

## Tesis de Posgrado

# Separación cromatográfica de los componentes de la cera de Bulnesia retama

Laffin, Lina Sarah Carlota

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](http://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](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Laffin, Lina Sarah Carlota. (1957). Separación cromatográfica de los componentes de la cera de Bulnesia retama. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0954\\_Laffin.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0954_Laffin.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Laffin, Lina Sarah Carlota. "Separación cromatográfica de los componentes de la cera de Bulnesia retama". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1957. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0954\\_Laffin.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0954_Laffin.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

RESUMEN

La cera de Bulnesia retama se cromatografió en columna de silicagel: celite 1:1 a temperatura ambiente, recogiendo 107 eluidos con los solventes tetracloruro de carbono, tolueno, cloroformo, cloroformo: etanol, 2:1, cloroformo: etanol: ácido acético 50:25:1; estos eluidos fueron reunidos en 13 grupos por sus puntos de fusión semejante.

Se determinaron los puntos de fusión, índices de ácidos, índices de saponificación, índices de hidroxilo e índices de iodo de las diversas fracciones.

En la fracción I se separaron hidrocarburos saturados de cadena lineal y 32 átomos de carbono a los que se les determinó el peso molecular por el método de Rast.

La cromatografía en columna de alúmina Brockman grado II de las fracciones II, III, IV, VII, VIII y IX con éter de petróleo, benceno: etanol 1:1 y cloroformo: ácido acético 19:1 demostró la existencia de alcoholes libres de peso molecular medio 457,2.

Las determinaciones realizadas permitieron calcular la siguiente composición aproximada de la cera.

Hidrocarburos	19,8%
Alcoholes libres	7,9%
Acidos hidroxilados (libres o esterificados)	9,9%
Acidos libres	33,8%
Esteros de ácidos y alcoholes superiores	38,5%

*Luis de Sack*

Res. 574

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

SEPARACION CROMATOGRAFICA DE LOS COMPONENTES

DE LA CERA DE BULNESIA RETAMA

Tesis presentada para optar al título de  
Doctor en Química

LINA S. C. LAFFIN

Buenos Aires

1957

TESIS: 354

1957

## AGRADECIMIENTO

Al Doctor Rodolfo R. Brenner a cuya dirección, estímulo y colaboración constante se debe este trabajo presento aquí el testimonio de mi mayor agradecimiento.

Deseo también expresar mi reconocimiento al Doctor Pedro Cattáneo por haber autorizado la realización del trabajo experimental en los Laboratorios de la Cátedra de Bromatología y Análisis Industriales.

- A mis padres -

- A mi nena -

## RESUMEN

La cera de Bulnesia retama se cromatografió en columna de silicagel: celite 1:1 a temperatura ambiente, recogiendo 107 eluidos con los solventes tetracloruro de carbono, tolueno, cloroformo, cloroformo: etanol, 2:1, cloroformo: etanol: ácido acético 50:25:1; estos eluidos fueron reunidos en 13 grupos por sus puntos de fusión semejante.

Se determinaron los puntos de fusión, índices de ácidos, índices de saponificación, índices de hidroxilo e índices de iodo de las diversas fracciones.

En la fracción I se separaron hidrocarburos saturados de cadena lineal y 32 átomos de carbono a los que se les determinó el peso molecular por el método de Rast.

La cromatografía en columna de alúmina Brockman grado II de las fracciones II, III, IV, VII, VIII y IX con éter de petróleo, benceno: etanol 1:1 y cloroformo: ácido acético 19:1 demostró la existencia de alcoholes libres de peso molecular medio 457,2.

Las determinaciones realizadas permitieron calcular la siguiente composición aproximada de la cera.

Hidrocarburos	19,8%
Alcoholes libres	7,9%
Acidos hidroxilados (libres o esterificados)	9,9%
Acidos libres	33,8%
Esteros de ácidos y alcoholes superiores	38,5%

## INTRODUCCION

Las ceras naturales son mezclas complejas de ésteres de alcoholes y ácidos de alto peso molecular, además pueden contener cantidades variables de hidrocarburos, ácidos libres y alcoholes.

El procedimiento clásico para estudiarlas ha consistido en aplicar las técnicas usadas con mucho éxito en el caso de las grasas pero que en éste caso choca con grandes dificultades. Se basa en determinar los índices de la cera, la saponificación de la misma y el estudio de las fracciones saponificable e insaponificable; con estos datos se establece la composición de los ésteres, su porcentaje y las proporciones de ácidos alcoholes e hidrocarburos. Pocas veces si embargo puede determinarse la composición exacta debido a la complejidad del material, la falta de solubilidad del mismo y sus fracciones, así como su difícil fraccionamiento por destilación (poca volatilidad y estabilidad a temperaturas elevadas).

Otro camino para resolver el problema consiste en estudiar la cera entera sin saponificar y poder separar en ésta forma sus componentes tal cual se encuentran en la naturaleza, hidrocarburos, ácidos, alcoholes, ésteres. Este sería el método ideal pero encuentra problemas técnicos muy difíciles de resolver. Findley y B.Brown (1) con éste fin aplicaron una destilación molecular de las ceras de abejas, caranda, candelilla y ouricury, y en las fracciones obtenidas analizaron los grupos funcionales y determinaron los pesos moleculares de las mismas por el método de Rast. En ésta forma llegan a establecer las concentraciones expresadas en moles/

kilogramo de los distintos grupos funcionales encontrados en las diferentes fracciones de la destilación.

