

Tesis de Posgrado

Composición de la cera de Bulnesia retama : Características generales y de algunos de sus ácidos

Slovinsky, Manuel

1957

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:

Slovinsky, Manuel. (1957). Composición de la cera de Bulnesia retama : Características generales y de algunos de sus ácidos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0944_Slovinsky.pdf

Cita tipo Chicago:

Slovinsky, Manuel. "Composición de la cera de Bulnesia retama : Características generales y de algunos de sus ácidos". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1957. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0944_Slovinsky.pdf

I - 19 - 3

COMPOSICION DE LA CERA
DE BULNESIA RETAMA.

---- oOo ----

CARACTERISTICAS GENERALES Y DE ALGUNOS DE
SUS ACIDOS.

Resumen de la tesis presentada para optar
al título de Dr. en Química por Manuel - -
Slovinsky.

Res. de Tesis! 514

Buenos Aires, 1957.

RESUMEN DEL TRABAJO DE TESIS:

Bulnesia

"COMPOSICION DE LA CERA DE BULNESIA RETAMA" - "Características generales y de algunos de sus ácidos"

El polvo obtenido por apaleo de las ramas jóvenes de *Bulnesia retama* de Ampacama (Prov. de San Juan) recolectadas en primavera, fué extraído con tricloroetileno en caliente obteniéndose 71,0% de material cereo.

El polvo fué previamente purificado por extracción alcohólica. Se determinaron las constantes químicas de ese material que resultaron:

P.F. = 76 - 82°C ; I Acidez: 44,7;
 I.S. = 92,6 ; I de iodo 8,0 ;
 I. de Hidroxilo 22,6

Realizada la saponificación con H O K alcohólico se separaron laboriosamente los ácidos del insaponificable. Debió emplearse la precipitación de los ácidos como jabones de calcio y la extracción del insaponificable con benceno. Los ácidos se separaron con dificultad debiendo realizarse dos precipitaciones como jabones cálcicos y otra como jabones báricos. Se obtuvieron cuatro fracciones de ácidos que sumaban 51,5% de la cera. El insaponificable formaba el 47,9%. Se separó también 1,8% de material resinoso ácido.

Los P moleculares medios de las fracciones ácidas fueron F.1 = 308,2 ; F.2 = 430,2 ; F.3 = 388,5 ; F.4 = 403,6.

La fracción 1 luego de esterificada con metanol fué fraccionada en una columna de alúmina Brockman III/IV a 50°C eluyéndose el material con éter de petróleo, benceno-etanol (1:1) y cloroformo-ácido acético (19:1). Se obtuvieron tres fracciones; la primera constituida por ésteres de ácidos saturados fué destilada a vacío en microcolumna a 1,5 mm. de Hg.

FORN-BA^{II}

Las fracciones obtenidas, determinado el PM medio, fueron resueltas matemáticamente calculándose la composición de ácido de dicha fracción como

C16	sat.	5.01%	C26	sat.	8,41%
C18	"	17.71%	C28	"	30,65%
C20	"	8.84%	C30	"	9.90%
C22	"	7.54%	C32	"	5.31%
			C34	"	6.63%

La segunda fracción eluída por el benceno etanol estaba constituida por ésteres metílicos de ácidos monohidroxicarboxílicos de P.M. m 376,5.

La última fracción estaba compuesta por una mezcla de ácidos hidroxilados y ácidos saturados libres junto a sus ésteres.

M. Slavinsky

COMPOSICION DE LA CERA
DE BULNESIA RETAMA

---- oOo ----

CARACTERISTICAS GENERALES Y DE ALGUNOS DE
SUS ACIDOS

Tesis presentada para optar al título de Dr. en Química
por Manuel Slovinsky

Buenos Aires, 1957.

TESIS: 344

- INTRODUCCION -

Múltiples y muy variadas son las aplicaciones que se hace de las ceras en la tecnología moderna a tal punto que constituyen materia prima indispensable para determinados tipos de industrias.-

La posibilidad de depositar una película muy fina y brillante, la plasticidad, la elevada constante dieléctrica, repelencia por el agua, adaptabilidad a convertirse en vehículo de diversos principios activos, rigidez a temperatura ambiente y fusibilidad a temperatura relativamente baja, combustibilidad etc. etc. hacen de las ceras productos de valor industrial. Son suministrados por la naturaleza, dentro de los 3 reinos y elaboradas también, desde no hace mucho tiempo, sintéticamente.-

Eso provee en principio un elemento para su clasificación:

- | | |
|------------------------|-----------------------------------------|
| | (Carnauba (de Copernica ceriphera). |
| | (Ouricouri (Attalea excelsa. Syayrus |
| <u>CERAS VEGETALES</u> | ((Coronata). |
| | (Candelilla (de Tufhorbia autlayphili- |
| | (ties) |
| | (Pedilauthus pavonis, |
| | (Cera de girasol (Heliantus annus). |
| | (" " caña de azúcar (Saccharum |
| | (officinarum) |
| | (Cera de abejas. |
| <u>CERAS DE ORIGEN</u> | (Cera de insectos de china. |
| <u>ANIMAL.</u> | (Cera de goma laca. |
| | (Espermaceti. |

CERAS MINERALES

- (Ozoquerita.
- (Montana.
- (Mona.
- (Parafinas y parafina microcristalina^x.

- (Carbowax (polioxietilenglicol).
- (Hallowax (hidrocarburos altamente

CERAS SINTETICAS: (halogenados)

I.G.

- (Armorwax (Amidas elevadas).
- (Opalwax (aceites secantes hidrogenados).

x Se puede incluir si se definen las ceras más por sus propiedades físicas que por su composición química.-

Tecnologicamente interesa por otro lado su división en ceras duras y blandas (tacto, punto de fusión "grasitud" del brillo).-

DURAS

- (Carnauba, montana, ouricouri cande-
- (lilla,
- (Esparto, caranday, caña de azúcar.

BLANDAS

- (Cera de abejas, parafinas, cera de Japón.

El presente trabajo se desarrolla sobre una cera dura, vegetal de reciente aparición en el mercado argentino: cera de Bulnesia retama. La posibilidad de que este producto se sume al conjunto de las ceras que constituyen el grupo casi tradicional en este renglón, le conferiría singular importancia y eso es presumible en lo que concierne al menos, a sus propiedades generales.-

Si bién no puede considerarse un sustituto de la cera de carnauba, la de máximo valor en el grupo de las ceras, signifi-

ca de cualquier manera un recurso más de importancia en el formulado de los productos que emplean ese tipo de ceras.-

Así es que resulta posible su uso en lustres de todo tipo, (sobre la base de solventes o en emulsiones acuosas), en papeles carbónicos, en cosmética, lápices dermográficos, tintas etc.-

La cera aparece depositada como un polvo fino sobre las ramas jóvenes de la *Bulnesia retama*. En el presente trabajo se describe la forma en que se ha retirado del vegetal y ha purificado y extraído la cera.

