



ARTÍCULO ORIGINAL
ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO Y DE LA PRODUCCIÓN

Procedimiento para la extracción del aceite esencial de hojas de *Eucalyptus globulus* y la evaluación de la actividad antioxidante

Procedure for the extraction of essential oil from Eucalyptus globulus leaves and the evaluation of antioxidant capacity

Kerly Monserrate Reyna Chica^{1,*} <https://orcid.org/0009-0003-7405-8811>

Rosa Vilma Zambrano Gilces¹ <https://orcid.org/0009-0007-9063-5630>

Enrique Ruiz Reyes¹ <https://orcid.org/0000-0002-6980-1581>

Sonia Nathaly Giler Intriago¹ <https://orcid.org/0000-0003-4253-2792>

Diego German Segovia Cedeño² <https://orcid.org/0000-0003-4795-5907>

¹Universidad Técnica de Manabí, Avenida Urbina y Che Guevara, Facultad de Ciencias Básicas.

²Universidad Técnica de Manabí Avenida Urbina y Che Guevara, Facultad de Ciencias Zootécnicas.

*Autor para la correspondencia: kreyna2042@utm.edu.ec

RESUMEN

El aceite esencial de *Eucalyptus globulus*, reconocido por sus propiedades antioxidantes, fue extraído mediante la técnica de hidrodestilación con arrastre de vapor de hojas frescas y secas recolectadas en Crucita, Portoviejo, Ecuador. Las muestras se procesaron a temperaturas de 40 °C, 50 °C y 60 °C para evaluar su rendimiento y capacidad antioxidante. El rendimiento del aceite esencial osciló entre 0,47 % y 1,16 %, siendo mayor en las hojas frescas. La actividad antioxidante se determinó mediante dos métodos basados en la eliminación de radicales libres, obteniendo valores entre 92,8 y 112 microgramos por mililitro en el primer método, y entre 75,1 y 408 microgramos por mililitro en el segundo, expresados como equivalentes de trolox. Los resultados mostraron una actividad antioxidante significativa, aunque menor que en estudios previos. Se concluye que las hojas frescas producen mayores rendimientos y se recomienda optimizar las condiciones de extracción empleando mezcla de disolventes agua: etanol para incrementar su actividad antioxidante.

Palabras clave: aceite esencial; *eucalyptus globulus*; antioxidantes; hidrodestilación.

ABSTRACT

The essential oil of *Eucalyptus globulus*, recognized for its antioxidant properties, was extracted using the hydrodistillation technique with steam distillation from fresh and dried leaves collected in Crucita, Portoviejo, Ecuador.

The samples were processed at temperatures of 40 °C, 50 °C, and 60 °C to assess their yield and antioxidant capacity. The essential oil yield ranged from 0.47% to 1.16%, with the highest yield obtained from fresh leaves. Antioxidant activity was determined using two methods based on free radical scavenging, yielding values between 92.8 and 112 micrograms per milliliter in the first method and between 75.1 and 408 micrograms per milliliter in the second, expressed as trolox equivalents. The results demonstrated significant antioxidant activity, although lower than reported in previous studies. It was concluded that fresh leaves yield higher amounts of essential oil, and it is recommended to optimize extraction conditions using a water:ethanol solvent mixture to enhance antioxidant activity.

Keywords: essential oil; *eucalyptus globulus*; antioxidant; steam distillation.

Recibido: 29/11/24

Aprobado: 2/12/24

Introducción

Los aceites esenciales son mezclas complejas de sustancias volátiles biológicamente activas que se utilizan como agentes aromatizantes y constituyen una serie de productos comerciales [1]. En la actualidad, su importancia es más destacada debido a la creciente demanda de las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica [2, 3, 4].

El eucalipto (*Eucalyptus* spp.) es un género grande que pertenece a la familia Myrtaceae, que cuenta con alrededor de 900 especies y subespecies. Es un árbol alto y perenne originario de Australia y Tasmania, y se cultiva en la mayoría de las regiones subtropicales y templadas cálidas del mundo [5]. Entre las diversas especies, *E. globulus* es la más popular y la de mayor actividad antioxidante, generalmente se encuentra en regiones subtropicales de Bolivia, Brasil, Chile, China, India, Paraguay, Portugal, España y Uruguay [6]. El aceite esencial extraído de las hojas de *E. globulus* también posee una fuerte actividad antioxidante, en gran medida debido a las proteínas globulinsina A y eucaglobulina. Estos compuestos eliminan los radicales libres DPPH de manera dependiente de la concentración y poseen una actividad inhibidora más fuerte que el ácido ascórbico [7].

