

## Tesis de Posgrado

# Acidos grasos componentes de la cera de la Bulnesia Retama

Paz, José Manuel

1958

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:**

Paz, José Manuel. (1958). Acidos grasos componentes de la cera de la Bulnesia Retama. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0982\\_Paz.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0982_Paz.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Paz, José Manuel. "Acidos grasos componentes de la cera de la Bulnesia Retama". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1958.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0982\\_Paz.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0982_Paz.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ACIDOS GRASOS COMPONENTES DE LA CERA DE LA  
BULNESIA RETAMA

Tesis presentada para optar al título de Doctor en Química  
por JOSE MANUEL PAZ

Buenos Aires, 1958

*Dep. de Tesis: 982*

## R E S U M E N . -

La cera de la *Bulnesia retama* es una cera de incipiente aplicación en nuestro medio y proviene de la planta mencionada que se desarrolla en las provincias de San Juan, Mendoza, Catamarca, La Rioja, Córdoba y San Luis. Su interés económico radica en su elevado punto de fusión.

Al estudiar su composición se utilizó cera extraída con tricloroetileno, previa purificación con etanol al 40% a 50°C ( Ver Cuadro I ).

De la cera saponificada con hidróxido de potasio alcohólico se separaron cinco fracciones de las cuales fueron estudiadas las fracciones A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub> y A<sub>5</sub>. ( Ver Cuadros II y III ) .

Las fracciones A<sub>2</sub> y A<sub>3</sub> de los ácidos totales ( que son las más abundantes ) fueron percoladas, luego de haber sido metiladas, en columna de urea para investigar ácidos ramificados ( Ver Cuadro V ).

Los ésteres a su vez se pasaron por una columna de alúmina grado III/IV de Brockman, separando una fracción de ésteres normales, otra de hidroxiacidos metilados y una fracción de ácidos provenientes de una demetilación de la columna ( Ver Cuadro VI )

Los ésteres normales fueron estudiados: por destilación fraccionada en microcolumna ( Ver Cuadro VII ) y por destilación amplificada ( aplicando el método de Weitkamp de adicionar a los ésteres un aceite lubricante de rango de destilación adecuado y de determinar posteriormente los índices de saponificación de las diversas fracciones para obtener una curva de índices de saponificación versus cantidad destilada. ( Ver Cuadros VIII y IX ) ( Ver Gráficos I y II ) .

Las primeras porciones, compuestas por ácidos de hasta 24

# FOFNA

átomos de carbono , fueron cromatografiados por el método de Horvard y Martin ( cromatografía en fase invertida de celite-diclorodimetilsilano ) demostrándose la existencia de ácidos desde  $C_{16}$  hasta  $C_{24}$  ( Ver Gráficos III ) .

Con todos los datos pudo calcularse la composición aproximada en ácidos de la cera ( los ácidos constituyen el 53,9% y el insaponificable el 45,5% del total de la cera ) :

a) Saturados de cadena normal : 69,9%

$C_{14}$ :	Rastros	$C_{26}$ :	6,3%
$C_{16}$ :	2,3%	$C_{28}$ :	9,2%
$C_{18}$ :	1,0%	$C_{30}$ :	23,4%
$C_{20}$ :	1,3%	$C_{32}$ :	17,4%
$C_{22}$ :	2,8%	$C_{34}$ :	5,0%
$C_{24}$ :	1,2%		

b) Hidroxilados : 7,4%

c) Otros ácidos ( probablemente similares a los anteriores y en similar distribución ) : 13,1%

d) Resinosos ( Equiv. Sap. = 365,2 ) : 0,4%

e) No investigados ( Equiv. Sap. = 403,6 ) : 4,8%

f) No investigados ( Equiv. Sap. = 444,9 ) : 4,4%



UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ACIDOS GRASOS COMPONENTES DE LA CERA DE LA  
BULNESIA RETAMA

Tesis presentada para optar al título de Doctor en Química  
por JOSE MANUEL PAZ

Buenos Aires, 1958

TESIS: 982

Tesis 982

### AGRADECIMIENTO.-

Presento aquí el testimonio de mi mayor agradecimiento al Dr Rodolfo R. Brenner por su dirección, estímulo y colaboración y por haberme permitido utilizar los laboratorios de la cátedra de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata, todo lo cual ha hecho posible este trabajo.