Se determinan propiedades físicas y químicas, finalmente se separan los ácidos grasos que contiene, los que se estudian.-

---- oOo ----

EL VEGETAL

La *Bulnesia retama* (gill ex. Hook) Griseb es una Zygothallaceae que se dá en nuestro país en las provincias de Catamarca, La Rioja, Córdoba, Mendoza, San Luis, San Juan.-

Ha sido descripta por Lourteig O'Donnell y Descole (1) "Arbusto o árbol bajo (5 m) espáitioideo, tronco grueso, corto y ramas gruesas cilíndricas y poco ramificadas, cuando jóvenes con pubescencia adpresa, luego glabrescentes y entonces cubiertas de una capa blanquecina que se pulveriza al tocarla; intermedios 3 10 cm. Las hojas 2 - 4 yupas, folíolos (hasta 3 - 5 mm.) oblongos, mucronulados, con pubescencia adpresa; estas hojas solo se encuentran en las ramas muy jóvenes, siendo difícil hallarlas ya en la floración.-

Estípulas dos (hasta 2 mm.) ovoideas, agudas, Flores en dicasios bifloros, aparentemente sobre las ramas axilares laterales; pedúnculos pubescentes (6 - 8 mm.); sépalos (más o menos 5 - 7 x 3 - 6 mm.) casi glabros con escasos pelos regularmente distribuidos; pétalos (7 - 8 x 4 - 5 mm.) obovoideos. Estambres

(1 cm.) con escamas desiguales, carnosas, soldadas apenas en su cuarto inferior, incisas en su parte media con lacinias cortas internas y presentando dos en un lado y una en el otro, que superan el borde de la escama. Pistilo más largo que los estambres y la corola. Ovario fusiforme (6 mm.) glabro, 5 - alado, sostenido por costado ginécóforo; estilo (3,5 - 4 mm.). Fruto cápsula 5 - alada (3 x 2,5 cm.). Semilla oblongo seniforme (9 x 3 mm.)
Nombre vulgar: retamo.-

Bulnesia macrocarpa Phil es lo mismo que *Bulnesia retama* (gill ex Hook) Griseb, cuya descripción fué hecha sobre material argentino (Mendoza) y no chileno como se ha creído por error. La diferencia indicada por Philippis la de tener folíolos muchos más grandes, pero en realidad, según hemos podido constatar ese carácter se modifica de acuerdo con las condiciones del medio y época del año en que se realice la recolección. En general, el material florífero o fructífero carece de hojas porque ellas son caducas, en cambio el estéril suelo presentar hojas con folíolos bastantes grandes. Difiere de *Bulnesia Chilensis* Gay por sus frutos mayores".-

La *Bulnesia retama* presenta variaciones en tamaño en los diversos lugares en que crece (2) y parecen existir indicios de variabilidad en las propiedades de la cera según el lugar de cosecha.- Nosotros hemos verificado algunas diferencias en punto de fusión e índice de acidéz, de muestras provenientes de distintas zonas.-

Origen y recolección del material

El material que se ha estudiado proviene de Ampacama en la Provincia de San Juan. Ramas jóvenes fueron cortadas en Primavera y secadas al ambiente durante 30 días, después de lo cual se obtuvo por apaleo y sacudimiento un polvo grisáceo con partículas de origen vegetal y mineral.-

Por pasaje a través de un tamiz se elimina la materia extraña de mayor tamaño. En el polvo así obtenido se verificó un 73,9 % de material extraíble con tricloroetileno (Soxhlet) y 1,28 % de humedad y volátiles (constancia de peso a 110° C (en estufa).-

RESULTADOS - DISCUSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL

E X T R A C C I O N

El polvo cereo fué sometido a los siguientes procesos tendientes a la extracción de la cera:

1) La simple ebullición con agua (método para cera de raffia (3) candelilla (4) mirto (5) da como resultado la formación de una ~~masa~~ que incorpora mucha agua e impurezas y de la cual es imposible separar mecánicamente la cera.-

2) Ebullición con agua acidulada. Luego de una ebullición de 10 minutos se dejó reposar, con lo que, por enfriamiento, solidificó una capa superior de cera y sobre el fondo del recipiente se depositaron las impurezas, quedando el líquido coloreado de un pardo regularmente intenso.-

Retirada la capa de cera se observa en su cara inferior una zona de emulsión e impurezas adheridas que es posible retirar mecánicamente.-

En este principio (separación de la cera en medio acuoso ácido) es que se basa el tratamiento industrial de elaboración.-

3) Considerando que la extracción directa del polvo cereo con solventes que aseguren la total extracción de la cera (tricloroetileno, tetracloruro de carbono, benceno) también retiran principios contenidos en la fracción vegetal que impurificarían la cera, se trató de retirar éstos primeramente, antes de la extracción cerea. Para ello: se extrajeron a 50° C con etanol al

40 % obteniéndose un filtrado de color pardo regularmente intenso, que corresponde a 2,03 % de material soluble referido al polvo original. Su aspecto es blando, adherente y de color pardo obscuro.-

Una extracción posterior con alcohol al 95 % en frío separó un 1,62 g.% de un material verdoso de aspecto cereo, aunque adherente al tacto.-

El residuo de estos 2 tratamientos sometido 15 horas a extracción, en Soxhlet, con éter de petróleo (60° - 70°C carrera de destilación) extrajo 65,5 % g. de una cera dura de color claro P.F. 72 - 81°C, P.Sol. 70°C. Sobre el mismo material, que se sospecha contiene aún cera, se realizó una extracción con tricloroetileno que duró 8 horas.-

El material cereo soluble en tricloroetileno correspondió a 4,88 % del polvo original su carrera de fusión fué de 85-86,5°C, P.Solidif. 83°C.-

El residuo de los tratamientos extractivos, observados microscópicamente reveló la presencia de material vegetal y mineral (arena).-

El ensayo anterior demostró la existencia de una cantidad grande de materiales extraños no cereos en el producto original. El doble tratamiento con alcohol separó impurezas resinosas mientras la extracción con éter de petróleo (60° 70°C) demostró ser inefectiva. Consecuencia de ello, en la obtención del material de estudio efectivo se partió de un kilogramo de polvo original que se purificó con alcohol caliente (50°C) al 40% y alcohol 96°C en frío. La substancia restante se extrajo directamente con tricloroetileno caliente en Soxhlet durante 60 horas. El rendimiento obtenido alcanzó la cifra de 71,0 %.-

Cuadro I - Constantes físicas y químicas.

Punto de fusión (capilar cerrado): 76° - 82°C			
Punto de resolidificación 69,5° - 71°C.			
Indice de refracción	87,5°C	1.4437	$n_{\frac{87,5}{D}}$
"	"	1.4452	$n_{\frac{82,8}{D}}$
"	"	1.4448	$n_{\frac{84}{D}}$
"	"	1.4445	$n_{\frac{84,8}{D}}$
Indice de acidez:	44,7		
Indice de saponificación:	92,6		
Indice de hidroxilo:	22,6		
Indice de iodo (Hanus):	8,0		

De entre estos valores llama la atención el elevado índice de acidez, que no se observa en las demás ceras corrientes.

Los productos coloreados que se elaboran en base a ceras tales como las cremas para calzado, emplean anilinas que son de naturaleza básica y que requieren como proceso previo a su uso la salificación con ácidos grasos de larga cadena de Bulnesia retama disuelve a estas anilinas básicas fácilmente haciendo que ellas desarrollen todos sus posibilidades colorantes sin el añadido de ácidos extraños lo que presumiblemente obedece a la salificación con los propios ácidos de la cera.-

En la tabla siguiente damos algunos valores correspondientes a otras ceras junto a los de Bulnesia retama:

	Carnauba	Candelilla (x).	Montana (Riebec (x))	Curi-couri (x)	Cera de abejas (x)	B. retama	
						(2)	Esta experiencia (Ampacama)
Punto de fusión °C	78-85°	64-71°a 74-80°b		84,3°	62-65°	76-78°C	76°-82°C
Peso específico a 15 °/4 C	0,990 1,008	0,9416-1.002a 0,9473-0.9587b		1.0685			
Indice de Acidez.	40-9,7	8.9-21 a 0.32-0.03b	22,7	23,8	16,8-35,8	49,1	44,7
Indice de iodo	7-14	12.9-36.8a 5-6 b	13,9	7,1	6,8-16,4	4,9	8,0
Indice de Acetilo.	54,8- 55,2					16,17	22,6 (I.d/Hidrox.
Indice de Saponif.	79-87	46,7-67 a 104 -108b	59,4	85,3	89,3-149	87,9	92,6

CUADRO II Constantes de diversas ceras

- a) de *Pedilanthus pavonis* (x) Valores límites tomados de
 b) de *Euphorbia antysiphilitica*. Bibliografía recopilada por Warth (3).-

Los valores de estas propiedades registrados en la bibliografía denotan una variedad muy grande atribuible en principio a los diferentes lugares de extracción, distintos métodos y diferentes técnicas para la determinación de las constantes. Sin duda alguna el lugar de origen del producto es un factor preponderante en esta variación, de la que, seguramente, no está exenta la cera de *Bulnesia retama*.

