

Tesis de Posgrado

Cromatografía de aceites esenciales y sus componentes

Troparevsky, Alejandro

1956

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias
Químicas 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:

Troparevsky, Alejandro. (1956). Cromatografía de aceites esenciales y sus componentes. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0900_Troparevsky.pdf

Cita tipo Chicago:

Troparevsky, Alejandro. "Cromatografía de aceites esenciales y sus componentes". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1956. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0900_Troparevsky.pdf

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

CROMATOGRAFIA DE ACEITES ESENCIALES Y SUS COMPONENTES

Tesis presentada para optar al título de Doctor en

Química por: Alejandro Troparevsky

RESUMEN

Al análisis de los aceites esenciales, muy complejo por la similitud y número de los componentes que lo integran, se le trató de aplicar la cromatografía desde hace bastante tiempo. Comenzó con la cromatografía de los componentes puros y de sus productos de reacción.

El gran valor de estos ensayos y el gran número de revelantes para las diversas funciones, descriptas, nos hizo pensar en su aplicación directa a los aceites esenciales. Por ser la cromatografía en papel de fácil realización tratamos de utilizarla para componentes de aceites esenciales pero sin éxito, esto nos decidió a utilizar el llamado "Chromatoplate" ya preparado por Rietsema R.J.: An Chem 26, 960 (1954) consistente en placas de vidrio recubiertas por sílice y un ligante (engeneral almidón).

La fórmula propuesta por Rietsema fué modificada para facilitar el empastado de los materiales y se aumentó el tiempo y el vacío a que se someten los chromatoplates para su activación. El tiempo de media hora a una hora y el vacío de 3 mm a 0,5-1 mm.

Hemos notado que los desarrollos donde se especifica entre los solventes al hexano puede reemplazarse éste por un corte de éter de petróleo entre 60-70°C.

Rev. de Tesis: 900

De los ensayos descritos se eligieron:

- a) El desarrollo con la fracción de 60-70°C del éter de petróleo con 15% de acetato de etilo y un posterior revelado con la técnica de la fluoresceína-bromo para revelar componentes con dobles ligaduras. En las cuarenta esencias ensayadas se observaron un promedio de cuatro de esos componentes así revelados por esencia.
- b) El desarrollo con el corte de éter de petróleo indicado solamente, para arrastrar sólo los hidrocarburos observándose un promedio de 3 por esencia (detectándose los por el ensayo de la fluoresceína-bromo).
- c) Deshidratación de la esencia con ácido sulfúrico concentrado en el mismo chromatoplate, posterior desarrollo con éter de petróleo (60-70°C) y revelado con fluoresceína bromo para así ver la presencia de sustancias que por deshidratación en estas condiciones producen doble ligadura. Se observaron tres sustancias en promedio por esencia.
- d) Desarrollo igual que en a) pero revelado por pulverización con ácido sulfúrico concentrado con 5-10% de ácido nítrico concentrado, v/v, para detectar sustancias poco reactivas, notándose unas cinco manchas por cada esencia.

De esto se desprende la gran rapidez y sencillez con que pueden determinarse el número de componentes con dobles

//..

ligaduras, hidrocarburos y componentes en general de los aceites esenciales por cromatografía directa que por primera vez se realiza.

Este trabajo aparece como una necesidad antes de emprender el estudio de cualquier aceite esencial, pues da una versión cualitativa rápida del número y tipo de sus componentes.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Cromatografía de aceites esenciales y sus
componentes

Tesis presentada

por

Alejandro Troparevsky

Para optar al título de Doctor en Química

-1956-

TESIS: 900

Trabajo de tesis
dirigido por el Profesor
Dr. A. L. Montes

Agradezco al Dr. A.L.Montes su competente dirección e impreciable apoyo que se ha prestado en la realización del presente trabajo, así como también el haberme proporcionado su colección de aceites esenciales y sus componentes.

in die Hände

INDICE

A - LA CROMATOGRAFIA	Pág.
I - Evolución	1
II - Principios	2
III - Subdivisión de la cromatografía	4
IV - Teoría y mecanismo	5
V - Valores de k y k'	6
VI - Cromatografía en columna	8
VII - La cromatografía aplicada al estudio de los aceites esenciales	8

B - EL CROMATOSTRIP Y EL CROMATOPLASTE	
Chromatostrip	11
Solventes utilizados	12
Adsorbentes	13
Ensayos para localizar la zona	13
Relación entre una sustancia y su k'	17
El chromatoplate	17
Posibilidad de cromatografiar productos de reacción de sustancias dadas	18

C - PARTE EXPERIMENTAL	
a) Ensayos en papel	22
b) Preparación de los chromatoplastes	23
c) Investigación de compuestos con dobles ligaduras	25
d) Investigación de hidrocarburo	26
e) Deshidratación	27
f) Pulverización con ácidos sulfúrico y nítrico	27
g)	-----

D) RESULTADO

1) Aplicación de estas técnicas a componentes de aceites esenciales	29
2) Propiedades químicas de los componentes ensayados	31
3) IR obtenidos	32
4) Aplicación de los ensayos a los aceites esenciales	33
5) Propiedades de las esencias utilizadas	34
6) Resultados obtenidos	39
4 <u>Conclusiones</u>	46
5 <u>Bibliografía</u>	48

.....

LA CROMATOGRAFIA

1) Evolución

Se considera al botánico ruso Tswett el iniciador de esta técnica durante los años 1903-1906 aunque según otros la migración diferencial de un soluto a través de un medio poroso era conocida ya antes (ver H. Hill-Williams T. (1) Lechmeister (2)).

A Schönbein se le considera como uno de los iniciadores del análisis capilar aplicado a los iones inorgánicos, quien demostró que en una tira de papel en agua que posea sales inorgánicas, el agua asciende por el papel llevando consigo las sales, las cuales se mueven independientemente según su difusibilidad.

El método de separación en columna al igual que el anterior no encontraron aplicación a pesar del éxito obtenido por Tswett al resolver pigmentos vegetales. A esta demora contribuyeron (ver Strain: "Chromatographic Adsorption Analysis" (3) y Wilson H.J. (4), la efervescencia de la escuela alemana que la adsorción podría descomponer compuestos lácteos, las necesidades de macrocantidades no siempre obtenidas y la guerra de 1914 que no permitió la difusión de la obra de Tswett escrita en ruso.

Tuvo un notable impulso en 1931 cuando fue separado en dos isómeros el **PROTEÍNO** por Amin y Lederer y más tarde con los estudios de Hillister y colaboradores sobre las enzimas.

La cromatografía inorgánica en columna fue desarrollada en 1937 por G.M. Schwan y su escuela.

El método original de Tswett constituye la base de los métodos llamados "por migración diferencial" (Strain H.M (5). De sí

do actualmente muy modificado en técnica y denominaciones pero la base es la misma. Según Lederer "Progres Recents de la Chromatographie" (Paris Herman y Cia 1949) los trabajos hechos entre 1939-1949 consisten en más de 500 citas bibliográficas. En los Decennial Index del Chemical Abstracts de 1927-1936 figura la cromatografía bajo el nombre de adsorption. En 1943 apareció en esa revista bajo el nombre Le Chromatographic adsorption con 38 citas y en 1952 tenía unas 1000 citas bajo este nombre y en 1953 unas 2000.

Revisiones sobre la cromatografía pueden verse en Lederer M., Lederer M.: "Chromatography" Houston Texas, Elsevier Press 1953 y para la práctica especialmente Arinley H.C., Sarret H.C. (6) y Tiselius A. (7).

Entre otros libros de cromatografía pueden mencionarse los de Cramer F. (8) y el de Block, La Strange, Zeig (9).

II) Principios

Puede definirse la cromatografía según H. Hestrain - Th. Sato y Angelas (10), como el estudio de los métodos analíticos de gran aplicación basados en una separación de mezclas de solutos por migración diferencial a partir de una zona estrecha en un medio poroso, siendo producida la migración por potencial eléctrico o por pasaje de líquido o gas.

El procedimiento clásico consiste en absorber en la columna cromatográfica una pequeña cantidad de solución, de modo de formar una angosta zona inicial. Luego se hace pasar el solvente

te para hacer migrar el soluto a través de la base de adsorción. El solvente puede migrar por capilaridad o con ayuda de succión.

Los diferentes componentes del soluto migran con distintas velocidades según la adsorción selectiva. Se separan en zonas o bandas que pueden separarse mecánicamente o sino mediante pasaje de nuevos solventes a través de la columna y recogiendo por separado el percolado de las distintas fracciones.

La sustancia adsorbente debe reunir algunas condiciones por ejemplo: 1) Retener cantidades significativas de sustancia a resolver o a separar.

2) Estas sustancias deben poder migrar a través del adsorbente al tratarse con nuevas porciones del disolvente y ser eluido por solventes polares.

3) No deben descomponer a los materiales adsorbidos.

4) Deben ser insolubles en los distintos solventes usados.