Beseo también expresar mi reconocimiento al Dr Pedro Cattaneo por haber autorizado la realización de este trabajo en los laboratorios de la cátedra de Bromatología y Análisis Industriales de esta Facultad.

Lo mismo hago extensivo al Sr Osvaldo Mercuri por la colaboración que ha prestado en la parte de cromatografía en fase invertida y al laboratorio de Yacimientos Petrolíferos Fiscales, de Florencio Varela, por suministrar el iso-octano empleado en la percolación en columna de urea.-

## I) I N T R O D U C C I O N . -

Las múltiples y muy variadas aplicaciones de las ceras en la tecnología moderna son la causa de su enorme importancia como materia prima indispensable para diversas industrias. Las aplicaciones dependen de sus propiedades físicas y éstas, a su vez, de la composición química que en última instancia es el resultado de un metabolismo especial del vegetal considerado. Entre estas propiedades el punto de fusión es una de las características que valoriza a una cera y es así que la cera de Carnauba ( *Copernicia ceriphera* ) posee un elevado punto de fusión, pero su origen extranjero eleva el costo y dificulta su aplicación. Recientemente en la Argentina se ha iniciado la explotación (1) (2) de la cera que se produce en las ramas de la *Bulnesia retama*, zigofilácea, (3), ampliamente distribuída en las provincias de San Juan, Catamarca, La Rioja, Córdoba, Mendoza y San Luis. Esta cera tiene elevado punto de fusión y características que la hacen en ciertos casos reemplazante de la cera de Carnauba. Este reemplazo no puede ser total debido a ciertas diferencias constitutivas.

En este trabajo se busca determinar la composición en ácidos grasos de la cera de la *Bulnesia retama*, obtenida directamente del vegetal y recurriendo al método tradicional de su saponificación y separación posterior de sus componentes.

El polvo color ocreo fué obtenido por apaleo de las ramas jóvenes de la *Bulnesia retama*, proveniente de Ampacama ( San Juan ) recolectadas en la primavera de 1955 y dejadas secar durante 30 días.

En el polvo tamizado se verificó 73,9% de material extraíble con tricloroetileno ( en Soxhlet ) y 1,28% de humedad y volátiles secado en estufa a 110°C ) .-

#### A) EXTRACCION.--

Los métodos industriales de obtención de la cera aplican comúnmente la ebullición con agua acidulada que al mismo tiempo que separa la cera la purifica de materiales hidrosolubles. Su rendimiento no es sin embargo cuantitativo. Por ello se prefirió ensayar la purificación previa del material céreo por extracción con etanol al 40% a 50°C. Se pudo separar así 2,03% de material soluble parduzco adherente. Una extracción posterior con etanol al 45% en frío separó aún 1,62% de impurezas de color verdoso.

En el material céreo así purificado se ensayó la extracción en Soxhlet con éter de petróleo ( P.E.= 60-70°C ) durante 15 horas. Se obtuvo 65,5% de cera de color claro ( P.F.= 72-81°C; P. Resolidificación= 70°C ), pero en el residuo se observó aún la presencia de ceras no extraíbles que pudieron ser obtenidas sin embargo con tricloroetileno tras 8 horas de extracción. Esta última porción alcanzó al 4,88% ( P.F.= 85,0-86,5°C; P.Res.= 83,0°C ). En el residuo inextraíble se observó microscópicamente la presencia de materia vegetal y arena.

