

Tesis de Posgrado

Composición química del aceite esencial de limón (Citrus médica) de Misiones

Serio, Clementina Celeste Italia

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:

Serio, Clementina Celeste Italia. (1952). Composición química del aceite esencial de limón (Citrus médica) de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0705_Serio.pdf

Cita tipo Chicago:

Serio, Clementina Celeste Italia. "Composición química del aceite esencial de limón (Citrus médica) de Misiones". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1952. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0705_Serio.pdf

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FISICAS Y NATURALES

COMPOSICION QUIMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMON (CITRUS MEDICA)

DE MISIONES

TESIS

para optar al título de

Doctora en química

Presentada por:

CLEMENTINA C. I. SERIO

Cesús: 705

1 9 5 2

I N D I C E

	Pág.
A). <u>Antecedentes Bibliográficos</u>	
I - Descripción botánica	1
II - Componentes hallados en aceites esenciales de limón	5
III - Propiedades físicas y características de los compuestos hallados en aceites esenciales de limón	12
IV - Métodos de extracción de aceites esenciales	28
V - Antecedentes del aceite esencial de limón estudiado ...	35
B). <u>Trabajo experimental</u>	
VI - Determinaciones físicas	36
VII - Determinaciones químicas	50
VIII - Aislamiento e identificación de los componentes principales	57
IX - Resumen de las características y composición del acei- te de limón estudiado	70
X - Comparación de la esencia estudiada con la de otros países	73
XI - Comentario final	74
XII - Bibliografía	75

PADRINO DE TESIS

PROFESOR DR. ADOLFO L. MONTES

2 AUG 1944

Mucho agradezco al Profesor Dr. Adolfo L. Montes por la dirección del presente trabajo, como también por las facilidades brindadas para su realización en los laboratorios de la Cátedra de Bromatología y Análisis Industriales.

- A) A. PUEBLOS Y SUS ECONOMÍAS -

DESCRIPCION BOTANICA

Los aceites esenciales son sustancias volátiles, de aspecto oleoso, líquidas en su mayoría, de olor pronunciado y penetrante, generalmente agradable, muy difundidas en el reino vegetal, y formadas por mezclas de especies químicas, algunas de las cuales predominan por la intensidad de su perfume.

El aceite esencial estudiado en este trabajo, se obtiene del género Citrus, de la importante familia de las Rutáceas.

Los citrus pertenecen botánicamente al orden de los Geraniales, familia de las Rutáceas y a los géneros Citrus, Fortunella y Poncirus (1).

La clave para la determinación de los géneros es la siguiente:

- a) Hojas caducas y trifoliadas Poncirus
- b) Hojas aparentemente simples y persistentes:
 - Ovario con 3,5 ó 6 carpelos Fortunella
 - Ovario con 8 o más carpelos Citrus

El género Citrus está compuesto por plantas de mediano o gran desarrollo, con hojas perennes y generalmente glabras, aunque en algunas especies pubescentes, con bordes serrados, peciolo más o menos alado o simples y glándulas provistas de aceites aromáticos. Flores solitarias o en cima terminal o axilar, 4 ó 5 sépalos cortos de color verde y unidos entre sí, 5 pétalos de coloración blanca o matizado de púrpura, estambres libres o más o menos soldados entre sí y en número múltiple al de los pétalos, con anteras alargadas y ovario súpero y gamocarpelar. El fruto es una hespéride, con número variable de semillas (2).

Los citrus cultivados, corresponden a distintas especies botánicas de fácil determinación.

El aceite esencial estudiado corresponde a la especie " Citrus Médica", cuyas características son:

Hojas con una visible articulación entre la lámina y el peciolo, crenadas. Piel fina o moderadamente gruesa. Flores teñidas de rojo al exterior. Peciolo nuevamente marginados. Fruto oval más o menos puntiagudo.

Ubicación y elección del terreno:

Siendo las plantas cítricas tan longevas y siendo a la vez necesario esperar algunos años antes que la explotación esté en buen pié de productividad económica, es necesario estudiar el terreno, desde todos sus aspectos para evitar incurrir en errores insalvables por la imposibilidad de modificar los factores adversos de ésta naturaleza.

Desde el punto de vista de la planta interesa conocer:

- a) La profundidad del suelo.
- b) La permeabilidad del subsuelo.
- c) La riqueza del suelo y del subsuelo.

a) Las plantas cítricas crecen en suelos profundos, pues de lo contrario adquieren escaso desarrollo y vegetan pobremente, produciendo cosechas limitadas y de mala calidad.

En muchas regiones del país es posible encontrar suelos de gran profundidad en donde las plantas adquieren en los primeros años de vida un desarrollo extraordinario, pero en la mayoría de nuestras zonas actualmente en explotación encontramos que el suelo arenoso y permeable sólo se encuentra a una profundidad que alcanza en algunos casos solo a 50 cm.

b) La permeabilidad del subsuelo es un factor de fundamental importancia para la elección del terreno, pues las arcillas compactas o las lavadas por corrientes de agua, son sin duda nudos e impiden el desarrollo de las raíces de los citrus.

Los subsuelos arcillosos con arena gruesa en elevada proporción tan frecuentes en el litoral, si bien no son los óptimos permiten el favorable crecimiento de las raíces.

c) Los suelos aptos para el cultivo de los citrus si son netamente arenosos son en general pobres en elementos nutritivos, lo que hace necesario que una vez que las plantas han entrado en producción se les proporcionen abonos adecuados.

Los suelos areno-arcillosos son en general algo más ricos en nitrógeno, aún cuando no pueden considerarse humíferos.

Especialización de las zonas de producción:

La República Argentina tiene el privilegio dentro de la mayoría de los países citrícolos, de su amplia zona de explotación, que se extiende desde Salta y Jujuy al Norte hasta el Delta al Sud, abarcando desde los 22 grados hasta los 34 grados de latitud Sud, y es por ésta razón que el período de producción de los frutos cítricos puede abarcar casi todo el año, si se aprovechan las condiciones climáticas de cada zona.

Las distintas zonas citrícolas del país pueden distribuirse dentro de tres categorías: de tempranas, intermedias y tardías.

Esta distribución de las zonas se ha hecho en base a los datos de maduración que pueden obtenerse de las actuales plantaciones cítricas.

En las provincias de Salta, Jujuy y Tucumán se han considerado cier-

tas zonas como tardías, a pesar de la ubicación geográfica que aparentemente debiera determinar lo contrario, pero es posible que la topografía irregular del terreno y la presencia de cadenas de montañas, hagan variar en forma apreciable el clima.

La zona del Litoral, que es en magnitud la más importante en materia de producción citrícola, comienza en el Norte con las plantaciones del Alto Paraná y se extiende al Sud hasta el Delta.

La región Norte debe considerarse como zona de aptitud temprana, condición que se vá perdiendo hacia el Sud, con la zona intermedia correspondiente que es la más amplia.

El limonero es una especie que tiene por ahora amplias posibilidades en nuestro medio, pero es necesario tener presente que si bien el consumo vá en aumento por la diversidad de sus aplicaciones, está también limitado por sus características que impide salir de ciertos límites dentro del consumo diario.

El rendimiento en esencia depende en realidad de diversos factores, pero no cabe duda que en primer término tienen una importancia fundamental el empleo racional del método adecuado de extracción, el que varía para cada especie y órgano vegetal y la utilización, además de una buena materia prima, con el objeto de obtener porcentajes elevados y aceites de calidad superior (3).

Se admite como término medio, el siguiente rendimiento, sujeto a variación por las razones indicadas, referido a 100 Kg. de corteza:

100 Kg. corteza de limón 1800 a 3000 g. de esencia.

COMPONENTES HALLADOS EN ACEITES ESENCIALES DE LIMON

Los aceites esenciales extraídos de la corteza de los frutos del Citrus Limonum, mediante expresión a mano o a máquina, presentan en general un conjunto de características semejantes.

Los caracteres y composición dependen de diversos factores, a saber:

- a) lugar de origen de los frutos
- b) grado de madurez de los mismos
- c) naturaleza del terreno
- d) sistema seguido para extraer la esencia
- e) edad de la esencia
- f) manera de conservarla

A continuación se detallan las propiedades físico-químicas y la composición de aceites esenciales de limón de diversos países.

Aceites de limón de California (4)

Grandes cantidades de aceites de limón de California, obtenidos por expresión en frío, han sido analizadas por Fritzsche Brothers Inc. New York obteniéndose valores de las propiedades físico-químicas que varían entre los siguientes límites:

d_{25}^{25}	0,849 a 0,855
α_D^{25}	+ 57°0' a + 65° 36', raras veces por debajo de + 52°
n_D^{20}	1,4742 a 1,4755
Aldehídos, calculados como citral (Método de la hidro- xilamina)	2,5 a 3,5 %. Generalmente cerca de

Residuo de evaporación 1,5 a 1,8 %
Solubilidad Soluble en 3 vol. alcohol 95% y más
Color amarillo limón

Composición química

Poore investigando aceites de limón de California, identificó los siguientes componentes:

Hidrocarburos	Terpenos	α- pineno
		β- pineno
		d-limoneno (principal constituyente)
Sesqui- terpenos	γ-terpineno (pequeñas cantidades)	
	cadineno	
Aldehidos	Citral	Octílico
		Nonílico
		Geraniol
Alcoholes	Linalol (trazas)	Acético
		Cáprico
Acidos	Caprílico	

Poore comparando aceite de limón de California con aceite de limón importado de Italia, encontró que aquel contenía aproximadamente 0,5 % más de sólidos, alrededor de 1,7 % menos de citral (Método de Kleber) y un 0,6 % menos de ésteres (Método de Seeker y Kerby) que el italiano.

Aceite de limón de Italia

Según Gildemeister y Hoffmann, las propiedades del aceite de limón italiano, varían entre los siguientes límites:

Propiedades físico-químicas

d_{45}^{15}	0,856 a 0,861; en algunos casos 0,854
α_D^{20}	+ 57° 0' a + 61° 0'; en algunas regiones de Sicilia + 56° 0' y en otras + 67° 0'
n_D^{20}	1,474 a 1,478

Contenido en citral (Método de

la hidroxilamina) 3,5 a 5,0 %

Residuo de evaporación 2,1 a 4 % (expresión a mano)

5,0 a 6,6 % (expresión a máquina)

Número de ácido en el residuo

de la evaporación 19 a 39

Número de éster en el residuo

de la evaporación 100 a 214

Solubilidad No completamente soluble en 6 a 8 vol.

de alcohol de 90%, por presencia de sustancias mucilaginosas.

Claramente soluble en 0,5 a 1 vol. de alcohol 95 %.

Soluble en alcohol absoluto, eter sulfúrico, cloroformo, benceno y alcohol amílico.

Estas propiedades varían considerablemente con la estación; en especial el poder rotatorio y el contenido en citral.

Ajon, hizo las siguientes observaciones:

Epoca	Fines de octubre 1925	Marzo 1926	Fines de junio 1926
Condición del fruto	verde	amarillo (mejor calidad)	amarillo (muy duro)
d_{15}	0,8559 + 61° 41'	0,8577 + 61° 24'	0,8586 + 54° 38'
Citral %	4,65	4,35	4,14
Residuo de evaporación	3,97	4,54	5,89

Estudios realizados en aceites esenciales de limón, de distintas regiones de Italia, llevan a la conclusión de que las propiedades físico-químicas, varían de una a otra, en especial el poder rotatorio, el cual es característico para cada región.

Distritos	Siracusa	Acireale a Giardini	Santa Teresa	Messina	Palermo
Máx.	0,8593	0,8588	0,8602	0,8602	0,8593
d_{15} Mín.	0,8558	0,8562	0,8570	0,8570	0,8568
Máx.	+ 65° 45'	+ 64° 51'	+ 63° 36'	+ 63° 37'	+ 64° 12'
α_D^{15} Mín.	+ 59° 27'	+ 58° 11'	+ 54° 33'	+ 55° 33'	+ 55° 6'
Residuo					
Máx.	2,90	2,94	3,10	3,08	2,92
Mín.	1,90	1,80	1,84	1,76	1,80
Citral %					
Máx.	5,65	5,10	5,80	6,00	4,85
Mín.	3,45	3,60	3,85	4,00	3,50

La causa más importante de variación en la calidad y propiedades del aceite de limón italiano, es el procedimiento de expresión y los

tipos de máquinas utilizadas:

	$d_{15^{\circ}}$	$\alpha_D^{15^{\circ}}$	Citral%	Esteres %	Residuo no volátil
1. Método esponja	0,8578	+ 60 36'	4,51	3,09	2,40
Máquina Vinci	0,8590	+ 59 37'	4,07	2,76	3,05
2. Método esponja	0,8580	+ 58 52'	5,78	3,31	3,15
Máquina Avena	0,8590	+ 57 48'	4,33	3,27	4,46
3. Método esponja	0,8589	+ 59 40'	5,26	3,49	2,70
Máquina especial	0,8600	+ 57 53'	4,51	3,38	4,93
4. Método esponja	0,8580	+ 60 35'	4,65	3,21	2,23
Máquina Cannavó	0,8593	+ 59 23'	3,75	3,10	4,96

Composición química de un aceite de limón italiano (Messina)

Hidrocarburos	Terpenos	[α - pineno (trazas)
			β - pineno
			canfeno
			β - felandreno
			γ - terpineno
			d - limoneno (principal componente)
	Sesquiterpenos	[bisaboleno
			cadineno
Cetonas	Metilheptenona		
	Citral		
Aldehidos	Citronelal		
	Aldehídos octílico, nonílico, decílico y láurico		

Alcoholes y Esteres	}	α - terpineol
		Geraniol (como acetato)
		Nerol (como acetato)
		Citronelol (como acetato)
		Acetato de geranilo y linalilo
		Antranilato de metilo
Acidos	}	Acético
		Cáprico
		Láurico

Estearopteno Citropteno (limetina).

Aceite de limón de Brasil

Una muestra de aceite genuino de limón de Brasil examinada en los laboratorios de Fritzsche Brothers, Inc. New York, ha dado los siguientes resultados:

d_{15}^{15}	0,851
α_D^{25}	+ 63° 5'
n_D^{20}	1,4746
Aldehidos (M. hidroxilamina)	2,0 %
Residuo Evaporación	3,8 %

Comparado con el aceite de limón italiano y el de California se observa, menor contenido en citral y mayor residuo de evaporación.