5) Deben estar finamente solidos para que sus partículas sean pequeñas y permitan un percolado fácil (entre 1 y 10 μ). La forma de un cromatograma puede variar de diversas maneras empleando columnas de diferente capacidad y calidades de adsorción combinada con solventes mezclas de distintas afinidad para el adsorbente y el soluto. En cuanto al soluto interesa en él la proporción relativa de sus componentes.

El intento de describir racionalmente las características más importantes del proceso de adsorción cromatográfica mediante un estudio teórico fué hecho por Wilson H.J. (11) quien formuló la

ecuación diferencial correcta que rige el mencionado proceso (incluyendo el revelado y la formación del cromatograma).

Esta teoría fue luego perfeccionada por J. Le Vault, Weiss J (12) y Glueckauf (13) y (14). Casi simultáneamente A. J. P. Martin y R. L. Synge (15) formularon su teoría asimilando a una columna de destilación la columna cromatográfica.

M. Mittelman ha publicado una revisión completa de todos estos ensayos teóricos.

III) Subdivisión de la Cromatografía

Desde el punto de vista práctico y en armonía con la definición dada hay tres principales subdivisiones de la cromatografía: cromatografía por pasaje de solvente o gas, cromatografía por migración eléctrica y cromatografía por varias combinaciones de pasajes de solventes y potencias eléctricas.

Las técnicas de cada una de estas subdivisiones principales están clasificadas comúnmente respecto a la preparación y naturaleza del medio de migración como ser: con columnas porosas (cromatografía en columna, electrocromatografía en columna, etc.); con hojas rígidas particularmente papel (cromatografía en papel y electrocromatografía en papel), o con geles o líquidos fijos (electrocromatografía en geles).

Los principales métodos cromatográficos se subdividen frecuentemente respecto del mecanismo del proceso de adsorción por ejemplo: adsorción en la interfase sólido líquido (cromatografía de adsorción), adsorción en la interfase sólido gas (cromatografía de gases), adsorción en la interfase líquido

líquido o sea distribución entre 2 líquidos (cromatografía de partición), distribución entre gas y líquido (gas cromatografía de partición gas-líquido), distribución entre la sustancia química activa y la solución (particularmente cromatografía de intercambio iónico). Esta clasificación de los métodos cromatográficos está sujeta a grandes variaciones, no sólo por el mecanismo del proceso de adsorción sino que a menudo varía con las condiciones experimentales. Por estas circunstancias el papel puede ser un soporte inerte o una sustancia intercambiadora de iones (ver por ej. Surma D.P. An Chem (16)). Las aplicaciones principales están en la química analítica, inorgánica, orgánica, biológica, clínica e industrial.

Todos estos métodos cromatográficos dependen de principios análogos. Las diferentes técnicas dan similares separaciones y pueden ser aplicadas y modificadas de distintas maneras. Su rango de aplicación varía enormemente con las propiedades químicas de los materiales a resolver.

IV- Teoría y Mecanismo

La mayor parte de los tratamientos teóricos tratan los aspectos cinéticos del mecanismo de distribución. Allos están relacionados con la formación de las zonas, sus límites y migración de zonas (ver por ej. Lapidus, Amundson & H. (17) y Houbani Valette J (18)).

A pesar de todo no ha sido propuesta una teoría para estimar la distribución de un soluto entre 2 fases de varios sistemas cro-

matográficos. La solubilidad da una idea de la distribución de solutos entre 2 solventes inmiscibles y la teoría de los solventes y las propiedades solventes de varios líquidos dan otra idea sobre sus efectos sobre la adsorción de varios solutos. La adsorción de solutos sobre la superficie activa es una de los mecanismos de distribución más empleados en separaciones cromatográficas. Estos adsorbentes atraen todos tipos de solutos, por ej. hidrocarburos de solventes hidrocarbonados saturados, solutos polares de solventes, polares como ser agua, etc. Muchos otros sistemas de distribución no son de tan amplia aplicación. La partición selectiva entre solventes inmiscibles tan empleado en cromatografía de columna y extracción en contracorriente, está limitada por la miscibilidad de los solventes. Muchos de estos sistemas de partición tienen sin embargo gran aplicación para la separación de sust. grasas, sustancias polares, etc.

Desde un punto de vista teórico cada soluto debería formar una sola zona en el sistema cromatográfico.

En la práctica por el contrario, por la alteración del soluto, ver por ej. Heynes; con α -adulador I (19), o por variación de las propiedades, de adsorción del sistema pueden aparecer 2 o más zonas.

V- Valores de R_f y R_R

La relación entre la distancia de migración de soluto en el sistema cromatográfico y la distancia de migración del solven-

te de el valor R que es muy usado en la descripción de las sustancias como medida de su adsorción. Este valor depende de muchas condiciones que deben ser controladas y descritas. Estas incluyen: tiempo y distancia de migración, naturaleza, composición y pureza de los líquidos de lavado, la temperatura, la humedad del medio, la naturaleza y actividad del adsorbente, las dimensiones de la zona inicial de la mezcla; las dimensiones del sistema de migración y la distribución del solvente en el sistema de migración.

Desde el punto de vista teórico la migración de la zona de soluto debe ser referida a la región de máxima concentración. Como esta región es difícilmente detectable en general, el límite frontal de la zona es dejado como referencia y el valor correspondiente de R se denomina R_f . En muchos sistemas cromatográficos ese límite es difuso y su localización por lo tanto depende de la sensibilidad de los métodos para la detección del soluto.

En sistemas cromatográficos similares los valores de R para solutos dados están sujetos a pocas variaciones si son referidos a el valor de R de la determinada sustancia

$$R_b \text{ de } a = R \text{ de } a / R \text{ de } b$$

Con sistemas de migración de papel blando, la distribución del solvente en el papel no es uniforme por lo tanto esta relación es aproximada.

VI- Cromatografía en columna.

Este tipo de cromatografía continúa aun ampliamente en uso. Los adsorbentes ahora incluyen por ejemplo goma vulcanizada, polita-
cárices como ser sacarosa, celulosa y almidón; así también co-
mo adsorbentes activados por ejemplo magnesio (silicato), car-
bón, cal, magnesita y alúmina. También incluyen resinas de inter-
cambio iónico, geles en polvos etc.

La cromatografía sirve como método preparativo tanto en es-
cala industrial como en micro escala.

En muchas veces empleada como paso preliminar o intermedio
en la obtención de un producto natural especialmente en gran es-
cala mediante la elución fraccionada o con la extracción de las
sustancias adsorbidas. La localización de las sustancias en las
columna no es tan fácil como en papel. Según estudios realizados
por Walston y otros el poder resolvente de las columnas con celu-
losa es comparable al obtenido con los papeles. Cuando se utili-
zan combinaciones de adsorbentes y solventes la aplicabilidad
de la técnica en columna es mayor que la técnica en papel.

El poder resolvente puede ser aumentado aún más sometiendo
las fracciones contenidas de una columna a posterior fracciona-
miento en columnas con otros adsorbentes y solventes (ver por
ej. Patridge SA y Grimley RC (20).

LA CROMATOGRAFÍA APLICADA AL ESTUDIO DE LOS ACIDOS ASÁRCICOS

Como la cromatografía reemplaza a la destilación ya la cris-
talización fraccionada con ventajas, al tratarse de mezclas

cantidades (ver A.L. Montes: "Productos Aromáticos pag. 20 (21), se trató de aplicarla al estudio de los aceites esenciales. Plattner y Pfau (22) lograron la separación de algunos compuestos de adición entre azuleno y trinitrotolueno utilizando la cromatografía en columna de alúmina.

Posteriormente Slocum y Volpers (23) lograron separar algunos aldehídos y esteros de aceites esenciales usando también columnas con alúmina. En Zechmeister (24) y (25) figuran separaciones de triterpenos.

Muy poco se ha hecho sobre cromatografía de simples terpenos hasta la aparición del trabajo de H. Airchner, J.M. Miller, G.J. Meier (26). Los trabajos anteriores consistían en una separación arbitraria de las fracciones usando distintos eluyentes ver por ej. Winterstein & Stein G (27) Carlson Miller (28); Späth - Kraus (29) quienes pudieron separar algunos terpenos simples.

Al tratar de aplicar la cromatografía en papel a los terpenos se vio pronto que era difícil. El paso siguiente fue impregnar los papeles con varios adsorbentes para aumentar la fuerza de adsorción del papel. Esta técnica se usa para compuestos orgánicos (Doddington J (30); Latta S.P.-Overell S.G. (31); Stack-Dunham (32); Airchner-Miller (33) y también para compuestos inorgánicos. Esta técnica tiene el inconveniente del pequeño número de adsorbentes que pueden usarse.

También fueron separados derivados de productos de aceites

esenciales por J. White (34) quien separó mezclas de 3-5 dinitrobenzatos de alcoholes de bajo peso molecular y J. D. Robertson y Ch. Green (35) quienes separaron 2-4 dinitrofenilhidrazonas de diversos aldehídos y cetonas usando estos autores al igual que el primero el ácido silícico como adsorbente.