En vista de la acción purificadora del etanol y la inefectividad del éter de petróleo ( P.E.= 60-70°C ) como solvente, se extrajo definitivamente el polvo céreo original, previa purificación con el doble tratamiento alcohólico, con tricloroetileno ( en Soxhlet ) en caliente durante 60 horas. El rendimiento total céreo fué de 71,0%.-

#### CONSTANTES FISICAS Y QUIMICAS.--

Las constantes físicas y químicas de la cera extraída se hallan en el Cuadro I:



**Cuadro I : CONSTANTES FISICAS Y QUIMICAS DE LA CERA.**

Constantes		(2)
Punto de Fusión(Capilar cerrado)	76-82°C	76-78°C
Punto de Resolidificación	69,5-71°C	
Indice de Refracción $n_D^{84°C}$	1,4448	
Indice de Acidez	44,7	49,1
Indice de Saponificación	92,6(x)	87,9
Indice de Hidroxilo	22,6	16,17(xx)
Indice de Iodo(Hanus)	8,0	4,9

(x): Valor hallado saponificando 6 horas. El valor hallado durante 1 hora fué 80,2

(xx): Indice de Acetilo

En el cuadro anterior se muestran comparativamente los valores obtenidos en esta muestra con relación con los señalados por Tinto y Pardo (2).

En la determinación del índice de saponificación se estudiaron varias técnicas prefiriéndose la utilización del propilén-glicol como incrementador del punto de ebullición ( Ver Parte Experimental ). Se observó, sin embargo, un incremento constante del índice de saponificación con el tiempo de saponificación hasta alcanzar un valor constante que corresponde aproximadamente a las 6 horas de reflujo.--

**B)SEPARACION DE ACIDOS GRASOS E INSAPONIFICABLE.**

En la primera experiencia se saponificó la muestra según lo indicado en la parte experimental y aplicando la técnica de Murray y Schoenfeld (5) por calentamiento a reflujo con potasa cáustica en presencia de éter de petróleo (P.E.= 90-100°C ) durante 24 horas. La extracción del insaponificable se trató de realizar, según indicación de esos autores, por medio de éter de petróleo en caliente, no obteniéndose sin embargo ninguna separación aceptable debido a la insolubilidad hidroalcohólica de los jabones de elevado peso molecular.

En una segunda experiencia 234,9 g de cera se saponificaron en forma similar, se separó la fracción hidroalcohólica que contiene los jabones solubles y el resto de los ácidos grasos fueron precipitados como sales cálcicas (6) y (7) y el insaponificable con benceno siguiendo un trabajo posterior de Murray y Schoenfeld (8). En esta forma se obtuvieron 5 fracciones:

FRACCION A<sub>1</sub>: Proviene de la fase hidroalcohólica de la saponificación y debió ser purificada por precipitación cálcica y eliminación del insaponificable con benceno en Soxhlet. Se obtuvieron 12,0 g de un material pastoso (Ver constantes en el Cuadro III ).

El bajo punto de fusión señaló indudablemente la presencia de ácidos de bajo peso molecular. Al descomponer las sales cálcicas de esta fracción aparecieron 4,20 g de una sustancia gris no identificada.-

FRACCION A<sub>2</sub>: El material disuelto en éter de petróleo y el extracto bencénico de la purificación de la fracción A<sub>1</sub> fueron precipitados como sales cálcicas, desecados y extraídos 25 horas en un Soxhlet con benceno. De los jabones acidificados se recuperaron 68,0 g de ácidos, aunque una porción quedó fuertemente emulsionada.-

FRACCION A<sub>3</sub>: La porción fuertemente emulsionada fué dificultosamente extraída con benceno y sumó 35,0 g.-