Su temperatura de fusión es algo inferior a la de la cera de carnauba y más elevada que la de la candelilla.- En la industria, del punto de fusión suele hacerse una cuestión de peso y en

este sentido la cera de B. retama es satisfactoria.- Creemos que se repara en el P.F. esencialmente por su aproximada relación con la dureza.-

Una cera de baja P. F. es blanda y generalmente de menor valor económico (técnicamente es muchas veces necesaria una cera blanda, y no puede reemplazarse por una dura). En cuanto a punto de fusión elevado el criterio es relativo; han circulado en el mercado argentino ultimamente algunas ceras sintéticas que fundían arriba de 100°C pero eran técnicamente muy pobres. Junto a la elevada acidez libre de esta cera, encontramos también una - apreciable cantidad de ésteres.-

El índice de hidroxilo encontrado respondería esencialmente a alcoholes libres o hidroxiacidos. Según se verá más adelante, éstos últimos se hallan presentes en la cera.-

El índice de iodo es bajo como acontece con las ceras en general.-

Separación de Acidos grasos e insaponificable

En la separación de los ácidos grasos e insaponificable se obtuvieron de 234,9 g de cera:

Acidos	Insaponificable	Residuo resinoso ácido
121, 1 g	112,6 g	4,2 g
51, 5 %	47,9 %	1,8 %

En una primera experiencia se realizó la saponificación según la técnica de Murray y Schoenfeld (8) para cera de Carnau- ba calentando a reflujo con potasa alcohólica en presencia de éter de petróleo (P.F.:90-100°C) durante 24 horas. Se trató de extraer el insaponificable con éter de petróleo en caliente, pre vio agregado de agua. Este método que según los autores menciona-

dos resulta conveniente para cera de Carnauba resultó infructuosa para nuestra cera quedando la mayor parte de los jabones englobados junto a los alcoholes en la fase eterea. Este resultado es lógico debido a la baja solubilidad de los jabones de peso molecular elevado en un medio hidroalcohólico.-

En una segunda experiencia, se realizó luego de la saponificación una precipitación de los ácidos como jabones cálcicos (22,23) extrayéndose el insaponificable con benceno en un Soxhlet. En esta técnica se siguió un trabajo posterior de Murray y Schoerfeld (14) aplicado a la separación de los dioles, de la cera de Carnauba.

Se obtuvieron varias fracciones:

Fracción 1:

Proveniente de la recuperación de los jabones disueltos en la fase hidroalcohólica resultante de la saponificación.

Fue purificado por precipitación cálcica y eliminación del insaponificable con benceno en Soxlet obteniéndose de ácidos totales 12,0 g (9,91 %). Es una fracción pastosa de bajo punto de fusión lo que indica la presencia de ácidos de bajo peso molecular. Todo ello está de acuerdo con lo supuesto a priori dado que solo son extraíbles en medio hidroalcohólico los jabones de ácidos de bajo peso molecular. Al descomponer las sales de esta fracción apareció una substancia no identificada de aspecto resinoso gris (4,20).-

Fracción 2:

El material disuelto en el éter de petróleo fue precipitado como jabones de calcio en medio alcohólico de 96° y extraído con benceno, una vez seco, Los jabones así purificados fueron acidificados y de ellos fue recuperado 68,0 g. de ácidos (56,15% de ácidos totales).

Fracción 3:

Separada la fracción 2 con ácido queda en el material ácido remanente una emulsión sumamente estable que fué trabajosamente extraída con benceno y que constituyó la fracción 3 (35,0 g.) (28,90 % de ácidos totales).-

Fracción 4:

El insaponificable extraído por el benceno en el Soxhlet contenía todavía jabones incluidos y su separación fué realizada por una nueva saponificación y precipitación como jabones de bario obteniéndose 6,1 g. de ácidos (5,04% de ácidos totales). Su índice de saponificación fué 139,0 y su P.M. promedio 403,6.-

Cuadro III Características de las fracciones de ácidos

Fracciones	P.F.(°C)	I S(9)	E.de Sap.	I.I.	I.de Hidr.
1	68,5 - 72,5°C	182,0	308,2	10,4	44,8
2	85°C	130,4	430,2	1,4	0
3	85 - 90°C	144,4	388,5	0	0

En el cuadro III están dadas las características de las fracciones obtenidas.

Los índices determinados en cada una de las fracciones demostraron la presencia de ácidos puros libres de insaponificable. En la fracción 1 pudo demostrarse la presencia de un porcentaje elevado de ácidos hidroxilados (I. hidrox 44,8) no hallándose dichos ácidos en las fracciones subsiguientes. Es necesario señalar que los índices de hidroxilo estimados en un material constituido por ácidos puros es mucho menos exacto que el deter-

minado en un material neutro. Tal error puede provenir de dos causas:

a) De que la cantidad de álcali gastado correspondiente a los hidroxilos sea mucho menor que la cantidad usada en la neutralización de los grupos ácidos. Tal cosa es significativa para índices de hidroxilo muy bajo.

b) De la existencia de ácidos hidroxilados que forman ésteres internos o estóolidos por efecto del calentamiento y que liberan - grupos ácidos titulables al romperse dichas uniones en el proceso de acetilación. Dicho grupos ácidos esterificados internamente no son titulables como ácidos libres en la determinación de índice de acidez.

El primer caso a llevaría a datos erráticos. El segundo caso b daría resultados inferiores al real. Sería de cualquier manera conveniente investigar el comportamiento de los estóolidos y lactonas de los ácidos hidroxilados en la determinación del índice de hidroxilo y si realmente estos son acetilados normalmente.-

Fraccionamiento de los ácidos de la fracción 1.

Los ácidos de la fracción 1 de punto de fusión inferior en más de 10°C a los de las otras fracciones no solamente difieren en magnitud molecular sino que por ser hidroalcohólico salubles deberán poseer una mayor concentración en hidroxiácidos. Tal por lo menos hace suponer su comportamiento y su índice de hidroxilo elevado.-

Esterificación.

Se esterificaron los ácidos con metanol y para aumentar el rendimiento de por sí bajo para ácidos de peso molecular elevado se aplicó la técnica de Murray y Schoenfel que deshidrata continuamente las sustancias raccionantes por medios de SO_4Mg anhidro colocado en un dedal de un Soxhlet.

El rendimiento de esterificación fué bajo aproximadamente 82,4 % una cierta parte del material ácido no esterificado fué eliminado por lavado con solución de CO_3Na_2 al 0,5 %.-

Pero esta extracción no se completó debido a las emulsiones formadas en los líquidos de lavado. Estas emulsiones formadas principalmente por micelas de jabones sódicos insolubles - fueron reextraídas con benceno y centrifugadas.-

La determinación del índice de saponificación demostró que este material ácido no esterificado (IS 181,1) era practicamente igual al original (IS 182,0) no habiendo aparentemente tenido lugar ningún fraccionamiento.-

Cromatografía.