La cromatografía en columna fue aplicada a fracciones carbo-níticas de aceites esenciales por A. L. Montes (36). Posteriormente A. Clavet y A. L. Montes (37) separaron una gran variedad de 3-5 dinitrobenzatos de distintos alcoholes y fenoles que inte-gran los aceites esenciales.

En 1953 Latat y A. L. Montes (38) publicaron un trabajo sobre la separación de distintos aldehídos y cetonas del estado de 2-4 dinitrofenilhidrazonas usando la técnica del "chromatostrip" introducida por Airchner y Miller (26) (el chro-matostrip consiste en tiras de vidrio recubiertas de un material adsorbente).

En 1952 Airchner y Miller (39) hicieron un estudio para deter-minar la posibilidad de la separación de componentes de aceites esenciales utilizando la cromatografía en columna.

Actualmente se usa casi exclusivamente el chromatostrip o algo similar debido a su sencillez, rapidez y amplio campo de aplica-ción, pudiéndose los resultados obtenidos en el chromatostrip to-marlos como una base previa a una separación en mayor escala en co-lumna (ver Miller Airchner (39)).

Por último, se ha efectuado la cromatografía en papel de la 2,4,6-trinitrofenilhidrazona (como 2-4 dinitrofenil hidrazona) contenido en el ajonjolí por S. Cortina y A. L. Montes (40).

4. EL CROMATOGRAFIA Y EL
CROMATOGRAFIA

CHROMATOSTRIPS

Sus autores Airchner, J.G., M.M.Miller, J.J.Meller (26) trataron de combinar las ventajas de la cromatografía en columna y en papel para obtener un método cromatográfico rápido en el cual se pudiesen aplicar fáciles métodos de detección de iones. La cromatografía en columna presenta varios inconvenientes frente a los Chromatostrips (tiras de vidrio precubiertas con un material adsorbente), pues los materiales incoloros como terpenos son difíciles de localizar, se necesitan cantidades que en aceites esenciales son quizás algo grandes y requieren una preparación de la columna cuidadosa. Además el chromatostrips no necesita la aplicación de succión y por lo tanto su desarrollo es rápido y fácil.

Fue la base del chromatostrips el trabajo de Stinson J.A. y Hall N.V. (41) sobre la cromatografía radial de iones inorgánicas que fue modificada cubriendo tiras de vidrio con el adsorbente mezclado con un ligante. Las tiras eran luego activadas y luego desarrollando los cromatogramas similarmente a tiras de papel como lo hecho por Flood H.L. (42) Hookland L.S. y Dunn M. S. (43).

Airchner Miller y Meller para hacer el método universalmente aplicable utilizaron la idea de Sease J.M. (44) de mezclar el adsorbente con dos sustancias fluorescentes inorgánicas que eran el sulfuro de cadmio y cinc y el silicato de cinc. Pero tuvieron que utilizar nuevos ensayos para localizar los compuestos en el cromatograma.

//..

Ellos usaron strips de 0,02 pulgadas (aproximadamente 0,5 mm.) de espesor, estando la mezcla adsorbente integrada por 19 gramos de ácido silícico, 1 gr. de almidón, 0,15 grs. de silicato de cinc y 0,15 grs. de sulfuro de cinc y cadmio, empacándose todo según la técnica que puede verse en An Chem 23,420 (1951).

El primer inconveniente que se notó fue que los chromatostrip que antes de usar no se secaban en forma perfectamente standard mostraban una marcada diferencia en el valor de R_f . Ellos mencionan por ejemplo para el limoneno una diferencia de R_f de 0,8-0,4 dependiendo ella del distinto vacío que sobre pentóxido de fósforo realizaban para activar el adsorbente.

Ellos recomiendan un vacío de 3 mm. sobre hidróxido de potasio y succionar el vacío con aire seco, no exponer los chromatostrips luego del vacío al aire más de 10 minutos. Ellos depositan una gota de la mezcla a resolver cerca de un extremo que sumergen en el solvente y éste asciende por capilaridad arrastrando a cada componente con distinta velocidad. Los componentes se identifican por fluorescencia o por alguna reacción propia de sus grupos funcionales.

Solventes utilizados

Según sus propiedades se dividen en cuatro clases:
1) Aquellos que llevan a todos los aceites al extremo superior de la tira como ser por ejemplo alcohol etílico, dioxano, eter dietílico, acetona, 1-nitropropano, piridina, aceta-

//..

//..

to de etilo, metanol, etc.

2) Aquellos que no arrastran la mayoría de los aceites: hexano, éter de petróleo, tetracloruro de carbono, sulfuro de carbono, etc.

3) Los que arrastran a los aceites a una distancia razonable, como ser cloroformo y benceno.

4) Los que interfieren con el ensayo de fluorescencia bromo (utilizado para identificar dobles ligaduras), como ser tetrahidrofurano, diacetona alcohol, anileno, etil etoxi-silano, etc.

5) Distintas mezclas de solvente que permiten promediar las propiedades de cada uno de ellos.

6) El hexano tiene la interesante propiedad de arrastrar consigo sólo los hidrocarburos y no los compuestos con funciones oxigenadas.

Adsorbentes

Se han usado mucho, entre los recomendables en la separación de aceites esenciales figuran la alúmina, alúmina y sílice, sílice, etc. La sílice fue en esta técnica la más usada utilizándose la tamizada por 100 mallas, por ejemplo, para lograr uniformidad; hemos visto que es conveniente un tamizado por 200 mallas para obtener una superficie del chromatostrip completamente uniforme.

Ensayos para localizar las zonas

Fluorescencia bromo: Se usa para identificar dobles ligaduras, consisten en pulverizar el strip seco con solución diluida de fluoresceína en agua y luego exponerlo a vapores de bromo. Don-

//..

//..

de hay materiales que posean la propiedad de fijar bromo como por ejemplo dobles ligaduras etilénicas, la fluoresceína permanece con su color amarillo, donde no haya se forma eosina de color rojo. En nuestro trabajo se ha visto que el ensayo se sensibiliza notablemente sometiendo al strip luego de la operación descrita a la luz ultravioleta donde resalta mucho la diferencia de fluorescencia de la fluoresceína de la eosina permitiendo una mejor determinación de las zonas.

Según (26) es necesaria suficiente agua en el ensayo pues sino el color rojo de la eosina no aparece uniformemente.

La presencia de álcalis aumenta el color rojo de la eosina, mientras que los ácidos lo inhiben. Por eso no se usa pentóxido de níquel en el tratamiento a vacío, pues parece que suficiente cantidad de sus vapores son adsorbidos si se lo deseca en su presencia y bastan para disminuir el color rojo de la eosina.

Fluorescencia: Se puede usar el método de Sease incorporando a los trips sulfuro de cadmio y cinc y silicato de cinc. También puede usarse en vez de estas sustancias la rodamina 6G por ejemplo: que se incorpora disuelta en el agua que se usa para empastar la sílice con el ligante. En la luz ultravioleta la rodamina presenta fluorescencia amarilla (ver J. + White-Dryden E.C. (34)).

Investigación de grupos carbonílicos: Los aldehídos pueden ser identificados realizando una pulverización con una solución de

//..

//..

orto anidrisina (ver Masicky R. y Frechen U. (45). También se puede pulverizar con una solución en ácido clorhídrico 2 N de clorhidrato de 2-4 dinitro fenil hidrazina.

Investigación de ácidos: Se pueden detectar realizando una pulverización con una solución al 0,3% de verde de bromocresol en metanol al 80% en volumen, al cual se agrega por cada 100ml. 8 gotas de nitrato de sodio al 50% (ver Hamsey M.L. y Patterson M.L. (46). Los ácidos aparecen como manchas amarillas sobre un fondo verde.

Revelación de compuestos sin grupos reactivos en su molécula.-

Se utiliza la pulverización con ácido sulfúrico concentrado. Para ello se usa un pulverizador totalmente construido en vidrio y la operación se realiza en una vitrina. También puede usarse la pulverización con una mezcla de ácido sulfúrico con cinco a 10 por ciento de ácido nítrico concentrado, como se hizo en (26). Estos autores luego de la pulverización sometían el strip a un calentamiento a 550°C y por eso necesitaban utilizar yeso como ligante. En nuestro trabajo hemos visto que sin necesidad del calor se ven según esta técnica la mayoría de las manchas y por lo tanto se puede usar almidón como ligante con la consecuente ventaja de obtener Rf. correspondientes a los obtenidos con los otros revelantes.

Como ejemplo de la aplicabilidad de estas técnicas se transcribe de (26) el siguiente cuadro que tabula varias sustancias componentes de aceites esenciales, juntas con las

//..

ensayos de reconocimiento que para ello pueden usarse y además la sensibilidad de alguno de ellos.

