

Tesis de Posgrado

Composición del aceite esencial de Thymus vulgaris de la Provincia de Buenos Aires

Bulaievsky, Miguel Angel

1952

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química
de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Bulaievsky, Miguel Angel. (1952). Composición del aceite esencial de Thymus vulgaris de la Provincia de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0697_Bulaievsky.pdf

Cita tipo Chicago:

Bulaievsky, Miguel Angel. "Composición del aceite esencial de Thymus vulgaris de la Provincia de Buenos Aires". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1952. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0697_Bulaievsky.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FISICAS Y NATURALES.

COMPOSICION DEL ACEITE ESENCIAL DE
THYMUS VULGARIS
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES.

Tesis: 697

T E S I S

Para optar al título de Doctor en Química
presentada por:

MIGUEL ANOEL BULAJEVSKY.

Año 1952

PADRINO DE TESIS :

PROFESOR AGUSTO DR. ADOLFO L. MONTES

A MIS PADRES

Quiero dejar constancia, de mi sincero agradecimiento al Profesor Dr. Adolfo L. Montes por las enseñanzas y consejos brindados durante el presente trabajo, como también de mi profundo reconocimiento por haberme facilitado su obra: "Análisis de aceites esenciales", que constituyó para mí, una valiosísima ayuda.

I N D I C E .

Pág.

1.- ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS	1
a) Descripción botánica.	1
b) Características y composición de los aceites esencia- les de <i>Thymus vulgaris</i>	4
c) Propiedades físicas y características de los componen- tes hallados en aceites esenc. de <i>Thymus vulgaris</i> . . .	10
II.- PARTE EXPERIMENTAL.	20
a) Antecedentes del aceite estudiado.	20
b) Determinaciones físicas.	21
c) Determinaciones químicas.	29
d) Aislamiento e identificación de los componentes prin- cipales.	42
Acidos libres.	46
Fenoles.	47
Alcoholes.	49
Hidrocarburos.	51
e) Resumen de las características y composición del acei- te de <i>Thymus vulgaris</i> estudiado.	53
f) Comparación de la esencia estudiada con los datos bi- bliográficos.	55
g) Conclusiones.	56
h) Bibliografía.	58

I.- ANTECEDENTES

BIBLIOGRAFICOS.

a) DESCRIPCION BOTANICA.

El tomillo fué conocido por Teofrastos (350 años a.C.) y aun en ese entonces era difícil, si no imposible distinguir distintas formas de la especie cultivada (1); él mismo, describió distintas especies; fué usado por los romanos para aromatizar el queso y también para obtener miel de tomillo, como fñor para abejas.

La planta de *Thymus vulgaris* corresponde a:

División	:	Fanerógamas
Subdivisión	:	Gimnospermas
Clase	:	Dicotyledoneae
Subclase	:	Sympetalae
Orden	:	Tubiflorae
Familia	:	Labiatae
Género	:	<i>Thymus</i>
Especie	:	<i>Vulgaris</i> (2)

El tomillo es una planta vivaz, de la familia de las Labiadas o familia de la menta (3); se lo cultivan en el jardín como planta de adorno y en la huerta como planta de condimento; alcanza a 20-30 cm. de altura, es muy aromática, forma un pequeño arbusto muy ramoso.

La raíz es leñosa, ramosa y dura.

El tallo, que no pasa de 15cm. es leñoso en la base, herbáceo en la sumidad, erguido.

Las ramas, más o menos erectas, de 10-20 cm. de largo, blancas aterciopeladas.

Las hojas, opuestas, pequeñas, lineales, lanceoladas con ner-

vađura lateral visible, de color verde seniciente. Las glándulas aceitesas se encuentran sobre ambas superficies de las hojas , están cubiertas de pelos.

³
Sus flores, son labiadas, muy pequeñas de color blanco o rosado, aparecen en el verano en gran número, situadas en las extremidades de los tallitos, formando como racimos de forma ovoidal.

Sus semillas son redondas y pequeñas (entran alrededor de 6.000 en un grano) de color parduzco. La facultad germinativa de estas se conserva alrededor de 3 años. (4)

No es planta exigente en cuanto a suelo, se adapta a los pobres, secos y sanos. Lahumedad en exceso le es perjudicial, no es apta para tierras arcillosas y húmedas.

En nuestro país puede ser cultivada en las zonas templadas y cálidas ; crece en Córdoba, Mendoza, La Rioja, Santiago del Estero, Entre Ríos. Se lo conoce con distintos nombres vulgares: cominito o mansanilla del campo. (5)

Se multiplica por semillas, que se siembran en hileras, en surcos poco profundos y luego cubiertos con pequeña capa de tierra.

La hierba seca es de color verde-parduzco. Las hojas, pequeñas, se enrollan hacia atrás, presentan pequeños fragmentos del tallo. Las hojas varían de largo del 1/16 a 1/4 de pulgada. Cuando la hoja es vista al microscopio con pequeño aumento se ven pequeñas vacuolas de aceite; molidas producen un fragante olor, su gusto es aromático, ardiente y punsante.

La Botánica de las plantas de las cuales, aceites de tomillo, son destiladas es algunas veces confusa, puesto que solamente en España--el principal país productor de este aceite--existen numerosas especies y variedades de tomillos silvestres, algunos de los cuales conser-

van nombres vernaculares (6). Lo mismo ocurre en Marruecos y otros países que bordean al Mediterráneo.

En el comercio, la designación de aceite de tomillo, es, en ciertas ocasiones aplicada indistintamente y erróneamente, a aceites destilados de otras plantas pertenecientes a especies distintas que *Thymus vulgaris* L. o *Thymus sygic* L.

De acuerdo a la literatura, aceite de Tomillo español es destilado de arbustos florecidos de *Thymus vulgaris* L. y *Thymus sygic* L. que crecen en forma silvestre en amplias extensiones, llamadas "Tomillares" en el S.E. de España (Aragón, Andalucía, Cataluña, Murcia, Nueva Castilla, y Valencia) en suelos secos y arenosos, en forma abundante. La destilación tiene lugar de Mayo a Agosto.

En Francia, la hierba crece abundantemente en las zonas montañosas del Mediterráneo y es hallada hasta 3.000-4.000 pies de altura. Es recogida cuando florece durante Mayo-Junio y destilada fresca (7).

Los aceites españoles contienen mayor porcentaje de fenoles generalmente.

Existen en España 30-40 especies y variedades, de las cuales es difícil distinguir unas de otras; Holmes señaló que hay, incluidas en la flora de España 39 especies de *Thymus*, algunas de las cuales tienen nombres vernaculares y pueden tener usos industriales (8). Entre otros:

Thymus vulgaris (Tomillo común o salsero)

Thymus hirtus Villd.

Thymus capitatus L. (T. carrasqueño o andaluz)... 3% fenoles
12% cineol

Thymus hyemalis Lgo.

Thymus sygic L. (Tomillo salsero o sisquero)... 44-60% fenoles

Thymus loosei WK (T. sanjuanero o de las olivas), 2-3, 5% fenoles
35% cineol

Thymus serpyllum L. (serpol)

En Marruecos, cuyo clima es similar al del S. de España, el tomillo crece abundantemente en las pendientes áridas y cálidas de las montañas Atlas y Riff.

b) CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DE LOS ACEITES ESENCIALES
DE THYMUS VULGARIS.

The National Formulary, 8a. ed. define como aceite esencial de tomillo: el aceite volátil destilado de plantas florecidas de *Thymus vulgaris* Linné o *Thymus sygis* L. y su variedad *Gracilis* Bois (fam. Labiácea). Esta definición excluye al tipo carvacrol (9).

La esencia de tomillo, además de pineno, borneol y linalol, que se encuentran en pequeña cantidad está formada por dos componentes: el cimeno y un fenol, que puede ser timol o carvacrol, o ambos (10).

Antes de la guerra civil española se utilizaba como fuente natural del timol los granos de ajowan indiano, que dan por destilación 3% de aceite, que contiene 50-60% de timol. Durante ella, los consumos de timol aumentaron, mientras que la provisión de ajowan disminuyó, se pensó entonces extraerlo de otras plantas, entre éstas se halló el tomillo, que también contiene carvacrol (11).

Tanto el carvacrol como el timol, que son fenoles isómeros se encuentran en esta esencia al estado libre, casi siempre, y se los hallan la fracción volátil separada por destilación. La misma especie puede producir timol en una localidad y carvacrol en otra (12).

Los compuestos más importantes que determinan su olor y su valor son: timol y carvacrol, de los cuales el primero se separa muchas veces en forma sólida en los aceites viejos.

El aceite francés se compone, principalmente de timol (20-42%); al español, de carvacrol (50-74%).

El tenor de fenoles totales es muy variable, va de 18 a 75% y la proporción recíproca de ambos es extremadamente irregular. A causa de la inconstancia de su composición, ambos fenoles son difíciles de separar y por ello, el *Thymus vulgaris*, muy raramente se utiliza en la Preparación industrial del timol. En esencias donde el porcentaje de fenoles es pequeño o cuando predomina el carvaerol sobre el timol, la separación industrial es imposible o por lo menos poco interesante (13).

M. Rodié trató de deducir el porcentaje de fenoles en aceites de tomillo, en base a constantes físicas; ello no puede hacerse con exactitud, pero sí, en forma aproximada. Si la densidad es superior a 0,922 el tenor en fenoles es superior a 40%. La solubilidad también permite clasificar la esencia en tres grupos.

- 1) las solubles en alcohol 65°, son las más pesadas y fenoles 56-65%
- 2) las solubles en alcohol 70°, su densidad varía de 0,922-0,945 y pasan de 40% en fenoles ;
- 3) las solubles en alcohol 80°, son las menos densas y no alcanzan al 40% en fenoles (10)

Por otra parte, si los fenoles separados de aceites de tomillo, cristalizan a temperatura ambiente (20°C), dentro de 24 horas, después de sembrar (timol) los fenoles están en un 40% o más de timol en el aceite original. Además, si los aceites cristalizan después de 5 min. cuando se enfría a 0°C y siembra, los fenoles contienen más de un 20% de timol (20).

Las experiencias en aceites de tomillo, tienen por objeto encontrar un método que dé el porcentaje de timol en la fracción fenólica y distinga los aceites del tipo timol y carvaerol.

Sage y Dalton determinaron puntos de fusión de mezclas de timol y carvaerol y de mezclas de estos fenoles recuperados de aceites de tomillo de conocida composición.

Los aceites obtenidos a partir de *Thymus vulgaris* presentan en general, un conjunto de características semejantes, observándose modificaciones dentro de límites más o menos estrechos, bajo la influencia de diversos factores, como ser: suelo, clima y forma de extracción.

Tanto la composición química, como las características físicas, de esencias obtenidas de plantas del género *Thymus* varían fundamentalmente de una especie a otra.

Aún para una misma región se han comprobado variaciones en las características de la esencia, con la época de recolección, debido muy probablemente a variaciones en las condiciones climáticas. Además de los factores ya apuntados, influyen en la composición de la esencia el tiempo transcurrido entre el corte y la destilación. El juego de todos estos elementos introduce modificaciones en el producto final y trae aparejado además, variaciones en el rendimiento.

Se ha observado, que el máximo de rendimiento, en aceite esencial hallado fué de 2,6% en una serie de experiencias; además el segundo corte da mayor rendimiento que el primero; por otra parte en el curso del día, el máximo se obtuvo durante las primeras horas de la tarde (14).

A continuación figura la composición de aceites de varias especies de *Thymus* y de diversos países hallados por distintos autores.

Aceites de Thymus de Marruecos (6).

P. esp. 25°/25°0	0,891 hasta 0,909
Poder rotatorio 20°0	-3°12°
Índice de refracción 20°0	1,4909 hasta 1,4969
Solub. 25°0 en alcohol 80°	1,5-7 vol.
Fenoles	28-37%

Aceite de Thymus capitatus (Reggio Calabria, Italia) (26).