Por otro lado, los métodos de extracción más empleados para obtener compuestos bioactivos de las hojas, frutos o corteza del eucalipto son: extracción con Soxhlet, hidrodestilación y extracción con fluidos supercríticos. Dos Santos Ferreira, Pereyra y col. han utilizado combinaciones de disolventes metanol y agua en una proporción de 90:10 v/v, etanol y agua en una proporción de 70:30 v/v o solo agua dependiendo de la parte de la planta que se utilice [8, 9]. La hidrodestilación utilizando el equipamiento Clevenger permite obtener los compuestos bioactivos por arrastre con vapor de agua. La muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños, es encerrada en un balón y sometida a una corriente de vapor de agua sobrecalentado. La esencia así arrastrada es posteriormente condensada,

recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias fluidas, específicamente las utilizadas para perfumería [10].

En el Ecuador existe un gran empleo de la medicina tradicional que se ha transmitido desde nuestros ancestros para curar diversos tipos de enfermedades [11]. Es por ello, que el objetivo de este trabajo es aislar el aceite esencial de hojas eucalipto de la especie *globulus* mediante la hidrodestilación con arrastre de vapor y evaluar el rendimiento y su actividad antioxidante con los métodos DPPH y ABTS.

Métodos

Esta investigación se realizó mediante la aplicación de un procedimiento para la extracción de aceite esencial de eucalipto. El procedimiento consta de tres pasos.

Paso 1: Procesamiento del material vegetal

Las hojas colectadas fueron lavadas con agua destilada y seleccionadas para garantizar su buen estado; después se trocearon, pesaron y se secaron a 40 °C, 50 °C, 60 °C en una estufa de la Marca Memmert, modelo TwinDisplay, y procesadas inmediatamente.

En la recolección del material vegetal, se realizó con base en los registros de las colecciones del Herbario Regional de la Universidad Técnica de Manabí, las hojas de las plantas de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) fueron recolectados en la parroquia Crucita, ciudad de Portoviejo, provincia de Manabí, Ecuador (0°52'2"S 80°29'39"O). Se recolectó 15 kg de material, en el periodo comprendido en el mes de Julio de 2024, bajo la supervisión del botánico, quien realizó la identificación taxonómica de la especie.

Paso 2: Aplicación de la hidrodestilación

La obtención del AE por hidrodestilación (HD) se realizó en un equipo de hidrodestilación del tipo *Clevenger*. Se colocó 200 g del material vegetal y se introdujeron en el balón de extracción de 1 L, que tenía un contenido de 600 mL de agua destilada. El tiempo de extracción fue de 3 horas (3, 12, 13).

El aceite esencial obtenido se separó por decantación, las muestras quedaron almacenados en viales ámbar a 4 °C hasta la realización de los análisis pertinentes. A partir de estos análisis se estimó el rendimiento del aceite esencial. Los materiales utilizados se listan: las hojas de *Eucalyptus globulus*, solventes, reactivos, y equipos de laboratorio.

Paso 3: Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial

La evaluación de la actividad antioxidante se realizó mediante los siguientes métodos:

- **Método del radical DPPH•**

La actividad captadora de radicales libres DPPH• se determinó con el empleo del método descrito por (14) con algunas modificaciones. Primero se prepara una disolución 0,1 mM del reactivo DPPH en un volumétrico ambar y se deja reposar 24 horas en la nevera y oscuridad. Posteriormente se realiza la curva de calibración con Trolox, preparando las diluciones (5, 10, 15, 20 y 25) µM.

Se añade 1 mL de disolución de DPPH y 1 mL de los estándares o muestras. La mezcla se deja reposar por 30 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad, para luego medir la absorbancia con un espectrofotómetro (Thermo Scientific Genesys180) a una longitud de onda de 517 nm, se utiliza como blanco la misma disolución sin agregar la muestra a analizar. Los resultados del método DPPH se expresan en equivalente Trolox/mL de aceite esencial, a partir de la curva de calibración cuya ecuación es $y = -0,007x + 0,407$ con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,999.