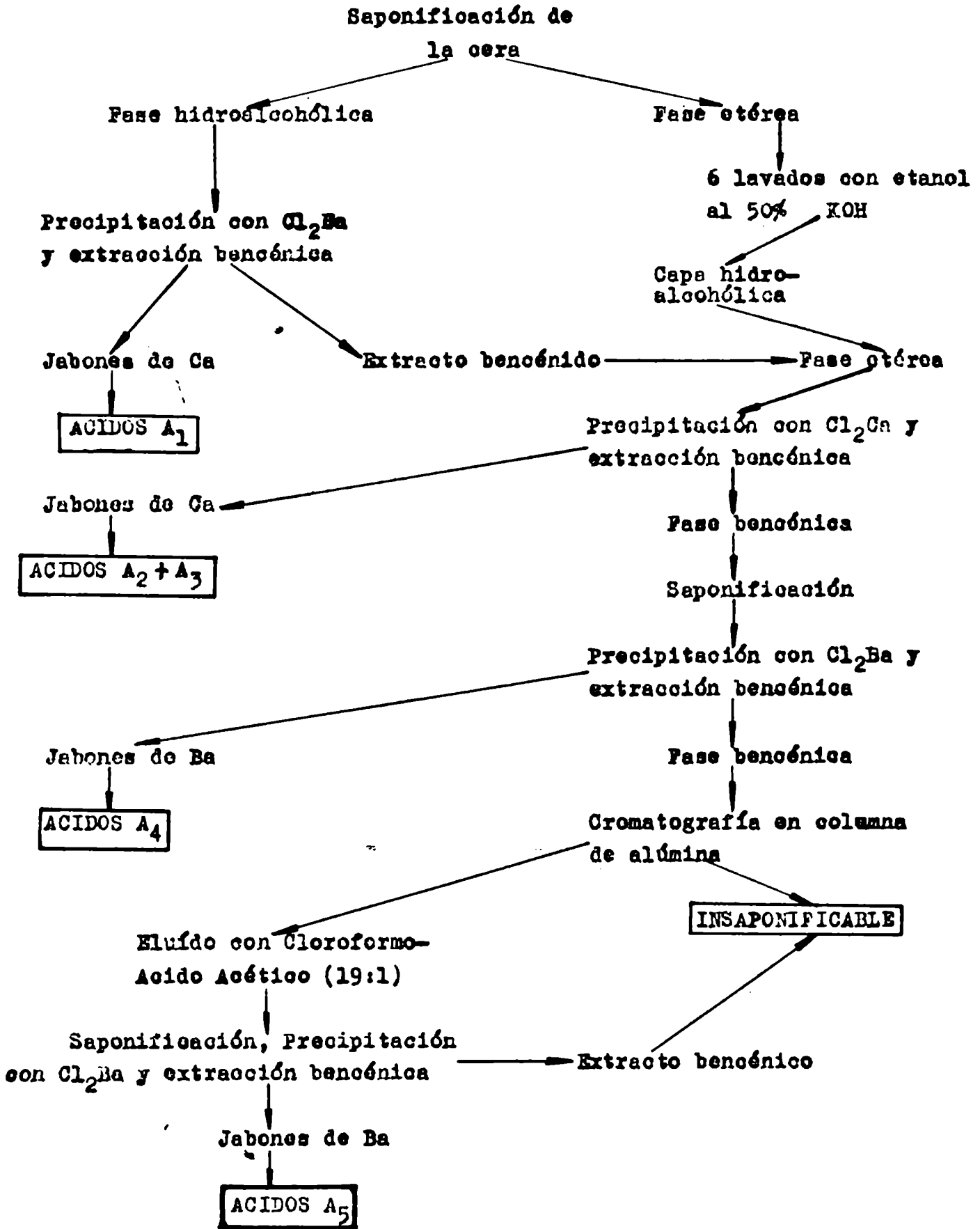
FRACCION A<sub>4</sub>: En el insaponificable remanente ( 112,6 g ) al realizarse un índice de saponificación se reconoció la presencia de material saponificable y por ello, luego de sometido a una nueva saponificación y precipitación, en este caso con cloruro de bario fué

extraído con benceno. Se recuperaron proporcionalmente 6,1 g adicionales de ácidos.-

FRACCION A<sub>5</sub>: El insaponificable total fué separado y estudiado independientemente y los resultados obtenidos serán publicados a corto plazo. En este insaponificable así separado se reconoció todavía la presencia de ácidos grasos pero se prefirió recuperarlos aplicando otras técnicas en el transcurso de la investigación de la composición del insaponificable. Sometido éste a una nueva separación cromatográfica en alúmina grado IV de Brockman en el eluido con cloroformo-ácido acético (19:1) se obtuvo una fracción ácida: 5,43% del insaponificable. Dicha fracción de índice de acidez= 90,2 , índice de iodo= 20,1 , índice de hidroxilo= 43,5 , se sospechó contuviese probablemente insaponificable y por ello se sometió a una saponificación y precipitación posterior con sales de bario y extracción bencénica. Se obtuvieron 14,6% de extracto bencénico ( P.P.= 72,42C; I.S. = 126,1; I.A.= 108,0; Eq. Sap.= 444,9 ). Por lo tanto los 5,43% de material ácido se calculó que se distribuyen en 4,94% de ácidos y 0,49% de alcoholes. Como el insaponificable que contiene incluido a los ácidos de la fracción A<sub>5</sub> es el 47,9% de la cera, el porcentaje a sumar es 2,4%.