Para separar los ésteres de hidroxiacidos de los ésteres de ácidos normales y los ácidos no esterificados se cromatografiaron los ésteres obtenidos en una columna de óxido de aluminio (actividad III/IV de Brockmann), la columna de termostatóizó a 50°C. El material se disolvió casi totalmente en éter de petróleo (60-80°) y solo una pequeña porción permaneció insoluble a. Dicho material fué de baja acidez y equivalente de saponificación similar a la fracción c. Por falta de material (0,387 g) no se pudo determinar el índice de hidroxilo.-

Es muy probable que esta fracción esté constituida por estóridos parcialmente metilados, que por su mayor magnitud molecular resultan insolubles. Tal suposición está de acuerdo con - observaciones de Murray y Schoenfel (16).

El material absorbido fué eluido selectivamente, primero con éter de petróleo luego con benceno-etanol (1:1) y finalmente con Cl_3CH acético (19:1). En esta forma y según Murray y Schoenfeld (16) el éter de petróleo separó los ésteres ácidos grasos (fracción a) el benceno-etanol los ésteres de ácidos hi-

droxilados (fracción c), y el cloroformo-acético los ácidos libres fuertemente fijados por el óxido de aluminio (fracción e).

Las características de las fracciones obtenidas están detalladas en el cuadro IV. La fracción a fué estudiada por destilación según se verá más adelante.

La fracción C. es neutra y en ellas se observa una relación de índice de hidroxilo a índice de saponificación igual aproximadamente a 1 lo cual hace suponer que la misma está formada por ésteres metílicos de ácidos monoalcohólicos monocarbóxicos de peso molecular promedio 376,5 es decir correpondiente a un número de carbonos promedio entre 22 y 24.-

La presencia de ácidos hidroxilados en ceras ya fué señalada por diversos autores. En la cera de carnauba, Murray y Schoenfeld (16), en 1955 pudieron reconocer e identificar ácidos ω hidroxilados con número par. de átomos de carbono que van desde 18 hasta 30.-

CUADRO IV

CARACTERISTICAS DE LAS FRACCIONES CROMATOGRAFICAS

Fracción	P.F. (°C)	I.I.	I.Acidez	I.Sapon. E. , de Sap.	I. Hidrox.
Acidos de fracción 1.	68,5-72,5°	10,4	--	182,0 308,2	44,8
Material no esterificado de frac. 1.			87,2	181,1 309,7	
Material no disuelto en éter de petróleo.			24,5	150,3 (?) 379,2 (?)	
a	61-61,5°	1,98	0	140,9 398,2	0
c	52,5°	--	0	149,0 376,5	139,9
e	67-68	--	137,6	205,3 273,2	55,5

ácidos ω hidroxilados también fueron reconocidos en varias ceras de coníferas por un conjunto de autores algunos ya en 1909 (Bougault y Bourdieu (18) y otros posteriormente (Fuyita y Yoshihawa (19)).

Estas sustancias no dan **lactonas** pero si forman estó-
lidos fácilmente, en medio ácido suave (Jensen (20) Los γ y δ
hidroxiácidos por pérdida de agua interna dan lactonas y una mi-
risto lactona según Narth (3) ha sido señalada en cera de abeja.
En cera de candelilla M. Meyer y A.Eckerd (2) en 1919 señalaban
la presencia de una lactona de un ácido dihidroxilado de 30 C.

Los α y β derivados no dan lactonas.

En nuestra fracción debido a su poca cantidad no pudie-
ron realizarse investigaciones posteriores para dilucidar magni-
tudes moleculares y posición de hidroxilos.

La fracción e; bastante abundante, fué fuertemente fi-
jada por la alúmina lo cual hace suponer un carácter ácido con-
firmado por el índice de acidez elevado.-

Esta fracción presenta un índice de hidroxilo de 55,5
un índice de acidez 137,6 y un índice de saponificación 205,3
la diferencia entre índice de saponificación y acidez señala la
presencia de grupos -COOH combinados (índice de éster 67,7) en
una tercera parte.-

La magnitud molecular es baja y no nos encontramos aho-
ra con el mismo tipo de productos que en la fracción c.

El origen de estos ácidos puede ser variado ; 1) subs-
tancias ácidas no metiladas o parcialmente metiladas en el proce-
so de metilación debido a la formación de estó-
lidos, en este caso serían hidroxiácidos. La metilación o ruptura de estas unio-
nes estó-
lido en la columna liberaría los ácidos; 2) Simplemente
algo de ácidos no metilados y no extraídos por el precario lava-
do con carbonato de sodio 0,5 % en la preparación de los ésteres

metílico; 3) Demetilación en la columna de ésteres metílicos.

No queremos entrar a discutir la relación de los diversos índices en el cálculo de su composición porque tendríamos que realizar demasiadas suposiciones. De cualquier manera entre 1/3 y 1/4 parte por lo menos de sus componentes son hidroxiácidos.-

Composición de la fracción a

En la determinación de la composición en ácidos grasos de los ésteres de la fracción a se presentó un doble problema: la pequeña cantidad presente (3,458 g) y el alto peso molecular de los mismos. Debido al alto peso molecular de los componentes se desechó la utilización de columnas con material de relleno tracionales porque la caída de presión en la comuna pese a trabajar a vacíos de 0,5 mm. de Hg. es tan elevada que las temperaturas de calentamiento resulta demasiado alta y provoca el cracking de los ésteres.-

Era necesario que el valor en vacío aplicado en la cabeza de la columna fuera igual en el recipiente inferior de calentamiento y con ello al no haber caída de presión a lo largo de la columna permitiera obtener temperaturas mucho más bajas de calentamiento.-

La columna adecuada para tal fin pese al bajo número de platos y en ausencia de una columna rotatoria, resultó ser el micro modelo usado por el J. Lovern de Torry Research Station. La columna sólo poseía 10 cm. de altura y su único material de relleno lo constituía una espiral de cobre de 7 cms. Con este equipo consiguieron usarse temperaturas de 340°C sin señal de cracking, cuando el vacío fué de 1,5 mm. de Hg.

Se separaron cinco microfracciones y un pequeño residuo en las que se determinaron los índices de saponificación. La primera fracción fué líquida, la segunda, semilíquida a temperatura

ambiente y todas las otras sólidas. De acuerdo al equivalente de saponificación se calcularon las fracciones como formadas por mezclas binarias de ácidos de número par de átomos de carbono que iban desde C16 a C30.-

Faltaba sin embargo C24, lo cual puede ser causa de que la fracción 4 recogida fué bastante voluminosa. Sin embargo, de cualquier manera, y teniendo en cuenta los índices obtenidos, la cantidad que posiblemente pudiera existir es pequeña. El equivalente de saponificación del residuo fué muy elevado, 534,8 y por ello se consideró la necesidad de eliminar el posible material insaponificable que contenía. La dificultad de su extracción fué obviada precipitando los ácidos como jabones béricos y extrayéndolo con benceno en un Soxhlet, 30 horas.-

La determinación del índice de saponificación en los ácidos recuperados dió un valor más bajo (I S 113,1; Eq.sapon. 496,0 Eq. Sap.ésteres 510,0) y de él se calculó la presencia de 0,020 g de insaponificable. El residuo se resolvió matemáticamente como una mezcla de ésteres ácidos en C₃₂ y C₃₄.-

La composición en ácidos totales calculada para la fracción a está detallada en el cuadro VI y la misma es resultado de un cálculo matemático de la fracción de destilación en el que supusieron ácidos de número par de átomos de carbono, saturados

Probablemente los mismos sean de cadena normal. En estos ácidos predominan los de C₂₈ luego en orden de importancia C₁₈ y C₃₀. La reconstrucción de los valores del índice de saponificación en base a los valores de las fracciones de destilación y el obtenido para la fracción a fué muy buena (I S reconstruído de a = 145,9 I S hallado 145,0).-

La reconstrucción en cambio para la fracción 1 en base a los valores hallados en las fracciones cromatográficas fué muy mala. El equivalente de saponificación de 1 es muy inferior al obtenible por reconstrucción.-

PARTE EXPERIMENTAL

1 Métodos Analíticos

Índice de refracción Se determinó empleando un refractómetro de Abbe en el que se hizo circular agua caliente por sus prismas. Las lecturas se hicieron a 87,5°C; 82,8°C y 84,8°C de donde se sacó por cálculo el índice a 84°C.-

Índice de acidez

La cera no es totalmente soluble en alcohol etílico ni aún a la temperatura de ebullición. El añadido de toluol determina la solubilización total en caliente y esa mezcla admite una cierta proporción de agua.