- **Método del radical ABTS•+**

El radical ABTS•+ se formó tras la reacción de 3,5 mM de ABTS con 1,25 mM de persulfato potásico (concentración final). Las muestras fueron incubadas a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16-24 h. Una vez formado el radical ABTS se diluyó con etanol hasta obtener una absorbancia de $0,7 \pm 0,05$ a 734 nm.

La curva de calibración Trolox $y = -0,011x + 0,369$ (R^2) 0,996, se obtiene de acuerdo con las siguientes diluciones (5, 10, 15, 20 y 25) μM . Se añade 1 mL de solución de ABTS y 1 mL de los estándares o muestras. La disolución se deja reposar por 30 minutos a temperatura ambiente y en la oscuridad. Posteriormente se mide con un espectrofotómetro (Thermo Scientific Genesys180) a una longitud de onda de 734 nm.

Los resultados del método ABTS se expresan en Actividad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC) por sus siglas en inglés. Esta se calcula a partir de la siguiente expresión 1 [15].

$$TEAC = \frac{C \cdot V}{m} \quad (1)$$

Donde:

C: concentración estabilizada por la curva

V: Volumen de la muestra

m: Masa de la muestra

- **Contenido fenólico**

La determinación del contenido total de fenoles se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu según la metodología de [16] con algunas modificaciones. Se tomaron 200 μL de muestra y estándares (ácido gálico) para luego agregar 1,5 mL de agua destilada; posterior a esto se agregaron 100 μL del reactivo de Folin Ciocalteu, se homogenizó y se dejó reaccionar durante 5 minutos, pasado este tiempo se agregaron 200 μL de una disolución de carbonato de sodio al 20% (m/v). La mezcla se homogenizó e incubó a temperatura ambiente y a oscuridad durante 1 hora. Se leyeron las muestras a 760 nm en un espectrofotómetro marca Thermo Scientific Genesys180 y los resultados se calcularon a partir de la curva de calibración $y = -0,011x + 0,369$ (R^2) 0,996 realizada con las diluciones del patrón.

Los resultados estadísticos se expresaron como el promedio $\pm$ el error estándar de la media (ESM) y se analizaron mediante Prueba t de Student. Valores de $p < 0,05$ fueron considerados significativos.

Resultados

Aplicación de la hidrodestilación

Se realizó la extracción de aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* usando la técnica con arrastre de vapor por hidrodestilación con la trampa tipo cleveanger. Los resultados se realizaron por triplicado para cada muestra y se aprecian en la tabla 1.

Tabla 1 - Rendimiento obtenido por el método de hidrodestilación con arrastre de vapor para las muestras estudiadas.

Temperatura de secado (°C)	Rendimiento (%)
Sin secado	1,1679±0,0266 ^a
40	0,5839±0,0266 ^b
50	0,5686± 0,0266 ^b
60	0,4764±0,0266 ^c
p-valor	<0,0001

La figura 1 refleja gráficamente los resultados del rendimiento obtenido.

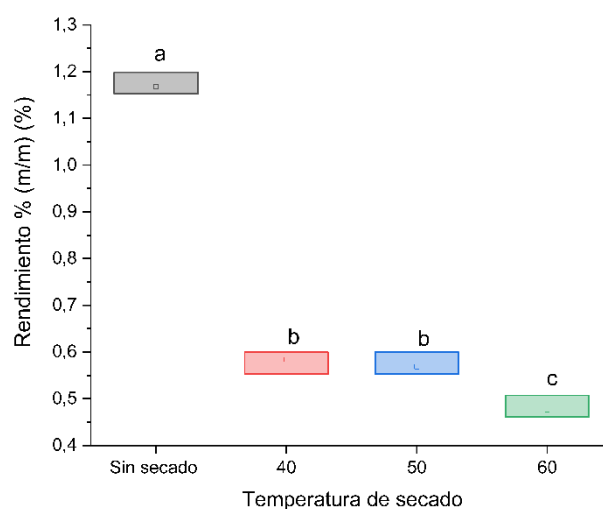


Fig. 1- Rendimiento de hojas frescas y secadas a 40, 50 y 60 °C de la especie *Eucalyptus globulus* por hidrodestilación.

El rendimiento del aceite esencial obtenido varió entre 0,47 y 1,16%, con un promedio de 0,76% siendo más elevado para las hojas sin secado y más bajo para las hojas secadas a 60 °C (fig. 1). Estos valores son un poco bajos con lo reportado en estudios previos para la especie *Eucalyptus globulus* tabla 3, donde se obtuvo rendimientos típicos entre 1,21-3,10% bajo condiciones similares a las utilizadas en nuestro trabajo [4].