Rendimiento	3-5,75%
P. esp. 21°0	0,9350
Poder rotatorio 25°0	-2°20°
Índice de refracción	1,5025
Índice de ácido	4,25
Índice de éster	2,10
Índice de saponificación	6,35
Alcohol total	38%
Fenol (carvacrol)	58,5%

Aceite de Thymus hienalis Lange (Verbena de España) (6).

P. esp. 15°0	0,901-0,926
Poder rotatorio	2°45° a 18°30°
Índice de refracción 20°0	1,48024 a 1,48267
Aldehidos (citral)	13-34%
Índice de saponificación	7,45- 15,44
Índice de éster desp. formilac. en frío	66,82-92,55
Alcohol libre (C ₁₀ H ₁₈ O)	16,89-22,26%
Alcohol total	19,06-26,05%
Ester (C ₁₂ H ₂₀ O ₂)	2,76-5,4%

Aceite de *Thymus hirtus* willd (Tomillo limonero) (6)

P. ESP. 15°C	0,909
Poder rotatorio 15°C	13°20'
Índice de refracción 15°C	1,4825
Número de ácido	4,2
Número de Éster	18,34
Número de éster desp. acetilac.	95,35
Éster (acetato $C_{10}H_{18}O$)	6,42%
Alcoholes totales ($C_{10}H_{18}O$)	28,35%
Alcoholes libres	22,52%
Citral	
(método bisulfito)	6,6%
(método hidroxilamina)	12,54%
Destilación fraccionada	
fracción 155-173°C	9,05%
" 173-180°C	9,8 %
" 180-190°C	18,0%
" 190-200°C	19,11%
" 200-210°C	23,25%
" 210-220°C	8,92 %
" 220-225°C	6,05%
residuo	5,82%
Terpenos	20-25%
Citral	12,54%
Flavonoides, resinas	33,36%

e) PROPIEDADES FISICAS Y CARACTERISTICAS DE LOS
COMPONENTES HALLADOS EN ACEITES ESENCIALES DE
THYMUS VULGARIS.

La primera investigación de la química del aceite de tomillo data de 1853 por Lallemand (27,28) quien identificó el timol como principal constituyente (29).

Los trabajos posteriores son algo confusos, pues no aclaran entre aceite de tomillo (*Thymus vulgaris* L. e *Thymus syriacus* L.) y de orégano (*Corydanthus capitatus* Rehb. f. - *Thymus capitatus* Hoffm et Link) y otras especies, designadas también como "aceite de tomillo".

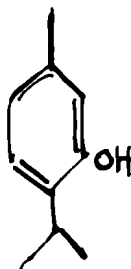
La presencia de los siguientes componentes fué hallada por distintos investigadores en diversos aceites examinados.

Citaremos a continuación, las principales características de los distintos compuestos (6, 20, 21, 22, 23).

FENOLES.

Timol. ($C_{10}H_{14}O$)

Es el principal constituyente de algunos aceites de la familia de las Labiáceas (tomillo y ajowan).



Este fenol al igual, que su isómero el carvacrol, se aísla del aceite esencial por tratamiento con solución acuosa de NaOH y por acidificación ulterior, es puesto en libertad.

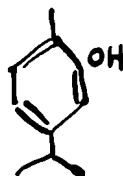
Se caracteriza: 1) por la preparación de algunos derivados cristalinos de P.F. definido. Entre éstos, da los siguientes:

Fenil uretano	PF. 107°C
nitroso compuesto	161-162°C
ácido timil oxi acético	148-149°C
timil 3-5 dinitro benzoato	103,2°C

2) Por oxidación ($CrO_2K_2 + S O_4H_2$) se transforma en timoquinona
PF. 44-46°C

3) Reacciones coloreadas. a) con anhídrido ftálico da timolftaleína.
b) con Cl_3Fe en solución alcohólica no da coloración.

Carvacrol. ($C_{10}H_{14}O$)



También es un constituyente de la familia de las Labiáceas (orégano, tomillo, mejorana)

Puede ser caracterizado por los siguientes derivados:

Fenil uretano	PF. 134-135°C
nitroso carvacrol	153°C
ácido carvacril oxi acético	151°C
carvacril 3-5 dinitro benzoato	83°C

Es soluble en ácido sulfúrico por sulfonación; soluble en álcalis, pero extraído con éter; volátil con vapor, aún en solución alcalina fuerte. Con Cl_3Fe en solución alcohólica da un color verde fugaz.

ALCOHOLES.

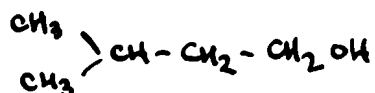
Alcohol amílico-n. (C₅H₁₂O)



Se encuentra en la naturaleza en aceites esenciales de manzana y algodón.

Da un ftalato ácido de PF. 75,4-75,6°C y un 3-5 dinitrobenzoato PF. 46,4°C.

Alcohol isoamílico. (C₅H₁₂O)



Se halla en los aceites esenciales de geranio, lavanda, eucaliptus globulus.

Da un naftiluretano PF. 67°C y un 3-5 dinitrobenzoato PF 61°C.

β-δ hexenol. (C₆H₁₂O)



Alcohol primario no saturado. Presenta dos estereoisómeros: el cis y el trans. Este alcohol es el principal constituyente de las hojas fermentadas de té, también hay en aceites de menta Japonesa, aceites de tomillo y té de China.

Puede ser aislado por su ftalato ácido e identificado por los siguientes derivados:

Ftalato ácido PF 127°C ; susal de Ag, PF 126°C ;
3-5 dinitro benzoato PF 48,5- 49°C.

Se observan variaciones en sus propiedades a debidas a la presencia de uno u otro isómero, en aceites de distinta procedencia.

Linalol ($C_{10}H_{18}O$)



Son alcoholes terciarios biotilénicos que derivan del geraniol y nerol por migración del hidroxilo en beta.

El "d" (coriandrol) se lo encuentra en el aceite de linalol y en el de coriandro. El "l" (licareol) es el más conocido tiene olor a rosas, extrayéndoselo de las esencias de rosa, lavanda, bergamota, neroli, etc.

Se comporta como el geraniol en muchas reacciones, p.ej.:
Por oxidación con SO_3H_2 dil. y $Cr_2O_7K_2$ da citral y metilheptenona.
Por oxidación con MnO_4K da acetona y ácido levulínico.
Por acción de los ácidos orgánicos se transforma en geraniol.

Da un feniluretano PF 65-66°C ; y un l-linalil p- nitrobenzoato PF 70°C.

Borneol. ($C_{10}H_{18}O$)



Es un alcohol secundario sólido. El más importante es el (d), llamado también alcanfor de Borneo. Se lo encuentra libre y en forma de éster en numerosos aceites esenciales (espliego, romero).

El (l) se encuentra en la esencia de valeriana.

El NO_2H lo transforma en alcanfor y con Cl_5P da cloruro de isobornilo.

Da un feniluretano PF 138°C ; un ftalato ácido PF 165°C ; y un 3-5 dinitrobenzoato PF 154°C.

Terpinen-4-ol. ($C_{10}H_{18}O$)



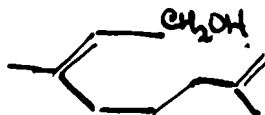
Alcohol terciario terpénico, no saturado.

Se halla en esencia de tomillo, ciprés y otros. Se aísla por destilación fraccionada. Se identifica por preparación de sus derivados:

Da un nitrosocloruro PF 111-112°C ; y un feniluretano PF 71-72°C.

Por oxidación con MnO_4K da el p-mentanol 1,2,4 triol PF 128°C y por acción del ClH da el dihidrocloreuro de terpineno PF 51-52°C.

Geraniol. ($C_{10}H_{18}O$)



Alcohol primario. Se lo encuentra como principal componente de la esencia de geranio y palma rosa. También se lo encuentra en el aceite esencial de rosa y en el de citronela.

Es un líquido oleoso de olor parecido a la rosa y al geranio.

Presenta la propiedad de dar una combinación cristalina con el Cl_2Ca anhidro, que es insoluble en éter de petróleo y que se descompone por acción del agua, regenerando el geraniol.

Calentado a 200°C con agua en autoclave se transforma en linalol.

Disuelto en Cl_3CH y tratado con Bromo da un derivado tetrabromado, PF 70-71°C

Entre los compuestos que sirven para su caracterización figuran: el 3-5 dinitrobenzoato PF 62°C ; el ftalato ácido PF 47°C ; y el difenil uretano PF 82°C.

HIDROCARBUROS TERPENICOS.

α pineno. ($C_{10}H_{16}$)



Es un terpeno muy difundido en la naturaleza del que se conocen cuatro isómeros α , β , δ , e isopineno.

Se halla en la esencia de trementina que se obtiene por destilación con vapor de agua de resinas de algunos géneros de y especies de la familia de las Pináceas; además se encuentra en los aceites de eucaliptus, naranjas, limón, coriandro, menta.

El α pineno se encuentra en las formas (d), (l) y (dl).

Por hidrogenación (rt) da pinano, que presenta un espectro de absorción característico, reacción que da también el β pineno.

Ambos dan también el cloruro de bornilo PF $132^{\circ}C$ (aleafer artificial). El α se diferencia del β , pues éste no da el nitrosocloruro. En cambio el α da dos: uno que deriva del (d-l) pineno de PF $115^{\circ}C$ y otro que tiene PF $89,5-90^{\circ}C$ que proviene del (d) o (l) pineno.

La separación de ambos se basa en la distinta solubilidad de los mismos en alcohol.

Por oxidación del α pineno con MnO_4K da ácido pinónico PF $68^{\circ}C$, que da una semicarbazona de PF $204^{\circ}C$, si proviene de las formas activas o PF $206^{\circ}C$, de la forma (d-l).

β pineno ($C_{10}H_{16}$)



Acompaña al α pineno en los aceites de trementina, generalmente en pequeña cantidad. También en aceites esenciales de limón, koriandro, comino.

Existe en tres formas (d), (l), y (d-l).

Su separación del α pineno es difícil, pues ambos reaccionan en la misma forma.

Canfeno. ($C_{10}H_{16}$)



Es un terpeno bicyclico, y es el único terpeno sólido que existe en la naturaleza. Se halla en tres formas: (d), (l) y (d-l) en los aceites esenciales de pino, ciprés, limón, naranja, eucaliptus globulus, neroli.

Sólo es posible obtener cristales, durante algunos instantes y es necesario un método indirecto, para su aislación (se lo convierten su cloruro, con ClH en solución etérea, y regenera en solución alcalina).

Se lo identifica por preparación de sus derivados: por hidratación en isoberneol PF $212^{\circ}C$; o en su clorhidrato (olor a mentol) con ClH en solución etérea, PF $125-127^{\circ}C$.

P-menteno. ($C_{10}H_{18}$)



Los seis miembros de este grupo han sido sintetizados, pero el más importante relacionado con aceites esenciales es el Δ^3 menteno que es un constituyente natural del aceite de tomillo.

γ -terpineno. ($C_{10}H_{16}$)



El término terpineno se refiere a tres terpenos monocíclicos que por tratamiento con ClH dan el 1-4 dicloro p-mentano (terpineno dihidrocloruro). Solamente el α y el γ se encuentran en la naturaleza y son prácticamente inseparables pues por destilación fraccionada, es imposible aislarlos en forma pura.

Se identifica por el dihidrocloruro PF $52^{\circ}C$; da también un nitrosocloruro PF $111^{\circ}C$.

En presencia de otros terpenos, especialmente α terpineno, el γ terpineno puede ser identificado por oxidación con $KMnO_4$ a eritritol (p-mentan tetrol 1-2-4-5) / $C_{10}H_{16}(OH)_4$ de PF $237^{\circ}C$.

p-cimeno. ($C_{10}H_{14}$)



Se halla en numerosos aceites: limón, tomillo, orégano, coriandro, ajowan, etc. Se aísla por destilación.