W.Fuchs und Jong (2) en cambio desarrollaron un método cromatográfico con el que pudieron fraccionar la cera de abejas en grupos diferentes y en una sola operación. Usando columnas rellenas con silicagel y alúmina cromatografiaron la cera entera eluyendo con diferentes solventes.

En base a estas observaciones en el presente trabajo se trata de estudiar la composición de la cera nacional de Bulnesia retama comúnmente denominada cera de retama aplicando una técnica cromatográfica.

Esta cera que ha adquirido gran importancia en el mercado nacional fué en parte ya estudiada aplicando el método clásico por M.Slovinsky y lo es actualmente por J.Fiora y J.M.Paz. La cera usada fué la misma empleada por Slovinisky y obtenida por extracción con tricloro etileno. Las ramas jóvenes de Bulnesia retama recolectadas en primavera en Ampacama (Provincia de San Juan) fueron dejadas secar durante treinta días, apaleadas y el polvo pasado por un tamiz. Ese polvo fué extraído con alcohol etílico al 40% (a 50°C) y luego con alcohol etílico al 96% para eliminar impurezas resinosas y recién entonces tratado con tricloro etileno.

Las características físicas y químicas de la cera de retama obtenida y purificada según el procedimiento anteriormente detallado fueron (3).

Punto de fusión (capilar cerrado)	76-82°C
Punto de resolidificación	69,5-71°C
Índice de refracción $n_D^{84}$	1,4448



Indice de áidez	44,7
* Indice de saponificación	92,6
Indice de hidroxilo	22,6
Indice de iodo (Hanus)	8,0
Acidos totales	51,5%
Insaponificable	49,7%

\* El valor de 92,6 corresponde a un índice hallado saponificando por más de seis horas. El mismo método aplicado por solo un período de una hora dió un valor promedio de 80,2.

---

DISCUSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL

En el trabajo original de Fuchs y Jong (2) se separaron por cromatografía los componentes de una cera de abeja, usando tanto una columna de silicagel como una de alúmina, pero se llegó a la conclusión que era mucho más eficiente la separación empleando silicagel que empleando alúmina.

Aplicando esos resultados se utilizó en nuestro caso una columna de un metro de altura útil y 4,3 cm. de diámetro conteniendo una mezcla de silicagel: celite 2:1. La cromatografía se hizo a temperatura ambiente sin termostatar separando 106 fracciones de 100 ml. y eluyendo el material con los siguientes solventes:

Tetracloruro de carbono

Tolueno

Cloroformo

Cloroformo: Etanol 2:1

Cloroformo: Etanol: Acido acético 50:25:1

De los 12,533 gr. de cera introducidos se recuperó el 97,6%, lo cual es un resultado aceptable para tal tipo de técnica y material. En cada una de las fracciones se determinó el punto de fusión, el Índice de acidez, el Índice de saponificación y en algunas el Índice de iodo y el Índice de hidroxilo (Ver cuadro II).

La construcción de una curva (Ver gráfico I) con los rendimientos en peso de las diversas fracciones permitió observar una separación bastante neta en los solventes tetracloruro de carbono, Tolueno, y en Cloroformo: Alcohol 2:1; aunque en casi todas las fracciones se observaron colas que se atribuyen a la poca solubilidad del material a la temperatura ambiente (aproximadamente 20 C).

## Tesis de Posgrado

### Página no digitalizada

Tipo de material: Lámina

Alto: 37

Ancho: 51

Descripción: Gráfico I

Esta página no pudo ser digitalizada por tener características especiales. La misma puede ser vista en papel concurriendo en persona a la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir.

This page could not be scanned because it did not fit in the scanner. You can see a paper copy in person in the Central Library Dr. Luis Federico Leloir.



Por la similitud de posición en la curva y por sus puntos de fusión se reunieron las fracciones en 13 grupos diferentes cuyos índices están anotados en el cuadro I.

Fracciones en tetracloruro de carbono  
hidrocarburo

En estas fracciones se observó como sospechado un índice de acidez cero lo que asegura ausencia de ácidos libres. El índice de saponificación permitió señalar sin embargo la existencia de diversos tipos de fracciones.

Fracción I - La fracción I (17,33% de rendimiento total) de punto de fusión menor que engloba los eluidos 1 y 2 (P.F. 64,2 y 67,5°C respectivamente) dió un índice de saponificación cero y está constituida por un insaponificable que no puede estar formado por alcoholes superiores por su zona de elución e índice de hidróxilo cero. Los constituyentes de dicha fracción I son por consiguiente hidrocarburos. Para confirmar su presencia se purificaron por tratamiento con ácido sulfúrico concentrado caliente lavando hasta eliminación de material obscuro carbonoso y obtención de un producto blanco límpido que fué cristalizado varias veces en éter de petróleo-etanol.

El tratamiento sulfúrico elimina hidrocarburos no saturados y grupos funcionales reactivos, y permitió elevar el punto de fusión a 69,5-70,0°C que corresponde en la literatura a hidrocarburos saturados de 32 átomos de carbono. En este material la determinación del peso molecular (Rast 4) dió un valor de 450,3.