Se disolvieron 8 gs. de cera en 140 cc. de etanol - tolueno 1;1 previamente neutralizado. Se tituló con HON_2 0.5N, en caliente, empleando fenolftaleína como indicador.

Dos determinaciones dieron: 44,9 y 44,6. Para microcantidades de ácidos grasos libres y ceras se utilizó un método similar en microescala (0,5 g.) pero titulando con HON_2 0,1N acuoso.

Índice de saponificación.

a) Se intentó determinar este valor, empleando analogamente a lo que se hizo con el índice de acidez, solución en tolueno-etanol. 10 gs. de cera en: 50cc. de HOK etanólica 0,5N (etanol libre de aldehidos) y 50 cc. de toluol, 6 hs. de ebullición y posterior neutralización con ácido clorhídrico 0.5N y 1 cc. de solución de fenolftaleína como indicador en caliente, previo añadido de 100cc de etanol, obteniéndose los siguientes valores: 82,6 - 94,0 - 78,5 análogas condiciones con 11 hs. de reflujo dieron los siguientes resultados: 92,0 - 80,3 - 101,6.-

La falta de reproducibilidad hace impropio el método. En todos los casos se observó, en el curso de la reacción la separación de productos insolubles que fundamentalmente se adherían a las paredes del erlenmeyer y eran luego muy difíciles de retirar

b) Se procedió a emplear entonces el siguiente método:

8 gs. de cera en 50cc. de HOK etanólica 0,5N, 50 cc. de propilenglicol 25 cc. de xilol y antes de titular en caliente se añaden 100 cc. de etanol y 1 cc. de solución de fenolftaleina como indicador. Retorno con HCl 0.5N, calentando ocasionalmente durante la titulación para mantener la solubilización al máximo. Se hirvió a reflujo durante 3½ hs: 87,8
6½ hs: 91,4 y 91,3
10 hs: 92,6
11 hs: 92,6

La temperatura de ebullición de la mezcla solvente es aproximadamente 94°C.-

Como es dable observar los valores son satisfactoriamente reproducibles y ascendentes hasta las 10 hs. de reacción, que debe considerarse el tiempo de reflujo en estas condiciones.

c) Para ácidos libres o ésteres en pequeña cantidad se utilizaron dos micrométodos.

C') Acidos grasos de bajo P M.: (hasta C₂₂).

Se utilizó una modificación del método usado por el Dr. J. A. Lovern en el Torry Research Station de Aberdeen. Cantidades del orden de 0,5 g o menos fueron saponificadas con 5 ml de HOK 0,5 N alcohólico durante una hora protegiendo el refrigerante con cal sodada. Al final de la hora se agregaron 60 ml de alcohol etílico de 96% neutro y caliente titulando con ClH 0,1 N y fenolftaleina como indicador. Se obtuvo un viraje neto.

C'') Acidos grasos de P M mayor a C₂₄

La insolubilidad en alcohol etílico obligó a saponificar los 0,5 g de muestra con 5 ml. de HOK 0,5 N etanólico en presencia de 5 ml de propilenglicol neutralizado y 2,5 ml de xilol. Se procedió luego en forma similar a C'.

Indice de iodo

Se procedió a su determinación por el método de Hanus con la sola diferencia en el tiempo de reacción que se llevó a 3 hs. en lugar de 1/2 hora.

Se pesa aproximadamente 1,5 g. de cera que se disuelven en caliente en 20 ml de cloroformo. Se enfría y añade 25 cc. de reactivo de Hanus. A las 3 horas de mantener todo en la oscuridad, se añaden 10 ml de solución de I K al 10 % y 100 ml de agua, titulando con tiosulfato de sodio 0,1 N.

Los resultados obtenidos fueron: 8.17 - 8.03 - 7.93.

Los valores indican una discreta reproducibilidad pero consideramos que hay, sin embargo, un factor de incertidumbre: la determinación se hace a temperatura ambiente; en esas condiciones, la cera, que estaba totalmente disuelta en cloroformo a cierta temperatura, separa algunas fracciones al enfriarse la solución y en estas, la adición de iodo es ínfima si es que existen dobles ligaduras. El dato será representativo de la no saturación en el total de la cera, si todos los compuestos etilénicos se hallan en la fracción que permanece soluble.-

En las fracciones ácidas, para determinar el índice de iodo se empleó un micrométodo. (John A. Lovern, Torrey Res. Station (10)).

Se tomaron 0,050 gr. de cera en un erlenmeyer de 150 cc con tapa esmerilada, y se disolvieron en caliente con 4 ml. de cloroformo. Una vez frío se añadió 5 ml de solución de Hanus y dejó de 30 minutos a 1 hora en la oscuridad.

Se agregaron luego 4 ml de I K al 10% y tituló con $S_2O_3Na_2$ 0,25 N recién preparado utilizando 1 ml de solución de almidón al 1% como indicador.

Indice de hidroxilo.

Su determinación se basa en la acetilación de la cera con

un exceso de anhídrido acético y dosaje de ese exceso. Se utilizó la modificación del método original de West efectuadas por Ogg Porter y Willitis (11) y la posterior modificación de Findley y Brown (12).-

Se efectúa la acetilación con solución de anhídrido acético en piridina e hidroliza luego el exceso del primero con solución de agua en piridina lo que tiene por objeto mantener en solución todos los productos que intervienen (por añadido de agua pura habría precipitaciones con la consiguiente desventaja).

Reactivos:

- Solución 10% de anhídrido acético (fraccionado en columna Vigreux recogiendo la fracción 138 - 141°C) en piridina deshidratada azeotropicamente (13) conteniendo 0.02% de agua (por método volumétrico de Karl Fischer).-
- Solución 10% de agua en piridina pura.
- Potasa alcohólica 0.5N.
- Butanol-tolueno 1;1.

Técnica

Se pesaron aproximadamente 0,5 gr. de cera que se colocaron en un erlenmeyer de tapa esmerilada de 150 cc., se añadieron 5 ml de solución acetilante y calentó en baño maría durante una hora mojando el tapón con piridina para evitar fugas posibles de anhídrido acético, a ese efecto también se aplicó ligera presión sobre el tapón durante el calentamiento.

Después de la hora de calentamiento se enfrió el erlenmeyer para preservar el contenido de anhídrido acético al destapar y se añadió 25 cc. de solución hidrolizante. Se volvió a calentar en la misma forma durante 10 minutos a partir del momento en que se observó disolución total con una fase única transparente. Se volvió a enfriar para que no haya ahora pérdidas de ácido acético y

añadió 60 ml de butanol-tolueno 1:1 - Se comenzó a titular en frío con potasa etanólica 0,5 N empleando fenolftaleina como indicador (el líquido es heterogeneo por presencia de fracciones insolubles en frío pero no se calienta aun para no perder ácido acético); cuando se llega a neutralidad en frío se calienta con lo que hay disolución total y se termina de titular. Se realiza paralelamente un ensayo en blanco.

La diferencia entre la titulación del blanco y del ensayo corregido éste por la acidez propia de la cera, corresponde al ácido acético combinado con la cera de la que puede calcularse los mg de HOK necesarios para neutralizar el ácido acético combinado con 1 gr. de cera original (índice de hidroxilo).

Los valores obtenidos fueron: 23,5 - 23,3 - 21,4 - 22,1.