Aceite de limón de España

Tres muestras de aceite de limón de España, estudiadas por Fritzsche Brothers, Inc. New York, han dado las siguientes propiedades

físico-químicas:

	Proceso esponja	Proceso de las agujas
d_{15}^{15}	0,851	0,851 - 0,852
α_D^{25}	+ 62° 42'	+ 57° 23' - + 59° 32'
n_D^{20}	1,4748	1,4743 - 1,4745
Residuo de evaporación	---	3,7 % - 4,1 %
Aldehidos	4,5%	3,4 %

Aceite de limón de Palestina.

No se consignan datos.

Según Davidsohn, las propiedades físico-químicas son inferiores a las especificadas por la British Pharmacopoeia.

Un examen de seis aceites de limón de Palestina realizado por Islip y Major, llevan a la conclusión de que el sabor y el olor es muy distinto al de los aceites de Sicilia, y el poder rotatorio generalmente mucho más elevado que el de éstos.

III

PROPIEDADES FISICAS Y CARACTERISTICAS DE LOS COMPUESTOS HALLADOS EN
ACEITES ESENCIALES DE LIMON

	Indice refracción	P.Esp. a 20° / 4° C.	Poder rotatorio	Punto ebullición °C
<u>Hidrocarburos terpénicos</u>				
α-pineno	1,4658	0,858	+ 48° 4'	154°-156°
β-pineno	1,4724	0,866	- 22° 20'	162°-166°
Canfeno	1,4712	0,848(50°)	- 84° 9'	159°-160°
β-felandreno	1,4788	0,852	+ 18° 54'	172°-174°
p-cimeno	1,4917	0,857	--	175°-176°
d-limoneno	1,4749	0,842	♦ 126°84'	177°
l-limoneno	1,47468	--	--	177°
dl-limoneno	1,473	0,846	--	176°-178°
γ-terpineno	1,4765	0,849	--	183°
<u>Aldehidos</u>				
Citral	1,4885	0,897	--	228°-229°
Citronelal	1,475	0,856	--	202°-206°
<u>Cetonas</u>				
Metilheptenona	1,4434	0,866	--	173°-174°
<u>Alcoholes</u>				
Linalol	1,46238	0,8622	- 19° 37'	198°-199°
Geraniol	1,4798	0,8812	0°	229°
α-terpineol	1,4832	0,935		219°8
Nerol	1,4732	0,8813	0°	225°
Citronelol	1,4566	0,8565	♦ 4°	222°

	Indice refracción	P.Esp. a 20° / 4° C	Poder rotatorio	Punto ebullición °C
<u>Acidos</u>				
Acético	1,3715	1,049	---	118°
Láurico	1,4267	0,883	--	298°
Cáprico	--	--	--	270°
<u>Hidrocarburos sesquiterpénicos</u>				
Cadineno	1,5107	0,918	♦ 48° 7'	274°-275°
Bisaboleno	1,4901	0,871	0°	261°-262°
<u>Estearopteno</u>				
Citropteno(Limetina)				
<u>Esteres</u>				
Acetato de linalilo	1,4500	0,8951	- 6°35' a	200°
Acetato de geranilo	1,4628	0,9174	- 8° 3'	110° a 10 mm.Hg
			--	

Hidrocarburos terpénicos

α -pineno



Se encuentra en la esencia de trementina, obtenida por destilación al vapor de las resinas de pino. Además se encuentra en los aceites esenciales de eucaliptus, naranjas, etc.

Investigaciones realizadas por Schimmel & Co. (5) y por Burgess y Child (6), llevan a la conclusión de que muy pocas veces, se encuentran en los aceites de limón, trazas o pequeñas cantidades de α -pineno. En algunos aceites (italianos) se halla ausente.

Es un líquido móvil, incoloro, que por reposo prolongado absorbe como todos los terpenos, el oxígeno del aire, oxidándose.

Tiene afinidad con el agua, dando hidrato de pinol o sobrerol ($C_{10}H_{18}O_2$) que muchas veces se separa en cristales, en los aceites viejos de trementina.

Por hidrogenación (Pt) da pinano, que presenta un espectro Raman característico, utilizándose este método para la caracterización del α y del β -pineno.

Otra reacción común con el β -pineno es la formación del cloruro de bornilo de punto de fusión: $131^\circ C$.

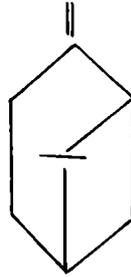
Caracterización

Por su nitrosocloruro: cristales terminados en pirámides irregulares. P.F.: $103^\circ C$.

Por su clorhidrato. P.F: 115° a $125^\circ C$.

Por el dibromopineno. P. F.: $170^\circ C$.

β -pineno:



Se encuentra junto con el α en la esencia de trementina, en aceites de madera de pino y en muchos otros aceites etéreos.

Es un líquido, levógiro $\alpha_D = -22^{\circ}20'$ (Wallach)

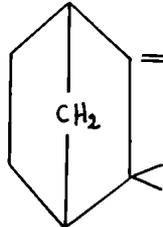
Por hidratación con CH_3COOH y SO_4H_2 se transforma principalmente en terpineno.

Caracterización:

Por su nitrosocloruro, tabletas monoclinicas de P.F.: 144°C .

Por oxidación con MnO_4K dá ácido norpinico de P.F.: $125^{\circ}\text{-}126^{\circ}\text{C}$.

Canfeno:



Es el único terpeno sólido existente en la naturaleza.

Se encuentra en los aceites esenciales de alcanfor, ciprés, bergamota, neroli, limón, etc.

Previamente se le adjudicó la fórmula del bornileno, pero se diferencia de éste pues por oxidación con MnO_4K , no dá ninguno de los ácidos formados por oxidación del bornileno. (7)

Burgess & Child, reconocieron la presencia de canfeno en el aceite de limón (Italiano) por preparación del isoborneol en la fracción correspondiente.

Caracterización:

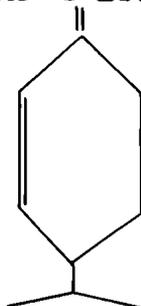
Por formación del isoborneol. P.F.: 212°C .

Si el canfeno se encuentra en pequeñas cantidades, lo mejor es oxidar el hidrocarburo con MnO_4K en solución acética a canfenilona ($\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}$)

la cual puede caracterizarse por su semicarbazona F.F. 224° C.

β-felandreno:

1 (7) 2-p-mentadieno ó 1-metileno-4-isopropil-2-ciclohexano



Es un líquido de olor particular, pero no desagradable.

Posee un doble enlace semicíclico, que por oxidación es eliminado con formación de una cetona.

Su presencia en el aceite de limón fué identificada primero por Schimmel & Co. (8) y confirmada luego por Gildemeister y Müller.

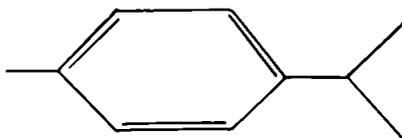
Caracterización:

Oxidado con MnO_4K al 1% dá un glicol (P.Ebullición: 150° C). Este hervido con SO_4H_2 diluido se transforma en un aldehido: felandral, el cual puede caracterizarse por su semicarbazona P.F. = 204° - 205° C. (Wallach).

También puede caracterizarse por la formación del β nitrosocloruro P.F. = 100° C. (Francesconi y Sernagiotto), o por formación del nitrosito P.E. = 100° C. (Wallach y Gildemeister).

p-cimeno:

1- metil- 4- isopropil benceno



Se encuentra en numerosos aceites volátiles: limón, coriandro, angélica, etc.

Es un líquido incoloro, ópticamente inactivo, con olor típico de hidrocarburo aromático.

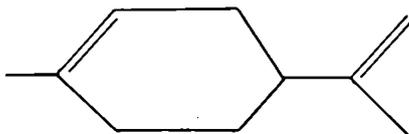
Calentado con mezcla de NO_3H y ácido crómico dá ácido p-tolúico, de P.F. = 180°C . y finalmente ácido terftálico que sublima a 300°C . sin fundir.

Caracterización:

Oxidado con solución concentrada y caliente de MnO_4K dá ácido p- hidroxilisopropil-benzoico, de P.F. = $155^\circ - 156^\circ\text{C}$.

Limoneno:

metil-1-isopropenil-4-ciclo hexeno-1



El l-limoneno se encuentra en el aceite de pino y citronella.

El d-limoneno o carveno en los aceites de bergamota, nerolí y limón. El inactivo en el lemongras, y mezclado con el activo en el aceite de cardamono.

Es interesante destacar que el (d-l) se forma durante la destilación del caucho por polimerización del isopreno.

El limoneno dá reacción positiva con el reactivo de Bezzsonof [MoO_3 , WO_3 , $(\text{P}_2\text{O}_5)_{17} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, disuelto en SO_4H_2 al 5%]. Dá color azul en presencia de trazas, y sirve para diferenciarlo de muchos otros terpenos.

Caracterización:

El (d-l) por su tetrabromuro de P.F. = 125°C . También puede llegarse al nitrosocloruro de P.F. = 78°C . Este por calentamiento se solidifica y funde de nuevo a 104°C .

El (d) por su tetrabromuro, que cristaliza del acetato de etilo,

de P.F. = 104 - 105° C, y $\alpha_D = 73^\circ$ C.

Sus nitrosocloruros tienen éstas constantes: (9)

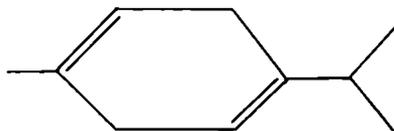
α : P.F. = 103° - 104° C. α_D^{19} = + 313° 4'

β : P. F. = 105° - 106° C. α_D^{10} = + 240° 3'

El (1) limoneno dá un tetrabromuro que cristalizado del acetato de etilo tiene un P.F. = 104° - 105° C. y $\alpha_D = - 40^\circ$.

δ -terpineno:

1-4-p-mentadieno ó 1- metil- 4-isopropil-1-4- ciclohexadieno.



Se encuentra en el aceite de cardamono de Ceylan en el aceite de elemí de Manila, en el aceite de semillas de santónico y otros.

No se ha podido obtener absolutamente puro.

Expuesto al aire se oxida fácilmente, con desprendimiento de peróxido de hidrógeno y formación de p-cimeno.

Caracterización:

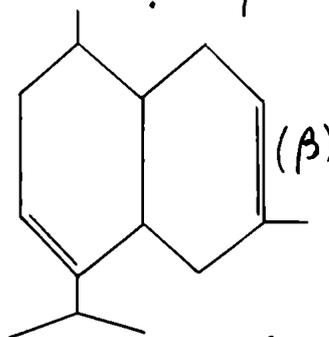
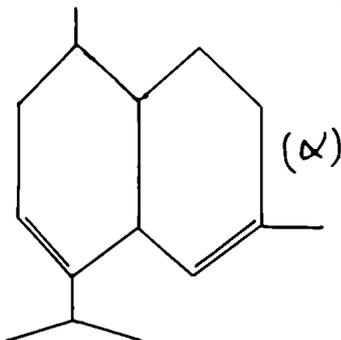
Según Wallach lo único que dá un reconocimiento exacto es la oxidación con MnO_4K . Se forma eritritol: $C_{10}H_{16}(OH)_4$, de P.F. = 237° C.

Según Richter y Wolff (10) puede ser caracterizado por la formación de nitrosato de P.F. = 116° C.; de un nitrosocloruro de P.F. = 111° C., de un tetrabromuro de P.F. = 128° C. ó un dehidrocloruro de P.F. = 52° C.

Hidrocarburos sesquiterpénicos

Cadineno

Consiste en una mezcla de dos isómeros: α y β .



Se encuentra en pequeñas trazas, en la fracción de la esencia de limón que hierve entre $130^{\circ} - 138^{\circ} \text{ C.}$ a 15 mm. de presión.

Caracterización:

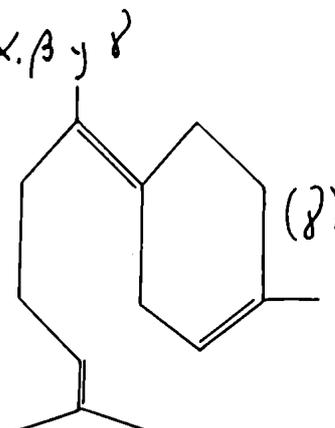
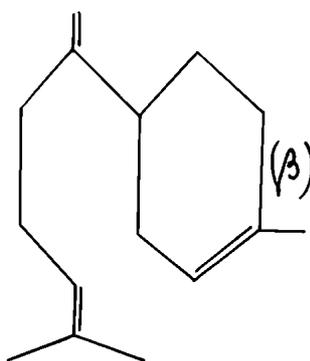
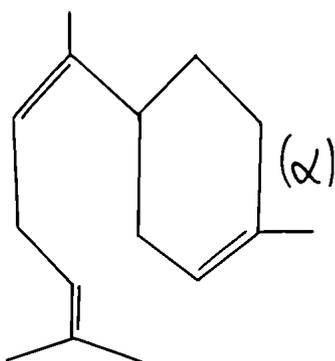
Según Wallach, el solo color de la reacción demuestra la presencia de cadineno. Para ello se disuelve el cadineno en exceso de cloroformo o ácido acético glacial, se agrega SO_4H_2 concentrado gota a gota, y se agita.

La solución toma color verde, luego azul y finalmente rojo, por calentamiento.

También puede caracterizarse por formación del nitrosito, de P.F. = 110° C. , o del diclorohidrato de P.F. - $118^{\circ} - 118^{\circ}5 \text{ C.}$

Bisaboleno

Consiste en una mezcla de tres isómeros: α , β y γ .



La presencia de bisaboleno en la fracción del aceite que hierve a $130^{\circ} \text{ C} - 138^{\circ} \text{ C.}$ a 15 mm. de presión, fué confirmada por Bohnsack (Messi

na).

Se encuentra en el aceite de limón, bergamota, cardamono, etc.