El dotriacontano ( $C_{32}H_{66}$ ) hidrocarburo saturado de cadena normal y peso molecular 450,3 tiene un punto de fusión 70,0 (5). El isohidrocarburo (es decir con cadena ramificada) del

mismo peso molecular tiene un punto de fusión un poco superior a 74°C. Por lo tanto estamos en presencia de hidrocarburos que están constituidos en su mayor parte por compuestos saturados de 32 átomos de carbono y de cadena lineal. Fiora (6) siguiendo el método clásico de la saponificación y extracción del insaponificable seguido de una cromatografía del mismo en alúmina obtuvo posteriormente cantidades grandes de hidrocarburos lo que confirma nuestras observaciones. Cuando ya había sido aislada y reconocida la presencia de hidrocarburos en nuestro trabajo apareció un trabajo de Lappert y Durant (7) en que, por el método del A.S.T.M., hallaron en una determinación 27,0% y en otra 13,8% de hidrocarburos pero sin confirmar su constitución.

La presencia de hidrocarburos es normal en gran número de ceras señalándose tanto hidrocarburos saturados, no saturados como ramificados (5). Los hidrocarburos no saturados son sin embargo los menos frecuentes.

Fracción II - (2,50%) En la fracción constituida por el eluido 3 se sospechó por su rendimiento carácter de cola de la fracción anterior y probable contaminación con componentes de mayor afinidad retenidos por la columna. El punto de fusión 79°C y el bajo índice de éster (7,6) confirmaron la contaminación de los hidrocarburos con pequeña proporción de ésteres.

Una confirmación definitiva de la existencia de hidrocarburos en esa fracción se obtuvo sometiendo al material saponificado a una cromatografía en columna con alúmina grado II de Brockman que permitió separar los hidrocarburos, los alcoholes y los ácidos en una proporción de 77,8%, de hidrocarburos (P.F.64°C), 12,9% de alcoholes y 9,3% de ácidos.

Fracción III - (6,26%) En la fracción III (eluidos 4,5 y 6) el punto de fusión alcanzó a 87°C y el índice de saponificación a 49,7. El mayor índice de éster indica mayor contaminación con ésteres. Similarmente a la fracción anterior se cromatografió en alúmina grado II de Brockman luego de saponificada, obteniéndose un 72,6% de alcoholes (P.F.84,5-85°C, índice de hidroxilo 122,5) y 27,4% de hidrocarburos y ácidos. La baja relación de ácidos comparada con los alcoholes, el bajo índice de éster, la baja proporción de hidrocarburos y el alto punto de fusión señalan que esta fracción II está constituida por pequeña cantidad de hidrocarburos, alcoholes libres y ésteres de alcoholes con ácidos superiores. El índice de hidroxilo 122,5 de los alcoholes corresponde a un peso molecular promedio de 457,9, intermedio entre alcoholes de 30 y 32 átomos de carbono. El punto de fusión de 84,5-85°C sin embargo es algo inferior al que correspondería a tales alcoholes lineales ( $C_{28}H_{57}OH$ , 84,5°C;  $C_{30}H_{61}OH$ , 87,5°C;  $C_{32}H_{65}OH$ , 89,0°C) (5) lo que corrobora su carácter de mezcla.

Fracción IV - (Eluidos 7 y 8) (4,09%) En esta fracción se observó un descenso del índice de éster (28,6), un índice de ácido cero igual que las anteriores y un pequeño descenso del punto de fusión (83,5°C) la cromatografía en alúmina grado II de Brockman del producto saponificado permitió separar 78,3% de alcoholes (P.F.82-82,5 índice de hidroxilo 115,0) y 21,7% de ácidos demostrándose la ausencia de hidrocarburos. La baja relación ácidos a alcoholes que corrobora el bajo índice de éster demuestra la existencia de alcoholes libres.

La presencia de alcoholes libres en las fracciones 3 y 4 es un resultado insospechado.

Fracciones V y VI - (Eluidos 9 a 13 y 14 a 27) (4,32% y 4,24%) En ambas fracciones el neto punto de fusión (cuadro II) y el aumento del índice de éster a 109,3 y 106,9 respectivamente señala que las mismas no pueden estar constituidas por ésteres puros de ácidos grasos superiores y alcoholes porque un éster de índice de saponificación 104,5 que corresponde a un estearil estearato (ácido en C<sub>18</sub> y alcohol en C<sub>18</sub>) apenas tiene un punto de fusión 58,5-62°C (5)

Fracciones en tolueno (VII-VIII y IX)

En las fracciones obtenidas con tolueno se observa un aumento creciente del punto de fusión y un descenso concomitante del índice de saponificación (40,6; 38,8; 36,5 respectivamente) (aumento de magnitud molecular). Los índices de éster son todos bajos (ver cuadro II) lo que demuestra la existencia de insaponificable en cantidades apreciables. El índice de ácidos es solo elevado en la fracción IX (16,8). La cromatografía en alúmina grado II según Brockman del producto saponificado permitió señalar la ausencia de hidrocarburos eluibles con éter de petróleo, cantidades grandes de alcoholes y menores de ácidos. El punto de fusión de los alcoholes aumenta desde la fracción VII a la IX (P.F.VIII 71,5-73°C; P.F.IX 81-82°C) el índice de hidróxilo disminuye (I.H.VIII 149,5; I.H.IX 138,4). La proporción de ácidos a alcoholes es baja lo que indica la presencia de alcoholes libres. La ácidos libre no es suficiente como para neutralizar la proporción de alcoholes libres. De ello resulta la confirmación de lo observado en fracciones anteriores y que es la existencia de alcoholes libres en la cera.