SUSTANCIA	1	2	3	4	5
α -pineno	-	-	-	-	37 FB
pulegon	-	-	-	-	4 UV
canfeno	-	-	-	-	200 FB; 15 SM
geraniol	-	-	-	-	1,5 FB
carvona	-	-	-	-	0,4 UV; 8,0 FB
p.cineno	-	-	-	-	100 UV; 30 SM
α -terpinol	-	-	-	-	4 FB
nopol	-	-	-	-	1 FB
1- β cineol	-	-	-	-	0,6 S
cinnamaldehido	-	-	-	-	0,3 o-d
ácido n-caprico	-	-	-	-	1,0 b-c
terpinyl acetato	-	-	-	-	4,0 FB
alcanfor	-	-	-	-	0,2 SM
limoneno	-	-	-	-	37 FB

Abreviaturas: FB: fluoresceína bromo; UV: fluorescencia a la luz ultravioleta; S: pulverización con ácido sulfúrico; SM, pulverización con mezcla de ácidos sulfúrico y nítrico; o-d pulverización con solución de o-dianisidina; q: pulverización con bromocresol green.

1: fluorescencia a la luz ultravioleta

2: fluoresceína bromo

3: ácido sulfúrico concentrado

4: ácidos sulfúrico y nítrico

5: sensibilidad en gama

//..

RELACION ENTRE UNA SUSTANCIA Y SU Rf.

Se ha visto que un aumento del peso molecular de una sustancia tiende a aumentar el Rf. Producen también un aumento de Rf. la disminución del número de grupos funcionales. Los terpenos monocíclicos tienen en general un Rf superior a 90 (K.H. Reitsema An Chem 26, 960 1954).

el Chromatoplate

En un estudio realizado por Reitsema K.H. al comprobar la complejidad de ciertas separaciones en chromatostrips decidió usar tiras anchas que denominó "Chromatoplates". Esto permite realizar simultáneamente la cromatografía de una sustancia pura y de una mezcla donde se sospecha que se halla. Se consigue evitar errores propios de cada uno de los strips, como resultado de las diferencias de espesor de la capa adsorbente de los distintos strips y su contenido variable en humedad.

Observó además que al representar gráficamente en ordenadas los Rf de una sustancia cualquiera (que varía en cada ensayo) y en abscisas el Rf de la carbono en el mismo chromatoplate se obtiene una línea recta, lo que indica que la posición relativa de dos sustancias en un chromatoplate es prácticamente constante. Le ahí según sus trabajos la conveniencia de referir los Rf como relativos a la carbono.

Observó además que muchas dinitrofenilhidrazonas de aldehídos y cetonas no visibles a la luz natural son visi-

//..

//..

bles a la luz ultravioleta en chromatoplates conteniendo una pequeña cantidad de rodamina. También noto que el calentamiento del chromatoplate una vez desarrollado con ácido clorhídrico (proveniente de la solución de dinitrofenilhidrazina) por ejemplo) hace visible más manchas.

Posibilidad de cromatografiar productos de reacción de sustancias dadas.

Este problema junto con el de realizar reacciones directamente sobre los cromatogramas y luego desarrollarlos con la técnica común, fue encarado por J.A. Miller y J.G. Archer (26). Notaron que el uso de R_f conocidos no permite la identificación de un determinado componente pero si por comparación con R_f de sustancias conocidas se puede intentar su identificación entre las de R_f más próximas y abandonar las de R_f muy distantes. La reproducibilidad de los R_f está dentro de las 0,05 unidades y la literatura ya trae sus valores para muchas sustancias usando una técnica dada.

Gran número de reacciones se ensayaron con la técnica consistente en cubrir con un reactivo apropiado la gota de la sustancia depositada en un extremo del strip. También puede mezclarse el reactivo y la sustancia en pequeños tubos de ensayo, realizar la reacción deseada y la mezcla resultante se aplica directamente al chromatostrip. La combinación del R_f de una sustancia y de sus productos de reacción resulta en la mayoría de los casos en una identificación segura del com-

//..

11.

ponente.

Estas reacciones no son completas por lo tanto al cromatografiar se obtienen generalmente la mancha de la sustancia original y la del producto de la reacción.

Los compuestos inorgánicos como ser agua, bases, sales, ácidos, etc. no son solubles en los solventes usados y por lo tanto quedan en el origen. Los otros reactivos orgánicos son fuertemente adsorbidos por la sílice y tienen un Rf muy bajo que no interfiere.

Estas sustancias no separables directamente no pueden ser después de efectuada una reacción sobre ellas, pues el Rf depende del grupo funcional y al variar éstos varían los Rf permitiendo quizá una separación.

Oxidación: El material a ser oxidado se deposita en un extremo del strip y se cubre con una solución saturada de anhídrido crómico en ácido acético glacial o sino con agua oxigenada al 3% y 10' de exposición a la luz ultravioleta (especialmente para hidrocarburo). Se puede desarrollar luego con 15% de acetato de etilo en hexano, o 15% de acetato de etilo en cloroformo.

Reducción: La sustancia en un tubo de ensayo se trata con isopropóxido de aluminio y se calienta. El producto que se obtiene se cromatografía directamente. También se puede depositar una gota en el chromatostrip y cubrirla con una solución al 10% de hidruro de litio y aluminio.

11..

//..

hidrólisis: Se realiza en un tubo de ensayo calentando una gota de la sustancia con otra de una solución de hidróxido de potasio en etilén glicol (ver Hedemann C.A., Lucas H.J. (48)), y la mezcla resultante se cromatografía directamente.

Deshidratación: Una pequeña gota de la sustancia se coloca en el chromatostrip y se cubre con ácido sulfúrico concentrado y luego se desarrolla con hexano.

Preparación de 3-5 Dinitrocompuestos: Una gota del compuesto, cinco gotas de piridina y unos pocos cristales de cloruro de 3-5 dinitro-benceno se mezclan y calientan y luego se cromatografía la mezcla.

Preparación de Semicarbazonas: Una solución al 10% de clorhidrato de semicarbasida en agua se neutraliza con hidróxido de sodio y se coloca en el strip, junto a la sustancia a investigar y se desarrolla con acetato de etilo.

Preparación de Fenil-carbamatos: en un tubo de ensayo se calientan una gota de la sustancia con cinco de hexano y una de isocianato de fenilo y luego se cromatografía la mezcla.

Preparación de Fenil-Hidrazonas: Al compuesto ya colocado sobre el chromatostrip se lo cubre con fenil hidrazina y luego se desarrolla.

CONSIDERACIONES GENERALES

En la reseña bibliográfica hecha se puede observar la gran utilidad del cromatostrip, del cromatoplate para la resolución de los componentes de los aceites esenciales. Eso nos indujo a tratar de aplicar técnicas similares a los aceites esenciales directamente. Se podría así obtener el número aproximado de componentes que posee y sus funciones químicas.

Se trató de ensayar primero la cromatografía en papel de aceites esenciales, sus componentes pero sin éxito y luego se siguió con los cromatoplates donde se obtuvieron resultados satisfactorios. De los ensayos descritos se eligieron por su valor para distinguir las funciones de los componentes de los aceites esenciales los ensayos de fluorescencia como para las sustancias con doble ligadura, la deshidratación con ácido sulfúrico concentrado, el desarrollo con hexano 100 x 100 para investigar hidrocarburos, la pulverización con sulfúrico nítrico para revelar componentes varios en general. La investigación de componentes con función carbonílica se reserva para un trabajo a realizar por S. Ryman. El uso de las técnicas enumeradas daría rápidamente y con bastante seguridad el número de hidrocarburos, componentes con dobles ligaduras, sustancias en general que integran un aceite esencial dado. Este trabajo que de otro modo resultaría engorroso es resuelto de esta manera en forma fácil y elegante. Se aplicaron estos ensayos a cuarenta aceites esenciales a la colección que posee el Dr. A. L. Montes, indicándose el origen y componentes de cada uno de ellos.

6. CONFIDENTIAL

//..

PARTE EXPERIMENTAL

a) ENSAYOS EN PAPEL:

Como la cromatografía en papel presenta innumerables ventajas sobre sus similares (columna, chromatostrip etc.) se trató de aplicarla a sustancias componentes de aceites esenciales y a ellos mismos. Estos ensayos fueron realizados en papel Delta No.3000 y en el Whatman No.1. La sustancia se disolvía en éter etílico y se depositaba con una micropipeta cerca de un extremo del papel que se sumergía en el solvente. Al principio utilizamos como solvente hexano con 15% de acetato de etilo y luego benceno con 15% de acetato de etilo.

Al papel luego de realizada la cromatografía se secaba al aire y como ensayo de orientación rápida lo sumergíamos o pulverizábamos con una solución al 0,1 o/oo de rodamina 6 G (RH) en metanol, y luego se observaba a la luz ultravioleta. No se notaban manchas o bien un revelado difuso como ser trazos muy alargados. Como se pensó que el metanol pudiese disolver las manchas se usaron papeles previamente impregnados con rodamina. Se vio que ésta a su vez se cromatografiaba en parte por el solvente y también a la luz ultravioleta no se revelaba nada de interés.