2 - Fraccionamiento de la Cera

1ra. Saponificación

Se saponificaron 250 gr. siguiendo trabajos sobre cera de carnauba efectuados por Murray y Schoenfeld (8,14) con una solución de 55 gr de HOK (85%) en 1 litro de etanol de 96% y 500 cc. de éter de petróleo destilado entre 90° y 110°.-

Se hirvió a reflujo, en baño de aceite (temperatura entre 100 y 110°) durante 22 horas. A poco de comenzar el proceso se observó la separación, de un insoluble adherido a la pared. Al cabo de las 22 horas se transfirió el material a un erlenmeyer de 4 litros arrastrándose con 600 cc. de agua caliente el depósito oscuro que se ha formado y lavando así el balón. Se agitó luego mecánicamente manteniendo sumergido el erlenmeyer en agua a 65° durante 10 minutos. Al cabo de 20 minutos se notó la separación neta de dos fases: una superior etérea y una inferior hidroalcohólica que contendrían respectivamente el insaponificable y los ácidos grasos, aunque llamó la atención el gran volumen de la fase etérea que debiera ser igual a 600 cc más el volumen de la fracción

insaponificable a los 250 gr. de cera. La capa eterea fué separada en caliente por succión.-

Se efectuaron luego 8 lavados de la capa hidroalcohólica con 200 cc cada uno de éter de petróleo (90°-110°) en caliente (baño a 65°C) agitando mecánicamente durante 10 minutos y dejando reposar otro tanto. Se produce separación neta y rápida de las capas líquidas. Las etérea, que en el primer lavado era bastante coloreada fué siéndolo menos en los sucesivos lavados hasta que en el último fué prácticamente incolora. Los lavados etéreos fueron incorporados a la fase etérea inicial.-

Quedó así un líquido hidroalcohólico exento de insaponificable en el que debe suponerse según Murray y Schoenfeld se halla la mayor parte de los ácidos grasos, lo que no ocurre como se verá más adelante.

Todos los líquidos etéreos reunidos se intentaron lavar con 200 cc. de alcohol etílico 40% en caliente, pero se observó, después de su agregado, la permanencia de una fase única transparente. Se añadieron 200 cc. más de alcohol 40% y el líquido se volvió ligeramente turbio, pero no se observó aún separación de fase hidroalcohólica. Se agregó finalmente 10 cc. de HOK acuoso 50% en peso y después de agitar, separó por reposo una capa inferior hidroalcohólica que se retiró, como anteriormente, por succión. Fueron aproximadamente 250 cc. Es de suponer que la necesidad de añadir potasa al medio disminuye la eficacia de los lavados del insaponificable tendiente a eliminar los jabones que pudiera contener.

Se intentó un segundo lavado del insaponificable en solución con 200 cc. Alcohol 40 % en caliente y tampoco se observó ahora separación de fases. Al añadir 3 cc de HOK 50% y agitar se formó en reposo, una fase inferior turbia que se retiró. Se hicieron 3 lavados más de la solución de insaponificable con alcohol 40%,

en caliente siempre, con resultados aleatorios. Todos estos lavados se recogieron independientemente y en ellos se separó una fracción etérea que se volvió al insaponificable. Los lavados hidroalcohólicos se lavaron entonces con éter de petróleo como indica la técnica de Murray y Schoenfeld (200 cc. 90°-110°) pero nuevamente aquí no hay separación de fases. El agregado de 6 cc de HOK 50% no introduce ninguna modificación. Al añadir 40 cc. de etanol 95° dió comienzo un principio de separación, que se completó después de enfriar con hielo y calentar suavemente. Se sifonó la capa etérea que se unió a la que se separó de los lavados hidroalcohólicos del insaponificable. A estos lavados hidroalcohólicos se les practicaron 3 lavados más con 200 cc. de éter de petróleo 90-100° cada uno. Todo este éter de petróleo se unió a la fracción original de insaponificable.

Los lavados hidroalcohólicos del insaponificable (extraídos con éter de petróleo) se acidificaron con 27 cc. de SO_4H_2 1:1 (viraje a la fenolftaleína y exceso) con lo que se separó una muy tenue capa superficial de ácidos grasos. Esta fracción se perdió luego accidentalmente.

La capa hidroalcohólica original, que debiera contener la mayor proporción de ácidos grasos, se separó por enfriamiento muy escasa cantidad de jabones. Para separar los ácidos, se calentó a 70°C y añadieron 64cc. de SO_4H_2 1:1 (cantidad calculada para neutralizar todo el HOK empleando en la saponificación más un 10% de exceso). Se observó al final la separación de una capa fina aceitosa superficial de ácidos grasos. Estos se extraen con éter de petróleo (60°-70°) por agitación y succionamiento de la capa superficial. Se hicieron 7 lavados y evaporó luego el solvente, primero en baño de vapor y luego a vacío. Quedaron 6,5 gr. de ácidos. La cifra resultó extraordinariamente baja y su apariencia pastosa hace suponer que posean un bajo peso molecular. El

índice de saponificación: 187,3 corresponde a un peso molecular medio de 299,5 (entre esteárico y araquídico). Todo afirma la presencia de ácidos grasos en el insaponificable.

2da. Saponificación y separación de ácidos e insaponificable.

En base a la experiencia adquirida se realizó una nueva saponificación de 234,9 g de cera empleando fundamentalmente el método de Murray y Schoenfeld perfeccionado para separar los glicoles de la cera de carnauba (14).

a) 234,9 de cera más 1250 cc. de etanol 96° que tienen disueltos 60 g. de hidróxido de potasio 85%, 625 cc de éter de petróleo (90- 110°C) se hirvieron a reflujo en baño de aceite y luego de 25 horas se transfirieron a un erlenmeyer junto con 750 cc. de agua caliente. Después de agitación y reposo en caliente se separó la capa eterea superior de insaponificable por succión como anteriormente y se procedió luego a lavar con 200 cc. de etanol 50% empleando agitación mecánica; por reposo se separaron dos capas netas retirando la inferior hidroalcohólica. A continuación se realizaron 5 lavados en caliente de la capa eterea, con 200 ml. de etanol al 50% más 2 ml. de HOK al 50% única perfectamente límpida.

b) En la capa hidroalcohólica original más los lavados se precipitaron los ácidos grasos como sales cálcicas mediante el añadido, en caliente y con agitación intensa, de 50 gr. de Cl_2Ca anhidro en 50 cc. de etanol 50%. Se calentó a baño maría durante 8½ horas con el fin de que ello determine un estado de granulación tal del precipitado que permita una buena filtración, la que se efectuó satisfactoriamente con buchner a vacío, en caliente. La torta se suspendió luego en 150 cc. de etanol 96° en frío y filtró y por último en 100 cc. de metanol con el fin de eliminar totalmente el agua. Después de filtrado se sacó la torta en estufa

a 70°C. Peso: 50 gr. Se molió en mortero, se mezcló con arena calcinada y extrajo en Soxhlet con benceno durante 20 hs. Los extractos bencénicos se juntaron con el insaponificable. Las sales cálcicas, conteniendo arena se trataron con 170 cc. de HCl 1:1 en un vaso de precipitado y calentaron por inmersión en agua hirviente durante una hora, con frecuente agitación, al final de la cual se notó la aparición de una capa oscura superficial de ácidos grasos que se retiraron como un disco al enfriarse. Una nueva ebullición y enfriamiento determinó la aparición de una película muy delgada que se retiró. Se añadió luego en caliente 200 cc. de benceno en tres fracciones y agitó. Se retiró por succión el benceno que fué - posible y el resto, emulsionado, se centrifugó. Luego se extrajeron independientemente la arena y el líquido sobrenadante con benceno. Un nuevo tratamiento clorhídrico y extracción bencénica demostraron que no se liberan nuevas cantidades de ácidos grasos en la solución bencénica, lavando esta nueva solución dos veces con agua. Destiló el benceno hasta concentrarla significativamente y luego al vacío. Se obtuvieron 12,8 g ácidos (Fracción I) en los cuales se determinaron los índices correspondientes. Luego de descomponer las sales cálcicas de la Fracción apareció, junto con los ácidos una substancia no identificada de aspecto resinoso y color gris (4,2 g).