La fracción que lo contiene puede ser libreada de otros terpenos de P. eb. similar por oxidación con $KMnO_4$ en frío, pues es bastante resistente a la oxidación.

Por oxidación con CrO_3 y SO_4H_2 da ácido tereftálico.

Propiedades físicas de los compuestos hallados en
aceites esenciales de *Thymus vulgaris*.

	PF °C	P. Eb. °C	Peso esp. 20°/4°C	Ind.refr. 20°C	Rot.opt. 20°C
<u>FENOLÉS</u>					
Timol	51,5	231,3	0,9757	1,52269	
carvacrol	1,0	237,5	0,9772	1,52338	
<u>ALCOHOLES</u>					
anílico-n		138	0,81837(15°/49	1,41173(15°)	
isoanílico		113,2	0,819	1,3973	
β - γ hexenol		156	0,8508 (15/15°)	1,4803	-0°10°
linalol		199	0,8622	1,46238	\pm 19°37°
(d) borneol	205	212	1,011		+ 37°4 °
(l) borneol	205	210	1,011		- 37°4 °
(d-l)borneol	205	subl.	1,011		
terpinen 4-ol		209-212	0,926	1,48033	+ 25°22°
geraniol	-15	230	0,8894	1,4766	0°
<u>HIDROCARBUROS TERPÉNICOS</u>					
α PINENO		156-157	0,8600	1,4660	\pm 51°14°
β pineno		164	0,865	1,4755	-19°29°
(d) canfeno	50	160		1,45514(459	+107°42°
(l) canfeno	50	159-160	0,8555(40°)	1,46207(40°)	-95°34°
(d-l)canfeno	50	158-160	0,822 (78°)	1,44 (78°)	
p-cineno	-72,3	177,3	0,8570	1,4904	
γ terpineno		183	0,849	1,4765 (14,5°)	

	n_D^{20}	P_{20} °C	$n_D^{20/4}$ °C	Ind. refr. 20°C	Rot. opt. 20°C
<u>SESQUITERPENOS</u>					
α cariofileno		132 ₁₆	0,8923 (20/20)	1,5001	-4°40'
β cariofileno		118 ₁₀	0,9075 (20/4°)	1,4995	-8°54'
δ cariofileno		125 ₁₄	0,8923 (25/25°)	1,4992	-26°10'
<u>ACIDOS</u>					
Acético	16,6	118,2	1,049	1,3697	
caprílico	16,3	239,3	0,9088	1,4268	
<u>ESTERES.</u>					
Acetato de linalilo		200	0,8951	1,4500	-6°35' 8°3'
acetato de borneol		225,6	0,9855	1,4663	± 44°48'
acetato de geranilo		110 ₁₀	0,9174	1,4628	
acetato de isoamiló		142	0,8762	1,3999	
<u>OXIDOS.</u>					
Cineol		176	0,9234	1,4584	0°

11.- PARTE EXPERIMENTAL.

a) ANTECEDENTES DEL ACEITE ESTUDIADO.

El aceite de tomillo estudiado, provenia de *Thymus vulgaris*, cultivado en la zona de Balneario (prov. de Buenos Aires) y cosechado en Febrero de 1947.

Fue destilado por CYDEA SRL. utilizando el método por arrastre con vapor de agua, con un rendimiento en aceite con respecto a las sumidades floridas (material tal cual, fresco) de aproximadamente 1 % en peso y de 2,5 % sobre el material seco.

El equipo de destilación usado, consta de una caldera generadora de vapor, — que alcanza a 60 libras de presión en la caldera misma y a 15-20 libras en la entrada del alambique — un destilador donde se halla el material a destilar; una cúpula o domo por donde se carga el material; un "cuello de cisne" y un condensador provisto de un serpentín enfriado con agua.

El destilado se recoge en vasos florentinos, donde el aceite se separa del agua, aprovechando la diferencia de densidades.

Luego, se decanta y filtra.

Según datos suministrados por CYDEA SRL. se trabajó con 300 Kg. de material y se destiló durante 1 hora y media a 2 horas, para obtener el aceite de tomillo estudiado.

La esencia fue secada con sulfato de sodio anhidro y filtrada, antes de proceder a su análisis, conservándose al abrigo de la luz en frasco color caramelo, bien tapado, pues de lo contrario emigresa (22).

b) DETERMINACIONES FISICAS.

El objeto de nuestro estudio, es hacer un análisis completo del aceite de *Thymus vulgaris*, para tratar de identificar y valorar todos sus componentes, observando al mismo tiempo si tiene algún interés desde el punto de vista científico, industrial o comercial.

Hemos de recurrir a las siguientes determinaciones físicas que, aunque sencillas, son de gran valor para su estudio.

Color. Parde rojizo.
Olor. Fuerte y agradable a tomillo.
Sabor. Fuerte, picante y persistente.

Peso específico.

En general se determina a 15°/15°C, o 20°/20°C, aunque la U.S.P. y "The National Formulary" especifican 25°/25°C, en tanto que la Farmacopea Británica especifica 15,5°/15,5°C.

Existen factores de corrección, por cada grado de temperatura, para determinaciones hechas a temperatura ambiente, que oscilan entre 0,00070 y 0,00099 según la esencia de que se trate.

Se determina mediante pienómetro.

$$D_{21}^{21} = 0,9175 \quad \text{Factor utilizado: } 0,00077$$

$$D_{20}^{20} = 0,9183$$

Índice de refracción.

Es un dato sumamente útil, que guarda estrecha relación con la composición del aceite esencial, y muy útil, por ser aditivo para los componentes. Depende de la temperatura y de la longitud de onda de la luz.

Se determinó con el refractómetro de Abbe, a 20°C

$$n_D^{20} = 1,4965$$

Poder rotatorio. (o rotación óptica o desviación polarimétrica).

Como la mayor parte de los aceites esenciales y de sus componentes son ópticamente activos, la determinación de esa propiedad es un elemento utilísimo para su identificación.

Se usó polarímetro tipo Lippich, con luz de sodio y se trabajó a 20°C.

$$\alpha_D^{20} = -3^{\circ}50'$$

Temperatura de solidificación.

Es un dato muy útil en los aceites esenciales. Se obtiene sobreenfriando el aceite hasta alcanzar la cristalización, con lo que se provoca un desprendimiento de calor y la temperatura aumenta rápidamente hasta hacerse estacionaria por un tiempo, anotándosele como punto de solidificación o congelación.

En muestra esencia no se observó temperatura de solidificación enfriando hasta -10°C y sembrando con timol, hecho que señala un bajo contenido en dicho fenol, confirmado luego por el análisis químico.

Residuo de evaporación.

Es el porcentaje de componentes no volátiles, a la temperatura de 100°C que existe en el aceite esencial.

Es un dato interesante, que da indicio del grado de polimerización del aceite esencial, de la adulteración con aceites fijos, resinas

sesquiterpenos, etc.; si es bajo puede indicar adición de terpenos, fracciones volátiles de petróleo, alcohol, etc..

La determinación, se efectuó evaporando sobre baño de agua en ebullición, hasta constancia de peso, un cristizador con 3 gr. de esencia, obteniéndose un residuo de evaporación de 2,0 %.

Destilación fraccionada.

Siendo la esencia, una mezcla más o menos compleja de diversas sustancias orgánicas la destilación fraccionada, aplicada sobre la misma, constituye un medio para separarse uno de los componentes entre sí. Por ello, debe recurrirse a un fraccionamiento repetido.

Pero, no cabe duda, que la destilación fraccionada, tiene un gran valor de orientación, ya que la realización de determinaciones físicas y químicas, permite encarar con mayor certeza el análisis de la esencia en estudio.

La determinación se realizó en un balón tipo Ladenburg de 100 ml. con cuello recubierto de amianto, a 760 mm. de presión con algo más de 50ml., aproximadamente 56ml. de esencia (52,28 gr.)

Se recogieron cinco fracciones y un residuo, con los siguientes resultados.

Fracciones	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	res.
Ámbito de destil.	hasta 150°	150-180	180-205	205-250	250-250°	
gr.	1,42	3,85	17,82	16,77	9,33	3,09
% gr./gr.	2,7 %	7,4	34,1	32,1	17,8	5,9
n_D^{20}	1,4793	1,4775	1,4884	1,5016	1,5140	—
Índice de ácido	—	—	2,4	2,45	—	—
Índice de éster	—	—	4,05	10,4	—	—
Ésteres en la fracc.						
(acet. $C_{10}H_{18}O$)	—	—	1,4	3,6	—	—
% alcoholes totales en						
la fracc. ($C_{10}H_{18}O$)	—	—	25,6	57,1	—	—
% alcoholes libres en						
la fracc. ($C_{10}H_{18}O$)	6	—	24,3	54,3	—	—
% fenoles en la fracc.						
	—	—	—	—	60,9	—
% alcoholes totales en						
el total del destil.	—	—	8,7	18,3	—	—
% alcoholes libres en						
el total del destil.	—	—	8,3	17,4	—	—
% fenol. en el destil.						
	—	—	—	—	10,9	—

La suma del contenido de alcoholes totales y libres, expresados como ($C_{10}H_{18}O$), de las fracciones 3^a y 4^a, en el total del destilado es 27% y 25,7% respectivamente, datos que concuerdan bastante con los obtenidos sobre esencia libre de ácidos y fenoles, que expresados sobre esencia entera dan 31,5% y 28,68% respectivamente.

Por otra parte, el bajo contenido de fenoles en la fracción 5^a, expresado en el total del destil. (10,9%) contra 32,68% en el aceite total, es debido a que la fracción 4^a, tenía gran cantidad de fenoles,

hecho que se confirmó por su olor penetrante, al tratar de obtener el ftalato ácido de ésta última fracción, como también por reacciones colorimétricas.

También se confirmó presencia de fenoles en el residuo.

Solubilidad.

Todas las esencias son poco solubles en agua, pero se disuelven en mayor o menor grado en los disolventes orgánicos.

Tiene gran importancia la solubilidad de las esencias en alcohol diluido, desde que la misma está notablemente influida por su composición química.

La presencia de terpenos en gran cantidad, determinan una menor solubilidad en alcohol diluido, mientras que, por el contrario, la presencia de gran cantidad de compuestos oxigenados aumenta dicha solubilidad,

La solubilidad en alcohol diluido, se expresa, como el volumen de alcohol de una determinada dilución, necesaria para disolver un volumen dado de esencia a una temperatura especificada (20°C).

Se introduce en un tubo de ensayos, 1 ml. de esencia medida a 20°C y se va agregando, gota a gota, desde una bureta el alcohol de concentración conocida, a la misma temperatura, hasta obtener una solución límpida.

solub. en alcohol	70°	:	immiscible
"	"	"	80° : 1 : 1,5
"	"	"	90° : 1 : 0,5
"	"	"	95° : miscible en todas proporciones.

Espectro de absorción en el ultravioleta.

El poder de absorción de luz de diferentes longitudes de onda, es característico para cada sustancia, siendo cada vez más generalizada su aplicación en el análisis.

Se ha aplicado la espectrofotometría en el ultravioleta al estudio de los aceites esenciales y sus componentes y se ha visto que el estudio de las curvas de absorción permiten identificar y juzgar la pureza de los mismos (34)

Las determinaciones han sido realizadas, en un espectrofotómetro Beckman, modelo D.U. fotoeléctrico, con equipo de cuarzo y fuente luminosa (lámpara de hidrógeno) para determinaciones en el ultravioleta, perteneciente a la Fundación Campomar, por los Dres. Adolfo L. Montes y A. paladini.

Las observaciones se han hecho, en solución alcohólica sumamente diluidas (1:10.000 o 2:10.000) puesto que en los aceites esenciales se encuentran sustancias que poseen un fuerte poder absorbente para las radiaciones ultravioletas; además se trabajó con espesor uniforme de 1 cm..