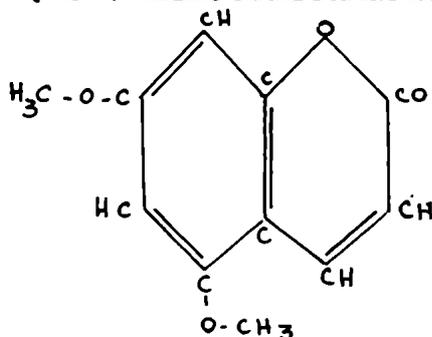
Caracterización:

Los tres isómeros pueden transformarse en el mismo triclorohidrato de P.F. - 79° - 80° C.

También como tribromhidrato de P.F. - 84° C.

Estearopteno

Citropteno ó limetina: (5-7-dimetoxicumarina)



Sometiendo a un prolongado descanso y enfriando, el aceite de limón separa sustancias blandas, mucilaginosas, las cuales quedan en el residuo luego de la evaporación o concentración del aceite.

Recientes investigaciones sobre la naturaleza de esas sustancias, las han identificado como 5-7-dimetoxicumarina o limetina (C₁₁H₁₀O₄).

Tilden y Beck (11), Burgess (12), Späth y Kainrath (13) y Caldwell y Jones (14), establecieron la presencia de dimetoxicumarina en los aceites de bergamota, limón y lima.

Según Dodge (15) la limetina puede purificarse transformándola en dihidrolimetina sulfonato de sodio: C₁₁H₁₁O₄.SO₃Na.4H₂O, la cual se disuelve en 6 volúmenes de agua, y de la cual la limetina es regenerada por tratamiento con solución de álcali diluido.

Su presencia en el residuo no volátil fué confirmado recientemente por Bohnsack (Messina) (16).

La limetina se presenta en forma de agujas incoloras, brillan-

tes de P.F. = 146° - 147° C. según Späth y Kainrath (17); y de P.F. = 147° C. según Tilden, Heyes y Robertson (18).

Es poco soluble en agua y éter de petróleo. Soluble en alcohol, caliente, benceno y ácido acético glacial.

Las soluciones diluidas dan fluorescencia verde.

Es insoluble en KOH diluido y frío.

Tratado con NO_3H diluido forma nitrocitropteno.

Hirviendo citropteno con KOH diluido o con etilato de sodio, da ácido dimetoxicimárico.

Agregando una solución de citropteno a una solución sobresaturada de Br en benceno o tolueno, se forma dibromocitropteno, que se presenta en hojuelas o prismas (en cloroformo) de P.F. = 257° C. (con descomposición).

Dodge observó que la limetina separada del aceite de limón y purificada por recristalizaciones con acetona va acompañada de rosetas o nódulos amarillos. Estos son cristales de isopimpinellina $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_5$, de P.F. = 149° 30' C., los cuales fueron aislados previamente por Von Wessely y Kallab de la Pimpinella Saxifraga.

Caracterización:

Determinando su P.F. = 147° - 148° C.

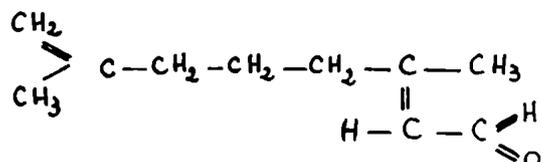
Aldehidos

Citral:

Es una mezcla de dos isómeros: a y b.

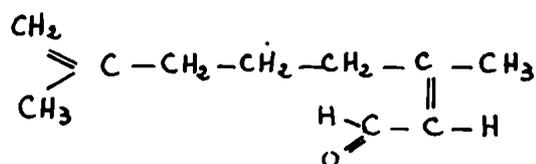
Citral a (geranial) Isómero Cis

3-7 dimetil 2-7 octadien 1-al

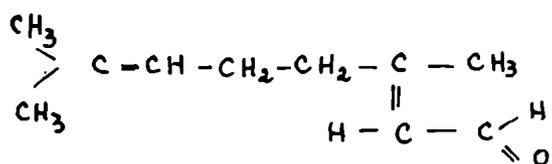


Citral b (neral) Isómero Trans

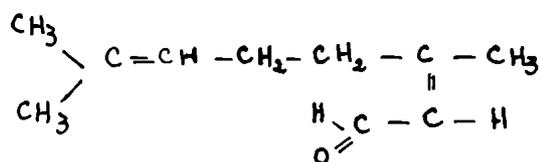
3-7 dimetil 2-7 octadien 1-al



3-7 dimetil 2-6 octadien 1-al



3-7 dimetil 2-6 octadien 1-al



Es el principal constituyente de numerosos aceites esenciales: lemon grass (70-80%), citronella, limón, lima, etc.

Es el más importante y característico componente del aceite de limón. El italiano contiene de 3,5 a 5,5 %.

Es un líquido ligeramente amarillo, ópticamente inactivo, con olor y sabor penetrante a limón.

Es soluble en ácidos, éter, cloroformo, bencina.

Por ebullición con álcalis se descompone en acetaldehído y metilheptenona.

Por oxidación con ozono, se transforma en acetona, aldehído levulínico y glioxal.

Caracterización:

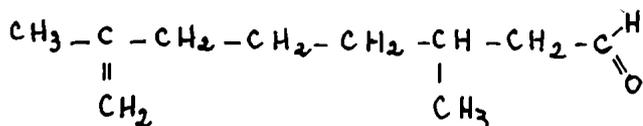
Por su semicarbazona de P.F. = 164° - 171° C.

Por su 2-4 dinitrofenilhidrazona de P.F. = 96° - 108° C.

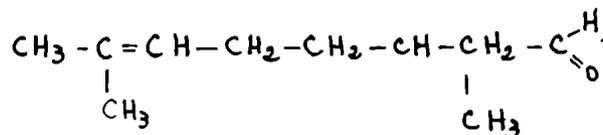
Citronelal:

Es una mezcla de dos isómeros:

dimetil 2-6- octen 1-al



dimetil 2-6- octen 2 al



No se encuentra muy distribuido en la naturaleza. Su forma dextrógira en las esencias de citronella, eucaliptus y en el aceite esencial de la *Barosma pulchellum*; la forma levógira en la esencia de citronella

de Java, en el aceite de *Leptospermum flavescens* de la variedad *citratum* y en otros pocos aceites.

Es un líquido incoloro, con agradable olor a melisa. Por reducción se transforma en citronelol, y por oxidación en diferentes productos de los cuales puede deducirse la constitución del citronelal.

Caracterización:

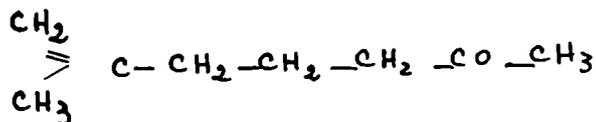
Como semicarbazona, de P.F. = 83° - 84° C.

Como 2-4 dinitrofenilhidrazona, de P.F. = 76°5 - 78° C.

Cetonas

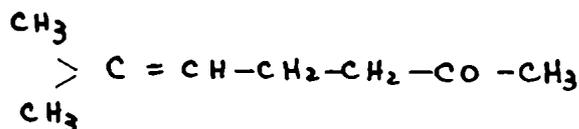
Metil heptenona:

2 metil-1-hepten-6 ona



α -metilheptenona

2 metil-2-hepten-6 ona



β -metilheptenona

Barbier y Bouveault han encontrado esta cetona alifática en numerosos aceites esenciales: limón, lemongras, citronela, palmarosa, en pequeñas cantidades, y a menudo acompañada de linalol, geraniol y citral.

Es un líquido incoloro, aceitoso, ópticamente inactivo, con olor a flores.

La α -metilheptenona, calentada con álcalis se transforma en β . Por oxidación dá solamente trazas de acetona.

La β -metilheptenona, por oxidación se transforma casi completamente en acetona.

Caracterización:

Facilmente reconocible por su olor agradable a frutas, que recuerda al acetato de amilo.

Como semicarbazona, de P.F. = 136° -137° C.

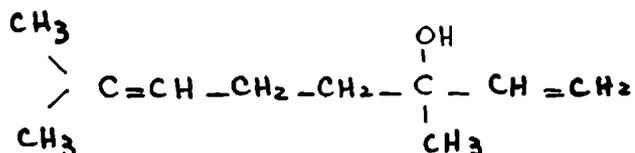
Como 2-4 dinitrofenilhidrazona, de P.F. = 81° C.; p-nitrofenilhidrazona, de P.F. = 103°5 - 104° C. y m-nitrobenzohidrazona de P.F. = 90° - 100° C.

Alcoholes

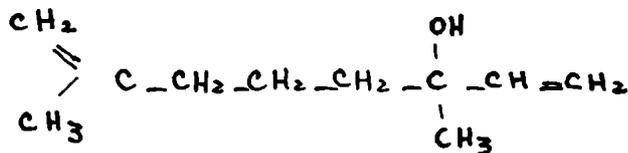
Linalol:

Consiste en una mezcla de dos isómeros estructurales:

3-7 dimetil 1-6 octadien 3-ol



3-7 dimetil 1-7 octadien 3-ol



El linalol y sus ésteres, especialmente el acetato se encuentra en muchos aceites esenciales.

El 1-linalol o "licareol" es el más conocido, tiene olor a rosa y se encuentra en las esencias de rosa, lavanda, limón, bergamota, nerolí, etc.

Se comporta como el geraniol en muchas reacciones, por ej: Por oxidación con CrO₂ da citral y metil-heptenona.

Por acción de los ácidos orgánicos se transforma en geraniol, con MnO₄K en acetona y ácido levúlico.

Con H.COOH da dipenteno y terpineno.

Con Cl₃P ó HCl y tolueno dá cloruro de geranilo.

Caracterización:

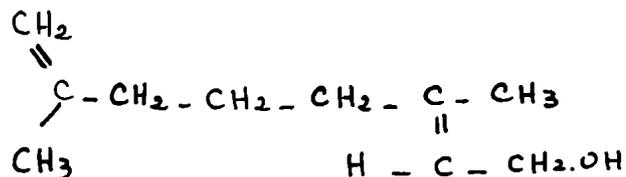
Como feniluretano de P.F. = 65° - 66° C.; α-naftiluretano P.F. 53° C. o por oxidación a citral (con mezcla crómica) y luego formación de la semicarbazona correspondiente de P.F. = 171° C.

Geraniol

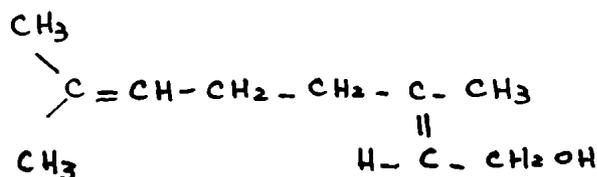
Se encuentra como mezcla de dos isómeros: α y β

2-6 dimetil 1-6 octadien 8-ol

2-6 dimetil 2-6 octadien 8-ol



forma α



forma β

Se lo encuentra en numerosos aceites esenciales, en el de palmarosa (95%), de geranio (40-50%), de citronela (30-40%), lemongras, rosa, Eucalyptus staigeriana, Eucalyptus macarthurii, lavanda, etc.

Para separarlo de otros alcoholes se utiliza la propiedad de dar una combinación cristalina, insoluble en éter de petróleo, con Cl_2Ca .

Caracterización:

En pequeñas cantidades puede reconocerse especialmente como difeniluretano de P.F. = 82º C.

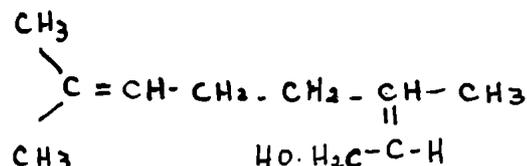
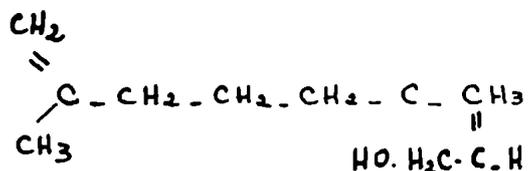
También como α -naftiluretano de P.F. = 47º - 48º C.

β -naftiluretano de P.F. = 105º - 107º C.

Nerol

2-6 dimetil 1-6 octadien 8 ol

2-6 dimetil 2-6 octadien 8 ol



Es un estereoisómero del geraniol, y se encuentra en la naturaleza como mezcla de ambas formas, predominando la segunda.

Se halla en la esencia de nerolí, petitgrain, lavanda, bergamo-

ta, citronela, etc. siendo su olor semejante a la rosa.

Por oxidación da citra 1.

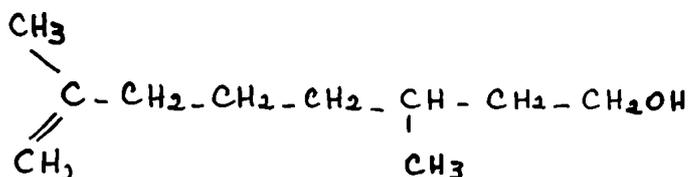
Caracterización:

Por adición de 4 átomos de Br. forma un tetrabromuro cristalizado de P.F. = 116° - 118° C.

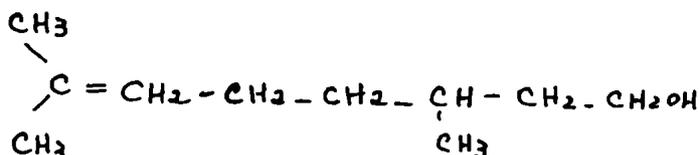
También dá un difeniluretano P.F. = 52° - 53° C.

Citronelol:

2-6 dimetil-1-octen 8 ol



2-6 dimetil -2-octen 8 ol



Se encuentra en la naturaleza en las formas (1), (d) y (dl).

El (d) se ha hallado en el aceite de citronela de Java, geranio, Eucalyptus citriodora, etc. El (1) en el aceite de rosa de Bulgaria, Eucalyptus citriodora, geranio rosa, etc.

Es un aceite incoloro, con agradable olor a rosa.

Caracterización:

El citronelol da un acetilderivado con estas constantes: P.

Eb. = 120° C a 15 mm. $\alpha_D^{17} = + 2.37'$; $d_{17} = 0,8928$; $n_D^{17} = 1,4456$.