El contenido total de ácidos resulta ser 53,9% de insaponificable y el residuo resinoso de la fracción A<sub>1</sub>: 1,8%

CUADRO II: ESQUEMA DE LA SEPARACION DE LOS COMPONENTES DE LA CERA .-



CUADRO III: CARACTERISTICAS DE LAS FRACCIONES ACIDAS.-

Fracción	% en Acidos Totales	% en Cera	P.F.(20)	I.A.	I.S.	E.S.	I.I.	I.H.
A <sub>1</sub>	9,46	5,10	68,5-72,5		170,5	328,8	10,4	44,8
A <sub>2</sub>	53,65	28,90	85,0	122,2	130,4	430,2	0,5	2,7
A <sub>3</sub>	27,61	14,90	85,0-90,0	119,3	122,3	458,5	0,5	3,0
A <sub>4</sub>	4,83	2,60			139,0	403,6	9,6	
A <sub>5</sub>	4,45	2,40	72,4		126,1	444,9		

## II) DISCUSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL

### A) COMPOSICION DE LA FRACCION A<sub>1</sub>

Fué determinada por Slovinsky (4).

### B) COMPOSICION DE LAS FRACCIONES A<sub>2</sub> Y A<sub>3</sub>

Se esterificaron los ácidos de estas fracciones, por separado, con metanol. Se mejoró el rendimiento de la metilación empleando metanol deshidratado previamente con cal viva y siguiéndose la técnica de Murray y Schoenfeld (8) que deshidratan continuamente las sustancias reaccionantes colocando  $SO_4Hg$  anhidro en el dedal de un Soxhlet. Debido a la similitud de propiedades de ambas fracciones fueron reunidas en cantidad proporcional a las cantidades en que aparecieron ( Ver Cuadro III ).

ACIDOS RAMIFICADOS.— En primer lugar se trató de investigar la presencia de ácidos ramificados para lo cual aplicándose el método de Cason et al (9) se percoló el material disuelto en iso-octano con 1% de metanol a través de una columna de urea. Los ácidos de cadena normal al formar aductos quedarían retenidos mientras los ramificados pasarían libremente. En la primera percolación, según puede verse en la Parte Experimental sólo 35,12% fué retenido en la columna mientras que 64,88% pasaron a lo largo. La determinación de los puntos de fusión y de los índices de saponificación de cada una de ellas no demostró ningún fraccionamiento y por ello el material que no formó aducto fué percolado en una nueva columna de urea: 90,25% fué retenido en la columna y 9,75% no formó aductos. La comparación

de los puntos de fusión y de los índices de saponificación de ambas fracciones señala una diferencia significativa, lo cual nos sugiere la existencia de ácidos ramificados en una proporción determinable. Podemos decir groseramente, dado que el método no es cuantitativo, que los ésteres de los aparentemente ácidos ramificados forman el 6,3% de los ésteres de la fracción  $A_2 + A_3$ .

ACIDOS HIDROXILADOS.— La baja proporción de ácidos ramificados permitió no tenerlos en cuenta en la investigación siguiente.

Siguiendo el método de Murray y Schoenfeld (10) se separan los ésteres de hidroxiaácidos por cromatografía en una columna de óxido de aluminio (actividad III/IV según Brockman) a 50°C (el material se trató de disolver y arrastrar a la columna en porciones sucesivas de éter de petróleo) y se separaron los ésteres de ácidos normales (fracción a,b), con benceno-etanol (1:1) se separaron los ésteres de ácidos hidroxilados (fracción c,d) y con cloroformo-ácido acético (19:1) los ácidos libres fuertemente fijados por el óxido de aluminio (fracción e) (Ver Cuadro VI).