Se probó realizar pulverizaciones con 2/4 dinitrofenilhidrazina para los componentes carbonílicos y se notó sólo manchas nítidas las de $R_f = 1$ (frente del solvente).

Después a esto se trataron de usar solventes acuosos, saturados

//..

//..

de solventes orgánicos (cloroformo, alcohol amílico, éter de petróleo, alcohol isopropílico, etc.). Cuando agua saturada de estos solventes se realizaron cromatogramas que se sumergían una vez secos al aire en una solución de rodamina 6 G al 0,1 o/oo en agua. Los papeles se secan luego suavemente extendidos sobre un vidrio o bien se observaban a la luz ultravioleta o se pulverizaban con solución de 2-4 dinitrofenilhidrazina en ácido clorhídrico 2N.

Se observaban trazos largos y en la mayoría de los casos su ausencia de la mancha debido quizá al arrastre de la misma por el agua al ser secados los papeles.

Esto nos indujo a abandonar la cromatografía en papeles de aceites esenciales y sus componentes.

b) PREPARACION DE LOS CROMATOPLATOS

Debido a los malos resultados obtenidos en papel nos propusimos usar los cromatoplatos. Su precursor el chromatostrip, introducido por J.G. Airchner, J.M. Miller, G.V. Miller (26) estaba constituido por tiras de vidrio recubiertas con ácido silícico y almidón (como ligante).

En trabajos posteriores de Labat y A.L. Montes (32) agregaron a la mezcla bentonita en la proporción de cuatro partes de bentonitas por cada una de sílice. Ellos tamisaron esa mezcla por 200 mallas. Usaron espesores de 0,5 mm. (aproximadamente las 0,2 pulgadas usadas por Airchner, Miller y Miller).

//..

//..

Talcs estos autores así como Heitsam K.H. (4/) hicieron notar la gran importancia del tratamiento posterior de los strips.

Al ensayar estas fórmulas, especialmente la de Heitsam, hemos visto que es necesario para un buen empastado mayor cantidad de almidón (quizá por diferencias con el de Estados Unidos).

Hemos utilizado placas de vidrio de 20 cms. por 11 cms. (para obtener desarrollos de 15 cms. aproximadamente) Se usaron vidrios de 3 mm. de espesor, uniformes, que se comprobaba con un palmer.

La técnica seguida era: 30 grs. de sílice tamizada por 200 mallas (granos de 74 micrones) se mezclaban secos con 3 grs. de almidón bien sólido. Aun en frío se agregaban 54 ml. de agua y se empastaba todo. Luego se llevaba la masa a un baño de agua a 85° donde se agitaba hasta que se espesara (2 minutos aproximadamente). Se retiraba luego del baño y se seguía agitando, hasta que se enfriaba, agregándose luego 10 ml. de agua y continuándose la agitación.

Se procede luego a extenderla sobre las placas de vidrio con un espesor de 0,5 mm. Las placas así cubiertas son puestas en estufa a 110°C durante 30 minutos. Se las retira luego de este tiempo de la estufa y aun caliente son activadas a vacío (en presencia de hidruído de potasio). El vacío indicado por la mayoría de los autores es de 3 mm. Como esta activación trae como consecuencia una mayor separación de los componentes, se vio la conveniencia de realizar un vacío mayor. Se estableció que con un vacío de 0,5-

//..

//..

1 mm. los resultados son satisfactorios.

Como lo indican sus autores (26) el vacío debe romperse con aire seco que se obtiene haciendo pasar aire común a través de cloruro de calcio.

Los chromatoplates así obtenidos no se debían dejar al aire más de 10 minutos (tiempo que alcanza perfectamente para depositar las sustancias a revelar). Estas sustancias se colocan con una micropipeta disueltas en éter etílico que se deja evaporar al aire (30-50 γ)

Señ luego colocados en cubas previamente saturadas 2 horas con el solvente a usar. El desarrollo (15 cats.) dura aproximadamente 90 minutos. Luego se secan al aire y se revelan según el método a usar.

c) Investigación de compuestos con dobles ligaduras: el ensayo de fluoresceína bromo ya descrito resultó de gran valor para la detección de estos compuestos. Se producía el desarrollo con un corte de éter de petróleo de 60 a 70°C con 15% de acetato de etilo.

El chromatoplate luego del desarrollo y secado al aire del solvente se lo pulverizaba con una solución al 0,1 o/oo de fluoresceína en agua. Inmediatamente se les aplica una ráfaga de vapores de bromo que se obtenía al soplar los vapores de un frasco de bromo.

//..

//..

Acogida aparecen manchas amarillas sobre un fondo rosado de eosina. Hemos visto que con el fin de facilitar la observación y también para sensibilizar el ensayo es conveniente la observación del cromatoplate a la luz ultravioleta. Se destacan perfectamente así las distintas fluorescencias de la fluoresceína (amarilla) y de la eosina (rojo oscuro).

Se vio asimismo el gran número de compuestos detectables en cada esencia que oscila alrededor de cuatro, siendo aún más difícil su separación. Debido a que la gran mayoría de los componentes de los aceites esenciales tienen doble ligadura, puede verse fácilmente el gran valor de este ensayo para el estudio de los mismos.

d) Investigación de hidrocarburos: J.G. Archer, J.M. Miller y G.J. Miller (26) observaron la interesante propiedad del hexano como líquido para desarrollar cromatostrip, de arrastrar sólo hidrocarburos y no compuestos con función oxigenada. Hemos visto que resultados similares pueden obtenerse con un corte de éter de petróleo de 60-70°C. Como la gran mayoría de los hidrocarburos de los aceites esenciales son no saturados se eligió para su detección el ensayo de la fluoresceína como ya describió. Los resultados obtenidos al aplicar esta técnica a los aceites esenciales son satisfactorios, determinándose en nuestros trabajos alrededor de 2 ó 3 hidrocarburos en cada esencia.

//..

//..

e) Deshidratación: En el estudio de las reacciones que pueden practicarse directamente sobre los cromatogramas (26) encontramos que depositando una gota de ácido sulfúrico concentrado sobre la mancha luego de depositada, produce a ésta una deshidratación, que en la mayoría de los casos se traduce en la aparición de una doble línea antes no poseída. De ahí la conveniencia de realizar el revelado en estos casos con el ensayo de fluorescencia urano. La literatura (26) ya trae varios ejemplos de sustancias ensayadas.

f) La pulverización con ácidos sulfúrico y nítrico concentrados: Cuando buscábamos ensayos para revelar compuestos difícilmente detectables encontramos en la literatura dos técnicas: la pulverización con ácido sulfúrico concentrado y la pulverización con ácido sulfúrico con 5% de ácido nítrico, el posterior calentamiento a 550°C pero usando yeso como ligante. Este último ensayo de buen resultado tiene el inconveniente de que al usar yeso como ligante los Rf obtenidos tienen un valor distintos a los obtenidos por el método común, usando almidón. Hemos observado que si se realiza una pulverización con ácido sulfúrico con 5-10% de ácido nítrico v/v se ven en frío muchas manchas (alrededor de cinco) en cada esencia, presentando cada una de ellas diferente color.

Al evitarse así el calentamiento puede usarse almidón como ligante y los Rf de estas manchas observadas son del mismo va-

//..

//..

lor que en las otras técnicas, y tiene valor para efectuar comparaciones.

La pulverización debe hacerse con un aparato totalmente construido de vidrio para evitar así que estos sólidos tomen color al atacar tapones, gomas, etc. Asimismo debido a la gran caudalidad de sus vapores es necesario efectuar esta pulverización bajo una vitrina de buen tiraje.

//..

RESULTADOS

a) Aplicación de estas técnicas a los componentes de los aceites esenciales: Como ensayo de orientación para la posterior aplicación de los mismos directamente la resolución de aceites esenciales se procedió a realizar la cromatografía de algunos componentes de esencias, así como algunas mezclas de los mismos.

En la tabla de la página No.31 se dan las propiedades químicas de los componentes utilizados y en la página No.32 los contenidos con los ensayos descriptos.

Tomando como base estos resultados satisfactorios hemos elegido la resolución de algunas mezclas de ellos con resultados perfectos. Estas mezclas eran de 3 y de 4 componentes. Las mezclas ensayadas fueron (se utilizó la técnica de la fluorescencia aromo):

a) de tres componentes.

- 1) limoneno - linalol- vetiverol
- 2) geraniol- canfeno- eugenol.
- 3) terpineol- linalol- acetato de linalilo
- 4) pineno- canfeno- santalol
- 5) acetato de vetiverilo- geraniol- saírol.
- 6) vetiverol- limoneno- saírol.
- 7) cumarina- acetato de linalilo- canfeno.
- 8) terpineol, pineno- eugenol.

b) de cuatro componentes:

//..