También puede caracterizarse por oxidación a citronelal y luego como semicarbazona de P.F. = 82° - 84° C .

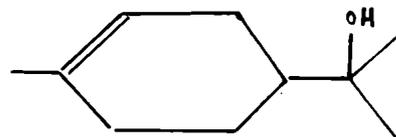
α - terpineol:

1 metil-4 isopropil - 1- ciclo exen - 8-ol

Caracterización:

Como feniluretano de P.F. = 110° C.

Como nitrosocloruro de P.F. = 107° - 108° C.



Acidos

Acido acético: CH_3COOH

Se encuentra en aceites volátiles, generalmente como ésteres, la mayoría de los cuales se distinguen por su olor a frutas. Los más comunes son: el acetato de geranilo, bornilo, linalilo, existentes en los aceites de bergamota, lavanda, pino, etc. Otros aceites contienen trazas de ácido libre.

Caracterización:

Como p-nitrobencilacetato de P.F. $\approx 78^\circ \text{C.}$; p-iodofenilurea de P.F. $\approx 238^\circ - 239^\circ \text{C.}$; como fenil acetato de Hg P.F. $\approx 147^\circ \text{C.}$

Acido cáprico: $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_8 \text{COOH}$

Se encuentra en el aceite de lemongrass, lima, etc.

Caracterización:

Como fenilhidrazida de P.F. $\approx 105^\circ \text{C.}$, como capramida de P.F. $\approx 100^\circ \text{C.}$

Acido láurico: $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{10} \text{COOH}$

Se halla en los aceites de alcanfor, laurel, Cupressus torulosa, generalmente como éster.

Caracterización:

Como lauramida de P.F. $\approx 100^\circ \text{C.}$

IV

MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales se encuentran frecuentemente en los vegetales. Rara vez existen en las Criptógamas; se los encuentra sobre todo en las Fanerógamas y más especialmente en la familia de las Lauráceas, Rutáceas, Rosáceas, Labiadas, etc.

En algunas plantas, los aceites esenciales se encuentran en los frutos, cáscaras, hojas, y en otras solamente en la flor.

Según Passy (19), existen dos tipos de flores aromáticas:

- a) las que contienen una reserva considerable de perfume (rosa, flor de naranjo, etc.
- b) las que no contienen perfume preformado, o no encierran más que una pequeña cantidad. La flor produce y emite el perfume en forma continua. A esta tipo pertenecen la mayoría de las flôres odoríferas.

Las esencias pueden localizarse:

- a) en tejidos normales, no diferenciados. La célula que contiene el aceite solo se diferencia de sus vecinas por su coloración gris amarillenta, y por una suberización de su membrana, siendo en esa forma protegida de los agentes oxidantes (Lauráceas, Magnoliáceas, etc.).
- b) en tejidos más o menos diferenciados. A diferencia del caso anterior, las glándulas son pluricelulares. Estas pueden ser epidérmicas, como en las Labeadas, Solanáceas, etc.; e internas como en las Rutáceas y Mirtáceas.

Métodos de extracción

Los métodos industriales empleados en la obtención de aceites esenciales son muy diversos, a saber:

- | | | |
|--------------------------------|---|---|
| a) Por expresión o exprimadura | { | Procedimiento de la esponja |
| | | Procedimiento de las agujas |
| | | Prensa hidráulica y prensa a husillo |
| b) Por destilación | { | A fuego directo |
| con | | Vapor saturado |
| vapor de agua | | Vapor seco |
| c) Por disolventes | { | Volátiles { En frío (enfleurage) |
| | | No volátiles { En caliente (maceración) |
| d) Por fermentación | | |

Extracción por expresión o estrujado

Este procedimiento es solo aplicable cuando los aceites existen abundantemente en gotitas microscópicas visibles.

El número de aceites ~~de~~ que puede obtenerse por este método, queda casi exclusivamente reducido a las cáscaras de las distintas especies de citrus (limones, naranjas, bergamotas).

Es un trabajo puramente manual, que dá tan solo un rendimiento muy malo de aceite, pues en ningún caso agota el total de la fruta. Pero los aceites obtenidos reproducen el olor de las cáscaras de un modo tan natural como apenas puede conseguirse con los demás procedimientos.

En grandes fábricas se ha sustituido este procedimiento primitivo de estrujado a mano, por la compresión a máquina, en prensas hidráulicas o a husillo.

1) Procedimiento de la esponja

El líquido es recogido por expresión sobre una esponja. Esta una vez saturada es exprimida. Se separan así dos capas, de las cuales la superior contiene la esencia.

Este procedimiento da la mejor esencia. Muy usado en Sicilia y en Calabria.

2) Procedimiento de las agujas

Se utiliza un recipiente plano de hierro blanco, cuyo fondo está lleno de agujas de latón (150) de cerca de 1 cm de longitud. El centro está provisto de una abertura circular a la que se adapta un tubo receptor también de hierro, por el cuál sale el aceite mezclado con el jugo de las células.

Las mezclas de aceite esencial y jugo obtenidas en los dos procedimientos se dejan reposar en recipientes metálicos. Se separa luego el aceite que sobrenada y se purifica por clarificación y filtración.

3) Prensa hidráulica y prensa a husillo

Las cáscaras son tratadas por compresión, bajo fuertes presiones. Ciertos aparatos permiten elevar considerablemente la presión y aumentar así el rendimiento.

b) Extracción por destilación con vapor de agua

La técnica se basa en la propiedad que tienen las esencias, de poseer una elevada tensión de vapor, aún a la temperatura ordinaria y de ser arrastradas por el vapor de agua a la temperatura de ebullición.

1) A fuego directo

Se coloca el material a destilar en contacto con agua hirvien-

te en destiladores de cobre o estaño, recogién dose y separándose la mezcla de aceite y agua.

En este método se observa una acción química pronunciada del agua (hidrólisis de ésteres, etc.).

Se ha comprobado que la composición de las esencias varía con la cantidad de agua; la proporción de agua destilada y la proporción de agua puesta en contacto con la esencia.

La desventaja de este procedimiento estriba principalmente en la dificultad de mantener una temperatura regular, característica para cada esencia, y en el peligro de recalentamientos locales que pueden producir reacciones que modifican el olor del destilado.

2) Vapor saturado

El material se coloca sobre grillas a cierta altura sobre el líquido. La corriente de vapor de agua actuando sobre las plantas, arrastra la mezcla de vapor y esencia, como en el caso anterior.

Según Naves (20), las raíces y ciertas flores deben sumergirse, en cambio las plantas leñosas y las hierbas, nó.

3) Vapor seco

Se hace llegar vapor vivo (5 - 8 Kg) sobre el material que se halla sobre grillas, como en el caso anterior.

Según Naves, el vapor recalentado es menos reactivo que el vapor saturado y la destilación de esencias ricas en ésteres terpénicos lo demuestra.

Este tipo de destilación es rápido, económico y altera relativamente la esencia.

Se aplica solamente a materiales que no contengan muchos glucósidos siendo indispensable que el vapor pueda penetrar fácilmente.

En algunos casos para facilitar la permeabilidad de la carga se inicia la operación con una destilación con vapor húmedo.

c) Extracción por disolventes

1) Volátiles

Consiste en hacer disolver las esencias en disolventes volátiles, aprovechando su solubilidad en algunos de ellos (éter de petróleo, benzol, toluol, $C_{14}C$, etc.), de los cuales se separan luego por destilación fraccionada.

El solvente se pone en contacto con las flores, en digestores o extractores, y una vez efectuada la extracción se destila eliminando el solvente, en alambiques, y queda un residuo semisólido llamado "concreto" que tiene un gran poder aromático y se presenta como una cera natural. Se disuelve éste con alcohol etílico caliente, obteniéndose una solución llamada "extracto de flores". Se filtra a baja temperatura para separar las ceras, y se elimina luego el alcohol por destilación a presión reducida.

Se usa este método para las esencias de jasmín, rosa, coriandro, violeta, acacia, etc., oscilando el rendimiento entre 0,1 a 1 %.

No pueden emplearse extractores como el Soxhlet, pues hay que reducir al mínimo el tratamiento térmico.

Las instalaciones usadas consisten en varios digestores en serie que trabajan a temperatura ambiente.

2) No volátiles

Este método se basa en la propiedad que tienen las grasas, sean líquidas o sólidas, de absorber con mucha facilidad el perfume de las flores, que se ponen en contacto con ellas.

El procedimiento puede aplicarse de dos maneras distintas: por

absorción, en frío (enfleurage) o por maceración, en caliente.

En frío (enfleurage):

Este método se aplica a varias esencias que alteran su aroma con otros métodos de extracción. Se usan como absorbentes, grasas animales (cerdo, carnero) o vegetales (aceite de oliva).

Con la grasa se untan de ambos lados, chapas de vidrio o de metal de 0,50 m. por 1 m. (chassis) y en un grosor de 5 cm.

Los pétalos se colocan solo de un lado, adosándose luego los chassis unos a otros. Se dejan así de uno a tres días según la flor, cambiando éstas hasta llegar a la saturación en la grasa (en general se requieren unos 25 cambios de 2-3 Kg. de flores por cada Kg. de grasa).

El disolvente con el aceite extraído se denomina "pomada" y se vende generalmente en esa forma a los fabricantes de perfume, con un número en el envase que indica la cantidad de veces que han sido renovados los pétalos o las flores.

De dicha pomada se obtiene el aceite por extracción en frío con alcohol seguido de una destilación para separar este último.

Un inconveniente de este método es el enranciamiento que pueden sufrir las grasas, con la consiguiente merma en la calidad del producto.

El método del enfleurage da altos rendimientos con flores como la de jazmín, que continúa su acción fisiológica de formación de perfume aún después de cortada.

En caliente (maceración).

La diferencia fundamental de este método con el anterior, es la temperatura de trabajo, que en este caso es de unos 70° C.

Se utiliza en general una grasa de extracción formada por una mezcla de 30% de grasa de vaca y 70% de grasa de cerdo.

Cada Kg. de sustancia absorbente se pone en contacto con 6-12 Kg. de flores.

d) Extracción por fermentación

En algunas plantas existen aceites esenciales bajo forma de glucósidos o de otras combinaciones, de las cuales pueden separarse mediante un proceso de fermentación debido a la intervención de algunas diastasas, tales como la emulsina y la mirosina, que se encuentran en los vegetales que se utilizan.

Para ello se humedecen los órganos con agua y se los deja en maceración por unas horas, hasta que los glucósidos se descomponen por acción de los fermentos específicos y dejan a los aceites esenciales en libertad, que luego se extraen por cualquiera de los métodos antes citados, de destilación.

Este método se emplea para la corteza de abedul, laurel, cerezo, almendra amarga, mostaza, etc.

V

ANTECEDENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMON ESTUDIADO

El aceite esencial estudiado corresponde a la especie "Citrus Médica", cultivada en la zona de El Dorado (Misiones).

Proviene de cosecha de Mayo de 1951.

Fué destilado por C.Y.D.E.E. Soc. de Resp. Ltda., utilizando el procedimiento de las agujas.

El rendimiento en aceite es aproximadamente de: 300 gramos de esencia, por cada 1000 frutos.

Por el procedimiento de expresión indicado, se obtiene un líquido turbio y lechoso, del que se separa la esencia por decantación de la capa acuosa, y luego se filtra.

El filtrado se somete a veces a una purificación por destilación.

- () Final Report -

VI

DETERMINACIONES FISICAS

Peso específico

Su determinación es importante para conocer la calidad y pureza del aceite esencial estudiado.

Generalmente se determina a 15° C./ 15° C., aunque la U.S.P. y " The National Formulary " especifican 25° C./ 25° C., mientras que "The British Pharmacopeia" especifica 15°5 C./ 15°5 C.

Se define como, peso específico 15° C./ 15° C., a la relación entre el peso de un volumen de aceite a 15° C y el peso de igual volumen de agua a 15° C.

Para determinaciones efectuadas a temperatura ambiente, existen factores de corrección por cada grado de temperatura. Estos factores dependen de la esencia de que se trate, y su valor oscila entre 0,00070 y 0,00099.

Para la esencia de limón este factor es: 0,00075.

Se empleó el método del picnómetro, promediando varias determinaciones, efectuadas a la temperatura de 20° C./20° C.

$$D_{20}^{20} = 0,854$$

Rotación óptica

Suele emplearse luz de sodio, y se trabaja a la temperatura de 20° C. Si se opera a temperaturas distintas, en el caso de citrus, por contener terpenos de alto poder rotatorio, se corrige por cada grado centígrado.

Para la esencia de limón, la corrección es de 8°5 C. Se suma si la determinación se ha hecho a mayor de 20° C. y se resta en caso con-

trario (21).

Para nuestra determinación se utilizó un polarímetro tipo Lippich.

Trabajando a 22°5 C. de temperatura y con luz de sodio se obtuvo el siguiente resultado:

$$\alpha_D^{25} = + 66.24$$

Corregido para 20° C. es:

$$\alpha_D^{20} = + 66.25'$$

Indice de refracción

Se emplea el refractómetro de Abbé, que dá resultados satisfactorios para valores comprendidos entre 1,3 y 1,7, en análisis de rutina de aceites esenciales.

Las lecturas suelen efectuarse a 20° C. Para valores distintos de temperatura se usa un factor de corrección (22).

Para la esencia de limón este factor es: 0,00046

En nuestro caso se utilizó el refractómetro de Abbé; y se trabajó a la temperatura de 23° C, obteniéndose el siguiente valor:

$$n_D^{23} = 1,4747$$

Corregido para 20° C. es:

$$n_D^{20} = 1,4761$$

Solubilidad en alcohol

Siendo los aceites esenciales en su mayoría, muy pocos solubles en agua y miscibles en alcohol absoluto, es posible determinar el número de volúmenes de alcohol diluído requerido para la completa solubilidad de un volumen de aceite.

En general los aceites ricos en compuestos oxigenados son más fácilmente solubles en alcohol diluído que los ricos en terpenos.