La fracción (a,b) está constituida por ésteres de ácidos normales prácticamente saturados y fué estudiada de diversas maneras, según se verá enseguida.

La fracción (c,d), neutra, con una relación de índice de hidroxilo:índice de saponificación bastante cercano a la unidad deberá estar constituida por consiguiente por ésteres de ácidos monohidroxicarboxílicos de peso molecular promedio 495,0, es decir entre ácidos de 28 y 30 átomos de carbono de promedio. La presencia de ácidos hidroxilados en ceras ya fué señalada por diversos autores. En la cera de Carnauba, Murray y Schoenfeld (10) en 1955 pudieron identificar una serie de ácidos  $\omega$ -hidroxilados con número par de átomos de carbono que van desde  $C_{18}$  hasta  $C_{30}$ . En ceras de coníferas ya había sido reconocida la presencia de  $\omega$ -hidroxiaácidos por Bongauld y Bourdies (11) en 1909 y posteriormente por Fujita y Yoshikawa (12). Estas sustancias no dan lactonas como los  $\gamma$ -y  $\delta$ -hidroxiaácidos, según Warth (13)

según Warth (13) y Meyer y Eckerd (14), pero sí dan estóolidos en medio ácido suave: Jensen (15). La pequeñez de la fracción (c,d) no permitió realizar investigaciones posteriores.

En la fracción e se han acumulado ácidos libres producidos por una demetilación ya señalada por esta técnica por Murray y Schoenfeld (10). La recuperación cromatográfica fué superior a 97%, valor muy aceptable ya que la diferencia al 100% proviene de la demetilación e interesterificación producida por hidroxifácidos demetilados. Por consiguiente el valor 18,38% de  $A_2 + A_3$  es el valor corregido teniendo en cuenta todas estas pérdidas ( demetilación y deshidratación concomitante y una cierta proporción de ácidos retenidos por la columna de alúmina).

La presencia de estóolidos en esta fracción -ya señalada por Murray y Schoenfeld (10) - puede establecerse por las diferencias entre el índice de ácidos y el índice de saponificación, es decir el índice de éster (21,2) que corresponde a la fracción de estóolidos presentes, valor que corresponde a su vez a una proporción equimolecular de hidroxifácidos. A esta proporción de hidroxifácidos hay que sumar la proporción que corresponde al índice de hidroxilo hallado. Puede atribuirse por lo tanto bastante aproximadamente que 20,3% de la fracción e corresponde a hidroxifácidos. La proporción total de ésteres metílicos de hidroxifácidos de e en  $A_2 + A_3$  metilada es de 3,73%.-

Composición de la fracción (a,b) de  $A_2 + A_3$ . - En la determinación de la composición de esta fracción se presentó el problema del muy alto peso molecular. Como una técnica asequible se decidió utilizar la destilación fraccionada a alto vacío. Se desecharon las columnas con material de relleno tradicional, por la gran caída de presión que se produce en el relleno lo que obliga a elevar la temperatura de calentamiento a cifras tales que producirían el cracking de los ésteres. En ausencia de una columna rotatoria se aplicó un modelo similar a la microcolumna usada por Lovern del Torry Res. St. de Aberdeen, que si bien posee un bajo número de platos permitió al-



comenzar temperaturas de 300°C sin señal de cracking.

Por destilación a 0,5 mm de Hg fué fraccionada en 7 porciones más un pequeño residuo en las que se determinaron los índices de saponificación y se resolvieron por sistemas de ecuaciones suponiendo la presencia de mezclas binarias de ácidos saturados de número par de átomos de carbono. Los valores del residuo se calcularon tomándose como índice de saponificación el de la fracción anterior ( la N°7 ) pues su alto equivalente de saponificación indicaría que una pequeña fracción ha sufrido cracking ( su P.F. así lo indica ) y no que está formada por ácidos de mayor número de átomos de carbono. La composición hallada puede verse en el Cuadro VII. Resultó una composición demasiado sencilla formada por sólo 3 ácidos: octacosanoico, triacontanoico y dotriacontanoico.

La reconstrucción del índice de saponificación (= 121,2) coincide completamente con el de (a,b) hallado anteriormente: 121,1.