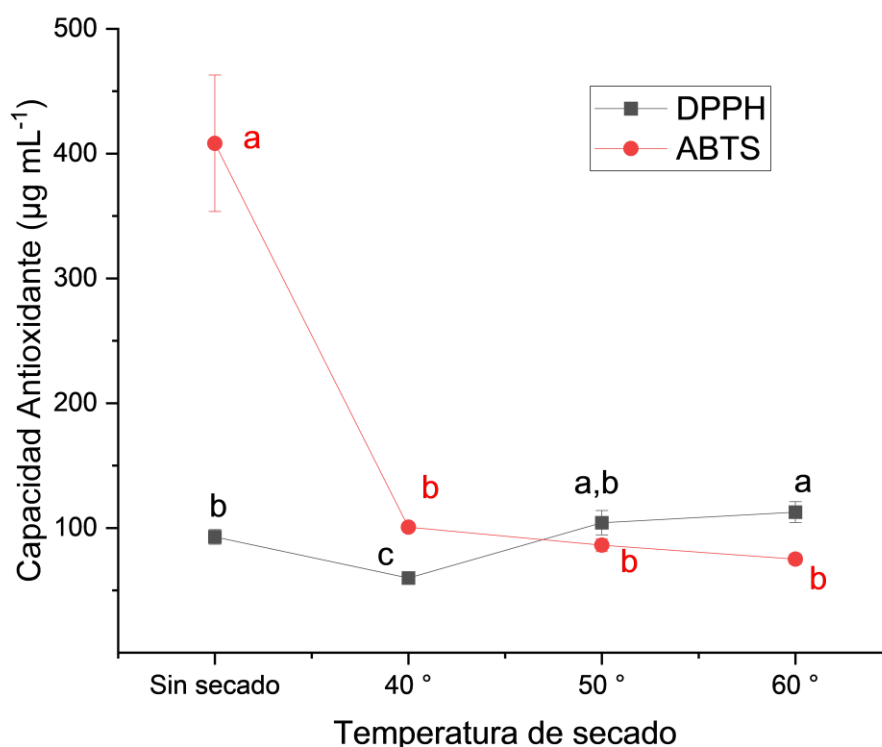
Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial

Se evaluó la capacidad antioxidante del aceite esencial usando el método DPPH (inhibición del radical libre DPPH) y el método ABTS (decoloración de catión radical ABTS •+), obteniendo los siguientes resultados (Tabla 2).

Tabla 2 - Parámetros de actividad antioxidante obtenidos mediante los métodos de DPPH y ABTS para las muestras estudiadas

Temperatura de secado (°C)	Actividad Antioxidante (µg Equivalente Trolox·mL ⁻¹ de aceite)	
	DPPH	ABTS
Sin secado	92,8392 ± 5,8549 ^b	408,2313 ± 54,6677 ^a
40	59,9795 ± 1,2267 ^c	100,7184 ± 3,5699 ^b
50	104,2300 ± 9,7572 ^{a,b}	86,1832 ± 5,1853 ^b
60	112,6897 ± 8,3849 ^a	75,1279 ± 4,1058 ^b
p- valor	<0,0001	<0,0001

La actividad antioxidante medida por el ensayo DPPH presentó valores (59,9-112,6 µg/mL), siendo más elevados para las hojas secadas a 60 °C 112,6 µg Equivalente Trolox·mL⁻¹ de aceite, indicando una buena actividad antioxidante. El ensayo ABTS mostró valores entre (75,1-408,2 µg/mL) de aceite. La mejor respuesta para este ensayo fue para las hojas sin secado con un valor de 408,2 µg Equivalente Trolox·mL⁻¹ de aceite corroborando la actividad antioxidante significativa del aceite esencial (Fig. 2).



PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE EUCALYPTUS GLOBULUS Y LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Fig. 2 - Actividad antioxidante con DPPH y ABTS de hojas frescas y secadas a 40, 50 y 60 °C de la especie *Eucalyptus globulus*

En la tabla 3 se presentan los resultados de los contenidos fenólicos para las hojas frescas y secadas a distinta temperatura expresados en mg de equivalente de ácido gálico por mililitros de aceite esencial.