En las determinaciones de solubilidad suele emplearse alcohol de 50,60,70,80,90 y 95% (23). Como aquella varía con la temperatura, suele trabajarse a 20° C. Sin embargo "The United States Pharmacopoeia" y "The National Formulary" toman como temperatura oficial 25° C y la "Britisch Pharmacopoeia" 15°5 C.

En nuestro caso, se trabajó a 20° C.

Empleando alcohol de 70, 80, 90 y 95%, se llegó a las siguientes conclusiones:

70 %	Insoluble
80 %	Insoluble
90 %	Desaparece aspecto aceitoso luego de haber agregado 3,5 ml. Ligeramente opalescente hasta 10 ml. y más.
95 %	Desaparece aspecto aceitoso luego de añadir 2,5 ml. Claramente soluble en 4,5 ml. y continúa hasta 10 ml.

Residuo de evaporación a 100° C.

Es el porcentaje de aceite no volátil a 100° C.

El aceite, colocado a baño maría, hasta pesada constante dejó un residuo, promediando varias determinaciones, de 2,9 %.

Ambito de destilación

Se destilaron a presión normal, 10 ml. de aceite, en un pequeño balón de destilación, anotándose la temperatura correspondiente a ca-

da ml.

Se obtuvieron los siguientes resultados:

<u>ml</u>	<u>Temp. C.</u>
1	172°
2	172°
3	172°
4	173°
5	173°
6	174°
7	175°
8	175°
9	179°
9,5	190°

Destilación al vacío, con columna rectificadora, tipo Longenecker (24)

Longenecker aplicó a la destilación fraccionada de mezclas de ésteres grasos, una columna calentada eléctricamente y rellena (E.H.P.), con un dispositivo para reflujo total y recolección del líquido destilado.

La columna es enteramente de vidrio (Pyrex), permitiendo que la operación sea visible en su totalidad. Tiene 90 cm. de altura y su diámetro interno es de 17 mm. Está empaquetada con hélices de una vuelta en una longitud de 60 cm.

Para reducir pérdidas de calor y mantener el control de las condiciones de destilación, la columna se calienta eléctricamente con 15 pies de alambre nicromo (Nº 22) arrollado en un tubo pyrex, de 25 mm. todo a lo largo de la parte empaquetada.

Esta camisa de calentamiento se protege y aísla con un tubo pyrex de 33 mm. de diámetro.

Un control exacto de la temperatura de la columna (que se lee en un termómetro colocado entre la columna y la camisa de calentamiento) es fácilmente regulable con resistencias externas.

En el extremo se encuentra la cabeza de columna con un termómetro adosado. Los vapores ascendentes, llegan al bulbo del termómetro y pasan luego a un condensador.

La recolección del destilado se regula con una llave de 2 mm. colocada debajo del condensador, con una conexión separada para permitir el mantenimiento de bajas presiones (o la caída de presión, dependiendo de las condiciones) cuando la llave está cerrada.

La temperatura del vapor en la cabeza de la columna debe ser siempre, excepto hacia el final de la destilación, aproximadamente igual al punto de ebullición del material que se recoge.

En condiciones ideales de operación, esta temperatura es un índice exacto de la eficiencia del método de fraccionamiento.

Por comodidad se usan frascos de destilación cambiables. Corchos de buena calidad son los más convenientes para la destilación de ésteres.

La eficiencia máxima se obtiene por una regulación de las temperaturas del baño y de la columna, de manera tal que nunca exista una acumulación visible de líquido en la parte rellena de la columna.

La velocidad de destilación (recolección del condensado) se controla con una llave en la cabeza de columna, La llave está cerrada al comienzo de la destilación y frecuentemente durante la recolección de las fracciones intermedias (lo que está indicado por las fluctuaciones de temperatura en la cabeza de columna) para permitir la obtención del

equilibrio entre las fases vapor-líquido.

Una mezcla de ésteres obtenida en el curso de un análisis de una grasa relativamente simple, puede ser eficientemente separada en el término de 4 a 5 horas (unos 50 g. de ésteres). Una mezcla más compleja (leche, grasas de pescado) puede requerir de 7 a 8 horas para la destilación de 50 ó 60 g. de ésteres.

A pesar del prolongado período de calentamiento no hay evidencia de que los ésteres no saturados residuales sufran una descomposición mayor que cuando se utiliza un simple bulbo de Willstatter.

La base de la columna está conectada a un frasco de fondo redondo. Este se sumerge, lo más profundo posible en un baño de aceite. El calentamiento del mismo se controla mediante un termómetro colocado en el fondo del baño.

A continuación se ilustra un esquema de la columna y cabeza de reflujo:

Destilación al vacío con columna, tipo Longenecker

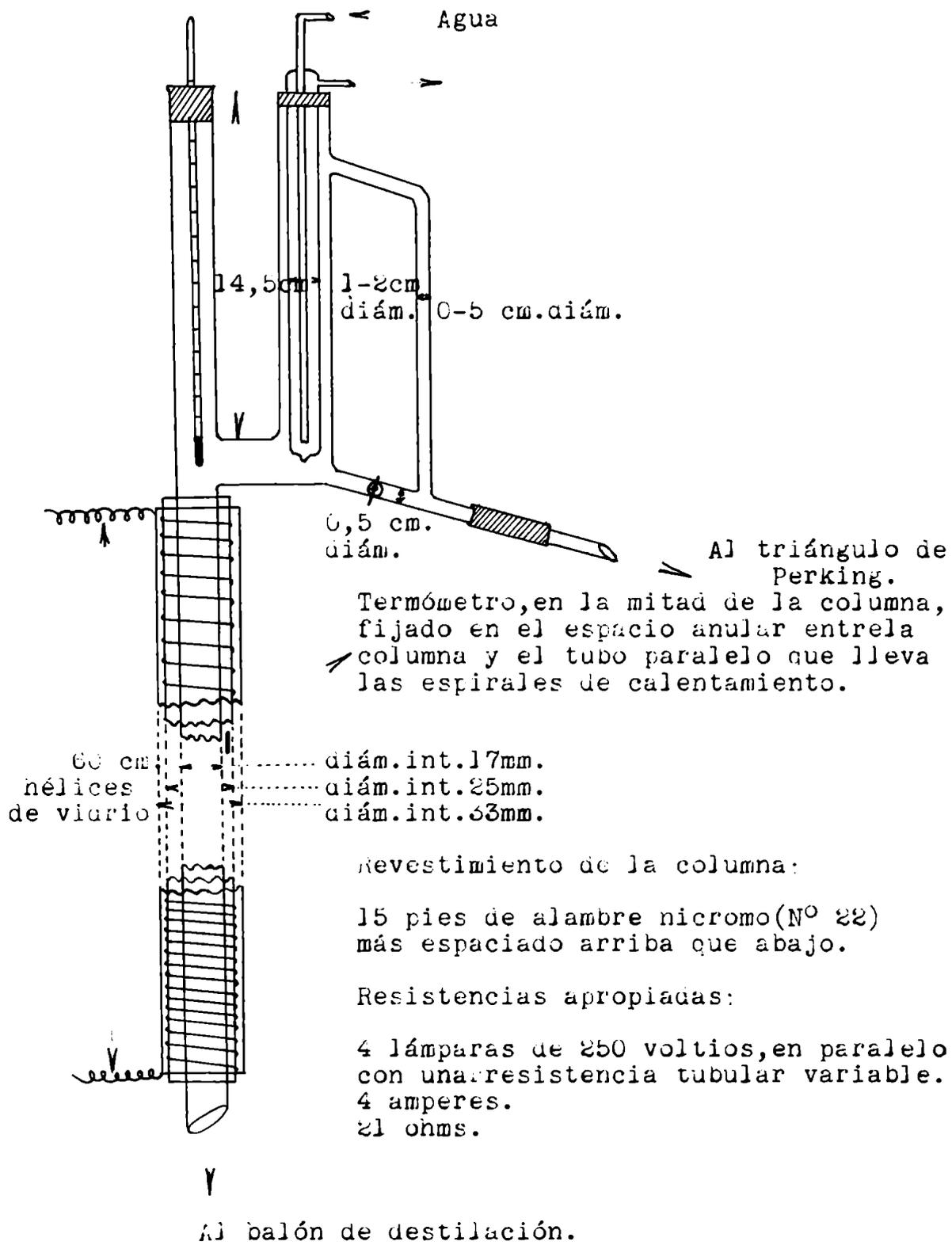
Esencia destilada : 431,850 g.

Se anotaron los siguientes valores:

Fracción	Peso en g.	Temp. baño aceite	Temp. columna	Temp. destilac.	Presión mm. de Hg.
1	1,251	100°C	70° C	62°-62°5C.	29
2	8,650	100°C	73-75°	72°5-73°5C.	29
3	15,705	100°C	75-78°	73°5-76°5C.	29
4	7,735	100°C	78° C	76°5-77° C.	29
5	16,316	100°C	78° C	77°- 77°5C.	29
6	15,964	100° -105°	79° C	77°5-78°C.	29

Fracción	Peso en g.	Temp. baño aceite	Temp. columna	Temp. destilac.	Presión mm. de Hg.
7	17,117	105°C	79°-80° C.	78°C	29
8	17,089	105°C	80° C	78°-78°2C.	29
9	17,480	105°C	80° C	78°2 C.	29
10 _o	16,045	105°C	80° C	78°2-78°4C.	29
11	16,275	105°C	80° C	78°4-78°6C.	29
12	18,103	105°C	82° C	78°8C.	29
13	14,979	105°C	82° C	78°8-79°0C.	29
14	15,995	105°C	83° C	79° C.	29
15	14,434	90° - 95°C	64° C	52-56°2-58°5	10
16	14,742	95°C	64° C	59° C.	10
17	16,532	100° 105°C	64°-65° C.	59° C	10
18	14,732	105- 110°C	65°-67° C.	59° C	10
19	17,319	105°-110°C	67°-70° C.	59° C	10
20	17,505	105°-110°C	72° C.	59° C	10
21	15,674	105° C	72° C.	59° C	10
22	14,062	100° C	72° C.	59°-60°8 C.	10
23	16,308	95°-100°C	70° C.	60°8 C.	10
24	16,278	95°-100°C	70° C.	60°8 C.	10
25	16,093	100°-105°C.	70° C.	61° C	10
26	6,790	105°-135°C.	72°C.	61° C	10
27	3,842	145°-150°C.	85°C.	56-59-60-65°C	4
28	1,781	155°-160°C.	88°C.	65-68°5-70°C	3-4
29	1,630	165°-170°C.	88°C.	70-71-72-73°C	3
30	5,699	175°C.	88°C.	66-67-68-70°C.	1
31	3,431	175°-190°C.	90°C.	70°-70°5-72°C.	1
Residuo	47,294				

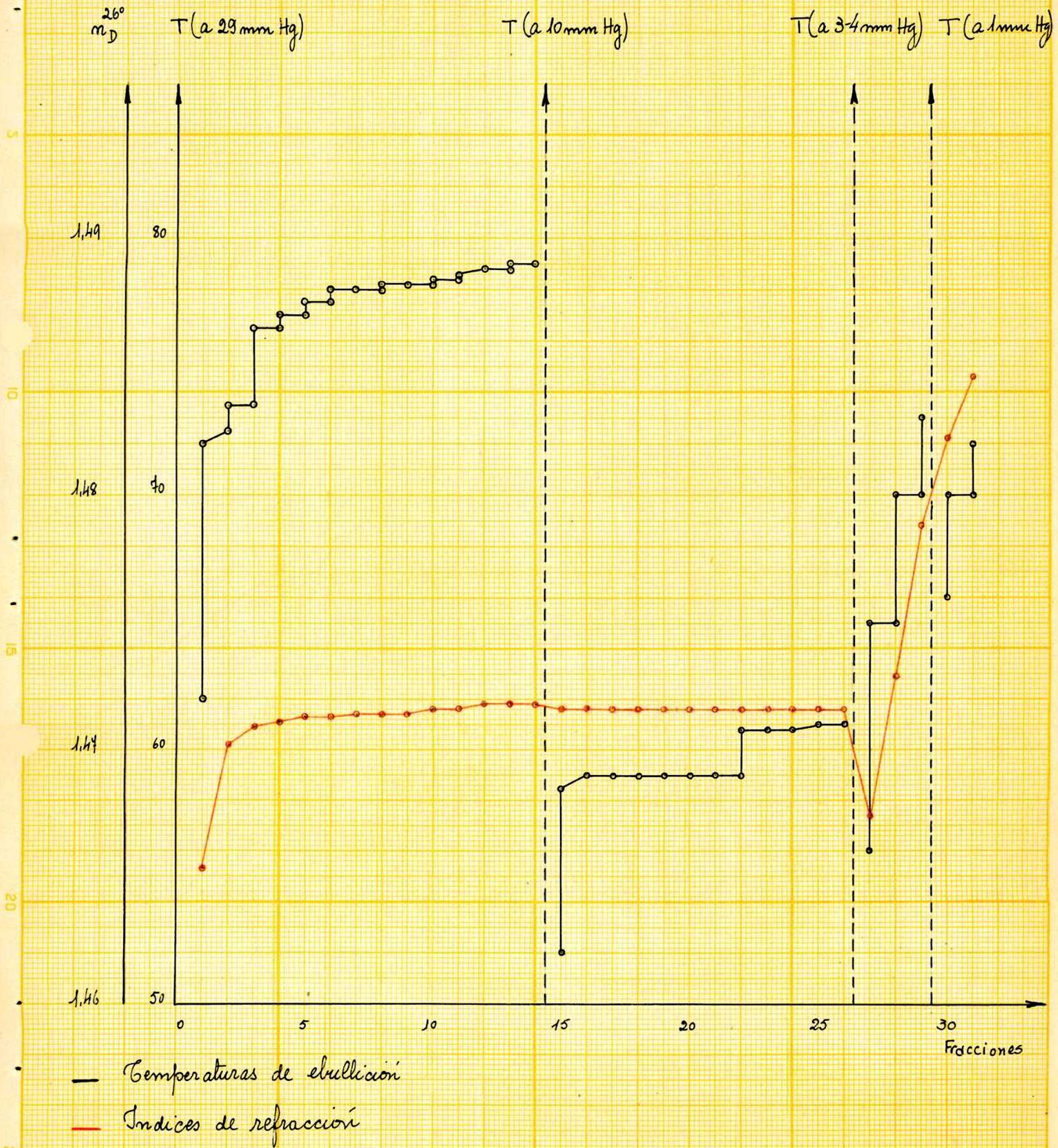
- COLUMNA RECTIFICADORA: TIPO LONGENECKER -



Indice de refracción de las fracciones destiladas a
26° C.