Las curvas de absorción se han trazado ubicando las extinciones o densidades ópticas en ordenadas y las longitudes de onda correspondientes expresadas en milimieras (mm) en abscisas, en orden creciente de izquierda a derecha, efectuándose estas últimas lecturas cada 5 mm, razón por la cual algunos máximos y mínimos aparecen determinados con errores.

La espectroscopía de absorción está basada en la disminución de intensidad de un rayo luminoso al pasar a través de una solución y está regida por dos leyes fundamentales: la de Lambert y la de Beer, que se pueden resumir en la siguiente ecuación fundamental:

$$E = \log \frac{I_0}{I} = Kcl$$

- donde :
- E = extinción o densidad óptica del medio.
 - I_0 : intensidad de luz incidente.
 - I : " " transmitida.
 - c : concentración de la sustancia absorbente.
 - l : longitud que recorre el haz de luz dentro del medio absorbente en cm.

K es entonces la medida de la capacidad de absorción de la luz, para una sustancia dada y a una longitud de onda determinada. La definición de K depende de como se exprese la concentración c .

El aceite de tomillo estudiado (*Thymus vulgaris* de la prov. de Buenos Aires, Balcarce) es notadamente absorbente, y presenta un máximo correspondiente al fenol

En nuestro caso, es fácil estimar con bastante aproximación el tenor en fenoles (timol y carvacrol), pues ambos presentan una curva análoga y las diferencias entre los máximos y mínimos respectivos son muy comparables entre sí.

A continuación, se transcribe el cuadro de valores, correspondiente a las extinciones observadas, en el aceite de tomillo estudiado en solución alcohólica al 2:10.000 y en el timol puro al 1:10.000 también en solución alcohólica; cuyos valores han sido representados en el gráfico adjunto.

longitudes de onda mμ.	absorbancias de la esencia al 2/10.000 en alcohol absoluto	absorbancias del timol puro al 1/1000 en alcohol absoluto.
230	1,57	—
235	0,875	1,30
240	0,343	0,410
245	—	0,259
250	0,258	0,294
255	—	0,393
260	0,585	0,585
265	0,835	0,900
270	1,040	1,330
275	1,090	1,610
280	1,080	1,600
285	—	1,250
290	0,900	0,333
295	—	0,137
300	negat.	0,121

$$\Delta E (\text{tomillo } 2\% / 1000) 1000 = (1,09 - 0,258) 1000 = 832$$

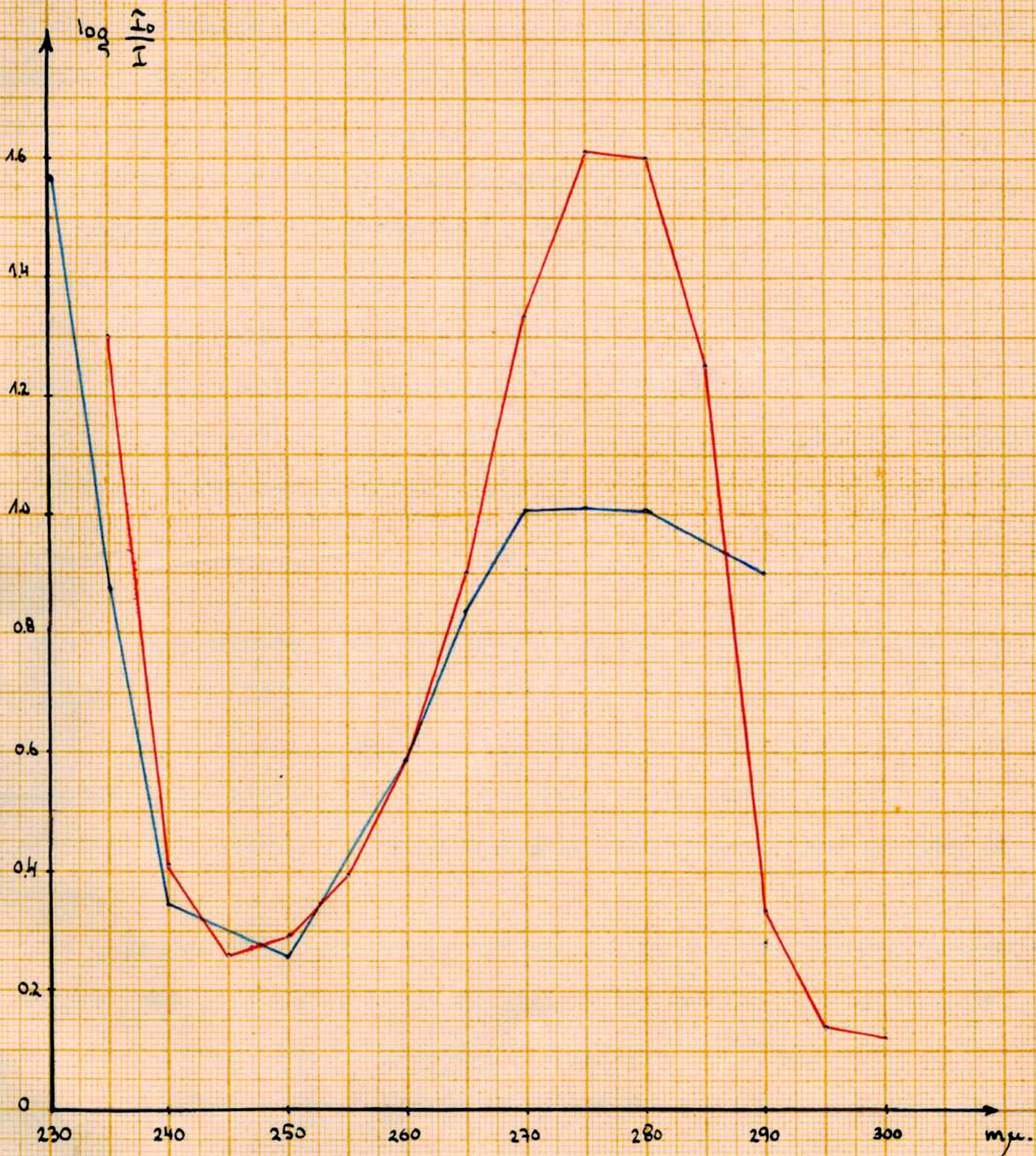
$$\Delta E (\text{timol } 1\% / 1000) 1000 = (1,61 - 0,259) 1000 = 1351$$

$$\Delta E (\text{timol } 2\% / 1000) 1000 = 2 \cdot 1351 = 2702$$

$$2702 : 100 :: 832 : x \quad x = 30,79\% \text{ fenoles}$$

Es de hacer notar, que el tenor en fenoles que resulta del análisis químico (32,68%) es bastante aproximado al que se deduce, del método espectrofotométrico (30,79%).

CURVAS DE ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA.



Referencias { — solucion alcoholica timol puro 1/1000.
— " " es. tomillo estudiada 2/1000.

c) DETERMINACIONES QUIMICAS.

Las determinaciones químicas, al igual que las físicas tienen gran valor para la identificación y caracterización de los aceites esenciales. Es importante, sin embargo, tener presente que los resultados, tanto físicos como químicos, oscilan entre límites más o menos amplios, que dependen de distintos factores (suelo, clima, madurez del vegetal, método de extracción del aceite, etc.).

El conjunto de todos esos determinantes, da una pauta de la pureza de un aceite determinado.

La mayoría de las determinaciones han sido hechas de acuerdo a los métodos dados por Guenther (6).

Número de Ácido.

Se lo define como: "el número de mg. de NaOH necesarios para neutralizar los ácidos libres de 1 gramo de aceite esencial".

Interfieren en la determinación los fenoles, que reaccionan como ácidos; para aceites que los contienen en cantidad se modificará el procedimiento general, recurriendo a indicadores especiales como el rojo fenol.

El contenido en ácidos libres, puede aumentar para un mismo aceite, por envejecimiento, pues se oxidan sus aldehidos o hidrolisan sus ésteres.

Se trabaja con 2 gr. de aceite pesados exactamente, en un

Erlenmeyer, se agregan 15 ml. de alcohol 95° neutro y tres gotas de fenol-ftaleína y se titula con solución 0.1 N de HONa, hasta color rosado, que perdura durante 10 seg..

$$I_a = \frac{5,61, n^{\circ} \text{ml HONa } 0,1 \text{ N}}{\text{peso aceite en gr.}}$$

Conociendo el índice de ácido, se puede calcular la acidez libre expresada en un ácido determinado (ácido acético, p.ej.).

$$\% \text{ ácido libre} = \frac{I_a \cdot \text{PM ácido}}{561,04}$$

gr. esencia	ml. HONa 0.1N	Ia	% áo. acético
1,4419	0,27	1,05	0,112
1,2252	0,21	<u>0,95</u>	<u>0,101</u>
	promedio	1,00	0,107

Índice de ésteres.

Se define como: "el número de mg. de HOK necesarios para saponificar los ésteres de 1 gr. de aceite".

Se puede determinar el índice de saponificación y restarle luego el índice de ácido, o bien neutralizar previamente la acidez libre y luego efectuar la saponificación de los ésteres.

El índice de los ésteres es una determinación importante, ya que los ésteres son constituyentes valiosos, por su olor agradable, en los aceites esenciales.

En los aceites, como el de tomillo, que tienen fenoles en gran cantidad, conviene eliminarlos previamente, de modo que esta determinación se hará sobre la esencia libre de ácidos y fenoles.

En balón de saponificación, se coloca una cantidad exactamente pesada del aceite (1 a 5 gr.), se agregan 5ml. de alcohol 95° neutro y tres

gotas de fenolftaleína y neutraliza la acidez libre con solución acuosa de HONa N/10. Se agregan luego 20 ml. de solución alcohólica de HOK N/2 y se calienta a baño maría durante una hora, con condensador a reflujo. Luego se enfría y titula el exceso de álcali con ClH N/2. Se hace un ensayo en blanco paralelo.

$$I_e = \frac{28,05 \cdot n^{\circ} \text{ml. HOK N/2}}{\text{peso aceite en gr.}}$$

Con el índice de éster puede expresarse el contenido en un éster dado(en nuestro caso, acetato de linalilo: PM 196,28) por cien gramos del aceite.

$$\% \text{ éster} = \frac{I_e \cdot \text{PM éster}}{561,04}$$

Determinaciones efectuadas sobre esencia libre de ácidos y fenoles.

Rendim. esencia libre de ácidos y fenoles : 67,32 %

gr. esencia	HOK N/2 used.	I _e	% éster
1,0575	0,46	12,2	4,3
1,3020	0,55	<u>11,8</u>	<u>4,1</u>
	promedio	12,0	4,2

$$I_e(\text{es. ent.}) = 12,0 \cdot 0,6732 = 8,1$$

$$\% \text{ éster} (\text{es. ent.}) = 4,2 \cdot 0,6732 = 2,83$$

Determinaciones efectuadas sobre fracciones del destilado de la esencia entera a presión normal.

En 3^a fracción : 180-205°C rendim. 34,1 %

gr. esencia	ml HONa N/10	I _e	ml HOK N/2 esp	I _e	% éster	% éster es entera
1,5140	0,64	2,3	0,213,	3,9	1,36	
1,5310	0,68	2,5	0,23	<u>4,2</u>	<u>1,44</u>	
		<u>2,4</u>	promedio	4,05	1,40	0,48

4^a fracción : 205-230°C ; rendim.: 52,1 %

gr. esencia.	ml. HONa N/10	Ia	ml. HOK N/2 sep.	Ic	% éster.	% éster ó entera.
1,2540	0,54	2,4	0,46	10,0	3,5	
1,3012	0,59	2,5	0,50	10,8	3,7	
	promedio	<u>2,45</u>		<u>10,4</u>	<u>3,6</u>	1,15

Es interesante destacar, que el contenido en ésteres, es un poco mayor en la fracción 4^a que en la 3^a ; hecho aparentemente anormal pues, el acetato de linalilo, que constituye la mayor parte de los ésteres de esta esencia, de p. eb. 200°C, debería pasar en mayor proporción en la 3^a fracción ; pero, tal vez, el gran porcentaje de fenoles en la misma introduce un error por exceso en el índice de éster de la misma.