c) A los efectos de verificar si la fracción insaponificable que se encuentra disuelta en el éter de petróleo hay efectivamente de ácidos grasos, como se sospechaba se tomaron 8 cc. de la solución en éter de petróleo y comprobó que el lavado acuoso es alcalino, por lo que se efectuaron sucesivos lavados con agua, luego con soluciones diluidas de HCl y finalmente con agua, hasta que se verificó en ésta neutralidad y ausencia de iones Cl. Titulada esta porción en solución etanol-tolueno, consume 21,4 cc. de HONa 0,1 N. En vista de este resultado, que demuestra la inapli-

cabilidad de la técnica de Murray y Schoenfeld a nuestro caso, se procedió a precipitar los ácidos grasos en el insaponificable, como jabones de calcio. Para ello se preparó una solución de 72 gr. de Cl_2Ca anhidro en 240 cc. de etanol 96° en caliente. El volumen final de esta solución es de 230 cc. empleándose 130 cc. (40 gr. Cl_2Ca) para la precipitación añadiéndose lentamente al insaponificable con agitación, y en caliente. Se observó rápida formación de turbiedad. Una vez agregada la solución precipitante, se siguió calentando y agitando mecánicamente durante una hora, a cuyo término se observó una capa inferior límpida y una superior con insoluble que sedimenta sobre la interfase. Se retiró por succión la capa inferior de naturaleza alcohólica y cuyo volumen es de aproximadamente un litro, lo que demostró la cantidad de etanol que contenía la capa etérea de insaponificable, La reacción es alcalina (HOK en el insap.). En la capa superior se retiró por succión parte del líquido que sobrenada al precipitado. Se añadieron luego 400 cc. de benzol en caliente, agitó, dejó sedimentar y separó el líquido sobrenadante que se filtra por buchner a vacío en caliente. A las sales de calcio se les hacen nuevos lavados con 200 cc. de benceno caliente cada uno, filtrando el líquido decantado. Finalmente se pasa toda la torta al buchner donde se retiró la mayor cantidad posible de líquido y secó en estufa a 60°C. Se molió, añadió arena y extrajo en Soxhlet con benceno durante 25 horas. El extracto se juntó al insaponificable y las sales cálcicas fueron tratadas con HCl para liberación de los ácidos.

El tratamiento realizado en caliente a baño maría como en el caso anterior, separó fácilmente un disco de ácidos grasos que luego de purificados por extracción bencénica (Fracción 2) sumaron 68,0 g. Los índices están en la parte primera. En el medio acuoso clorhídrico quedó una masa fuertemente emulsionada la

cual luego de separada y extraída con benceno rindió 35,0 g de ácidos (Fracción 3) cuyos índices fueron determinados (ver Cuadro III).

d) El insaponificable reunido y eliminado el solvente consumía aún HOK al realizar una saponificación experimental y por ello fué nuevamente tratado como en el caso anterior. La precipitación ensayada, ahora fué con Cl_2Ba y permitió separar una porción adicional de ácidos grasos (7) (Fracción 4) de 6,1 g.

Fraccionamiento de los ácidos de la Fracción 1

Esterificación de los ácidos 9.64 g de ácidos de la fracción 1 se mantuvieron a reflujo con 170 ml de mezcla benceno-metanol (1:1 y 1,3 ml de SO_4H_2 concentrado según Murray y Schoenfeld (15) durante 20 horas. Para mejorar el rendimiento de esterificación y retener el agua arrastrada azeotópicamente se realizó la operación en un Soxhlet conteniendo en el dedal SO_4Mg anhidro.

Agregada agua caliente se separó una capa inferior coloreada. La capa bencénica fué lavada hasta neutralidad con agua y luego con solución de CO_3Na_2 al 0,5%, al tratar con CO_3Na_2 formó en la parte acuosa una emulsión imposible de ser extraída con benceno aún en la centrífuga de la cual se separó una porción que se sospecha formada por jabones de ácidos libres y ésteres internos de ácidos alcoholes, dado que al determinarle sus índices se encontró un Índice de acidez de 87,2 pero un Índice de saponificación de 181,1 (Equivalente de saponif. 209,7). El equivalente de saponificación es aproximadamente igual al de los ácidos totales de Fracción 1 (208,2). Se obtuvieron 8,4 g de ésteres metílicos que todavía contenían algo de ácidos libres.

Cromatografía de los ésteres metílicos de la Fracción 1

Los ésteres metílicos de los ácidos de la fracción 1 fueron fraccionados por cromatografía en una columna de alúmina se-

gún técnica de Murray y Schoenfeld (16).

Se usó alúmina Riedel - de Haen tratada con NO_3H al 2% en caliente, luego lavada con agua destilada 15 veces, secada en estufa a 105°C y activada luego por calentamiento en mufla a 500°C durante 5 horas. Se desactivó a grado III/IV de Brockmann manteniéndola 26 horas en un desecador que contenía agua en su depósito inferior. La actividad se ensayó según el método de Brockmann (17), con una mezcla de sudán rojo y sudán amarillo en éter de petróleo-benceno 4:1.

Las características de la columna fueron:

Altura efectiva	=	21 cm.
Diámetro efectivo	=	3 cm.
Cantidad de alúmina III/IV	=	136 cm.

Toda la columna se mantuvo en un baño de agua a 50°C , 8,365 g. de ésteres se trataron de disolver en éter de petróleo ($60 - 80^\circ\text{C}$) purificado por tratamiento con ácido sulfúrico y redestilado. Solamente 7,978 g fueron solubilizados por 150ml del éter de petróleo y vertidos en la columna ya saturada con éter de petróleo, 0,3866 g quedaron como un material obscuro insoluble. El cromatograma fué revelado agregando porciones medidas de solventes diferentes, según indicado en el cuadro y de polaridad creciente.

El benceno utilizado fué purificado destilándolo sobre HOK. Las fracciones se recuperaron por destilación directa y luego a vacío.

La última fracción e) debido al arrastre de cantidades elevadas de alúmina luego de la evaporación del cloroformo fué extraída con benceno. El extracto bencénico fué luego lavado con agua para eliminar el ácido acético y evaporado al vacío.-

Cuadro V. Cromatografía de los ésteres metílicos de la fracción 1

Fracción	Eluyente		Peso de la fracción	Observaciones
	Tipo	Cantidad (ml.)		
a	Eter de Petroleo (60-80%)	500	4,063	Blanca Cristalina
b	"	350	0,020	-----
c	Benceno-etanol absoluto (1:1).	600	0,972	Amarillenta no cristalina
d	"	300	0,008	-----
	Clorofor- mo ac. acé- tico (19:1)	1000	1,773	Amarillo-marrón no cristalino
Peso total			6,836	

La recuperación fué del 86,3 %

Se determinaron los índices de las diferentes fracciones cuyos valores están detallados en el Cuadro IV.

Destilación de los ésteres de la Fracción a 3,45 g de ésteres metílicos (fracción a) fueron destilados en un vacío de 1,5 mm. de Hg en una microcolumna (J.A. Lovern y Torry Research St Aberdeen). La columna consistió en un baloncito de destilación de 125 ml de capacidad lleno de lana de vidrio con un cuello de 10 cm de altura en cuyo interior fué colocada una espiral de alambre de cobre de 7 cm de alto.