Tabla 3 - Contenido fenólico de hojas frescas y secadas a 40, 50 y 60 °C de la especie *Eucalyptus globulus*

Temperatura	Contenido fenólico (mg EAG · mL A.E.)
Sin secado	34,729 ± 0,3359 ^b
40	33,8510 ± 1,3916 ^b
50	64,7750 ± 1,3626 ^a
60	62,1370 ± 1,3091 ^a
p- valor	<0,0001

El contenido fenólico estuvo entre (34,729-64,7750 mg EAG · mL A.E), inferior a lo reportado Dezsí S *et al.* [6]. Se observa que el menor valor de polifenoles correspondió a la muestra sin secado 34,729 ± 0,3359 mg EAG · mL A.E, mientras que el mayor valor se obtuvo para la muestra secada a 50 °C 64,7750 ± 1,3626 mg EAG · mL A.E (Fig. 3).

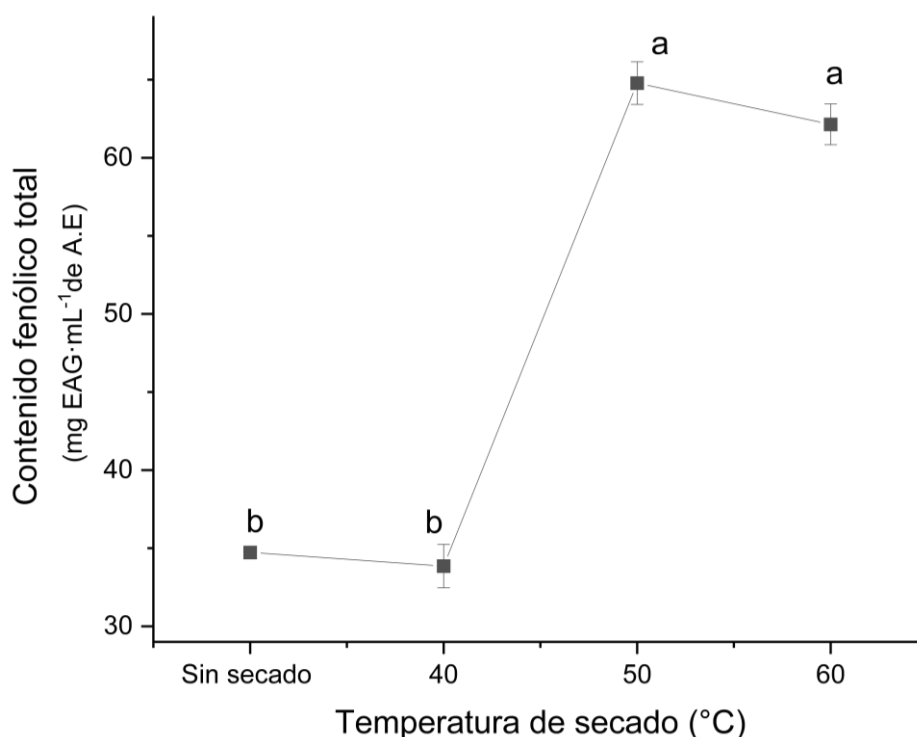


Fig. 3 - Gráfica de contenido fenólico total vs Temperatura de secado de la especie *Eucalyptus globulus*

Discusión

El rendimiento del aceite esencial obtenido en este estudio (0,76% en promedio) es más bajo a los valores reportados en la literatura para *Eucalyptus globulus*, y se encuentra en el rango de lo reportado para las especies *E. camaldulensis*, *E. grandis*, *E. saligna* (Tabla 3) [4].

Además, es importante destacar que este método de hidrodestilación tipo cleveanger permitió obtener aceite esencial con un mayor grado de pureza en comparación con lo reportado por Andrea Cedeño y colaboradores, quienes emplearon el método de extracción Soxhlet. Dicho método presentó trazas de impurezas provenientes del disolvente etanol en el rendimiento final del aceite esencial de eucalipto [17].

La variabilidad observada entre las muestras podría atribuirse a diferencias en la composición química de las hojas, que pueden verse influenciadas por factores como la edad de las hojas, la temporada de recolección, y las condiciones climáticas [18]. Por otro lado, pensamos que la metodología empleada también influye. Zhang, An *et al.* [19] emplearon otra forma de extracción con fluidos supercríticos utilizando la extracción con agua subcrítica. Este método utiliza agua caliente (de 100 a 374 °C) a alta presión (de 10 a 60 bares) para la extracción de aceites esenciales. Esta metodología es más rápida y eficiente que la hidrodestilación. Algunas de las ventajas son un menor tiempo de extracción, una alta calidad del extracto, menores costos del disolvente de extracción y su naturaleza respetuosa con el medio ambiente ya que se utilizó (H₂O).