Determinación de alcoholes.

Los alcoholes son componentes importantes de los aceites esenciales, de aroma suave, dulce y persistente, especialmente los terpénicos y sesquiterpénicos.

Los alcoholes primarios, secundarios y terciarios, reaccionan en forma distinta y estos últimos presentan el inconveniente de dar datos incorrectos por deshidratación y transformación en hidrocarburos.

Se los determina por separado. Interfieren los compuestos carbonílicos en forma enélica y algunos hidrocarburos, obteniéndose en tales casos datos elevados.

El fundamento de los métodos de valoración, es la esterificación, mediante distintos radicales ácidos o sus derivados (anhídridos o cloruros, generalmente) variando las condiciones y el catalizador usado (acetato de sodio anhidro, piridina, dimetilanilina, etc.).

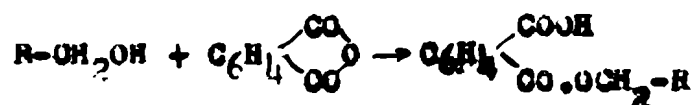
Los alcoholes pueden estar en el aceite, ya sean libres o combinados y en ambos estados interesa su valoración.

Para dosar alcoholes primarios y secundarios hemos aplicado

la ftalizacion ,conducida en distintas condiciones,y para alcoholes terciarios el método de acetilacion total, según Fiore con cloruro de acetilo y dimetil anilina.

Determinación de alcoholes primarios y secundarios mediante anhídrido ftálico.

El anhídrido ftálico reacciona con los alcoholes primarios y secundarios formando ftalatos ácidos , y constituye un medio para separar los primarios, secundarios y terciarios entre si.



Los alcoholes primarios reaccionan cuantitativamente, aún en soluciones diluidas, en benceno y a temperatura de 100°C ; los secundarios requieren mayortiempo y temperatura de 120-150°C y sin disolvente (benceno); los terciarios en esas condiciones no reaccionan.

El anhídrido ftálico debe estar libre de ácido ftálico.

El procedimiento es como sigue:

En balón de acetilación se colocan 2 gr. del aceite exactamente pesados, 2 gr. de anhídrido ftálico y 2 ml. de benceno. Se calienta durante 2 horas, en baño maría agitando frecuentemente. Se deja enfriar 30 min. y se agregan 70 ml. NOK N/2 exactamente medido; se tapa con tapón de vidrio y agita durante 10 min., se titula luego a la fenolftaleína el exceso de álcali con ClH N/2. Se lleva un ensayo en blanco paralelo, para calcular el anhídrido ftálico usado en la saponificación.

El porcentaje de alcoholes primarios, está dado por :

$$\frac{PN \text{ alcohol } (b-a)}{20 \text{ peso muestra}}$$

donde : b: ml. NOK N/2 gastados en el blanco.
a: " " " " la muestra.

Determinación de alcoholes primarios sobre esencia, libre de ácidos y fenoles.

PM alcohol anílico : 88

PM geraniol : 154

<u>peso muestra</u> gr.	<u>b-a</u> ml.	<u>% alcoholes</u>		<u>% ale 1ª refer. a es. es</u>	
		<u>anil.</u>	<u>geraniol</u>	<u>anílico</u>	<u>geraniol</u>
1,7951	1,5	3,67	6,43	2,69	4,71
1,7260	1,7	4,33	7,58		
promedio		4,00	7,00		

Determinación de alcoholes secundarios sobre esencia, libre de ácidos y fenoles.

<u>peso muestra</u> gr.	<u>b-a</u> ml.	<u>% alcoh. 1ª + 2ª</u>		<u>Referido a esencia, entera</u>			
		<u>anil.</u>	<u>geraniol</u>	<u>% 1ª + 2ª</u>	<u>% secundar.</u>	<u>anil.</u>	<u>born</u>
1,8871	1,9	4,4	8,0	3,23	5,65	0,54	0,9
1,8838	2,1	4,9	2,4				
2,0037	2,2	5,0	8,8				
promedio		4,8	8,4				

Método de acetilación con cloruro de acetilo y dimetil anilina.

Descrito por Fiore, es útil especialmente para el linalol, ha sido adoptado por la Essential Oil Assoc. of U.S.A. y utilizado para obtener el dato de alcoholes totales.

Se procede así:

En un Krlenmeyer con tapa esmerilada, se colocan 10 ml. de aceite (previamente secado con SO_2Na_2 anhidro) y enfría con hielo; se agrega luego 20 ml. de dimetil anilina (libre de monometil anilina) se mezcla bien y agregan 8 ml. de cloruro de acetilo y 5 ml. de anhídrido acético. Se enfría unos min. y deja a temperatura ambiente por media hora y luego se sumerge en baño a $40^\circ C$ más men: 15C por 3 horas.

El aceite acetilado se lava con 75 ml. de agua helada (3 veces), luego con porciones de 25 ml. SO_2Na_2 5% para eliminar la dimetil-anilina, y con solución de CO_2Na_2 al 10% para eliminar el ácido y finalmente con agua destilada hasta neutralidad.

Se separa el aceite, seca con sulfato de sodio anhidro y determina su índice de éster sobre una parte exactamente pesada.

El porcentaje de alcoholes totales (libres y combinados) se calcula mediante la fórmula:

$$\frac{a, M}{20(s - 0,021.a)} (1 - 0,0021.e) \quad (I)$$

donde : a: ml. alcali N/2 necesarios para saponif. el aceite acetil.
 M: PM alcohol (linalol : 154)
 s: peso aceite acetilado utilizado.
 e: % ésteres calculado como acetato de linalilo (en el aceite libre de ácidos y fenoles : 4,2 %)
 0,021: peso del radical acetilo por ml. solución Alkali N/2
 0,0021: corrección debida al acético del aceite original.

El porcentaje de alcoholes libres se calcula mediante la fórmula:

$$\frac{d, M}{561,04 - 0,42 d} \quad (II) \quad \text{donde:}$$

d: índice de acetil. = $Ie_d - Ie_a$
 Ie_d : índice de éster después de acetilar
 Ie_a : " " " antes " " (= 12 en el aceite libre de ácidos y fenoles)
 0,42: es la corrección por el acetilo, es decir, que la fórmula (II) es válida cuando los ésteres son acetatos.

$$Ie_d = \frac{28,05 a}{s}$$

Determinación de alcoholes libres y totales sobre esencia libre de ácidos y fenoles.

<u>aceite acetil.</u> GR.	<u>NOK N/2</u> ml.	<u>Ie_d</u>	<u>d</u>	<u>% alcoh. libres</u> linalol	<u>% alcoh. tot</u> linalol
1,0382	5,56	150,2	138,2	42,3	46,5
1,4252	7,72	151,9	139,9	42,8	47,1
	promedio		139,0	42,6	46,8

Refiriendo los resultados obtenidos a esencia entera, tenemos

alcoholes libres totales ($C_{10}H_{18}O$)	:	28,68 %
" totales	"	31,50 %
alcoholes combinados	"	2,82 % (por diferencia)
" terciarios libres	"	28,68 - 5,65 = 23,03 %
Ie_d	:	101,6
d	:	93,6

Determinaciones efectuadas sobre fracciones del destilado
de la esencia entera, a presión normal.

3ª fracción 180-205°C (rendim. 34,1 %)

<u>Muestra acetil.</u>	<u>HOK N/2</u>	<u>Iod</u>	<u>SH</u>	<u>% alcoh. libres</u>	<u>% alcoh. total</u>
<u>OR.</u>	<u>ml.</u>			<u>C₁₀H₁₈O</u>	<u>C₁₀H₁₈O</u>
1,8273	5,56	85,3	81,3	23,7	25,0
1,4004	4,46	89,3	85,2	25,0	26,3
			83,3	24,3	25,6

4ª fracción 205-230°C (rendim. 32,1 %)

0,5932	5,86	182,5	178,1	55,0	58,0
0,7910	5,00	177,2	166,8	53,6	56,2
			169,4	54,3	57,1

Refiriendo los resultados al total del destilado, se tiene:

	<u>% alcoh. libres total.</u>	<u>% alcoh. totales</u>
	<u>C₁₀H₁₈O</u>	<u>C₁₀H₁₈O</u>
3ª fracción :	8,3	8,7
4ª " :	17,4	18,3
	<u>25,7</u>	<u>27,0</u>

Observando los resultados obtenidos, se ve que los alcoholes libres totales expresados en C₁₀H₁₈O, de estas dos fracciones es: 25,7 referidos al total del destilado y comparando este valor, con el obtenido a partir de la esencia libre de ácidos y fenoles que era de 26,6% por otra parte, los valores obtenidos para alcoholes totales (libres y combinados) era de 27,0% y 31,5% respectivamente. En ambos casos, existe gran concordancia entre los valores obtenidos,

De la comparación de estas cifras, se desprende que, la casi totalidad de los alcoholes de la esencia de tomillo analizada, pasan en la fracción 180-230°C, la diferencia puede ser atribuida a la presencia de alcoholes amflicos y β-δ hexenol, citados por la bibliografía.

Determinaciones efectuadas sobre la fracción 5ª (180-195°C) p.n

de la esencia libre de ácidos y fenoles /pág. 45 /

<u>muestra acetil.</u> gr.	<u>HOK N/2</u> ml.	<u>Is_d</u>	<u>% alcoholes totales</u> <u>en la fracc.</u>	<u>sobre es. entera</u>
0,7950	2,75	97,0	28,71	
0,9122	3,17	97,4	28,86	
			28,78	8,12

Si comparamos este dato, (8,12% 0,104180) con el obtenido para la fracción 3ª (180-205°C) de la esencia entera, que era de 8,7% vemos que hay gran similitud entre ambos valores.

Determinación de fenoles.

Se trata de obtener el tenor total en fenoles.

El método clásico, se basa en la formación de fenatos alcalinos solubles, por contacto de los fenoles con solución alcalina, prefiriéndose la de potasio, porque hay muchos fenoles, cuyas sales potásicas son más solubles que las sódicas, y debe trabajarse en frío.

Hay que tener en cuenta que los ácidos también se disuelven, así como también, otros productos solubles en agua (alcoholes, glicoles, etc.), además se saponifican las lactonas y formiatos; por otra parte, es difícil evitar que quede un poco de insoluble emulsionado en la solución de fenatos.

Más exacto, que medir el volumen absorbido (35), pues el aceite también retiene siempre una cierta porción de fenoles, es eliminar lo no absorbido con éter de petróleo (trabajando con éter etílico, se obtienen valores muy bajos de fenoles, 8-10% en nuestro aceite, pues éstos en solución alcalina son extraídos por aquél) y tratar la solución alcalina con ácido mineral (20,4 H₂SO₄ 25%) y extraer los fenoles liberados con éter etílico. Se seca luego con sulfato de sodio anhidro, y evapora el éter y pesa finalmente hasta constancia de peso.

La separación , se llevó a cabo, en ampolla de decantación (9) trabajando con 50 ml. de esencia; se agregó 200 ml. de HOK 5%, se agitó y dejó en reposo 24 horas. La capa inferior acuosa se filtró, por filtro plegado, previamente humedecido con agua, a otro embudo de decantación, se agregó luego ácido sulfúrico 25% y extrajo con éter etílico; se repitió la extracción; reunieron los líquidos étericos; se secó con sulfato de sodio anhidro; filtró y evaporó el éter en capsula en baño de vapor, hasta que terminó el burbujeo y luego pesó.

esencia de tomillo tratada	:	50,2226 gr.
fenoles obtenidos	:	19,7244 gr.
rendimiento en fenoles	:	39,0 %

Es necesario, hacer resaltar que, en la separación de fenoles a partir de la esencia, entran en juego varios factores , que alteran los resultados, algunos de los cuales se citan a continuación (9).