En la fracción VIII que es neutra se obtuvo un dato anormalmente elevado de ácidos combinados (54,1% de alcoholes y ácidos)

de ácidos obtenidos por cromatografía) al compararlos con las dos otras fracciones, El punto de fusión mas bajo de estas fracciones que el que correspondería a alcoholes libres, ésteres y ácidos de la magnitud molecular correspondiente a los índices hallados es explicable por la no saturación hallada en la fracción IX (13,7)

#### Fracción Clorofórmica (X)

En esta fracción (rendimiento 9,58 %) la acidez elevada (60,5) y el índice de éster (63,8) demuestran que está constituida por una mezcla de ésteres y ácidos libres. Posee además compuestos no saturados (I.I. 7,4) Difiere por consiguiente de las observaciones de Fuchs y Jong (2) para el eluyente porque según esos autores debería poseer un índice de acidez cercano a cero y estar constituida por ésteres no saturados.

Además en nuestro caso y en base a los rendimientos no se observó separación neta entre las fracciones con tolueno y la clorofórmica; y los diversos eluidos de pequeño rendimiento cada uno mostraron una gama grande de puntos de fusión (ver gráfico I)

#### Fracciones en Cloroformo - Etanol (2:1)

Fracción XI (Eluidos 76 a 81) (Rendimiento 19,90 %) Esta fracción en la elución presento un pico bién marcado y el punto de fusión osciló entre 79 y 81°C.

Según Fuchs y Jong (2) el cloroformo-etanol (2:1) eluye oxiésteres. La determinación del índice de hidroxilo dio en nuestro caso 53,9, el índice de acidez 62,8 y el índice de éster 55,5.

Fracción XII (Eluidos 82 a 96) (Rendimiento 8,09%) En esta fracción se observó un descenso constante en el punto de fusión a lo largo de la elución llegando de 80 a 70°C. Es decir el cloroformo -etanol



(2:I) realizaba una verdadera separación selectiva de los componentes. La pequeña proporción de los mismos obligó a reunirlos en una sola fracción. El índice de hidroxilo resultó ser 42,7 mientras los índices de acidez y éster resultaron ser 54,2 y 70,0.

En ambas fracciones XI y XII índices de hidroxilo tan elevados acompañados de índices de saponificación 118,3 y 124,2 confirman la existencia de ácidos hidroxilados. Dichas fracciones son por lo tanto una mezcla de ésteres y ácidos libres hidroxilados y probablemente normales.

Fracciones en Cloroformo - Etanol - Acido acético (50:25:1)

Los eluidos 97 a 107 fueron reunidos en una sola fracción (Fracción XIII) (Rendimiento 4,46%) que debe estar constituida según Fuchs y Jong (2) por ácidos libres. La diferencia entre el índice de acidez (42,9) y el índice de saponificación 97,3 señaló sin embargo la presencia de ésteres (Índice de éster 54,4) También se observó un índice de hidroxilo de 23,8 lo que señala la presencia de ácidos hidroxilados que no fueron extraídos por el solvente anterior porque al estar libres fueron fuertemente fijados por la sílica gel.

## RESULTADOS

En base a los datos obtenidos en las diversas fracciones se puede intentar un cálculo aproximado de la composición de la cera.

Hidrocarburos: Los hidrocarburos constituyen totalmente la fracción I y parcialmente las fracciones II y III, formando un 17,3 % , 2,0% y 0,5% del total. Es decir hay en la cera 19,8% de hidrocarburos saturados de cadena normal y 32 átomos de carbono.

Acidos Libres: Considerando el índice de acidez total de la cera 44,7 y el peso molecular promedio de los ácidos (Tesis Slovinsky-3- y Paz-8-) 425,1 se pudo calcular el porcentaje de acidos libres que resultó ser 33,8%. El valor de reconstrucción del índice de ácido en base a los valores parciales hallados fué muy inferior al determinado en la cera total, en parte debido a que el mismo no se determino en ciertas fracciones.

Acidos Hidroxilados: El trabajo de Slovinsky (3) demostró la presencia de ácidos hidroxilados en la cera de Bulnesia retama de un peso molecular promedio 364,5. Los índices de hidroxilo hallados en las fracciones XI, XII, y XIII únicas en las que es posible la presencia de dichos ácidos sirvieron de base para calcular el porcentaje de ácidos hidroxilados con un hidroxilo libre presentes en la cera. El porcentaje fué 9,9. Los mismos pueden estar libres o esterificados.

Alcoholes Libres: Se demostró la existencia de alcoholes libres en las fracciones III, IV, VII y IX. Aplicando el índice de hidroxilo total de la cera hallado 24,9 y deduciendo de él el correspondiente a los ácidos hidroxilados pudo calcularse en un valor aproximado

de 7,9% la cantidad de alcoholes libres presentes atribuyéndoles un peso molecular de 457,2 (I.H.122,7) (Fiore 6)

Esteres de Acidos y Alcoholes Superiores: Por diferencia pueden calcularse los ésteres presentes que resultaron ser 38,5% considerando que dichos ésteres tienen un peso molecular medio de 864,3 (en base a los PMmedios de los ácidos 425,1 (Slovinsky y Paz) y de los alcoholes (Fiore), que el índice de saponificación de la cera reconstruido en base a los valores individuales de las fracciones es 69,1 y que el índice de ácido es 44,7, se obtuvo un porcentaje de ésteres de 37,6 que coincide bastante bien con el valor anterior.