Comparado con otras especies de eucalipto (tabla 4), el *Eucalyptus globulus* muestra un rendimiento ligeramente superior de aceite esencial, lo cual puede ser considerado adecuado para aplicaciones comerciales debido a su alta calidad en componentes activos como el 1,8-cineol, limoneno, linalool, α -eudesmol, Epiglobul, β -mirceno y Globulol.

Tabla 4 - Concentración y el rendimiento de los principales compuestos bioactivos de cuatro especies de eucalipto.

Compuestos bioactivos	<i>E. globulus</i>	<i>E. camaldulensis</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. saligna</i>
Rendimiento (%)	1,21-3,10	0,26-3,48	0,26-3,01	0,19-1,42
1,8-cineol (%)	17,2-90	8,7-74,7	18,4-19,8	6,2-93,2
α -pineno(%)	2,2-16,1	6,1-22,5	11,4-52,7	12,8
β -pineno(%)	0,4			
α -terpineol (%)	5,5-6,0			8,8
γ -terpieneno (%)			16,3-29,2	20,10-24,6
Terpinen-4-ol (%)	0,34	14,2-15,2		
Limoneno (%)	6,6-17,8			3,3-7,1
Linalool (%)	0,24			
α -eudesmol (%)	0,39			
Epiglobul (%)	0,44			

PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE EUCALYPTUS GLOBULUS Y LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

p-cimeno	5,3-13,1	12,2-21,7	8,7-59,6	21,3-24,4
β -mirceno (%)	1,5			
Globulol	2,77			

Los valores obtenidos para la actividad antioxidante (59,9-112,6 $\mu\text{g/mL}$) con DPPH sugiere que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* posee una actividad antioxidante que se encuentra entre los valores reportados comparada por Mishra, Sahu y col. (20) $\text{IC}_{50} = 79,55 \pm 0,82 \mu\text{g/mL}$. Para el método con ABTS (75,1-408,2 $\mu\text{g/mL}$) también reflejó una capacidad antioxidante que se encuentra en el rango de la reportada por (10) $\text{IC}_{50} = 100,30 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$. Se puede apreciar que la temperatura de secado que se utilizó influyo en la capacidad antioxidante. Quizás estos valores pueden ser atribuido a una menor o mayor presencia de flavonoides, saponinas, terpenos como el 1,8-cineol, α -pineno y los compuestos fenólicos globulosina A (Fig. 4) y eucaglobulina (Fig. 5), que potencian esta actividad [7].

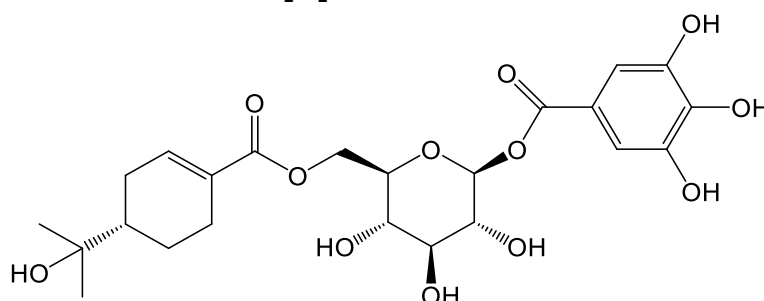


Fig. 4 - Estructura química de la globulosina A

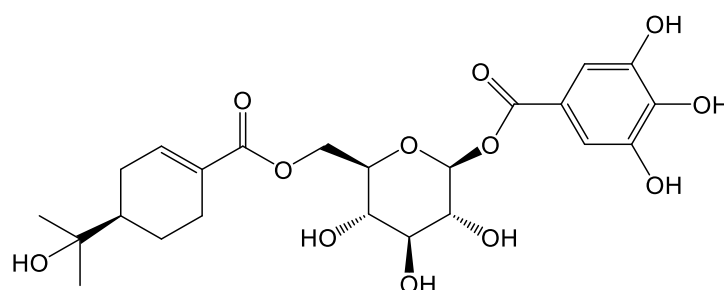


Fig. 5 - Estructura química de la eucaglobulina

Los resultados muestran que para los aceites esenciales los valores que se obtienen con el ABTS expresados en μg Equivalente Trolox $\cdot \text{mL}^{-1}$ de aceite, son mayores que los obtenidos con la técnica DPPH para las hojas sin secar y secadas a 40 °C. Quizás esto se deba a que el método de la decoloración del catión-radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ es aplicable a antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos, lo que le permite su implementación en sistemas, tanto acuosos como lipofílicos [21]. El ABTS, además, es muy soluble en agua y químicamente estable [21]. En cambio, el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico por lo que mide preferentemente la capacidad antioxidante de compuestos poco polares o no polares [22].