1) la completa eliminación del éter de los fenoles es fundamental, por lo tanto es necesario calentar 30 minutos.

2) el calentamiento de 30 min. altera la composición de la mezcla fenólica, porque da una diferencia en la presión de vapor del timol y carvacrol. Este factor afecta algo la exactitud de los resultados; se produce disminución de peso.

3) la solución alcalina usada en la separación de los fenoles tiene un efecto adverso sobre el timol.

Fue luego, necesario aplicar un procedimiento, que diera la proporción relativa del timol y carvacrol, en la mezcla fenólica aislada.

Se usó el siguiente método iodométrico (11), (36), que se basa en el hecho de que las sales potásicas del carvacrol, son extraídas por éter etílico.

Ambos fenoles dan con iodo la siguiente reacción:



Se agrega iodo en exceso y valora por retorno con $S_2O_3Na_2$.

Se pesan 5 gr. del aceite y pasan a una bureta graduada al 1/10 ml., se agrega igual volumen de éter de petróleo y 10-15 ml. HOK 5%, se agita enérgicamente y deja reposar. Se lee el volumen sobrenadante y la solución alcalina se pasa a un matraz aforado de 250 ml. y el aceite residual se trata nuevamente con porciones de 10-15 ml. de álcali, observando si hay variación de volumen. La solución alcalina en el matraz, se enrasa con el mismo álcali.

A 10 ml. de esta solución en matraz de 500 ml. se agrega débil exceso de I_2 N/10. Se observa la aparición de precipitado rojizo y como es necesario colocar exceso de iodo, se controla la ~~aparición~~ precipitación ulterior, para lo cual se toman unos ml. del líquido sobrenadante en tubo de ensayo y agrega igual volumen de ClH diluido. Si falta iodo da precipitado blanco lechoso. Si así ocurre se agrega más iodo al matraz. Luego se acidula con ClH dil. y enrasa con agua destilada.

Se filtran 100 ml. y valora con solución N/10 de tiosulfato.

El número de ml. gastados multiplicados por 5 y restados de los ml. de solución de iodo agregados, nos dará lo absorbido por los fenoles (valor A).

Aparte se toma un volumen igual (10 ml.) de la misma solución alcalina de los fenoles y extrae con éter etílico (pasará el carvacrol potásico) y en la capa acuosa alcalina se precipita con iodo el timol; el cálculo ahora nos da B.

Al carvacrol corresponderá A-B.

De acuerdo con la reacción (1) se consumen por cada molécula de fenol (timol o carvacrol), cuatro átomos de iodo.

$$\begin{array}{r} 508 \text{ gr. } I_2 \\ 0,0127 \text{ " " } \end{array} \frac{\quad\quad\quad}{f} 150,11 \text{ gr. fenoles}$$

$$f = 0,00375 \text{ gr, fenol/ml. } I_2 \text{ N/10}$$

Aplicaremos el método, primero a dos porciones alícuotas de los fenoles liberados, por absorción de la esencia con HOK 5% y ulterior acidificación; y luego, a una muestra de la fracción 5^a (230-250°C del destilado a presión normal de la esencia entera.

1) muestra pesada : 3,3810 gr. fenoles libres.

Fenoles teóricos en los 10 ml. tomados para la iodometría.

$$250 : 3,3810 :: 10 : x \quad x = 0,1352 \text{ gr. fenoles}$$

<u>ml. I₂ N/10</u>	<u>ml. S₂O₃Na₂ N/10</u>	<u>ml. I₂ N/10 absorb.</u>	<u>Af</u>	<u>Bf</u>	<u>(A-B)</u>
		<u>A</u> <u>B</u> <u>A-B</u>			
37,56	1,32	30,96	0,1161		
39,50	6,10	8,8		0,0330	
		22,16			0,08
			85,8%	28,4%	71

2) muestra pesada : 4,1750 gr. fenoles libres.

Fenoles teóricos en los 10 ml. tomados para la iodometría.

$$250 : 4,1750 :: 10 : x \quad x = 0,1670 \text{ gr. fenoles}$$

<u>ml. I₂ N/10</u>	<u>S₂O₃Na₂ N/10</u>	<u>ml. I₂ N/10 absorb.</u>	<u>Af</u>	<u>Bf</u>	<u>(A-B)</u>
		<u>A</u> <u>B</u> <u>A-B</u>			
38,07	0,355	36,30	0,1364		
43,10	6,5	10,6		0,0397	
		25,7			0,09
			81,7%	29,1%	70,

PROMEDIO

- Fenoles : 83,8%
- Timol : 28,7%
- Carvacrol : 71,3%

$$\text{FENOLES CORREGIDOS} = 39 \cdot 0,838 = 32,68 \%$$

Fración 5^a esencia entera (230-250°C)

muestra pesada : 5,5526 gr.

fenoles teóricos en los 10 ml. tomados para la iodometría.

$$250 : 5,5526 :: 10 : x \quad x = 0,2221 \text{ gr.}$$

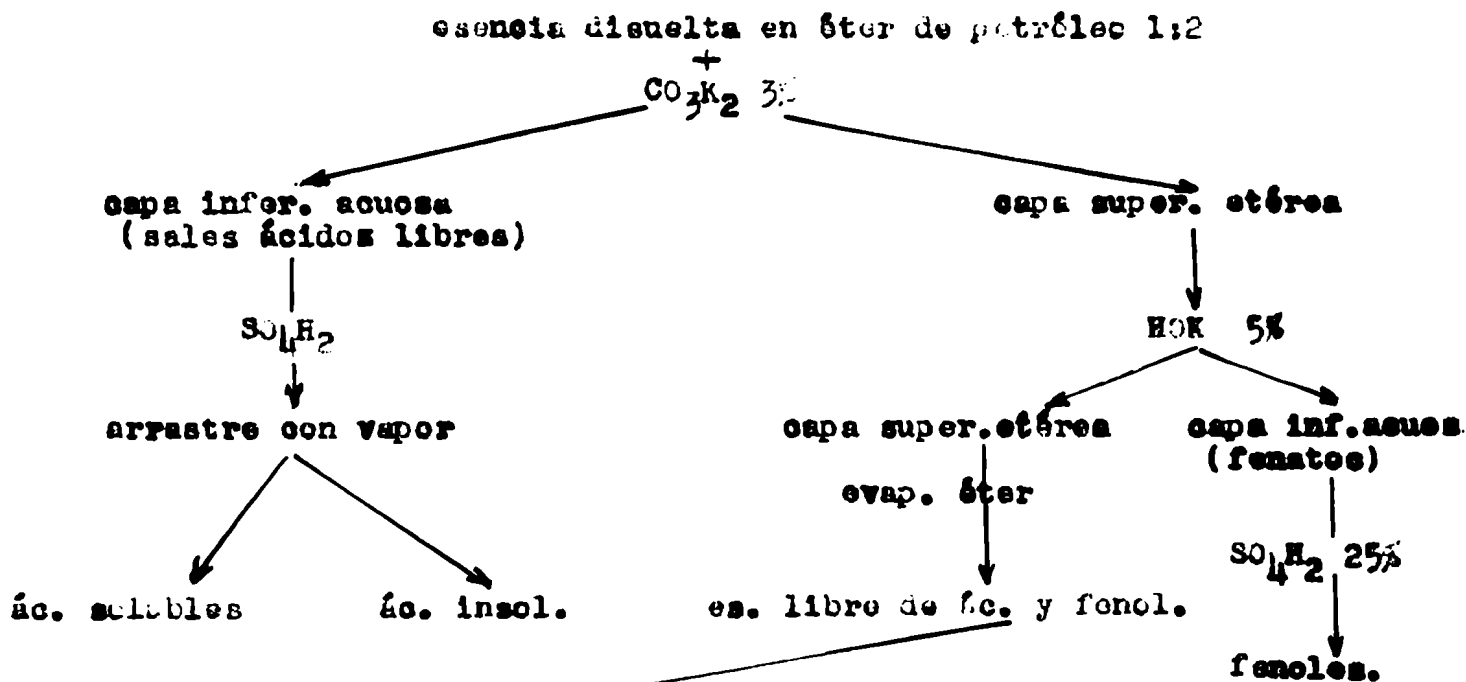
<u>I₂ N/10</u> ml.	<u>S₂O₃Na₂ N/10</u> ml.	<u>ml. I₂ N/10 absorb.</u> A	<u>B</u>	<u>A-B</u>	<u>A.f</u> gr.	<u>B.f</u> gr.	<u>(A-B) f</u> gr.
48,90	1,57	36,05			0,1352		
36,35	6,05		6,10			0,0229	
				29,95			0,112
					60,9%	17,1%	82,

Majer ha descrito brevemente algunos métodos de estimación de timol en presencia de carvacrol; la mayor parte son de valor para la separación comercial de los dos fenoles, pero deja mucho que desear como método analítico de rutina. El método de Sage-Dalton aparece como el más promisor. Estos autores determinan puntos de fusión de mezclas de timol-carvacrol y de mezclas de estos fenoles recuperados de aceites de tomillo de conocida composición (9).

El punto de fusión depende del grado de sobreenfriamiento, con alto porcentaje de timol este efecto es pequeño, pero para bajo porcentaje es notable; por otra parte, a baja temperatura y mayor proporción de carvacrol las mezclas se vuelven viscosas y ninguna diferencia apreciable de temperatura se observan en esos casos (tal es el caso observado en la esencia de tomillo analizada.

d) AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE LOS COMPONENTES PRINCIPALES.

Para aislar los componentes del aceite esencial de tomillo, hemos seguido la marcha analítica de Watties et Sternon (37) con ciertas modificaciones propuestas por el Dr. Adolfo L. Montes.



- a) constantes físicas.
- b) reacción de Schiff : aldehidos
- c) " " Legal : cetonas
- d) separac. de alcoholes libres y combin. (1° y 2° con anhídrido ftálico) y destilac. fraccion. a 30 mm.
- e) índice de éster
- f) determinación de alcoholes 1° por ftalizacion.
- g) " " " 2°
- h) " " " libres y totales (mét. Fiore)

Para separar las distintas fracciones, se parti6 de 100 gr. de aceite de tomillo, que se disolvieron en 200ml, de 6ter de petr6leo (P.ob. aprox. 50°C), efectu6ndose luego:

1°) Separaci6n de 6cidos libres. La esencia disuelta en 6ter se trat6 con 300ml. de soluci6n de CO_2K_2 al 3%, haciendo lavados con 50ml. cada vez. La capa acuosa se lav6 por tres veces con 6ter de petr6leo (25ml. cada vez) para eliminar el aceite suspendido.

En la capa acuosa se investigaron los 6cidos libres.

2°) Separaci6n de fenoles. La esencia libre de 6cidos en soluci6n 6tera se trat6 con 300ml. HOK 5% en ampolla de decantaci6n, agitando cada vez con 50ml. a temperatura ambiente. Se separ6 la capa acuosa alcalina y lav6 con 6ter de petr6leo, hasta que el l6quido de lavado pas6 incoloro y luego se acidific6 con 40 ml. SO_4H_2 25% y extrajo con 6ter 6tico. La soluci6n 6tera se lav6 con agua helada, sec6 con SO_4Na_2 anhidro; filtr6 y evapor6 el 6ter hasta obtener pesada constante.

3°) Separaci6n de los constituyentes del insoluble en HOK 5%.

Sobre la esencia libre de 6cidos y fenoles, en soluci6n 6ter de petr6leo, lavada con agua primero y luego con soluci6n saturada de ClNa , secada con SO_4Na_2 anhidro, filtrada y por evaporaci6n ulterior del 6ter hasta peso constante (rendimiento: 67,32%) se determin6:

a) Constantes f6sicas.

Color : rojo.

P. esp. (20°C) : 0,8862

Ind. refr. (20°C) : 1,4820

Solubilidad a 20°C en alcohol 70° : insoluble

" " " " 80° : 1 : 1,45

" " " " 90° : sol. en todas propore.