Fracción	n_D^{26}	Fracción	n_D^{26}
1	1,4653	17	1,4716
2	1,4702	18	1,4716
3	1,4709	19	1,4716
4	1,4711	20	1,4716
5	1,4713	21	1,4716
6	1,4713	22	1,4716
7	1,4714	23	1,4716
8	1,4714	24	1,4716
9	1,4714	25	1,4716
10	1,4716	26	1,4716
11	1,4716	27	1,4674
12	1,4718	28	1,4729
13	1,4718	29	1,4788
14	1,4718	30	1,4822
15	1,4716	31	1,4846
16	1,4716		

Destilación analítica



Espectro de absorción en el ultravioleta del aceite estudiado.

En el análisis de aceites esenciales, el estudio de la banda de absorción en el ultravioleta, es de gran utilidad no solo para su identificación, sino también para la búsqueda de falsificaciones (25).

La espectroscopía de absorción se basa en la disminución de la intensidad de un rayo de luz al pasar a través de una solución, la que es debida fundamentalmente a la absorción de la luz por la solución.

Esa reducción en la intensidad de un haz de luz monocromática, al pasar a través de un medio absorbente, depende: de la concentración de la sustancia, del poder de absorción de la misma a una determinada longitud de onda, y de la longitud del camino recorrido a través de ese medio por el rayo incidente.

Está comprobado que cada aceite presenta una absorción característica.

La absorción se llama "selectiva" cuando se produce en forma más intensa en ciertas regiones del espectro. La mayoría de los aceites muestran absorción selectiva de luz en el ultravioleta, por lo que se los estudia en la región del espectro que vá desde 4000 Å a 2200 Å. El primero es un límite arbitrario que se confunde con la región visible; el segundo está fijado por los aparatos empleados, y la transparencia de los solventes usados.

A continuación se transcribe la ecuación fundamental en la espectroscopía de absorción, la que reúne las leyes de Lambert y Beer:

$$E = \log \frac{I_0}{I} = K \cdot c \cdot l.$$

- donde
- E:** extinción o densidad óptica del medio
 - I_0 :** intensidad de la luz incidente
 - I:** intensidad de la luz transmitida
 - c:** concentración de sustancia absorbente
 - l:** longitud que recorre el haz de luz dentro del medio absorbente (espesor de la celda en cm.).
 - K:** es la medida de la capacidad de absorción de la luz para una sustancia dada y a una determinada longitud de onda. Es una constante para las sustancias que obedezcan la ley de Lambert-Beer, a cualquier dilución o espesor de la capa absorbente.

Como la longitud l se expresa en cm. la definición de K dependerá de como se exprese la concentración g , siendo las más comunes las siguientes:

- a) si g está dado en mol-gramo por litro, K se llama coeficiente molecular de absorción o extinción (ϵ).
- b) si g se expresa en gramos por litro, la constante se llama coeficiente específico de absorción o extinción (K, k, α).
- c) si g está dado en gramos por 100 ml, la constante es $E_{1\%}^{1\text{cm}}$. Esta última puede transformarse en el coeficiente específico K, multiplicando por 0,1 y K se transforma en ϵ multiplicando por el peso molecular de la sustancia absorbente.

Como los valores de estos coeficientes de extinción varían con la longitud de onda, para obtener el espectro de absorción se construye

un gráfico en el que figuren como valores los coeficientes de extinción y las correspondientes longitudes de onda. En la curva obtenida los máximos indican las longitudes de onda en las que la sustancia estudiada presenta absorción selectiva.

Para la exactitud de las determinaciones, una de las condiciones requeridas es la elección del solvente, que debe presentar absorción mínima en la región estudiada.

En el caso de aceites conviene disolverlos en alcoholes purificados, éteres hidrocarburos alifáticos o alicíclicos.

Los aparatos utilizados para estas determinaciones, son los espectrofotómetros, que constan en esencia de:

- a) un prisma para dispersar la luz (producir un espectro).
- b) un sistema óptico que incluye los recipientes con la solución absorbente y con el solvente puro.
- c) un sistema para comparar las intensidades (I_0) de la luz transmitida por el solvente e (I) transmitida por la solución.

En nuestro caso se ha empleado el espectrofotómetro Beckmann modelo D.U., fotoeléctrico, con equipo de cuarzo y fuente luminosa (lámpara de hidrógeno) para determinaciones en el ultravioleta.

El funcionamiento es el siguiente: Un rayo de una fuente continua de luz ultravioleta produce un espectro en haces monocromáticos mediante un prisma. Se efectúa el pasaje de un haz de longitud de onda dada por el solvente puro, y también por la solución de la sustancia absorbente. En ambos casos el rayo llega a una célula fotoeléctrica donde un galvanómetro indica directamente $\frac{I_0}{I}$. Los datos para construir la curva de

absorción se obtienen repitiendo estas medidas para cada longitud de onda deseada.

Valores obtenidos

Las observaciones fueron realizadas por los Dres. A. L. Montes y A. Paladini en el Instituto de Investigaciones Bioquímicas de la Fundación Campomar.

Longitudes de onda m μ	Extinciones correspondientes a esencia al 1 o/oo en etanol
230	1,96
235	---
240	1,56
245	---
250	1,290
255	---
260	0,620
270	0,260
280	0,035
290	0,034
300	0,080
310	0,120
320	0,115
330	0,070
340	0,030
350	0

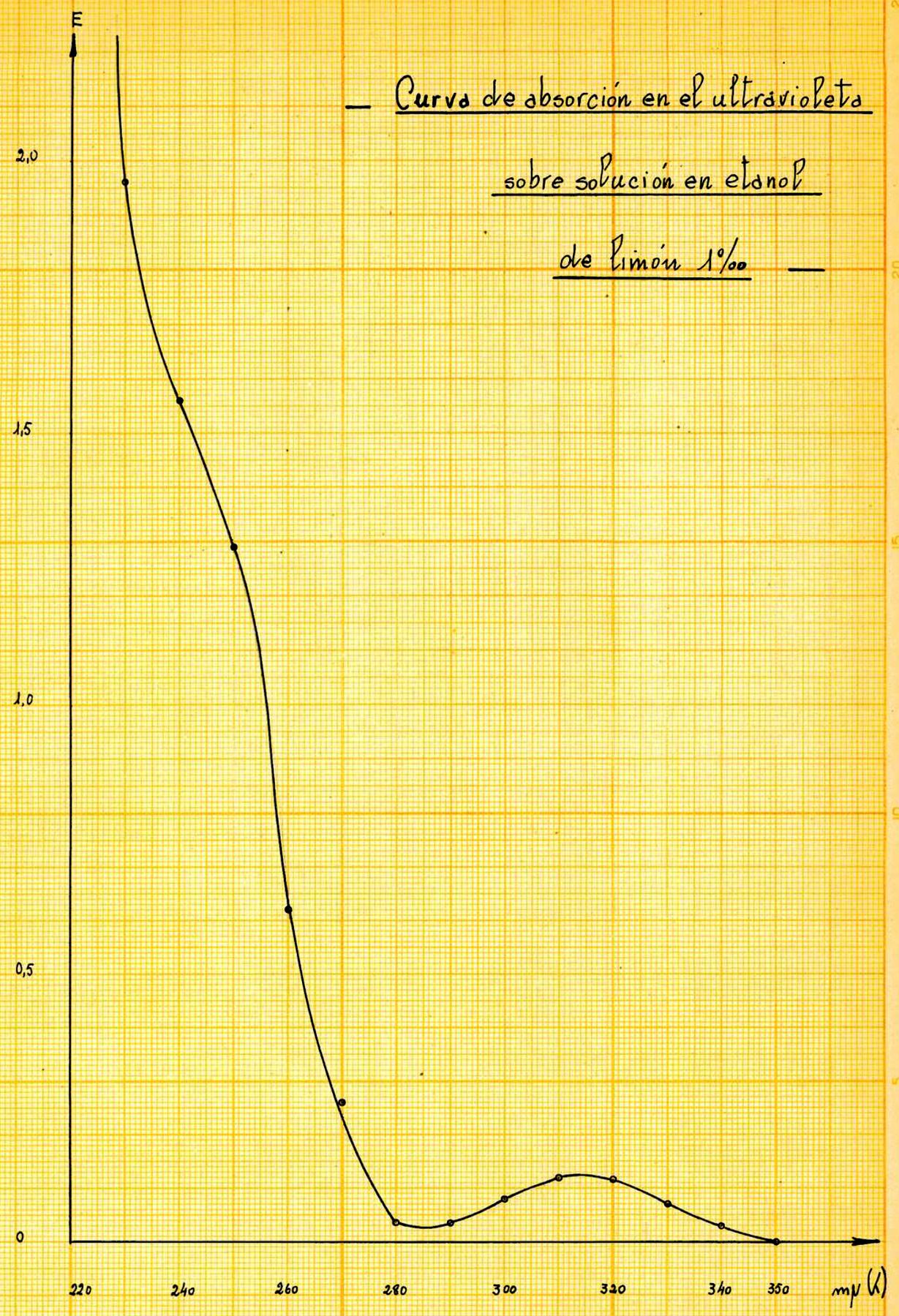
La curva de absorción se ha trazado ubicando las extinciones o

coeficientes de absorción o densidades ópticas en ordenadas y las longitudes de ondas correspondientes, expresadas en milimicras ($m\mu$) en abscisas, en orden creciente de izquierda a derecha.

En general es usada la representación anotando las longitudes de onda en sentido inverso, es decir crecientes de derecha a izquierda, según el esquema general de las ondas en que el ultravioleta se ubica a la derecha; pero otros autores también usan el sistema que se ha empleado aquí (por ej. Van Os y Dykstra).

Para la esencia estudiada, la curva presenta un máximo para $310 m\mu$. ($\log. k$ por 100 = 0,120 para solución al 1 o/oo) (26).

Curva de absorción en el ultravioleta
sobre solución en etanol
de Limón 1‰



Datos hallados en las determinaciones físicas

Peso específico	D_{20}^{20}	=	0,854
Rotación óptica		=	+ 66°25'
Índice de refracción	n_D^{20}	=	1,4761
Solubilidad en alcohol	70%	:	Insoluble
	80%	:	Insoluble
	90%	:	Desaparece aspecto aceitoso: 3,5 ml.
			Ligeramente opales- cente: 10 ml.
	95%	:	Desaparece aspecto aceitoso: 2,5 ml.
		Claramente soluble: 4,5 ml.	

Residuo de evaporación 2,9 %

Espectro de absorción en el ultravioleta

Máximo para 310 m μ	Solución al 1 o/oo
log K por 100	0,120

DETERMINACIONES QUIMICAS

Estas determinaciones, se han realizado en su mayoría, según los métodos dados por E. Guenther (Tomo 1, pág. 263 y sig.) razón por la cual omitimos el detallar cada uno de ellos.

Número de ácido:

La generalidad de los aceites esenciales, contienen solamente pequeñas cantidades de ácidos libres.

Se define al número o índice de ácido de un aceite, como el número de miligramos de hidróxido de potasio, necesarios para neutralizar los ácidos libres que se hallan en un gramo de aceite.

Se calcula con las siguientes fórmulas:

$$\text{n}^\circ \text{ de ácido} = \frac{5,61 \times \text{N}^\circ \text{ ml.HONa } 0,1N}{\text{peso aceite en gramos}}$$

$$\text{n}^\circ \text{ de ácido} = \frac{28,05 \times \text{N}^\circ \text{ ml.HONa } 0,5N}{\text{peso aceite en gramos}}$$

La acidez libre se calcula con la fórmula que sigue:

$$\text{acidez libre} = \frac{\text{Peso molecular} \times \text{N}^\circ \text{ ml.HONa } 0,1N}{100 \times \text{peso aceite en gramos}}$$

En nuestro caso expresamos ésta, en ácido acético:

Peso de muestra gr.	HONa 0,1N ml	Indice de ácido	% ac.acético
2,079	0,32	0,867	0,092
2,082	0,32	<u>0,867</u>	<u>0,092</u>
	Promedio	0,867	0,092

Indice de éster

Como muchos ésteres de los aceites esenciales son ésteres de ácidos monobásicos, el proceso de saponificación puede representarse por la siguiente reacción:



donde R y R' pueden ser radicales alifáticos, aromáticos o alicíclicos.

Se define el índice de éster como el número de miligramos de hidróxido de potasio, necesarios para saponificar completamente un gramo de aceite.

Se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Indice de éster} = \frac{28,05 \times \text{ml. HOK } 0,5N}{\text{peso aceite}}$$

Calculado éste, puede hallarse el porcentaje en un éster dado.

En nuestro caso en acetato de lánalilo, mediante la fórmula:

$$\% \text{ éster} = \frac{\text{Peso molecular éster} \times \text{N}^{\circ} \text{ éster}}{561,04}$$

Peso muestra g	KOH alcoh. ml	0,5 N	Indice de éster	% éster
1,766	0,51		8,10	2,8
1,818	0,52		<u>7,96</u>	<u>2,8</u>
		Promedio	8,03	2,8 %

Determinación de aldehidos y cetonas

Junto con el citral, se dosan también los otros principios aldehídicos y cetónicos contenidos en la esencia de limón; pero por costumbre, se consideran todos como citral.

Se empleó el método de la hidroxilamina y el de la fenilhidrazina con resultados concordantes.

1) Método de la fenilhidrazina (U.S.A. Pharmacopeia 10th ed. pág. 200) (27)

El método consiste en agregar una cantidad pesada del aceite (aproximadamente 25 g.) en un erlenmeyer de 200 ml. 10 ml (exactamente medidos) de solución alcohólica al 10% de fenilhidrazina, y dejar en contacto por 30 minutos a la temperatura ambiente. Se añaden luego 3 gotas de solución al 1 o/oo de metil-orange y se valora con ClH 0,5N.