Debido a la poca caída de presión en la columna, por el

tipo de material de relleno, el vacío aplicado se mantuvo prácticamente uniforme en todo el sistema, y también en el líquido en ebullición, permitiendo llegar en el baño de aceite a una temperatura de 340°C para la última fracción.

Se obtuvieron 5 fracciones y un residuo pequeño (0,422g.) a cada fracción se le determinó el índice de saponificación y calculó el peso molecular promedio. La cantidad recuperada de ésteres fué de 3,415 g.

Los resultados de la destilación están anotados en el cuadro VI.

El residuo dió un valor demasiado bajo de índice de saponificación. Por ello se consideró contaminado con material insaponificable de alto punto de ebullición ya sea natural o artificial de la destilación. Se procedió por ello para corregir el Índice de saponificación a extraer ese material del producto saponificado. La insolubilidad de los jabones de potasio en solución hidroalcohólica no permitió aplicar la extracción bencénica directa. Se aplicó por ello la precipitación de los jabones como sales de Bario con una solución hidroalcohólica caliente de 0,5 de Cl_2Ba . Se calentó 5 horas a baño maría y luego a vacío a 50° - 60°C durante 31 horas. Transvasado el material a un Soxhlet se extrajo el insaponificable con benceno durante 30 horas. Las sales de bario fueron luego acidificadas con ClH al medio y calentadas a baño maría extrayéndose los ácidos liberados con benceno.

Se determinó el índice de saponificación que resultó ser 113,1. El P_M calculado, 496,0 se resolvió como si indicara una mezcla de ésteres con 32 y 34 átomos de carbono. Esa suposición no es realmente exacta por que la misma debe englobar indudablemente ésteres con 30C.

Cálculo de las fracciones de destilación

Todas las fracciones se consideraron formadas por mezclas binarias de ésteres de ácidos saturados con pesos moleculares inmediatamente superior e inmediatamente inferior al valor experimental de la fracción considerada.

Las fracciones se consideraron formadas por:

Fracción 1 C₁₆ - C₁₈
Fracción 2 C₁₈ - C₂₀
Fracción 3 C₂₀ - C₂₂
Fracción 4 C₂₆ - C₂₈
Fracción 5 C₂₈ - C₃₀
Residuo C₃₂ - C₃₄

El sistema de ecuaciones aplicado fué:

$$\begin{cases} X + y = P \\ \frac{X}{P M x} + \frac{y}{P M y} = \frac{P}{P M m} \end{cases}$$

x = proporción en g de componente de peso molecular P M x

y = proporción en g de componente de peso molecular P M y

P = peso de la fracción

PMm = peso molecular medio de la fracción.

CUADRO VI DESTILACION DE ESTERES METILICOS DE LOS ACIDOS DE LA FRACCION a

Frac.	Peso Frac.	Temp. del Baño °C	Indice de Saponif.	Equipo de Sap. (Pm)	A c i d o s S a t u r a d o s										Insaponif.			
					C16	C18	C20	C22	C26	C28	C30	C32	C34					
1	0,586	198-219	193,7	289,6	0,173	0,413												
2	0,312	219-250	181,9	308,4		0,195	0,117											
3	0,442	250-283	163,9	342,3			0,185	0,257										
4	0,815	283-310	130,9	428,5					0,285	0,530								
5	0,838	310-340	124,8	449,5						0,504	0,334							
Resid.	0,422 ⁽¹⁾	---	104,9 ⁽²⁾	534,8 ⁽³⁾									0,179	0,223				0,020
Total	3,415				0,173	0,608	0,302	0,257	0,285	1,034	0,334	0,334	0,179	0,223				0,020
	Esteres % de ésteres				5,10	17,91	8,89	7,57	8,39	30,46	9,84	9,84	5,27	6,57				
	Acidos % de ácidos				5,01	17,71	8,84	7,54	8,41	30,65	9,90	9,90	5,31	6,63				

(1) Contiene 0,020 de Insaponificable.-

(2) I S corregido del Insaponificable = 110,0

(3) Equivalencia de Saponificación corregido del insaponificable = 510,0

INFORME

C O N C L U S I O N E S

- 1°)- Se separó y purificó una cera de Bulnesia Retama proveniente de Ampacama Provincia de San Juan. El material céreo - constituye el 71,0 % del polvo obtenido por apaleo de las ramas.
- 2°)- Se determinaron las constantes físicas y químicas de la cera.
- 3°)- Se separaron los ácidos totales y el insaponificable que forman el 51,5% y 47,9% respectivamente de la cera más 1,8% de material resinoso ácido.
- 4°)- Los ácidos grasos fueron fraccionados en cuatro porciones determinándose sus constantes químicas.
- 5°)- La fracción de menor peso molecular luego de esterificada fué estudiada por cromatografía en alúmina pudiéndose separar tres fracciones, una de ésteres saturados, otra de ésteres metílicos de ácidos monohidroxi-monocarboxílicos (P M m = 376,5) y una tercera producto mezcla de ácidos libres y parcialmente esterificados tanto saturados como hidroxilados.
- 6°)- Los estéres saturados de la primera fracción fueron fraccionados en una microcolumna a vacío pudiéndose calcular su constitución como la mezcla de los siguientes ácidos:

C ₁₆ Saturado	=	5.01 %	C ₂₆ Saturado	8,41%
C ₁₈ "	=	17.71 %	C ₂₈ "	30,65%
C ₂₀ "	=	8,84 %	C ₃₀ "	9,90%
C ₂₂ "	=	7,54 %	C ₃₂ "	5,31%
			C ₃₄ "	6,63%



B I B L I O G R A F I A

- 1) LILLOA - Revista de Botánica - Universidad Nac. de Tucumán -
Inst. MIGUEL LILLO-5 285 (1939).-
- 2) JOSE CLAUDIO PINTO Y LUIS A. PARDO - Industria y Química 17
541 (1956).-
- 3) ALBIN WARTH - The Chemistry and Technology of Waxes (1947).-
- 4) Id. pag. 114.-
- 5) Id. pag. 156.-
- 6) Id. pag. 464.-
- 7) JORGE H. FIORA - Comunicación privada 1956.-
- 8) K.E. MURRAY y R. SCHOENFELD J. Am.Oil Chem.Soc. 28,461(1951)
- 9) A.O.A.C.
- 10) R.R. BRENNER Comunicación privada.-
- 11) OGG PORTER y WILLITIS. Ind. Ing. Chem. Anal. Ed.17,394(1945)
- 12) FINDLEY y BROWN J. Am. Oil Chem. Soc. 30, 291 (1953).-
- 13) J.B.TWITCHELL y D.M. SMITH "Aquametry" pag. 67 Interscience
Publishers Inc. 1948.-
- 14) K.E. MURRAY y R. SCHOENFELD Austr. J. of Chem. 8 432-436
(1955).-
- 15) K.E. MURRAY y R. SCHOENFELD J. Am Oil Chem. Soc. 30 25-27
(1953).-
- 16) K.E. MURRAY y R. SCHOENFELD Austr. J. of Chem. 8 437-443
(1955).-
- 17) H. BROCKMANN y H. SCHODDER Ausd. Biochem.Abteil Allgem Chem.-
- 18) J. BOUGAULD y L. BOURDIER; J. pharma chim chim. París 29
561 (1909).-
- 19) A.FUYITA y T. YOSHIKAWA: J. Pharm.Soc.Japan 71 913 (1951).-
- 20) W.JENSEN Finn Pap Trimb. B. 32 261 (1950).-
- 21) H.MEYER y A. ECKERT; Monatsh 34 1159-1172 (1913).-
- 22) A.C. CHIBNALL, A.L. LATNER, E.F. WILLIAMS y C.A. AYRE:
Biochem J. 28 313 (1934).-
- 23) W.B.BUNGER y F.A. KUMMEROW J. Am.Oil Chem.Soc.28 121 (1951).-