" " " " 95° : " " "

b) Investigación de aldehidos con reactivo de Schiff.

Se tomaron algunas gotas de la fracción, en tubo de ensayos, y se agregó 1-2 ml. del reactivo (fucsina decolorada con SO_2).

Dió reacción negativa : ausencia de aldehidos.

c) Investigación de cetonas con reactivo de Legal.

A algunos ml. de solución fresca de nitroprusiato sódico 1%, se agregó una pequeña cantidad de solución a investigar, luego algunas gotas de solución acuosa de HONa .

Dió negativa : ausencia de cetonas.

d) Identificación de alcoholes primarios y secundarios como ftalatos ACIDOS, e hidrocarburos como nitrosocloruros.

Se trató de aislar los alcoholes primarios y secundarios, libres y combinados, como ftalatos ácidos, pero no fué posible aislarlos en tal forma, al estado cristalino, debido sin duda, al pequeño porcentaje de los mismos.

El resto de esencia, luego de la ftalización para separar los alcoholes primarios y secundarios — constituida por alcoholes terciarios, principalmente linalol, e hidrocarburos terpánicos y sesquiterpánicos, más un resto de fenoles no extraídos por el HOK 5% — fué sometida a una destilación fraccionada a presión reducida (30 mm.). Se obtuvieron dos fracciones y un residuo.

En la fracción (55-90°C)_{30 mm.} se investigó presencia de pineno, mediante la formación del nitrosocloruro; no se obtuvo precipitado cristalino, pero sí, coloración verde esmeralda, indicio de la presencia de pineno.

Tampoco se obtuvo nitrosocloruro de la fracción (90-127°C)₃₀ y del residuo, liberado éste con HOK de restos de fenoles, constituido

probablemente por sesquiterpenos.

e) Índice de éster. (ver pág. 30).

f) Determinación de alcoholes primarios. (ver pág. 35).

g) Determinación de alcoholes secundarios. (ver pág. 35).

h) Determinación de alcoholes libres y totales. (ver pág. 35)

i) Destilación fraccionada a presión normal. Se recogieron 6 fracciones y un residuo.

<u>fracción</u>	<u>peso</u>	<u>% sobre es. libre de ácidos y fenol.</u>	<u>% sobre es. entera.</u>
1) 86-150°C	0,7135	2,4	1,62
2) 150-165°C	1,3825	4,8	3,24
3) 165-176°C	1,6538	5,6	3,77
4) 170-180°C	2,2032	7,5	5,05
5) 180-195°C	12,2945	41,8	28,2
6) 195-202°C	8,8902	30,3	20,4
7) residuo	2,2367	7,6	5,1

j) Investigación de cineol.

Se utilizó el método 2 de COCKING (6), con o-cresol, y se trabajó sobre esencia entera. No se obtuvo punto de solidificación a temperatura ambiente, lo cual significa ausencia de cineol en la esencia de te-millo estudiada.

-- Ácidos Libres. --

Puesto que, la esencia de tomillo fué obtenida por arrastre con vapor de agua, los ácidos libres existentes en ella, deben ser de naturaleza volátil.

Sobre la solución alcalina de los ácidos, se procedió a separar los mismos en solubles e insolubles en agua, siguiendo la técnica de Tolenske (35), que consiste en acidificar con H_2SO_4 , destilando luego por arrastre con vapor.

El destilado se recogió en un embudo con papel de filtro, donde quedan retenidos los ácidos grasos insolubles, pasando los solubles a un matraz, recogándose 110 ml.

Los ácidos insolubles se disuelven en alcohol neutro.

Las dos fracciones se titulan con $HONa$ N/10, obteniéndose los siguientes resultados:

Ácidos volátiles solubles:

Para 100 gr. de esencia se gastaron 17,4 ml. $HONa$ N/10.

Expresado en ácido acético representa : 0,15

Ácidos volátiles insolubles:

Se gastaron 0,54 ml. $HONa$ N/10

expresado en ácido caprílico (C_8) : 0,008 %

La suma de los resultados anteriores coincide con la determinación de la acidez libre de la esencia tal cual (ver pág. 30).

La solución acuosa de las sales sódicas de los ácidos volátiles solubles, se concentró hasta reducir el volumen a unos pocos ml..

Dado que, la cantidad de ácidos solubles libres es pequeña sólo pudo efectuarse una observación de su sal de plata al microscopio y una reacción de coloración.

Para la observación microscópica se usó la técnica de Deniges, que se realiza en un porta objetos colocando unas gotas de la solución del ácido a investigar y otras de la solución de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Ag}$ amoniaca al 3%, se deja difundir y observa al microscopio, comparándose en un testigo previamente preparado (39).

La otra técnica utilizada, fué la de Feigl, Zappert y Vásquez, que consiste en evaporar en un micro tubo de ensayos unas gotas de la solución del ácido en presencia de CO_2/Ca . Se calienta y coloca en la boca del tubo un papel humedecido en aldehído 0-nitro benzoico alcalinizado. Se forma una coloración azul, que resulta del indigo formado por reacción de la acetona con el aldehído (la acetona se forma por destilación del acetato de calcio), (40).

Ambas reacciones, confirman la presencia de ácido acético.

Los ácidos grasos insolubles, debido a la pequeña cantidad existente, no pudieron ser identificados.

FENOLES.

La presencia de fenoles en la esencia de tomillo fué confirmada por algunas reacciones colorimétricas, que aunque la determinan de una manera absoluta, permiten reconocer su existencia probable (41); (42).

Dichas reacciones se ensayaron sobre los fenoles liberados de la esencia con HCl y posterior acidificación y también sobre la fracción 5ª con resultado positivo.

1) Con Cl_2 diluido (1/1000) las soluciones alcohólicas dan coloraciones variadas, mientras el timol no desarrolla color, el carva-

erolam da color verde.

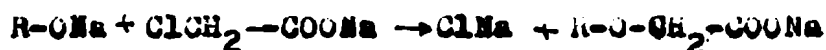
2) Reacción de Pougnet. Un ml. reactivo (SO_4H_2 formolado) más 1 ml. solución acuosa del fenol, se obtiene precipitado o color rosa.

3) Reacción de Guareschi. En un tubo de ensayos se coloca un fragmento de HOK humedecido por acción del aire durante unos minutos, se agregan luego algunas gotas del fenol en solución concentrada y un ml. de Cl_3OH . Se observa color rojo violáceo.

Para identificar, timol y carvacrol, es necesario aislarlos de sus mezclas,

para ello hemos aprovechado la propiedad que tiene el carvacrol al estado de sal potásica de ser extraído por éter etílico.

Una vez, separados procedimos a preparar sus respectivos derivados con el ácido cloroacético, se obtienen así, los ácidos carvacril y timil oxi acéticos de PF. definidos.



La técnica seguida es la de Koelsch (41), que consiste en mezclar 1 gr. de fenol con 3,5ml. de HONa 36%, se agrega 2,5ml. de ácido cloroacético 50%. Se agrega un poco de agua para disolver el fenolato sódico. Se tapa o se usa mejor un refrigerante de aire y se calienta suavemente una hora a baño maría. Se enfría, se diluye con agua y acidificación con ClH N/1, usando como indicador rojo Congo, y se extrae con éter etílico. El extracto etéreo, se lava con poca agua y el ácido aril oxi acético se extrae con CO_2Na_2 5%. Se evapora el éter retenido. El extracto se acidifica con ClH N/1 para obtener el ácido libre que se recristaliza de agua.

Los PF. obtenidos fueron los siguientes:

ác. timil oxi acético : 148°C ; Tablas : 148-149°C

ác. carvacril oxi " : 149-150,5°C " : 150-151°C

La presencia de timol y carvacrol, ha sido confirmada por el Dr. E. Clavet (42), que aplicó la cromatografía a la separación de mezclas de los 3-5 dinitro benzoatos de ambos fenoles, aislados del aceite esencial de tomillo por mí analizado.

Clavet en su trabajo, utilizó como material de relleno ácido silíceo puro, que llevaba incorporado como material fluorescente Rodamina 6G, necesaria para poder ubicar las zonas absorbidas; como disolvente para el percolado y el desarrollo usó hexano normal y para la elución éter etílico puro.

Se demostró, la existencia de ambos fenoles, por ser sus PF. característicos.

timil 3-5 dinitro benzoato	PF :	103°C
carvacril " " "	PF :	83°C

ALCOHOLES .

Para aislar los mismos, se aplicó la ftalizacion, para ello una vez obtenido el ftalato ácido de alcohol se trató con HONa hasta reacción alcalina a la fenolftaleína, formándose en consecuencia los ftalatos dobles de sodio y alcohol, y luego extrajo la esencia no reaccionada con éter de petróleo.

La capa acuosa se acidificó con ClH diluido y extrajo con éter de petróleo, que después de concentrada se enfrió a -5°C.

Este método se aplicó a las fracciones 1^a, 2^a, 4^a, y 5^a de la esencia entera (pág. 24) no obteniéndose en ningún caso compuesto cristalizado alguno, es de hacer notar que en las dos últimas fracciones, se observó presencia de fenoles, por el olor intenso de los mismos; se repitió entonces la determinación sobre las fracciones libres de fenoles con el mismo resultado negativo.

De las determinaciones efectuadas, se desprende, que en muestra esencia no existe alcohol anílico, ^{3x} hexenol, geraniol y borneol en cantidades apreciables, pues todos ellos dan ftalatos característicos.

Borneol.

Puesto que, se sospechaba la existencia de borneol, se aplicaron sobre la 6^a fracción (pág. 45) y la 4^a fracción (pág. 24) la técnica de Gandini y Vignola (43) que consiste en oxidar al mismo con KNO_3 2% a alcanfor.

En nuestro caso, esta técnica no dió ningún residuo de alcanfor e indica por lo tanto, ausencia de borneol.

Linalol.

De resultados, de la aplicación del método de Fiore, en nuestro aceite se encontró 23,03% de linalol libre (pág. 35) expresado sobre esencia entera.

Se identificó el mismo por:

a) reacción de coloración; mediante el reactivo de Burgess (37), sulfato mercurico al 10% en SO_4H_2 25%.

Una gota de la fracción más una del reactivo, se obtiene coloración violácea.

Esta reacción dió resultado positivo en las fracciones:

2^a, 3^a, y 4^a (pág. 24); 5^a y 6^a (pág. 45); (55-90°C)₃₀ y (90-127°C)_{30mm}. (pág. 44).

b) formación del fenil uretano delinalilo, (44).

Se pesa en un baloncito de 2-3 gr. de la fracción que tiene linalol con algo más de la cantidad correspondiente de isocianato de fenilo, (tomar precauciones, pues es tóxico, tiene acción irritante sobre la mucosa de los ojos) se deja tapado durante una semana. Se arrastra con vapor de agua la parte no reaccionada. Se deja enfriar, queda un residuo de difenil urea y feniluretano, se filtra, seca y extrae varias veces con éter de petróleo. Se evapora el solvente y queda el feniluretano de linalilo en forma de cristales aciculares, que se recristalizan de alcohol diluido.

Se obtuvo un derivado de PF : 63°C.

HIDROCARBUROS.

La parte más volátil de la esencia que destila entre 160-185°C está constituida por hidrocarburos y constituye una mezcla muy difícil de separar completamente, por destilación fraccionada.

Nosotros los hemos estudiado en la 2ª y 3ª fracción de la esencia entera (pág. 24); en la 2ª, 3ª, 4ª, y 5ª fracción de la esencia libre de fenoles y ácidos (pág. 45); en la fracción (55-90°C)_{30mm.} y residuo, arriba de 127°C a 30mm. (pág. 44).

Los terpenos, no son atacados por los reactivos utilizados para la separación de los otros grupos de la esencia.

Pineno.