Si hubiere dificultad en la apreciación del punto final, se trasvasa toda a una ampolla de decantación, después de agregar exceso medido de ClH 0,5N; se separa la parte alcohólica y se lava la parte aceitosa con agua destilada y se añaden las aguas de lavado al líquido alcohólico.

Se titula entonces con álcali 0,5 N.

Se lleva un blanco paralelo para conocer el consumo de ácido por la solución de reactivo.

La diferencia entre dos determinaciones corresponde a la fenilhidrazina combinada con el carbonilo (a).

La fórmula a aplicar es:

$$\% \text{ producto carbonílico de P. M}_x = \frac{a \cdot x}{20 \cdot S}$$

siendo S: peso del aceite empleado

x: peso molecular del citral (en nuestro caso)

Peso muestra g	NaOH 0,5N ml.	% producto carbonílico (citral)
25,002	9,1	2,9
25,598	9,2	<u>2,7</u>
	Promedio:	2,8 %

2) Método de la hidroxilamina (técnica del Dr. Montes) (28).

Se utiliza el siguiente reactivo:

Solución al 10% en alcohol de 80°, de clorhidrato de hidroxilamina puro, neutralizada al metil orange.

La determinación consiste en pesar en un erlenmeyer una cantidad adecuada (25 g. en este caso) de aceite, agregar alcohol y neutralizar al metil-orange, dejando un testigo paralelo. Se agrega luego, un exceso de reactivo (20 ml) y se deja en contacto por 24 horas a temperatura ambiente con agitación ocasional. Luego se pasa a un embudo de decantación, arrastrando con 100 ml de agua destilada. Se decanta y pasa el líquido hidroalcohólico a un erlenmeyer. Se lava el aceite con 50 ml. de agua destilada y se une ese agua de lavado al líquido alcohólico separado.

Se valora la acidez libre con solución de NaOH 0,5N. El viraje se compara con el testigo, al que se agregan también 150 ml. de agua.

Para los cálculos se emplea la fórmula del método anterior.

Peso de muestra g	NaOH 0,5 N ml.	% Producto carbonílico (citra)l
25,052	8,9	2,7
25,702	9,3	2,7
25,510	9,2	<u>2,8</u>
	Promedio	2,73 %

Determinación de alcoholes (acetilación)

El método usado, consiste en transformar los alcoholes en los correspondientes ésteres acéticos (acetatos), mediante ebullición con anhídrido acético y determinar luego el índice de saponificación del producto acetilado.

Procedimiento: se tratan 10 g. de esencia, con 10 g. de anhídrido acético, 2 g. de acetato de sodio, y se calienta en baño de aceite a ebullición durante 4 horas.

Se enfría, se lava con agua hasta reacción neutra y se seca con SO_4Na_2 anhidro.

Se pesan 8 g. del acetato acetilado, y se determina el índice de saponificación.

Si N es el número de ml. de KOH 0,5 N alcohólica utilizado en la saponificación; p: el peso de esencia acetilada, la cantidad de alcohol % de esencia primitiva está dada por la fórmula:

$$\% \text{ alcohol} = \frac{N \times \frac{M}{2}}{p - (N \times 0,021)}$$

donde M es el peso molecular del alcohol considerado. En nuestro caso, linalol: 154, 14; y 0,021 un factor de corrección debido a la introducción del grupo acetilo en la esencia primitiva.

Peso muestra g	KOH 0,5N ml	% linalol
4,784	0,05	0,8
7,828	0,08	<u>0,7</u>
		Promedio: 0,75 %

Datos hallados en las determinaciones químicas

Indice de ácido	0,87
Acidez libre	0,09 %
Indice de éster	8,0
Ésteres (acetato de linalilo)	2,8 %
Aldehidos o cetonas	2,75 %
Alcoholes (linalol)	0,75 %

VIII

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE LOS COMPONENTES PRINCIPALES

Por destilación fraccionada, a presión reducida con ayuda de una columna rectificadora (tipo Longenecker) se aislaron diversas fracciones.

Para identificar cada una de ellas, se emplearon los métodos que a continuación se detallan.

Hidrocarburos:

Los hidrocarburos terpénicos, que son los constituyentes neutros de los aceites esenciales, los hemos caracterizado, por sus constantes (Punto de ebullición, peso específico, índice de refracción, etc.); por la formación de sus nitrosocloruros, derivados bromados y nitrositos correspondientes.

Nitrosocloruros: según técnica de Wallach (Guenther T. 11 loc. cit.) (29)

Se enfría una mezcla de partes iguales de ácido acético, nitrato de amilo, y la fracción que contiene los terpenos. Se agrega gota a gota ClH al 32% (15 ml. para 150 g. de mezcla).

El precipitado de nitrosocloruro se filtra, se lava con alcohol y recristaliza en acetona.

Derivados bromados: (según técnica indicada por Wattiez et Sternon).

La fracción a analizar se diluye en cuatro partes de ácido acético. A esta solución bien enfriada se agrega gota a gota una solución de ácido acético saturada con bromo hasta que haya decoloración. Luego de un largo reposo en la heladera, se separan los cristales, los cuales se recristalizan en eter etílico.

Nitrositos: según técnica de Wallach y Gildemeister (Guenther T. 11)

Disolver 5 ml. de la fracción en 10 ml. de éter de petróleo.

Preparar una solución de 5 g. de NO_2Na en 8 ml. de agua.

Cuidadosamente agregar la segunda solución sobre la primera y añadir gradualmente y agitando 5 ml. de ácido acético para la liberación del ácido nitroso.

Filtrar por succión el precipitado, lavar con agua, luego con alcohol metílico y purificar por repetidas disoluciones en cloroformo. Precipitar con alcohol metílico.

Se identificaron los siguientes hidrocarburos:

α -pineno:

En la 1ª fracción (1,259 g.)

Es un líquido móvil, de olor a esencia de trementina.

$$d_{15^\circ} = 0,860 \qquad n_D^{26^\circ} = 1,4653$$

$$d_{25^\circ} = 0,858 \qquad n_D^{20^\circ} = 1,4681$$

Se identificó por la formación de su nitrosocloruro. Se observó la formación de cristales en muy pequeña cantidad, de manera que sólo se pudo hacer una observación microscópica en gota de aceite, que reveló la presencia de cristales terminados en pirámides irregulares (nitrosocloruro de α -pineno). Su punto de fusión no se determinó.

Canfeno

En la 2ª fracción (8,650 g.)

$$d_{15^\circ} = 0,858 \qquad n_D^{26^\circ} = 1,4702$$

$$d_{25^\circ} = 0,850 \qquad n_D^{20^\circ} = 1,4729$$

Se reconoció su presencia por la preparación del isoborneol:
(Guenther T. 11)

Se calientan 100 partes de la fracción, 2 ó 3 horas y a 50°-60° C. con 250 partes de ácido acético glacial y 10 partes de SO_2H_2 al 50% y se agita frecuentemente.

La mezcla primeramente se separa en dos capas, pero finalmente se vuelve homogénea y desarrolla un color ligeramente rojizo.

Cuando la reacción se ha producido, se agrega agua, y se separa el acetato, el cual se lava repetidas veces con agua. Se saponifica luego, por calentamiento con una solución de 50 g. de CaH_2 en 250 g. de alcohol.

Se elimina el alcohol y se agrega agua.

El isoborneol precipita como una masa pulverulenta, la cuál se purifica por recristalizaciones en éter de petróleo.

Se determinó el punto de fusión en un tubo capilar cerrado para evitar la sublimación del isoborneol. Se obtuvo P.F. = 211°5 C.

β - pineno

En la 3ª fracción (15,705 g)

$$d_{15} = 0,872 \qquad n_D^{25} = 1,4709$$

$$d_{20} = 0,855 \qquad n_D^{20} = 1,4736$$

Se identificó por la formación de su nitrosoclaruro: Se utilizó la técnica dada por Grignard T. XVI pág. 149 (30).

Mezclar una parte de la fracción con 2 partes de ácido acético glacial, y enfriar con mezcla frigorífica. Agregar luego, gota a gota, 2 partes de nitrito de amilo, enfriar bien y añadir gota a gota una mezcla de ClH y ácido acético (10 ml.). Se purifica con alcohol frío. Se

filtra por succión en frío, se disuelve en la menor cantidad posible de cloroformo y se reprecipita con metanol.

Se determinó el P.F. = 143° C.

β-felandreno:

En la 5ª fracción (16,316 g.)

$$\begin{array}{ll} d_{15}^{\circ} = 0,842 & n_D^{26} = 1,4713 \\ d_{25}^{\circ} = 0,833 & n_D^{20} = 1,4740 \end{array}$$

Se identificó por la formación del nitrosito de β-felandreno, según técnica de Wallach y Gildemeister (antes citada): P.F. = 100° C.

d-limoneno

En las fracciones 6ª a 26ª (329, 516 g.)

Líquido móvil, de olor agradable a limón.

$$\begin{array}{ll} d_{15}^{\circ} = 0,848 & n_D^{26} = 1,4715 \\ d_{25}^{\circ} = 0,840 & n_D^{20} = 1,4742 \end{array}$$

Se caracterizó por su:

nitrosocloruro, de P.F. = 104° C. (Técnica de Wallach)

tetrabromuro de P.F. = 103° C. (Técnica de Wattiez et Sternon)

Cetonas y aldehidos

Se reconoció su presencia mediante las siguientes reacciones cualitativas.

Para cetonas se ensayó la Reacción de Legal (31): A unos ml. de solución recientemente preparada de nitroprusiato sódico al 1 %, se agrega una pequeña cantidad de solución cetónica y luego unas gotas de so-

lución acuosa de NaOH. Se obtiene coloración roja. Por adición de gotas de ácido acético glacial, la coloración resulta violácea.

En nuestro caso resultó positiva para la fracción 4^a (coloración parda violácea).

Para aldehidos se ensayó la reacción de Schiff. Se agregan algunas gotas de aldehido a 1 ó 2 ml del reactivo de Schiff (Fucsina decolorada). Se produce coloración rojo violácea rápidamente.

En nuestro caso resultó positiva para las fracciones 28^a a 31^a.

La identificación de las cetonas y aldehidos se hizo mediante la semicarbazona y la 2-4 dinitrofenil-hidrazona.

Semicarbazona (32)

Se preparó de acuerdo al A.O.A.C. Se disuelven 11,2 g de clorhidrato de semicarbazida y 12,5 g. de acetato de sodio anhidro en 80 ml. de agua caliente. Se filtra y se lleva a 100 ml. La fracción conteniendo la cetona o aldehido se disuelve en alcohol (1g. de cetona en 10 ml. de alcohol) y se añaden 10 ml. de reactivo. Se agregan 25-50 ml. de agua y se deja por una noche. Los cristales obtenidos se filtran y secan a 100° C. Se determina luego el punto de fusión.

Se identificaron las siguientes cetonas y aldehidos:

Metilheptenona:

En la 4^a fracción (7,735 g.)

Líquido incoloro, de olor agradable a frutas.

$$d^{15^{\circ}} = 0,860$$

$$d^{25^{\circ}} = 0,852$$

$$n_D^{26^{\circ}} = 1,4711$$

$$n_D^{20^{\circ}} = 1,4738$$

Reacción de Legal: positiva (pardo violácea)

Semicarbazona: P.F. = 135° C.

2-4 dinitrofenilhidrazona: P.F. = 80° C.

Citronelal:

En las fracciones 28^a - 29^a (3,411 g.)

Líquido aceitoso, incoloro, de olor a limón.

$$d_{15^{\circ}} = 0,924 \qquad n_D^{26^{\circ}} = 1,4758$$

$$d_{25^{\circ}} = 0,916 \qquad n_D^{20^{\circ}} = 1,4786$$

Reacción de Schiff: positiva (rojo violácea)

Semicarbazona: P.F. = 81°5 C. (laminillas blancas)

2-4 dinitrofenilhidrazona: P.F. = 76° C.

Citral:

En las fracciones 30^a-31^a (9,130 g.)

Líquido amarillo, aceitoso, de intenso olor a limón.

$$d_{15^{\circ}} = 0,897 \qquad n_D^{26^{\circ}} = 1,4834$$

$$d_{25^{\circ}} = 0,889 \qquad n_D^{20^{\circ}} = 1,4862$$

Reacción de Schiff: positiva (rojo violácea)

Semicarbazona, agujas blancas P.F. = 164° C.

2-4 dinitrofenilhidrazona P.F. = 106° C.

Linalol:

En la fracción 27^a (3,042 g.)

Líquido incoloro, de olor aromático, penetrante.

$$d^{15^{\circ}} = 0,896$$

$$n_D^{25^{\circ}} = 1,4676$$

$$d^{25^{\circ}} = 0,878$$

$$n_D^{20^{\circ}} = 1,4702$$

Reacción cualitativa de Burgess: Mezclando una gota de la fracción en estudio con una gota de solución de sulfato de mercurio al 10% en ácido sulfúrico al 25%, se obtiene coloración violácea (34).

La reacción resultó positiva para nuestra fracción.

Se identificó el linalol, con isocianato de fenilo, obteniéndose el feniluretano correspondiente de P.F. \approx 64^o5 C.

Determinaciones efectuadas sobre el residuo de la destilación

Se realizaron las siguientes determinaciones:

Peso específico a 15° C.:

$$d_{15^{\circ}} = 0,886$$

Acidos libre (expresada como ácido acético).

Peso de muestra g.	NaOH 0,1N ml.	Indice de ácido	% de ácido
1,580	2,450	8,7	0,93
1,575	2,445	8,7	<u>0,93</u>
			Promedio 0,93 %

Indice de éster

Peso de muestra g.	NaOH 0,5N ml.	Indice de éster	% éster (ace- tato de lina- lilo)
1,580	2,637	46,0	16
1,575	2,630	<u>45,8</u>	<u>16</u>
			Promedio: 45,9
			16%

Determinación de aldehidos (expresado como citral)

Se empleó el método del clorhidrato de hidroxilamina.