//..

- 1) vetiveral- cumarina- eugenol- linalol.
- 2) acetate de vetiverilo- limonene- Acetate de linaline-
/cafeina.

SUSTANCIA	SERIE QUÍMICA	FUNCION QUÍMICA
Linalol	Alifática	Alcohólica
Veliverol	Terpénica	Alcohólica
Geraniol	Alifática	Alcohólica
Eugenol	Bencénica	Fenólica
Terpineol	Terpénica	Alcohólica
Acetato de linalilo	Alifática	Éster
Pulegona	Terpénica	Cetónica
Rhodinol	Alifática	Alcohólica
Santalol	Terpénica	Alcohólica
Cumarina	Terpénica	Alcohólica
Acetato de veliverilo	Terpénica	Éster
Canfeno	Terpénica	(Hidrocarburo)
Timol	Bencénica	Fenólica
Pineno	Terpénica	(Hidrocarburo)
Mentol	Terpénica	Alcohólica
Limoneno	Terpénica	(Hidrocarburo)
Cineol	Terpénica	Éter óxido
Safrol	Bencénica	Éter

COMPONENTES	R_f	METODO	COLOR
			DE LA MANCHA CON EL METODO 4
Linalol	38	1	m
Vetiverol	98	1	n
Geraniol	84	1	m
Eugenol	58	1	a
Terpineol	93	1	m
Acetato de linalilo	60	1	n
Pulegona	96	1	a
Rhodinol	90	1	m
Santalol	93	1	m
Cumarina	86	1	v
Acetato de vetiverilo	96	1	m
Canfeno	92	1	m
Timol	84	4	m
Pineno	77	1	m
Mentol	92	3	—
Limoneno	84	1	n
Cineol	97	4	v
Safrol	38	1	m

//..

APLICACION DE LOS ENSAYOS A LOS ACEITES ESENCIALES

Como paso final y continuación de los satisfactorios resultados obtenidos con los componentes puros se aplicaron las técnicas descritas a los aceites esenciales directamente. Hemos escogido 40 aceites esenciales (especialmente nacionales) de la amplia colección de los mismos del Dr. A. L. Montes. La composición y origen de estos aceites esenciales están descritas en los cuadros pág. Nos 34, al 38 (de datos obtenidos de A. L. Montes (21)).

La técnica usada consiste en disolver los aceites esenciales en éter etílico y con una micropipeta depositar sobre el chromatoplate de 30-50 gammas de cada aceite esencial. Al desarrollo y revelado se según cada técnica a seguir ya sea la investigación de componentes con doble ligadura, la búsqueda de hidrocarburos, la deshidratación o bien la pulverización con ácido sulfúrico y nítrico. El desarrollo sea de 15 cms. durante aproximadamente 90 minutos. Los resultados obtenidos están tabulados en los cuadros pags 39 al 45. En ellas se indican los Rf obtenidos para cada uno de estos ensayos, así como el número de componentes con doble ligadura, hidrocarburos, componentes revelables por la pulverización con sulfúrico nítrico, halógenos.

ANEXIATINAS

(de los cuadros Pags. 34 al 38)

- 1 - desarrollo con éter de petróleo 60-70°C con 15% de acetato de etilo y revelado con fluoresceína bromo para identificar componentes con doble ligadura.
- 2 - desarrollo con éter de petróleo de 60-70°C solamente y revelado con fluoresceína bromo para detectar hidrocarburo.
- 3 - deshidratación con ácido sulfúrico concentrado y desarrollo con éter de petróleo de 60-70 y revelado con la fluoresceína bromo.
- 4 - desarrollo con éter de petróleo de 60-70 con 15% de acetato de etilo y revelado con pulverización sulfúrico-nítrica.
- 5 - número de componentes con doble ligadura revelados por 1.
- 6 - Número de hidrocarburos detectados por 2.
- 7 - Número de componentes revelados por el ensayo 4.

<p>ESENCIA Nombre vulgar y científico</p>	<p>ORIGEN</p>	<p>COMPONENTES</p>
<p>Manzanilla</p>	<p>Prov.</p>	<p>Isobutirato de etilo, isobutil augelato,</p>
<p><i>Anthemis nobilis</i> L</p>	<p>Bs. As.</p>	<p>amil augelato, anthemol, hexano., n-butano., anthemol, azuleno.</p>
<p>Senecio</p>	<p>Nacional</p>	
<p><i>Eriophyton</i></p>		
<p>Palosanto o Guayaco</p>		<p>Guaiol (principal) sesquiterpenos</p>
<p><i>Bulnesia Sarmienti</i> Lorentz</p>		<p>Bulnesol</p>
<p>Eugenia</p>		<p>Eugenol, furfural, benzoato de</p>
<p>Uniflora</p>		<p>metilo, metil n-heptil, cetona vaini- -lina, salicato de metilo, metil n-amil carbinol, alcohol furfurilico</p>
<p>Pataguá</p>	<p>Nanuel Huapi</p>	
<p>"Camphor basil"</p>		
<p><i>Ocimum</i> <i>Kilimascharicum</i></p>	<p>Salta</p>	<p>Alicanfor (60%), eugenol (30%)</p>
<p>Naranja Dulce</p>		<p>α-limoneno (95%) α-linalilico, α-terpineno,</p>
<p><i>Citrus sinensis</i> (<i>C. vulgaris</i> Risso)</p>	<p>Misiones</p>	<p>α-linalol, α-linalilico, citral, ac. butirico, n-octico, antranilato de metilo</p>
<p>Enebro</p>	<p>Nanuel</p>	<p>Pineno, cadineno, canfeno</p>
<p><i>Juniperus communis</i></p>	<p>Huapi</p>	<p>terpineol</p>

ESENCIA Nombre vulgar y científico	ORIGEN	COMPONENTES
Cocú <i>Allophylus caudatus</i>	Nacional	
"Pichana" <i>Hetherotriplamus Spartoides</i>	Menaza	Dipenteno, acetato de mentilo
Canelo <i>Drymis-winteri</i>	Nahuel Huapi	
Pomelo <i>Citrus decumana</i> Murray	Misionero	D-pineno, α -limoneno (90-92%) linalol, geraniol, citronelal, ésteres de linalol y geraniol
Comino <i>Cuminum Cyminum</i> L.	Extranjero	Alf. cumínico, cimeno, β -pineno, dipenteno, β -felandreno
Artemisia <i>Menasiana</i>	Menaza	Estragal, mirreno, alf. p-met- -xicinámico
Pino <i>Pinus sylvestris</i>		α -pineno, β -pineno, canfeno, silvestreno
Lavanda silvestre	Prov.	Cineol, alcanfor, borneol, inanol.
Lavandula spica	Bs. As	canfeno, ácidos fórmico y acético

<p align="center">ESENCIA</p> <p><i>Nombre vulgar y científico</i></p>	<p align="center">ORIGEN</p>	<p align="center">COMPONENTES</p>
<p>Lemongrass</p> <p><i>Cymbopogon flexuosus</i></p>	<p>Misiones</p>	<p>α y β-citral, metil heptenona, citro- -nolal, geraniol, limoneno, dipen- -teno, cimeno, mirceno, linalol.</p>
<p>Perejil</p> <p><i>Carum Petroselinum</i></p>	<p>Nacional</p>	<p>Apiol (principal), pineno, miristicina, petrosilano ($C_{20}H_{42}$)</p>
<p>Menta Poleo</p> <p><i>Mentha Pulegium</i></p>	<p>Misiones</p>	<p>Pulegona (75-90%), limoneno, mentol, isopulegona</p>
<p>Menta Piperita</p> <p><i>Mentha piperita L.</i></p>	<p>Nacional</p>	<p>L-mentol, L-mentona, ac. amílico, cineol, pineno, felandreno, limone- -no, cadineno.</p>
<p>Angélica</p> <p><i>Archangelica officinalis</i></p>	<p>Nacional</p>	<p>β-felandreno, ac. metilftalacético, osthol, ostheriol, ac. hidroximiristi- co, ac. valérico.</p>
<p>Apio</p> <p><i>Apium graveolens L.</i></p>	<p>Nacional</p>	<p>Guanol, d-limoneno, d-sabineno, ac. palmítico, ac. sedanólico, ann. sedanólico, sedanolida</p>
<p>Menta japonesa</p> <p><i>Mentha arvensis</i></p>	<p>Prov. Bs. As.</p>	<p>L-mentol, neo-mentol, mentona, men- -tona, α-etil n-amil carbinol,</p>
<p>Lavanda</p> <p><i>Lavandula officinalis</i></p>	<p>Mendoza</p>	<p>α-pineno, linalol, cineol, etil n-amil- -cetona, borneol, geraniol, cumar- -ina, ac. isovalérico.</p>

ESENCIA <i>Nombre vulgar y científico</i>	ORIGEN	COMPONENTES
<i>Artemisia alba</i>	Prov. Bs. As.	Tuyona, a.c. tuyílico, felandreno, α -pineno, ac. isovalérico
Cedron <i>Lippia citriodora</i>	Prov. Bs. As.	Citral, verbenona, metil heptonona, α -citronelol, geraniol, L-limoneno.
<i>Salvia moscata</i> <i>Salvia sclarea</i>	Prov. Bs. As.	Linalol, cedreno, sabineno, citral, ac. acético
Petit grain <i>Citrus Bigaradia</i>	Paraguay	Pineno, dipenteno, L-linalol, α -terpi- neol, nerol, nerolidol, farnesol, furfural.
Romero <i>Rosmarinus officinalis</i>	Rio Negro	α -pineno, canfeno, borneol, ac. ace- tico, alcanfor, dipenteno
Laurel <i>Laurus nobilis</i>	Prov. Bs. As.	Cineol, L-pineno, felandreno, gera- niol, linalol, eugenol y éteres, ac. isobutírico, caproico.
Coriandro <i>Coriandrum sativum</i> L.	Mendoza	α -linalol, pineno, p-cimeno, dipen- teno, felandreno, geraniol, bor- neol, decanal, γ -terpineno.
Mejorana <i>Origanum Majorana</i>	Prov. Bs. As.	Borneol, α -terpineol, terpinenol, fenoles, terpineno.