Debe sin embargo agregarse que el valor de índice de saponificación reconstruido es bastante diferente del hallado en la cera con la misma técnica 80,2. La causa de esta diferencia es difícil de explicar pero conviene señalar nuevamente y como ya fue observado por Slovin<sup>sky</sup> que el índice de saponificación de la cera varía mucho con el tiempo calefacción.

PARTE EXPERIMENTAL

1 Métodos Analíticos

Punto de fusión

Se utilizó el método del doble capilar. El capilar externo era cerrado (11).

Índice de acidez

Se utilizó una semimicrotécnica pesando 0,5 gr. de muestra, disolviendo en 50 ml. de etanol-tolueno (1:1) neutralizado, calentando y titulando con HONa 0,1N acuoso (fenolftaleína como indicador).

Índice de saponificación

0,5 gr. de muestra se saponificaron con 5 ml. de HOK 0,5 N etanólico (96%) en presencia de 5 ml. de propilen-glicol neutralizado y 2,5 ml. de xilol. Se empleó refrigerante de aire cerrado con cal sodada y calentando en baño de maría durante una hora. Al cabo de la hora se agregaron 60 ml. de alcohol etílico (96%) neutro y caliente, titulando con HCl 0,1N y fenolftaleína como indicador.

Índice de iodo

Se empleó una microtécnica (John A. Lovern Tony Res. Station 12).

Se tomaron 0,050 gr. de cera en un erlenmeyer de 150 ml. con tapa esmerilada, y se disolvieron en caliente con cuatro mililitros de  $CCl_3H$ . Una vez frío se añadió 5 ml. de solución de Wijs y dejó 30 minutos a una hora en la obscuridad. Se agregaron luego 4 ml. de IK al 10% y tituló con  $S2O_3Na_2$  0,25N recién preparado utilizando un ml. de solución de almidón al 1% como indicador.

Índice de hidroxílo

Se utilizó el semimicro método de Ogg Porter y Willitis (13) que utilizan como agente acetilante una solución de un volumen de anhídrido acético en 3 volúmenes de piridina dado que dicho autor señala que concentraciones más diluidas de anhídrido acético que la relación 1:7 no permiten una acetilación total. Según nuestras observaciones comparando este método con el de Findley y Brown (14) que utilizan una solución más diluida (1:10) de anhídrido acético en piridina no se observan grandes diferencias entre los valores obtenidos con ambas técnicas. Los valores obtenidos por el método de Ogg et al son más exactos en cuanto a lo que el cálculo de error se refiere y por consiguiente mejor para bajas concentraciones de hidroxilos.

Con cera de Bulnesia retama los valores que obtuvieron por el método de Findley fueron 23,5; 23,3; 21,4 y 22,1. Con el método de Ogg et al se obtuvieron los valores 25,1 y 24,6. Con cera de Carnuba con este último método se obtuvo 44,5.

Reactivos utilizados:

Agente acetilante: 1 V. anhídrido acético, 3 V. piridina

Butanol neutralizado

Solución acuosa de HONa 0,1N

Fenolftaleína como indicador (solución alcoholica).

Se pesó una cantidad de muestra equivalente aproximadamente a 2 ml. de álcali 0,1N en un frasco de 50 ml. de forma de pera. La boca permitía al tapón introducirse profundamente dejando un espacio como para cubrir el mismo con piridina y evitar las pérdidas. Se agregó 0,4 ml. del reactivo anhídrido acético-piridina con una micropipeta Agla de una exactitud de 0,0002 ml., apo-

yando el capilar en el borde del recipiente. Se tapó con el tapón mojado en piridina y colocó en baño de agua dejando 1,25 cm. de la pera en éste último. Se acetiló durante 30 minutos, se agregaron luego 3 ml. de agua y se hidrolizó 30 minutos. Se agregó 1 ml. de piridina al tapón haciéndolo vertir al interior. Se volvió a tapar y enfrió con chorro de agua; entonces se agregaron 3 ml. de butanol al tapón y luego 3 gotas del indicador. Se tituló con HONa 0,1N. Se hizo paralelamente un blanco.

#### Determinación de Peso Molecular ( )

Se utilizó el micro método crioscópico de Rast en el que se usa alcanfor como solvente puesto que éste tiene una alta constante crioscópica, lo que permite trabajar con pequeñísimas cantidades de sustancia. Se realizaron las determinaciones con el método del tubo capilar. Se utilizó un tubo capilar de 50-70mm. de largo cerrado en un extremo y de 3-4mm. de espesor, se pesó vacío, se le agregó 1,5 mg. de sustancia problema con ayuda de otro capilar de diámetro menor, se volvió a pesar, se agregó el solvente en la misma forma que la sustancia cuidando que cayera al fondo y no quedara adherido a la parte superior del tubo, se pesó nuevamente, se cerró el capilar. En otro capilar se introdujo solamente el solvente. Se determinó simultáneamente el P.F. de la solución y del solvente puro y se calculó el peso molecular con la siguiente fórmula:

$$M = \frac{40 \cdot w \cdot 1000}{\# \cdot W}$$

40 = Constante crioscópica del alcanfor

w = peso de la sustancia

W = peso del alcanfor

# = diferencia entre los puntos de fusión de la mezcla y del alcanfor.

II Cromatografía Total

12,523 gr. de cera de Bulnesia retama se disolvieron en 100 ml. de CCl<sub>4</sub> en caliente y se vertieron en la columna cromatográfica de las siguientes características:

Altura útil	1 metro
Diámetro interior	4,3 centímetros
Absorbente	Silicagel grado 12 Malla 8-200 Davison: Hyflo-super cel 2:1.
Cantidad de absorbente	950 gr.
Temperatura	ambiental

La columna se preparó por agregado de una suspensión del absorbente en CCl<sub>4</sub>. Todos los solventes utilizados fueron purificados por destilación. El primer grupo de fracciones se obtuvo eluyendo con CCl<sub>4</sub>. Se debieron pasar 900 ml. para poder recoger la primera fracción. La segunda fracción se recogió con 150 ml. y la subsiguiente con 100 ml.. Se observó un pronunciado máximo en rendimiento en dicho eluido 2. Se detuvo la elución con CCl<sub>4</sub> cuando éste solvente no eluyó prácticamente más sustancia (eluido 27).

Se continuó la elución con tolueno recogiendo los eluidos desde el número 28 al 55, al principio se observó un máximo de rendimiento pero luego la elución se mantuvo aproximadamente constante.

Los eluidos 56 al 75 fueron obtenidos con cloroformo observándose un pequeño máximo de rendimiento en el eluido 68.

La aplicación de cloroformo-etanol 2:1 como eluyente permitió separar varios eluidos (76 a 96) con un pronunciado máximo en el 78-79.

La última fracción (eluidos 96-107) fué obtenida con cloroformo-etanol-ácido acético 50:25:1. La presencia de ácido acético

y su imposibilidad de eliminarlo por destilación a vacío obligó a lavar el material disuelto en éter de petróleo con agua hasta la neutralidad del líquido de lavado, el material así purificado se llevó a constancia de peso como en todos los casos anteriores por destilación a alto vacío en bomba de aceite.

En cada uno de estos eluidos se determinó el punto de fusión (ver cuadro 1) y en base a la curva de rendimiento y de P.F. obtenida se agruparon los eluidos en las siguientes fracciones:

Fracción	I	-	Eluidos 1 y 2
"	II	-	" 3
"	III	-	" 4, 5 y 6
"	IV	-	" 7 y 8
"	V	-	" 9 a 13
"	VI	-	" 14 " 27
"	VII	-	" 28 " 32
"	VIII	-	" 33 " 36
"	IX	-	" 37 " 55
"	X	-	" 56 " 75
"	XI	-	" 76 " 81
"	XII	-	" 82 " 96
"	XIII	-	" 97 "107

En estas fracciones obtenidas se determinaron los índices de acidez, saponificación, de iodo y de hidroxilo calculándose el índice de ester. Estos datos están en el cuadro II.

III - GROMATOGRAFIA DE FRACCIONES INDIVIDUALES

Los productos de saponificación extraídos con éter de petróleo luego de acidificados de las fracciones II, III, IV, VII, VIII y IX fueron cromatografiados en columna de alúmina grado II determinado según Brockman (14) con una mezcla de sudán amarillo y metoxi-azo-benzol.

Previamente se había ensayado el poder separador de la alúmina grado III - IV según Brockman no pudiéndose observar una separación entre hidrocarburos y alcoholes grasos. Por ello se



Fración No.	Solvente	Volumen ml.	Peso grac.	P.F. oC
1	CCl4	1000	0,8120	64,2
2	"	150	1,3079	67,5
3	"	100	0,3058	79,0
4	"	"	0,2191	86,5-87,5
5	"	"	0,2802	87,0
6	"	"	0,2608	87,0
7	"	"	0,2907	83,5
8	"	"	0,2102	83,5
9	"	"	0,1793	80,5
10	"	"	0,1270	80,0
11	"	"	0,1111	80,0
12	"	"	"	80,0
13	"	"	0,1113	80,0
14	"	"	0,0821	77,2
15	"	"	0,0571	77,2
16	"	"	0,0464	77,2
17	"	"	0,0521	77,2
18	"	"	0,0664	77,2
19	"	"	0,0575	77,2
20	"	"	0,0590	77,2
21	"	"	"	77,2
22	"	"	0,0467	"
23	"	"	0,0381	72,5-76,0
24	"	"	0,0284	68,0-74,0
25	"	"	0,0142	74,0
26	"	"	0,0086	74,0-75,6
27	"	"	0,0083	"
28	Tolueno	"	0,2053	67,0-70,0
29	"	"	0,2158	66,0-70,0
30	"	"	0,1295	66,5-70,0
31	"	"	0,1096	66,0-70,0
32	"	"	0,0990	68,0-70,0
33	"	"	0,1030	70,8-72,0
34	"	"	0,0783	70,2-72,5
35	"	"	0,0777	70,0-72,5
36	"	"	0,0668	72,5-74,0
37	"	"	0,0702	75,5-78,5
38	"	"	0,0789	79,0
39	"	"	"	78,0-79,5
40	"	"	0,0939	80,0
41	"	"	0,0941	79,5
42	"	"	0,0826	80,0
43	"	"	0,0815	81,5-82,0
44	"	"	0,0847	82,0
45	"	"	0,0822	81,8
46	"	"	"	"
47	"	"	0,0878	80,5
48	"	"	0,0688	80,2
49	"	"	0,0803	80,2
50	"	"	0,0777	80,8
51	"	"	0,0714	80,5
52	"	"	0,0793	80,5