Sin embargo, la actividad antioxidante observada podría verse influenciada por la concentración de aceite esencial utilizada en los ensayos y por la pureza del aceite extraído. Estudios adicionales podrían enfocarse en el fraccionamiento de los componentes del aceite para identificar cuáles contribuyen más significativamente a la actividad antioxidante [23].

A pesar que la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles obtenido fue inferior comparado con lo reportado para el aceite esencial de *Eucalyptus* [6] pensamos que se justifica como su potencial uso en la industria farmacéutica como agente antioxidante natural [18].

Conclusiones

1. El rendimiento de la extracción de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* fue más alto en hojas frescas, lo que indica que el proceso de secado reduce la eficiencia del método de hidrodestilación.
2. La temperatura de secado y el estado de las hojas (frescas o secas) tienen un impacto significativo en el rendimiento y la calidad del aceite esencial obtenido. Las hojas frescas a temperatura ambiente resultaron ser las más adecuadas para obtener un aceite esencial de alta calidad.
3. A pesar de los rendimientos relativamente bajos, el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* tiene un potencial considerable para su uso como antioxidante natural en la industria farmacéutica y cosmética, con la recomendación de optimizar las condiciones de extracción para maximizar su eficiencia.
4. Aunque el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* mostró una buena actividad antioxidante, esta fue inferior a la reportada en otros estudios, lo que podría deberse a una menor concentración de compuestos bioactivos clave en las muestras analizadas.
5. Sería beneficioso realizar estudios adicionales que exploren métodos de extracción alternativos, como la extracción con fluidos supercríticos, que podrían mejorar el rendimiento y la calidad del aceite esencial, así como su actividad antioxidante.

Referencias

1. Ali OT, Mohammed MJ. Isolation, characterization, and biological activity of some fatty acids and volatile oils from iraqi eucalyptus microtheca plant. International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance. 2020;11(1):138-43.
2. El-Seedi HR, Yosri N, Khalifa SAM, Guo Z, Musharraf SG, Xiao J, et al. Exploring natural products-based cancer therapeutics derived from egyptian flora. Journal of Ethnopharmacology. 2021;269.
3. Panda S, Sahoo S, Tripathy K, Singh YD, Sarma MK, Babu PJ, et al. Essential oils and their pharmacotherapeutics applications in human diseases. Advances in Traditional Medicine. 2022;22(1).