ESENCIA <i>Nombre vulgar y científico</i>	ORIGEN	COMPONENTES
<i>Canela de China</i> <i>Cinamomum Casia Nacionalis</i> <i>Blume</i>		<i>Aldehído cinámico (70-85%), ald. benzoico, linalol, safrol, l-α pineno β felandreno, αipenteno, benzoato de bencilo, α y β cariofileno</i>
<i>Eucaliptus</i> <i>citriodora</i>	<i>Misiones</i>	<i>Citronelal (90-95%), citronelol, geraniol, pineno, ac. acético y butírico</i>
<i>Orégano</i> <i>Origanum vulgare L.</i>	<i>Mendoza</i>	<i>Timol, carvacrol, cimeno (17.5%) dipepteno (10.5%), geraniol, ac. acético</i>
<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i>	<i>Mendoza</i>	<i>Cineol (57%), pineno, pinocarveol, aromadendreno, eudesmol</i>
<i>Tomillo</i> <i>Thymus vulgaris L.</i>	<i>Mendoza</i>	<i>Timol, carvacrol, p-cimeno, menteno, linalol, alc. amílico, f-hexenol, canfeno, L-borneol, geraniol.</i>
<i>Peperina</i> <i>Bystropogon Molles Córdoba</i>	<i>Prov. de Mendoza</i>	<i>mentona, pulegona, α-isomentona, mentol, ac. bilásicos.</i>
<i>Vetiver</i> <i>Vetiveria zizanioides</i>	<i>Misiones</i>	<i>Vetiverol, vetivona, vetiverona, ac. vetivérico, vetiveno.</i>

ESENCIA	1	2	3	4	5	6	7
Esencia	12	5	15	10 m			
de	20	14	39	22 m			
manzanilla	35		78	35 v	4	2	5
Casilar Bs. As.	91			80 a			
				94 m			
Senecio	3	10	25	13 n			
	23	28	38	21 m			
Eriophyton	35		77	34 m	4	2	5
	95			77 m			
				98 m			
Palosanto	5	29	33	9 m			
o	10	74	48	53 v			
Guayaco	38	98	72	80 n	4	3	4
	97			98 m			
Eugenia	5	8	10	10 a			
	56	21	25	53 m			
Uniflora	98			70 m	3	2	4
				98 m			
Esencia	0	4	18	0 m			
Pataguá	10	15	28	5 v			
	77		70	12 n	3	2	4
Nahuel-Huapi	98			75 m			
				98 m			
Esencia	0	4	10	0 m			
Ocimum	23	15	21	19 a			
Kilimascharicum	67	98	33	62 n	4	3	4
Salta	85			89 m			
	98			99 m			

ESENCIA	1	2	3	4	5	6	7
Esencia	0	5	12	0 m			
	10	13	25	12 n			
Canela	33	95	90	37 m	4	4	4
de China	68	98	98	86 v			
	98			98 m			
Naranja	12	12	15	2 m			
dulce	30	23	23	14 n			
de	73	62	29	45 m	5	4	5
Misiones	85	96	42	85 a			
	98			98 m			
	10	0	14	0 m			
Cocú	72	6	20	10 v			
<i>Allophylus caulis</i>	97	21		30 m	3	2	3
				96 m			
Esencia	15	23	8	10 m			
de	39	80	19	21 v			
Enebro	75	98	80	40 v	4	3	5
Nahuel-Huapi	98			80 a			
				98 m			
<i>Hetherothalamus</i>	15	15	8	13 a			
	43	43	17	22 m			
<i>Spartoides</i>	54	55	41	41 n	6	4	5
<i>Pichana</i>	74	95		86 m			
<i>Mendoza</i>	85			98 m			
	98						
Esencia de	20	25	11	8 m			
Canelo	43	55	25	19 a			
<i>drymis-winteri</i>	82	95	86	30 a	4	3	5
<i>Nahuel-Huapi</i>	97		98	83 m			
				98 m			

ESENCIA	1	2	3	4	5	6	7
Pomelo	10	6	8	15 m			
	30	24	13	50 n			
	52	55	45	57 n	5	4	5
	74	98	64	76 a			
Esencia de Lusera	98			98 m			
	15	0	19	14 m			
	60	23	28	50 m			
	77	78	98	63 a	4	2	5
Comino (extranjero)	98			78 a			
				98 m			
	21	5	10	12 m			
	60	33	16	40 a			
	80	57	33	77 v	4	3	5
Artemisia Mendozana	89		44	82 a			
				91 m			
	12	5	8	13 m			
	24	12	12	42 n			
	76	98	23	73 m	4	3	5
Esencia de Pino	98		41	78 a			
				97 m			
	6	8	9	33 v			
	58	32	31	61 m			
Lavandula Spika Castelar	72	92	42	7A a	4	3	4
	98			98 m			
	7	0	12	9 m			
	73	12	19	53 a			
Castelar	98	20	27	74 a	3	2	5
				86 n			
				98 m			

ESENCIA	1	2	3	4	5	6	7
Lemongrass	12	29	17	14 a			
	52	30	52	54 m			
	73			70 v	5	2	5
	80			79 n			
Misiones	98			97 m			
	14	8	8	16 a			
	44	98	16	32 a			
Perejil	77		27	47 v	4	2	5
	98			78 n			
				98 n			
Poleo	11	0	10	17 m			
	48	6	24	75 a			
Menta	78	11	35	81 n	4	2	4
	98			97 m			
Pulegium							
Misiones							
Menta	10	4	7	12 a			
	70	14	11	57 a			
Piperita	98		20	64 m	3	2	4
			92	97 m			
Mendoza							
Angélica	18	14	9	7 m			
	77	45	24	67 m			
Nacional	95	98	45	37 a	3	3	5
			98	79 v			
				97 m			
Apio	10	0	7	13 a			
	50	44	26	29 a			
Nacional	62	98	31	48 m	5	2	5
	84			64 v			
	98			98 m			

ESENCIA	1	2	3	4	5	6	7
<i>Menta</i>	5	25	13	12 m			
<i>Arvensis</i>	49	35	24	25 a			
<i>Castelar</i>	73		98	52 v	3	2	5
				36 a			
				95 m			
<i>Lavanda</i>	5	40	21	0 n			
<i>de</i>	17	55	38	17 n			
<i>Mendoza</i>	62	79		65 a	4	4	4
<i>L. officinalis</i>	98	98		79 v			
				98 n			
<i>Artemisia</i>	8	0	21	17 m			
<i>Alba</i>	55	14	45	22 m			
<i>Castelar</i>	62	24	98	70 a	5	2	5
	80			31 n			
	93			94 m			
<i>Cedrón</i>	28	0	15	28 a			
<i>Prov. Bs. As.</i>	39	10	32	66 a			
	65	27		98 m	4	2	3
	98						
<i>Salvia</i>	21	12	31	20 n			
<i>Selarea</i>	62	62	60	50 m			
<i>Bs. As.</i>	74	95	98	63 a	4	3	5
	98			75 a			
				97 m			
<i>Petit</i>	45	26	14	27 m			
<i>Grain</i>	60	48	27	70 a			
<i>Paraguay</i>	80			63 v	4	2	4
	98			98 m			