Fracción No.	Solvente	Volumen ml.	Peso Frac.	P.F. oC
53	Tolueno	100	0,0793	80,5
54	"	"	0,0600	80,5
55	"	"		
56	Cloroformo	"	0,0692	
57	"	"		78,0-79,2
58	"	"	0,0762	77,8-78,8
59	"	"	0,0825	77,5-78,0
60	"	"	0,0807	77,0-77,8
61	"	"	0,0738	78,5-79,0
62	"	"	0,0900	79,0-79,2
63	"	"	0,0926	78,0-79,0
64	"	"	0,0880	78,5-79,0
65	"	"	0,0885	78,0-79,0
66	"	"	0,0819	79,0-79,8
67	"	"	0,0917	77,8-78,8
68	"	"	0,1410	80,5-81,2
69	"	"	0,1042	81,2-82,0
70	"	"	0,0840	81,5-82,2
71	"	"		
72	"	"	0,0677	83,0-83,5
73	"	"	0,0835	80,5-83,2
74	"	"	0,0856	83,5-84,2
75				
76	Cloroformo:etanol 2:1	"	0,0684	
77	" " "	"	0,1105	
78	" " "	"	0,8108	79,0-81,5
79	" " "	"	0,9000	76,8-77,8
80	" " "	"	0,3687	75,5-80,0
81	" " "	"	0,1779	81,0
82	" " "	"	0,1286	78,0-84,8
83	" " "	"	0,1201	78,2-79,5
84	" " "	"	0,1097	78,0-80,5
85	" " "	"	0,1064	79,0-82,2
86	" " "	"	0,0737	80,0-82,2
87	" " "	"	0,0842	76,9-80,0
88	" " "	"	0,0772	75,0-79,2
89	" " "	"	0,0699	73,5-76,5
90	" " "	"	0,0550	65,0-76,5
91	" " "	"	0,0417	74,0
92	" " "	"	0,0421	71,5
93	" " "	"	0,0250	68,0-70,0
94	" " "	"	0,0156	67,0-70,5
95	" " "	"	0,0104	67,0-72,0
96	" " "	"	0,0098	
97 a 107	CCl <sub>3</sub> H:etanol:acético 50:25:1	"	0,5452	92,0-95,0



Los alcoholes grasos fueron eluidos cuantitativamente con una mezcla de benzol: etanol 1:1, el benzol fué purificado por destilación sobre HOK.

La fracción de los ácidos fué obtenida por elución cuantitativa con cloroformo-acético 19:1. En ésta última elución se observa un intenso arrastre de alúmina, lo cual hace necesaria la reextracción con éter de petroleo del producto obtenido previa acidificación.

En las diversas fracciones obtenidas cuando fué posible se determinaron los puntos de fusión, índice de hidroxilo y saponificación. Ver cuadros III, IV, V, VI, VII, y VIII.

CUADRO III

CROMATOGRAFIA EN ALUMINA GRADO II DE LA FRACCION II

Peso de la fracción: 0,2532 gr.

Eluido	Solvente		Cantid, ml.	Peso de la fracc. gr.	Rendi- miento	P.F. oC
	Tipo					
I	Eter de petróleo		80	0,1906)	77,8%	64
II	" " "		80	0,0650)		
III	Benzol-etanol 1:1		80	0,0300)	12,9%	81-82
IV	" " "		45	0,0028)		
V	CCl <sub>3</sub> H-Acético 19:1		160	0,0233	9,3%	

CUADRO IV

CROMATOGRAFIA EN ALUMINA GRADO II DE LA FRACCION III

Peso de la fracción: 0,3390 gr.

Eluidos con Eter de petróleo y (Peso: 0,0930 gr.  
cloroformo-ac.acético 19:1 (Rendimiento 27,4%

Eluidos con Benceno: etanol (Peso: 0,2460 gr.  
1:1 (Rendimiento 72,6%  
(P.F.84,5-85oC  
(IH : 122,5

- 22 -  
CUADRO IV

CROMATOGRAFIA EN ALUMINA GRADO II DE LA FRACCION IV

Peso de la fracción: 0,3458 gr.

Eluído	Solvente		Cantid. ml.	Peso de la fracc. gr.	Rendi- miento	P.F. oC
	Tipo					
I	Eter de petróleo		80	0,0002		
II	" "		80	-		
* III	Benzol-etanol 1:1		80	0,1948)	78,3%	82-82,5
IV	" " "		80	0,0770)		
V	CCl <sub>3</sub> H-Ac.acético 19:1		80	0,0738	21,7%	

\* IH:115,0

CUADRO VI

CROMATOGRAFIA EN ALUMINA GRADO II DE LA FRACCION VII

Peso de la fracción: 0,3337 gr.

Eluído	Solvente		Cantid. ml.	Peso de la fracc. gr.	Rendi- miento	P.F. oC
	Tipo					
I	Eter de petróleo		80	-		
** II	Benzol-etanol 1:1		80	0,2019)	63,6%	71,5-73
III	" " "		80	0,0106)		
IV	CCl <sub>3</sub> H-Ac.acético 19:1		80	0,1212	36,4%	

\*\* IH: 149,5

CUADRO VII

CROMATOGRAFIA EN ALUMINA GRADO II DE LA FRACCION VIII

Peso de la fracción: 0,1251 gr.