El pineno se trató de identificar por preparación de su nitrosocloruro, mediante la técnica de Wallach (45):

Se enfria hasta que solidifique la masa, una mezcla del hidrocarburo en ácido acético glacial (1:2), se añade luego, agitando y gota a gota nitrito de amilo en cantidad igual al acético agregado, se enfria y agrega también gota a gota ClH conc. (32-33%) en la proporción del 30% del nitrito de amilo agregado. Se deja enfriar durante varias horas, si no precipita enseguida; se filtra, disuelve en Cl₂CH frío y agrega unas gotas de CH₃OH para precipitar el nitrosocloruro.

En ninguna de las fracciones observadas, se obtuvo cristales de nitrosocloruro, pero en la 2ª y 3ª de la esencia libre de ácidos y fenoles, y en la (55-90°C)_{30mm.} se observó una coloración verde esmeralda característica. Baker-Smith (33), que estudiaron esta reacción, llegaron a la conclusión de que es debida a los pinenos, siendo que el (d) pineno se presentaría con mayor intensidad que el (l) pineno.

δ-terpineno.

Los terpinenos, cuerpos no saturados, dan con ClH gaseoso en medio ácido acético anhidro, productos de adición característicos (dihidroclores).

Se usó la técnica siguiente (6) :

A una solución del hidrocarburo en ácido acético glacial se agregó una cantidad de ácido acético saturada de ClH gaseoso. Se enfrió y precipita el dihidrocloruro, se lava con alcohol frío y recristaliza en alcohol absoluto.

Mediante esta técnica, no se obtuvo ningún precipitado, debido sin lugar a dudas, a la pequeña cantidad de terpineno en las fracciones investigadas.

p-cimeno.

Para investigar p-cimeno se siguió la técnica de Wallach (46), que consiste en oxidar los terpenos con solución de MnO_4K 2%, agitar y calentar a baño maría con refrigerante a reflujo durante unos minutos. Terminada la oxidación se filtra, para separar el precipitado mangánico, se evapora el líquido y agota el residuo con alcohol hirviente; el líquido alcohólico da una sal de potasio que se descompone con SO_4H_2 dil. El ácido puesto en libertad, es el ácido p-hidroxi isopropil benzoico, que recristalizado en alcohol funde a $155-156^\circ\text{C}$.

La experiencia dió resultado negativo.

En la última fracción, que hierve por encima de 250°C , se presume la existencia de un sesquiterpene, que se encuentra en la esencia esencial 5,9%, y del cual no se obtuvo derivado cristalino (nitrocloruro).

e) RESUMEN DE LAS CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DEL ACEITE
DE THYMUS VULGARIS ESTUDIADO.

Zona de cultivo	Balcarce (Prov. Buenos Aires)
Cosecha	Febrero 1947.
método de extracción	arrastré con vapor de agua.
rendimiento	1% sobre humedad florida.

Características físico-químicas.

Color	parde rojizo
olor	fuerte y agradable a tomillo
sabor	picante y persistente
aspecto	límpido
peso específico 20/20°C	0,9183
índice de refracción 20°C	1,4965
poder rotatorio 20°C	-3°50'
residuo de evaporación	2%
absorción en el ultravioleta (máximo para 275m μ) sol 2% ₁₀₀	$E = 1,09$
solubilidad en alcohol 70°	insoluble
'' '' 80°	1,5 vol.
'' '' 90°	0,5 vol.
'' '' 95°	miscible en todas proporciones.
índice de ácido	1,0
'' '' éster	8,1
'' '' '' desp. acetilación	101,6
'' '' acetil.	93,6

Composición química

Fenoles	
(método químico)	32,68%
(" espectrofotométrico)	30,79%
timol referido a fenoles totales.	28,7 %
carvacrol " " " "	71,3 %
Alcoholes totales (C₁₀H₁₈O)	31,5 %
" libres (C ₁₀ H ₁₈ O)	28,68%
" combin. (C ₁₀ H ₁₈ O)	2,82 %
" primarios libres	
como (C ₅ H ₁₂ O)	2,69 %
como (C ₁₀ H ₁₈ O)	4,71 %
" secundarios libres	
como (C ₅ H ₁₂ O)	0,54 %
como (C ₁₀ H ₁₈ O)	0,94 %
" terciarios libres	
como (C ₁₀ H ₁₈ O)	23,03%
Esteres (acetato de C₁₀H₁₈O)	2,83 %
Acidos libres (acético)	0,107%
" volátiles solubles (acético)	0,1 %
" " insalubles (caprílico)	0,008%
Hidrocarburos (150-180°C a 760mm. Hg)	12,06%
Sesquiterpenos(arriba de 250°C a 760mm.)	5,9 %

Componentes identificados.

Acidos	acético
Fenoles	timol y carvacrol
Alcoholes terciarios	linalol
Hidrocarburos	α pineno

f) Comparación de la esencia estudiada con los datos bibliográficos.

No obstante, ser el aceite de tomillo, citado por numerosos autores, en libros y publicaciones periódicas, muy pocos han sido los estudios y análisis completos realizados sobre él mismo.

Los datos hallados, casi todos físicos, están dados entre límites bastante amplios, y no aclaran, por otra parte, de que especie del género *Thymus* proviene el aceite analizado, ni tampoco método de extracción, lugar de cultivo, etc., factores importantísimos que es necesario tener en cuenta para poder comparar los datos y sacar conclusiones válidas.

Las constantes de nuestro aceite, son bastante similares a las de los aceites españoles, franceses, italianos, húngaros y marroquíes y es de destacar el bajo contenido en fenoles, como también la poca solubilidad en alcohol 70° que presenta el aceite estudiado.

Los aceites de *Thymus vulgaris* (de Baleares, Provincia de Buenos Aires) por mí analizado y el de *Thymus striatus* (de Bari, Italia) (ver pág. 7) presentan gran similitud tanto en sus constantes físicas, como en su composición química, pues sus índices de ácido y de éster, y su contenido en fenoles son muy semejantes entre sí.

También, nuestro aceite, es comparable al de *Thymus hircanicus* Lange (ver pág. 8) en cuanto se refiere al contenido de ésteres y alcoholes libres y totales, aunque este último contiene alto porcentaje de aldehídos.

g) CONCLUSIONES.

Bajo la eficiente dirección del Dr. Adolfo L. Montes, Profesor Adjunto de la Cátedra de Bromatología y Análisis Industriales de la Facultad de C.E.F. y N. de Buenos Aires, ha sido realizado este trabajo con el objeto de conocer la composición química y características del aceite de *Thymus vulgaris* de la zona de Balcarce (prov. de Buenos Aires) y posibilidades científicas comerciales o industriales del mismo.

Por no contar con cantidades apreciables de esencia y carecer de ciertas drogas y aparatos, este trabajo no es aún todo lo completo que habiáramos deseado.

En este estudio se han determinado las propiedades físicas y químicas, aislando y dosando sus componentes; habiéndose efectuado también determinaciones cuantitativas de fenoles, por el método espectrofotométrico, basado en la absorción en el ultravioleta de dicha esencia, con excelentes resultados; por último, se aplicó con éxito, la separación cromatográfica de los 3-5 dinitrobenzoatos de los fenoles—timol y carvacrol — que componen la misma.

Por contener este aceite, un bajo porcentaje de fenoles cristalizables (timol) no es conveniente su utilización como fuente natural de los mismos.

Sin embargo, la esencia de tomillo, no debe estimarse únicamente por su contenido en fenoles, pues el linalol, de olor suave y fuerte y los hidrocarburos, contribuyan a modificar y aumentar el perfume del aceite esencial.

Este aceite, no obstante, puede ser explotado económicamente por sus múltiples aplicaciones, pues tanto en farmacia— por su poder

germicida, como antiséptico y desinfectante, es también estimulante mental y excitante de las glándulas salivares y digestivas — como en perfumería — por su agradable olor, para aromatizar jabones y cosméticos — es además, utilizado por la industria alimenticia, como condimento en reemplazo de la planta y para aderezar carnes, salsas, etc..

h) BIBLIOGRAFIA.

- 1) Small J./ Food 13 (1944) p.13.
- 2) Wettstein R.- Tratado de Botánica Sistemática (1944).
- 3) Craveri C.-Coltivazione industriale delle piante aromatiche (1914).
- 4) Demaria Massey D.- Rev. Merc. Gen. Hac. Avell. 202 (1942) p.82.
- 5) Saggese D.- Yerbas medicinales argentinas.
- 6) Guenther E.- The essential oils. 1 (1948), 2 y 3 (1949).
- 7) Poucher W.- Parfums, soaps and cosmetics (1947) p.397.
- 8) Finmore H.- The essential oils (1926).
- 9) Langenau E.E.- J.Am.Pharm.Assoc. 38 (1949) p.261.
- 10) Rodiś M.- Bull. Soc. Chim. 1 (1907) p.236.
- 11) Major Y.- Parfumerie Moderne 1 (1937) 5.
- 12) Albers C.C.- Pharm. Arch. 13 May (1942) N° 3, 39.
- 13) Perrot Em.- Matieres premieres usuelles du regne vegetal (1944)
- 14) Rosenthal C.- C.A 38 (1944) 4756.
- 15) Parry J.W. - The spice handbook (1945) 156.
- 16) Berl Lunge D'Ans.- Métodos de Análisis químico industrial (1955), tIV.
- 17) Ullmann F.- Enciclopedia de Química Industrial t.1V.
- 18) Jeancard P.- Les parfums, chimie et industrie (1927).
- 19) Winton and Winton.- The structure and composition of foods, t 1V.
- 20) Gregory T.C.- The condensed chemical dictionary (1942).
- 21) Venturi L.- Le sostanze aromatiche (1946).
- 22) Couvreur A.- Les produits aromatiques utilisés en pharmacie (1939).
- 23) Rolseh M.- C.A. 24 (1930), 2235.
- 24) Janicsek M.-C.A. 29 (1935), 1938.
- 25) Leone P. y Angelescu E.- Gazz. chim.ital. 52 (1922) 152.

- 26) Cancer M.G. - Bol. ufficiale staz. sper. ind. delle essenze 14 (1939)
- 27) Lallemand M.A., - Compt. Rend. 37 (1853) 498. /147.
- 28) Lallemand M.A., - ANN. Chim. phys./3/ 49 (1857) 148.
- 29) Guenther E., - Am. Perfumer Essent. oil Rev. 47 N°10 (1945) 41.
- 30) Mulliken S.P., - Huntress F., - Identification of pure org. comp. (1941).
- 31) Shriner R.L., - Fuson R., - The systematic identification of org. comp. (193)
- 32) Heilbron I.M., - Dictionary of organic compounds (1934).
- 33) Parry E.J., - The chemistry of essential oils (1922).
- 34) Montes A.L., - Análisis de aceites esenciales (1951). Tesis Profesor Adjunto.-Fac. C.E.F. y N. de Buenos Aires.
- 35) The essential oil sub-committee., - Analyst 52 (1928) 215.
- 36) Parry E.J., - The chemistry of essential oils and artificial perfums / t.2 , p.252.
- 37) Wattiez N. et Sternon F., - Elements de chimie vegetale (1942).
- 38) Villavecchia., - Tratado de Química Analítica Aplicada (1944) t2, p500.
- 39) Grignard V., - Traité de chimie organique, t XVI.
- 40) Grignard V., - Traité de chimie organique, t IX
- 41) Koelsch., - J. Am. Chem. Soc. 53 (1931) 305.
- 42) Clavet E., - Aplicaciones de la cromatografía a aceites esenciales. (1951) Tesis doctoral.- Fac. C.E.F. y N. de Buenos Aires.
- 43) Gandini A., - Vignola T., - Ann. chim. aplic. 24 (1934) 431.
- 44) Walbaum H., - Huthig O., - J. Prakt. Chem. 11, 67 (1903) 325.
- 45) Labbé M.H., - Bull. Soc. Chim. 19 (1898) 1009.
- 46) Wallach., - Rev. de la Flora Medicinal 12 (1945) Rio de Janeiro.

Edoardo Leuati

e Ugo G. Dubinsky