ESENCIA	1	2	3	4	5	6	7
<i>Rosmarinus</i>	4	11	12	10 a			
<i>officinalis</i>	77	97	23	35 a			
Rio Negro	98			43 m	3	2	4
				79 m			
<i>Laurus</i>	12	0	9	10 m			
<i>Nobilis</i>	59	9	24	61 n			
Bs. As.	65	24	32	70 a	4	2	4
	98		98	98 a			
<i>Coriandro</i>	22	15	10	23 m			
	40	22	19	38 a			
Mendoza	79		43	81 a	4	2	4
	98			98 a			
<i>Majorana</i>	15	17	21	15 a			
<i>castelana</i>	29	39	44	28 a			
	98	98	98	74 m	3	3	4
				98 n			
<i>Eucaliptus</i>	15	0	22	14 a			
<i>Citriodora</i>	53	10	39	21 a			
Misiones	85	21		62 m	4	3	5
	98	62		86 v			
				98 m			
<i>Orégano</i>	10	31	44	10 m			
	59	44	95	60 m			
Mendoza	80	98		82 n	4	3	4
	98			98 m			

ESENCIA	1	2	3	4	5	6	7
<i>Eucaliptus</i>	21	0	13	20 a			
<i>Globulus</i>	30	12	49	34 a			
<i>Mendoza</i>	77			48 m	4	1	4
	98			98 a			
<i>Tomillo</i>	22	24	39	20 m			
	49	31	48	46 m			
<i>Mendoza</i>	98		98	67 n	3	2	5
				84 v			
				98 a			
<i>Peperina</i>	8	10	12	7 a			
	52	22	23	18 m			
	82	44	45	23 n			
<i>Prov. de Córdoba</i>	98		98	42 a	4	3	6
				84 m			
				98 m			
<i>Vetiveria</i>	23	10	6	0 a			
	50	55	13	22 m			
<i>Zizanioides</i>	62	98	22	34 n			
	98		40	62 a	4	3	5
<i>Misiones</i>				73 m			
				98 m			

//..

CONCLUSIONES

Al análisis de los aceites esenciales, muy complejo por la similitud y número de los componentes que lo integran, se le trató de aplicar la cromatografía desde hace bastante tiempo. Comenzó con la cromatografía de los componentes puros y de sus productos de reacción.

El gran valor de estos ensayos y el gran número de revelantes para las diversas funciones, descriptos, nos hizo pensar en su aplicación directa a los aceites esenciales.

Previamente realizamos ensayos preliminares con componentes puros y mezclas ternarias y cuaternarias de los mismos para determinar la aplicabilidad de los ensayos y las modificaciones más convenientes a realizar.

Los resultados descriptos resultaron perfectamente aplicables pero la fórmula para realizar los cromatoplates fue algo modificada. Se comprobó además que el hexano puede ser reemplazado en todas las técnicas sin inconveniente por un corte de éter de petróleo de 60-70°C.

De los ensayos descriptos se eligieron:

- a) El desarrollo con la fracción de 60-70°C del éter de petróleo con 1% de acetato de etilo y un posterior revelado con la técnica de la fluoresceína bromo para revelar componentes con dobles ligaduras. En las 40 esencias ensayadas se observaron un promedio de cuatro de esos componentes por esencia.
- b) El desarrollo con el corte de éter de petróleo indicado sola-

//..

11..

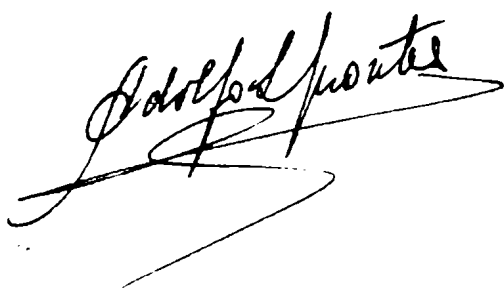
mente arrastra sólo los hidrocarburos observándose un promedio de tres por esencia (detectándoselos por la técnica de la fluoresceína bromo).

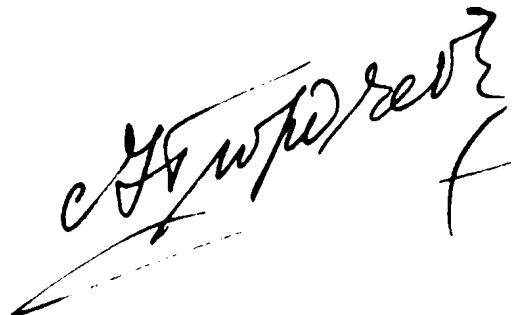
c) Deshidratación de la esencia con ácido sulfúrico concentrado en el cromatoplate mismo y posterior desarrollo con éter de petróleo (60-70°C) ; revelado con fluoresceína bromo, observándose unas tres sustancias por esencia.

d) Desarrollo igual que en a) pero revelado por pulverización con ácido sulfúrico con 5-10% de ácido nítrico v/v para detectar sustancias poco reactivas, notándose unas cinco manchas por cada esencia.

De esto se desprende la gran rapidez y sencillez con que se pueden determinar el número de componentes con dobles ligaduras, hidrocarburos y componentes en general de los aceites esenciales por cromatografía directa que por primera vez se realiza.

Este trabajo aparece como una necesidad antes de emprender el estudio de cualquier aceite esencial, pues da una visión cualitativa, rápida del número y tipo de sus componentes.





BIBLIOGRAPHIA

- (1) H. Hill- T. Williams: Nature 167, 906 (1951)
- (2) Zechmeister: Ibid 167, 405 (1951)
- (3) Strain: "Chromatographic Adsorption Analysis" Interscience Pub. Inc. 1942.
- (4) Wilson H.J.: JACS 65, 532, 1943
- (5) H.H. Strain An.Chem. 24, 356 (1952)
- (6) Arinley R.C. Barret F.C. "Practical Chromatography" N.Y. Nichols Pub. Corp. 1953.
- (7) Tiselius A. Endeavour 11, 50 (1952)
- (8) Craver F: Paper Chromatography St. Martin's Press Inc. 1954.
- (9) Clock, Le Strange, Feig: Paper Chromatography a Laboratory Manual. 1952.
- (10) H.H. Strain- T.H. Sato, J. Fogelin: An Chem. 26, 90 (1954)
- (11) Wilson H.J.: JACS 65, 532 (1943)
- (12) Weiss J: JCS Part 2, 297 (1943)
- (13) M. Gluskauf: Nature 156, 205 (1945)
- (14) M. Gluskauf: Nature 156, 748 (1945)
- (15) A.J.P. Martin & L. Singe: Biochem. J. 35, 1358 (1941)
- (16) Burns D.P. An.Chem. 25, 549 (1953)
- (17) Lapidus- Anderson H.H. J. Phys. Chem. 56, 373 (1952)
- (18) Roubaud- Valette J: J. Chim. Phys 50, 117 (1953)
- (19) Heynek- Koch & Leigsdorf: Naturwissenschaften 39, 381 (1952)
- (20) Patrige S.M. Arinley R.C.: Biochem. J 51, 628 (1952)
- (21) A.M. Montes: Products Aroniticos 1952.
- (22) Plattner- Piau: Helv. Chim. Acta 20, 230 (1937)
- (23) Alcockman - Volgers: Analyst 71, 251 (1946)
- (24) Zechmeister: "Progress in Chromatography" 1938-1947
- (25) Zechmeister- Cholnoky: Principle and Practice

of Chromatography N.Y. John Wiley & Sons 1961

- (26) J.G. Airchoer, J.A. Miller & J. Miller. An. Chem. 23, 420 (1951)
- (27) Winterstein & Stein G: Z. physiol Chem. 220, 247 (1933)
- (28) Carlson - Miller: ser 71, 858 (1938)
- (29) Spitz - Wainorath ser 70, 2272 (1937)
- (30) Golding J: Experientia 4, 270 (1948)
- (31) Lattas P. - Overell S.G. Biochem J. 44, 2111 (1949)
- (32) Stack - Dunn M: Nature 164, 673 (1949)
- (33) Airchoer - Miller: JACS 72, 1867 (1950)
- (34) J.A. White: An Chem. 20, 853 (1948)
- (35) J.D. Roberts - Ch. Green: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 18, 335 (1946)
- (36) A.L. Montes: An Assoc. Soc Arg. 42, 213 (1952)
- (37) A. Clavet - A.L. Montes: Ibid 41, 99 (1953)
- (38) Mont - A.L. Montes: Ibid 41, 166 (1953)
- (39) Airchoer - Miller: An Chem, 24, 1480 (1952)
- (40) S. Cortina - A.L. Montes An. Assoc. Soc. Arg. 42, 213 (1954)
- (41) Richard J.S. & Hall H.F.: An. Chem. 21, 185 (1949)
- (42) Flood H.L. An. Chem.: 120, 327 (1940)
- (43) Rockland L.S. and Dunn AS Science 100, 539 (1949)
- (44) Sease J.W.: JACS 70, 3630 (1948)
- (45) Casicky F - Fröhdeno; Mikrochim Acta 1, 55 (1937)
- (46) Hasey L.W. - Patterson H.W. J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 31, 139 (1948).
- (47) Heinson R.J.: An Chem. 26, 960 (1954)
- (48) Redemann C.M. Jones H.J.: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 9, 521 (1937)

Adolfo Montes

Esther Peres