4. Kumar A, Singh S, Kumari P, Rasane P. Eucalyptus: phytochemical composition, extraction methods and food and medicinal applications. *Advances in Traditional Medicine*. 2023;23(2):369-80.
5. Danna C, Cornara L, Smeriglio A, Trombetta D, Amato G, Aicardi P, et al. Eucalyptus gunnii and eucalyptus pulverulenta 'baby blue' essential oils as potential natural herbicides. *Molecules*. 2021;26(21).
6. Dezsi Ş, Bădăraş AS, Bischin C, Vodnar DC, Silaghi-Dumitrescu R, Gheldiu A-M, et al. Antimicrobial and antioxidant activities and phenolic profile of Eucalyptus globulus Labill. and Corymbia ficifolia (F. Muell.) KD Hill & LAS Johnson leaves. *Molecules*. 2015;20(3):4720-34.
7. Vecchio MG, Loganés C, Minto C. Beneficial and healthy properties of Eucalyptus plants: A great potential use. *The Open Agriculture Journal*. 2016;10(1).
8. Insuan W, Chahomchuen T. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil extracted from eucalyptus citriodora leaf. *Microbiology and Biotechnology Letters*. 2020;48(2):148-57.
9. Nguyen HTT, Miyamoto A, Nguyen HT, Pham HT, Hoang HT, Tong NTM, et al. Short communication: Antibacterial effects of essential oils from Cinnamomum cassia bark and Eucalyptus globulus leaves–The involvements of major constituents. *PLoS ONE*. 2023;18(7 July).
10. Alarcón MET, Conde CG, Mendez GL. Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de Eucalyptus globulus Labill. *Revista Cubana de Farmacia*. 2019;52(1).
11. Ruiz-Reyes E, Mendoza-Cevallos MA, Polanco-Moreira AP, Segovia-Cedeño DG, Alcivar-Cedeño UE, Dueñas-Rivadeneira A. Phytochemical study of the plant species Bidens pilosa L.(Asteraceae) and Croton floccosus (Euphorbiaceae). *F1000Research*. 2022;11.
12. Rahimi-Nasrabadi M, Gholivand MB, Vatanara A, Pourmohamadian S, Najafabadi AR, Batooli H. Comparison of essential oil composition of eucalyptus oleosa obtained by supercritical carbon dioxide and hydrodistillation. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*. 2012;18(4):318-30.
13. Chibi A, Hassaine A. Essential Oil of Eucalyptus polybractea (L.): Chemical Composition, Antifungal, Insect Repellent and Insecticidal Activities. *Tropical Journal of Natural Product Research*. 2023;7(10):4160-5.
14. Bohórquez Fajardo R. Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de Diplostephium phyllicoides (Kunth) Wedd. 2016.
15. Solano MAQ, Flores DDC, Hinojosa RA, De La Cruz AH, Cervantes GMM. Capacidad antioxidante de aceite esencial de hojas de eucalipto (Eucalyptus globulus) extraído por energía ultrasónica. *Journal of Agri-food Science*. 2022;3(1):19-29.
16. Margraf T, Karnopp AR, Rosso ND, Granato D. Comparison between Folin-Ciocalteu and Prussian Blue assays to estimate the total phenolic content of juices and teas using 96-well microplates. *Journal of food science*. 2015;80(11):C2397-C403.
17. Cedeño A, Moreira C, Muñoz J, Muñoz A, Pillasaguay S, Riera MA. Comparación de métodos de destilación para la obtención de aceite esencial de eucalipto. *Revista Colón Ciencias, Tecnología y Negocios*. 2019;6(1):1-13.

18. Abbas A, Anwar F, Alqahtani SM, Ahmad N, Al-Mijalli SH, Shahid M, et al. Hydro-Distilled and Supercritical Fluid Extraction of Eucalyptus camaldulensis Essential Oil: Characterization of Bioactives Along With Antioxidant, Antimicrobial and Antibiofilm Activities. Dose-Response. 2022;20(3).
19. Zhang J, An M, Wu H, Stanton R, Lemerle D. Chemistry and bioactivity of Eucalyptus essential oils. Allelopathy Journal. 2010;25(2):313-30.
20. Mishra AK, Sahu N, Mishra A, Ghosh AK, Jha S, Chattopadhyay P. Phytochemical screening and antioxidant activity of essential oil of eucalyptus leaf. Pharmacognosy Journal. 2010;2(16):25-8.
21. Naranjo M, Vélez LT, Rojano BA. Antioxidant activity of different grades of Colombian coffee. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2011;16(2):164-73.
22. Floegel A, Kim D-O, Chung S-J, Koo SI, Chun OK. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. Journal of food composition and analysis. 2011;24(7):1043-8.
23. Oliveira CSD, Moreira P, Cruz MT, Pereira CMF, Silva AMS, Santos SAO, et al. Exploiting the Integrated Valorization of Eucalyptus globulus Leaves: Chemical Composition and Biological Potential of the Lipophilic Fraction before and after Hydrodistillation. International Journal of Molecular Sciences. 2023;24(7).

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

Contribución de cada autor:

Kerly Monserrate Reyna Chica: Análisis formal, investigación, redacción – preparación del borrador original, redacción – revisión y edición, software con los datos.

Rosa Vilma Zambrano Gilces: Análisis formal, investigación, redacción – preparación del borrador original, redacción – revisión y edición, trabajo en software con los datos.

Diego Germán Segovia Cedeño: Conceptualización, investigación, software, redacción – preparación del borrador original, redacción – revisión y edición.

Sonia Nathaly Giler Intriago: Conceptualización, investigación, software, redacción – preparación del borrador original, redacción – revisión y edición.

Enrique Ruiz Reyes: Conceptualización, análisis formal, obtención de fondos, investigación, metodología, administración de proyectos, supervisión, redacción – preparación del borrador original, redacción – revisión y edición.