Eluido	Solvente		Peso de la fracc. gr.	Rendimiento	P.P. °C
	Tipo	Cantid. ml.			
I	Eter de petróleo	80	-		
II	Benzol-etanol 1:1	80	0,0628)	54,1%	74-7
III	" " "	80	0,0050)		
IV	CCl <sub>3</sub> H-Ac.acético 19:1	80	0,0034	45,9%	

CUADRO VIII

CROMATOGRAFIA EN ALUMINA GRADO II DE LA FRACCION IX

Peso de la fracción: 0,5948 gr.

Eluido	Solvente		Peso de la fracc. gr.	Rendimiento	P.P. °C
	Tipo	Cantid. ml.			
I	Etern de petróleo	80	-		
*** II	Benzol-etanol 1:1	80	0,3774)	74,2%	81-8
III	" " "	60	0,0621)		
*** * IV	CCl <sub>3</sub> H-Ac.acético 19:1	100	0,1458	24,5%	

\*\*\* IH: 138,4

\*\*\* IS: 90,2

IV-PURIFICACION DE LA FRACCION I


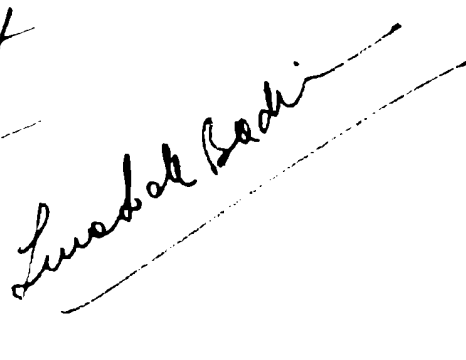
Los índices de la fracción I hacen considerar que la misma está constituida unicamente por hidrocarburos. Con el fin de purificarlos se aplicó la técnica utilizada por Schuette y Ba

nus (15).

Aproximadamente 1,5 gr. de material en vaso de precipitados se calentaron a 70-80°C en baño de María con alrededor de 20 veces su peso de ácido sulfúrico concentrado agitando continuamente y durante una hora. El ácido sulfúrico se ennegreció completamente y fué decantado. La operación de tratamiento sulfúrico se repitió seis veces, hasta que el ácido no cambió de color. Se lavó entonces con agua caliente y luego fría hasta neutralidad. El material se tomó en 25 ml. de éter de petróleo purificado y caliente, se precipitaron los hidrocarburos por enfriamiento y agregado de pequeñas cantidades de alcohol. El producto se recristalizó tres veces en total y se desecó a vacío a temperatura ambiente, obteniéndose aproximadamente un gramo pese a las pérdidas mecánicas. Se determinó el punto de fusión que resultó 69,5-70°C y el peso molecular que resultó 450,3 (Rast). Está en estudio el análisis elemental de carbono e hidrógeno, la espectrofotometría en infrarrojo y la difracción por rayos X.

CONCLUSIONES

- 10) Se estudió por cromatografía en columna de sílicagel la composición de la cera de Bulnesia retama de la Provincia de San Juan.
- 20) Se separaron 107 fracciones por elución con tetracloruro de carbono, tolueno, cloroformo, cloroformo: alcohol, cloroformo: alcohol: ácido acético que fueron reunidas por similitud de propiedades en 13 grupos. En las tres primeras fracciones eluidas por tetracloruro de carbono se demostró la presencia de hidrocarburos principalmente saturados de cadena normal y 32 átomos de carbono que constituyen el 19,8% del total de la cera.
- 30) Se observó la presencia de alcoholes libres en una proporción aproximada de 7,9% y peso molecular medio 457,2.
- 40) Se separaron también con cloroformo: etanol y cloroformo : etanol: ácido acético ácidos hidroxilados con hidroxilo libre contaminado con ácidos normales. El total de ácidos hidroxilados fué del 9,9%.
- 50) La separación de las fracciones salvo la de los hidrocarburos no fué neta observándose presencia de ácidos libres aún en las fracciones eluidas con tolueno lo que demuestra que la técnica debe ser aún perfeccionada.
- 60) Los ésteres de ácidos y alcoholes superiores aparecen en todas las fracciones menos en la fracción I.



- (1) Findlay and Brown: Jour. of the Amer. Oil Chem. Soc. 30,291 (1953).
- (2) Fuchs und Jong: Fette und Seifen, Anstrichmittel 56,218 (1954)
- (3) Slowinsky M.: Tesis (1957)
- (4) Cheronis: "Micro and Semimicro Methods". Interscience Pub. (1954)
- (5) Warth: "Chemistry and Technology of Waxes". Reinhold (1947)
- (6) Fiora J.: Comunicación privada
- (7) Lappert y Duran: Ind. y Quím. 18,223 (1957)
- (8) Paz J.M.: Comunicación privada
- (11) Glickman: Ind. Eng. Chem, Anal.Ed. 4,304 (1932)
- (12) Brenner R.: Comunicación privada
- (13) Ogg.Porttter and Willitis: Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. 17,394 (1945)
- (14) Brockman und Shodder, Ber., 74,73 (1941)
- (15) Schuette and Baldinus: Jour. of the Amer. Oil Chem. Soc. 26,530 (1949)