Peso de muestra g.	NaOH 0,5N ml.	% citral
5,091	17,8	26,8%

Determinación de alcoholes primarios por ftalización (35)

Los alcoholes primarios forman con el anhídrido ftálico, ftalatos ácidos, a una temperatura de 100° C.

Los alcoholes secundarios también los forman, pero el tiempo que requiere la reacción es mucho mayor.

Los terciarios no reaccionan.

La determinación se realizó colocando en un frasco de acetilación de 125 ml., 2 g. de aceite, 2 g. de anhídrido ftálico y 2 ml. de benceno.

Se usa anhídrido ftálico resublimado, pues la presencia de ácido ftálico es perjudicial para la exactitud del método.

Se calentó a baño maría durante 2 horas, a reflujo, con agitación frecuente. Se enfrió luego y se agregó una cantidad medida de NaOH 0,5N (50 ml.) agitando durante unos minutos, titulándose el álcali no combinado.

Paralelamente se efectuó un ensayo en blanco.

El porcentaje de alcoholes primarios está dado por:

$$\% \text{ alcohol primario } = \frac{\text{Peso molecular alcohol (b - a)}}{20 \times \text{peso muestra}}$$

siendo b: ml. de NaOH 0,5 N gastados en el ensayo en blanco

a: ml. de NaOH 0,5 N gastados con la muestra

Peso muestra g	NaOH 0,5N ml	Geraniol %
2,153	9,1	32,5
2,045	8,7	<u>32,8</u>
	Promedio	32,6 %

Identificación de alcoholes primarios. Geraniol

Por tratamiento con anhídrido ftálico, se obtiene el ftalato ácido de geraniol.

Una vez producida la ftalización, siguiendo el método empleado para determinación de alcoholes primarios, se evapora el benceno, y el residuo se trata con NaOH y agua tibia.

Se agita con éter para eliminar las impurezas, agregándose luego, una solución diluida, de ClH para liberar los ésteres, los cuales se extraen luego con éter de petróleo a 25° C.

La solución etérea se concentra, enfriándose luego a - 5° C. con hielo y sal, separándose cristalitas de ftalato ácido de geraniol de P.F. 47° C.

En nuestro caso, se emplearon 2 g. del residuo de la destilación de la esencia y se obtuvieron cristales de punto de fusión \approx 46° C., con lo que quedó demostrado la presencia de geraniol.

El resto de la fracción etérea se evaporó, quedando unas gotas aceitosas de color amarillo (ftalato ácido de citronelal ?).

Esteres: Saponificación

Esta operación tiene por objeto desdoblar el éster en sus componentes: ácidos y alcoholes.

El aceite no destilado (.19,420 g) se saponifica con una solución alcohólica de KOH (200 ml.) durante 2 horas y media a baño maría.

El alcohol se elimina luego por destilación a baño maría.

Terminada la saponificación el producto puede utilizarse para investigar alcoholes, ácidos y sustancias insaponificables.

Para ello se trata el producto de la saponificación con 200 ml.

de agua para extraer las sales de potasio y el exceso de KOH, y con 100 ml. de éter de petróleo para extraer los alcoholes.

Investigación de los ácidos combinados

A la fracción acuosa, de reacción alcalina, se añade SO_4H_2 hasta viraje neto al naranja de metilo.

La fracción así tratada se somete a destilación. Esta se lleva a cabo de acuerdo al método Leffmann-Beam y Polenske con aparato de iguales medidas (36),

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

Se tituló con HONa N/10, obteniéndose los siguientes resultados:

Acidos volátiles solubles:

Se gastaron 14,9 ml. NaOH N.

Expresado en ácido acético representa: 4,50 %

Acidos volátiles insolubles:

Se recogieron unas gotas amarillas, que se redisolviéron en etanol.

Se gastaron 2,8 ml. NaOH N / 10

Expresado en ácido láurico representa: 0,29 %

Identificación de los ácidos

Acidos solubles: por formación de la toluidida correspondiente. Método de Kamm (37).

La porción destilada que contiene los ácidos grasos combinados solubles (ya neutralizados) se lleva a sequedad.

En un tubo de ensayos se colocan luego:

0,4 g. de las sales de los ácidos grasos.

1 g. de p-toluidina

0,4 g. de ClH concentrado.

Se calienta con llama muy pequeña (micromechero) evitando sobrecalentamiento.

Se enfría y se agregan 5 ml. de alcohol metílico hirviente, vertiendo sobre 50 ml. de agua caliente. Se hierve hasta reducir el volumen a 10 ml.

Se filtra en caliente, cristalizando en el filtrado la toluidina. Si los cristales resultan amarillentos se redissuelven en agua caliente y se vuelve a filtrar.

Según Heilbron, el punto de fusión del acetyl-derivado de la p-toluidina, es de 153° C.

En nuestro caso se obtuvo 152° C. con lo que se comprobó la existencia de ácido acético.

Acidos insolubles

Se identifican por medio de sus sales de plomo, y determinación del punto de fusión de éstas.

En nuestro caso se obtuvo muy pequeña cantidad de sal, por lo cual no se determinó su punto de fusión.

Investigación de alcoholes combinados

La fracción etérea que contiene los alcoholes se calienta a ba-

ño maría para eliminar el éter.

Se desecan luego los alcoholes con SO_4Na_2 anhidro y se pesan (3,915 g.) que corresponden a 4,5 ml.

La fracción alcohólica se destiló a presión reducida, con el objeto de aislar el linalol. Este dió reacción positiva de Burgess.

Se confirmó su presencia mediante la formación del fenilureta-
no correspondiente. Se obtuvo P.F. = 65° C.

Insaponificable

Las sustancias no saponificables se disolvieron en acetona y se dejaron cristalizar. Luego de repetidas recristalizaciones en la misma, se lograron unas agujas incoloras, brillantes.

Determinado su punto de fusión, resultó ser P.F.° = 146° C., lo cual demostró que se trataba de un estearopteno: citropteno o limetina.

IX

RESUMEN DE LAS CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DEL ACEITE
DE LIMON ESTUDIADO

Planta utilizada	Limonero (Citrus Médica)
Zona de cultivo	El Dorado (Misiones)
Cosecha	1951
Método de extracción	Procedimiento de las agujas
Rendimiento	300 g./ 1000 frutos

Características Físico-químicas

Color	Amarillo
Olor	Característico a limón
Sabor	Amargo y picante
Aspecto	Límpido
Peso específico 20°/20°	0,854
Rotación óptica	+ 66°25'
Índice de refracción	1,4761
Solubilidad en alcohol de 70°	Insoluble
Solubilidad en alcohol de 80°	Insoluble
Solubilidad en alcohol de 90°	3,5 vol.
Solubilidad en alcohol de 95°	2,5 vol.
Residuo de evaporación	2,9 %
Absorción en el ultravioleta:	
(Máximo para 310 m μ)	
Solución al 1 o/oo	log.k.p. 100 = 0,120

Indice de ácido.....	0,87
Acidez libre.....	0,09 %
Indice de éster.....	8,0
Esteres(acetato de linalilo).....	2,8%
Aldehidos o cetonas(citral).....	2,75 %
Alcoholes(linalol).....	0,75 %

Componentes identificados sobre l esencia

Porcentajes calculados sobre 431,850 g. de esencia.

Monocarburos:

α -pineno.....	}	total aproximado	
Canfeno.....			
β -pineno.....			9,68 %
β -felandreno.....			
α -lisoneno.....		76,80 %	

Cetonas y Aldehidos:

Metil-heptenona.....	}	total en citral
Citronelal.....		
Citral.....		

Alcoholes

Linalol.....	0,7 %
--------------	-------

Determinaciones sobre el residuo de la destilación

Peso específico 15 ° / 15° C	0,895
Acidos libres (acético)	0,93 %
Esteres (acetato de linalilo)	16 %
Indice de éster	45,9
Aldehidos (citral)	26,8 %
Alcoholes primarios (geraniol)	32,6 %
Acidos combinados solubles (acético)	4,5 %
Acidos combinados insolubles (láurico)	0,29 %
Alcoholes combinados	11,20 %
Estearopteno (citropteno)	1,2 %

X

CONCLUSIONES

COMPARACION DE LA ESENCIA ESTUDIADA CON LA DE OTROS PAISES

Comparando la esencia de limón estudiada, procedente de Misiones, con la esencia de otros países, consignados en la bibliografía, se concluye que la nuestra presenta ciertas analogías con la esencia de limón de Italia.

Entre las constantes que presentan mayor semejanza, pueden citarse: peso específico, índice de refracción, residuo de evaporación y contenido en ésteres.

La mayor diferencia se observa en el contenido en citral, siendo para nuestra esencia muy inferior al de aquella, aproximándose más al de la esencia de Brasil.

Es de hacer notar que los valores obtenidos, podrían modificarse con la naturaleza del suelo, procedimiento de extracción, etc.

XI

COMENTARIO FINAL

Es éste un nuevo trabajo, que viene a agregarse a los no menos interesantes y numerosos, realizados con el propósito de estudiar aceites esenciales argentinos, bajo la eficaz dirección y colaboración del Dr. Adolfo L. Montes.

La finalidad del mismo, es hacer conocer la importancia, que para la economía del país representa la elaboración de aceites esenciales, cuya aplicación en perfumería, farmacia, repostería, licorería, es cada día más vasta.

Si bien es cierto, que es necesario salvar una serie de dificultades apreciables en el análisis total de esencias, no es menor la importancia de conocer con exactitud la composición de los aceites cultivados en nuestro país.

En este trabajo se han determinado las propiedades físico-químicas, y se han aislado y dosado los componentes más importantes de la esencia, extraída de limones (*Citrus Médica*), procedente de Misiones.

Cabe destacar que si bien se ha ido desarrollando lentamente en el país, el cultivo de especies productoras de esencias y la instalación de equipos industriales para su obtención, actualmente se está dando a esta actividad un impulso intensísimo, augurando para el futuro cierta independencia a las numerosas industrias que se pueden movilizar con esta materia prima.

XII

BIBLIOGRAFIA

- 1) WETTSLEIN R. - "Tratado de Botánica Sistemática" 1944
- 2) MINISTERIO DE AGRICULTURA DE LA NACION.- "Los Citrus". Boletín de frutas y hortalizadas. 1939.
- 3) STURA A.- " Los Aceites Esenciales". Dirección de Cultivos especiales. Ministerio de Agricultura de la Nación. 1945.
- 4) GUENTHER E. - " The Essential Oils". 1 (1948), 2 y 3 (1949).
- 5) SCHIMMEL & Co.- Ber. April (1897) 19; October (1897) 22; April (1902) 24; October (1902) 33.
- 6) BURGESS Y CHILD.- J. Soc. Chem. Ind. 20 (1901) 1176.
- 7) ZAPPI E. - "Tratado de Química Orgánica" 2, 963; 1942.
- 8) SCHIMMEL & Co.- Ber. October (1897) 22.
- 9) HEILBRON I.M.- " Dictionary of Organic Compounds" 1934.
- 10) RICHTER Y WOLFF.- Ber. 60 (1927) 477; 63 (1930) 1719.
- 11) TILDEN Y BECK.- J.Soc. Chem. 57 (1890) 323.
- 12) BURGESS.- Chem. Ztg. 25 (1901) 602.
- 13) SPATH Y KAINRATH.- Ber. 70 B (1937) 2272.
- 14) CALDWELL Y JONES.- J. Chem. Soc. (1945) 540.
- 15) DODGE.- J. Chem. Soc. 38 (1916) 451.
- 16) BOHNSACK. - Ber. 77B (1944) 428.
- 17) SPATH Y KAINRATH. Ber. 70 B (1937) 2272.
- 18) TILDEN, HEYES Y ROBERTSON. J.Chem. Soc. 61 (1892) 344.
- 19) WATTIEZ Y STERNON.- "Elements de Chimie Vegetale" pág. 625, 1942.
- 20) GRIGNARD V.- "Traité de Chimie Organic" XVI, pág. 469 y sig.
- 21) NAVES, IVES R. - Manuf. Chem. 16,429/31 (1945).
- 22) BOSART.- Perf. Ess. Oil. Record 28, 95 (1937)

- 23) SANCHEZ.- Farmacopea Nacional Argentina. 1943; pág. 793.
- 24) HILDITCH. " The Chemical Constitution of Natural Fats". pág. 377
- 25) VAN OS D. Y DYKSTRA K.- Journal de Pharmacie et Chimie 25 pág. 437.
- 26) MORTON R.A.- Perf. Ess. Rec. 20 358 (1929).
- 27) U.S.A. - Pharmacopeia. 10 th ed. pág. 260.
- 28) MONTE S A. - Comunicación personal.
- 29) WALLACH: Liebigs Ann. 245 (1888) y 253, pág. 251 (1889)
- 30) GRIGNARD V. " Traité de Chimie Organique ", XVI pág. 149.
- 31) MULLIKEN.- "A method for the identification of pure organic compounds"
- 32) A.O.A.C. - Vol. XIII N° 3, 390.
- 33) STAUDINGER. " Introducción al análisis orgánico cualitativo" pág. 124,
1935
- 34) BURGESS.- The Analyst. 1900, 265
- 35) SCHIMMEL & Co. - Ber. October 39 (1912)
- 36) VILLAVECCHIA.- " Tratado de Química Aplicada" 2 pág. 500 (1944)
- 37) KAMM O. - Análisis Orgánico Cualitativo. 1930.
- 38) MORRIS B. JACOBS, PH.D. " The Chemistry and Tecnology of Food and
Food Products " Vol. 1 - pág. 896.
- 39) HARRY W. VON LOESECKE.- " Outlines of Food Technology" pág. 72, 1949.
- 40) PARRY E. - The Essential Oils.
- 41) ALLEN'S.- "Commercial Org. Analysis " IV.
- 42) ULLMANN.- Enciclopedia de Química Industrial" V. pág. 131-138
- 43) PERROT E.M.- "Matières premières usuelles du Regne Vegetale" 1944.
- 44) WINTON Y WINTON.- "Analysis of Foods" 1945.
- 45) GARDINI Y VIGNOLA.- "Ann. Chim. Appl. 1934.
- 46) KARRER.- Química Orgánica. 1940.

Adolfo Sperante

Castro