent is different in all of them, for example, *M. arvensis* oil contains 70–90 % of menthol, whereas in *M. spicata* predominates (–)-carvone and in *M. pulegium*, pulegone; this is explained because of the easy monoterpene interconversion.

Menthol is a monoterpene as crystalline needles having the following properties: m.p. 41–43 °C; b.p. 212 °C; d 0.89 g/mL (10 % alcoholic solution). It is slightly soluble in water and very soluble in alcohol, chloroform, ether, and petroleum ether.



Both the mint oil and menthol are extensively used in pharmaceutical preparations, mainly in the treatment of respiratory problems. Other uses are as a flavor ingredient and fragrant component. Menthol is also used as carminative and gastric sedative.

This experiment will describe the quantitative analysis of menthol in mint oil using the gas chromatography technique.

#### EXPERIMENTAL PROCEDURE

##### 1.1. Essential oil extraction

- a. Weigh 100 g of dried crushed mint leaves and obtain the essential oil by steam distillation.

- b. Separate the distilled essential oil and add anhydrous sodium sulfate. Let it dry for several minutes, then remove the oil and estimate the yield
- c. Obtain the IR spectrum and analyze the main absorptions.

## 1.2. Gas chromatography (GC) analysis

### 1.2.1. External standard method

- a. Place 10 mg (or enough quantity in order to obtain the concentration of the menthol within the range of the calibration curve) of the essential oil in a 10-mL volumetric flask and bring up to volume with ethanol (M solution).
- b. Inject 1  $\mu\text{L}$  in the GC equipment, under the following conditions:
  - Column: HP-5, 30 m x 0.32 mm x 0.25  $\mu\text{m}$  (5 % phenylmethylpolysiloxane)
  - Injector temperature: 200  $^{\circ}\text{C}$
  - Detector temperature: 300  $^{\circ}\text{C}$
  - Oven temperature: 110  $^{\circ}\text{C}$
- c. Prepare the calibration curve with ethanolic solutions containing 1.0, 3.0, 5.0, 7.0, and 10.0 mg/mL of menthol standard.
- d. Calculate using the calibration curve, the % of menthol, m, in the M solution, expressed in mg/mL.
- e. Calculate the % of menthol in the mint leaves, with the formula:

$$\% \text{ menthol} = 10 \times m/W \times \% \text{ st}$$

m: mg of menthol in M solution

W: mg of sample (dried mint leaves)

% st: purity of standard menthol

### 1.2.2. Internal standard method

- a. Weigh, separately, 10 mg of standard menthol and 10 mg of octanol (internal standard) in 10-mL volumetric flasks and bring up both to volume with ethanol (A and B solutions, respectively).
- b. Place 1 mL of A solution and 1 mL of B solution, in a 5-mL volumetric flask, bring up to volume with ethanol (C solution).

- c. Weigh 12–15 mg of mint oil in a 10-mL volumetric flask, bring up to volume with ethanol (D solution).
- d. Place 1 mL of D solution and 1 mL of B solution in a 5-mL volumetric flask, bring up to volume with ethanol (E solution).
- e. Inject 1  $\mu\text{L}$  of solutions C and E separately in the gas chromatograph, as described in 2.2.1 method conditions.
- f. Calculate the % of menthol in the mint oil with the formula:

$$\% \text{ of menthol} = 5 \times (A_m/A_{\text{ist E}}) / (A_{\text{st}}/A_{\text{ist C}}) \times W_{\text{st}}/W_m \times \% \text{ st}$$

$A_m$  : menthol area in the sample, E solution

$A_{\text{ist E}}$  : octanol (internal standard) area, E solution

$A_{\text{st}}$  : menthol standard area, C solution

$A_{\text{ist C}}$  : octanol (internal standard) area, C solution

$W_{\text{st}}$  : mg of menthol in C solution

$W_m$  : mg of sample in E solution

% st : purity of menthol standard

## REFERENCES

1. Lock O. 1994. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima, Perú.
2. Gil P. 2002. Productos Naturales. Ed. Universidad Pública de Navarra, Pamplona, España.
3. The Merck Index 1983 An Encyclopedia of Chemical, Drugs, and Biologicals, Merck & Co., Inc., N.J., U.S.A. 10<sup>o</sup> Ed. p. 832.
4. Notes CURSO-TALLER "Control de Calidad de Plantas Medicinales y de Fitofármacos: Métodos Químicos y Cromatográficos", PUCP. Lima, 21-25 de Setiembre de 1998.

**Olga Lock**

olock@pucp.edu.pe

High standards in safety measures should be maintained in all work carried out in Medicinal Chemistry Laboratories.

The handling of electrical instruments, heating elements, glass materials, dissolvents and other inflammable materials does not present a problem if the supervisor's instructions are carefully followed.

This document has been supervised by Prof. OLGA LOCK SING ([olock@pucp.edu.pe](mailto:olock@pucp.edu.pe)) who has informed that no special risk (regarding toxicity, inflammability, explosions), outside of the standard risks pertaining to a Medicinal Chemistry laboratory exist when performing this exercise.

If your exercise involves any "special" risks, please inform the editor.