Para reconocer la validez del resultado obtenido se aumentó el poder separador de la columna recurriendo a la técnica de Weitkamp (16) realizando una destilación amplificada a alto vacío de la fracción 2 de la anterior destilación: 1,3675 g de ésteres fueron destilados a 0,5 mm de Hg en la microcolumna anterior conjuntamente con 24,5 g del aceite lubricante amplificante, neutro, de apropiado rango de destilación. Se recogieron 23 fracciones en las que se determinaron los índices de saponificación construyéndose una curva de dicho índice de saponificación versus cantidad destilada (Ver Gráfico 1). Se observaron 5 picos bien marcados los que señalan la presencia de por lo menos 5 componentes en esa fracción y no 2 como suponimos en la anterior destilación.

Por ello se realizó una nueva destilación amplificada pero sobre 1,6 g de ésteres totales de la fracción (a,b) de A<sub>2</sub>+A<sub>3</sub> conjuntamente con 58 g de aceite amplificante, a 100 micrones de vacío. Se recogieron 29 fracciones en las que se determinaron los índices de saponificación ( Ver Cuadro IX ). Se obtuvo una curva con 7 picos (Ver Gráfico II ). Para poder identificar cuáles son los componentes, los ácidos de las fracciones primeras, 1 hasta 7

y la 13 fueron separadas del aceite lubricante, luego de determinado el índice de saponificación y acidificados, por fijación en una columna de alúmina grado II de Brockman (17) .

Los ácidos recuperados fueron resueltos en la columna cromatográfica en fase invertida de eolite-diclorodimetilsilano por elución con cantidades crecientes de acetona-agua, aplicando la técnica de Horvard y Martin (18) según directivas de Garton (19). Se pudo demostrar que las fracciones eran una mezcla de varios componentes los cuales fueron estimados cuantitativamente (Ver Gráfico 3). Se pudo así deducir, a su vez, cuáles eran los ácidos predominantes en cada máximo de la destilación y calcular aproximadamente la composición en base a la superficie atribuida a cada componente (Ver Cuadro IX ) considerando que correspondía una curva gaussiana.-

#### COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS TOTALES

En base a los resultados parciales obtenidos se calculó la composición aproximada de los ácidos totales de la cera. Los valores en el cuadro IV están tabulados:

**CUADRO IV: COMPOSICION APROXIMADA DE LOS ACIDOS TOTALES DE LA  
CERA DE BULNESIA RETAMA.-**

Tetradecanoico(C <sub>14</sub> )	Restros	
Hexadecanoico(C <sub>16</sub> )	2,3	
Octadecanoico(C <sub>18</sub> )	1,0	
Eicosanoico(C <sub>20</sub> )	1,3	
Docosanoico(C <sub>22</sub> )	2,8	
Tetraosanoico(C <sub>24</sub> )	1,2	69,9
Hexacosanoico(C <sub>26</sub> )	6,3	
Octocosanoico(C <sub>28</sub> )	9,2	
Triacosanoico(C <sub>30</sub> )	23,4	
Dotriacosanoico(C <sub>32</sub> )	17,4	
Tetrotricosanoico(C <sub>34</sub> )	5,0	
<b>Acidos Hidroxilados</b>	<b>7,4</b>	<b>7,4</b>
Otros ácidos (probablemente similares a los ácidos normales anteriores y en similar distribución)	13,1	
<b>Acidos Resinosos (Eq. Sap. = 365,2)</b>	<b>0,4</b>	<b>22,7</b>
<b>Acidos No Investigados (Eq. Sap. = 403,6)</b>	<b>4,8</b>	
<b>Acidos No Investigados (Eq. Sap. = 444,9)</b>	<b>4,4</b>	

Los ácidos de la última fracción (4,4%) están formados en gran proporción por ácidos hidroxilados, mientras los ácidos resinosos podrían ser productos de condensación de ácidos hidroxilados.

Entre estos ácidos existen aparentemente alrededor del 5% de ácidos ramificados.-

### III) P A R T E      E X P E R I M E N T A L . -

#### A) TÉCNICAS ANALÍTICAS.-

1) INDICE DE ACIDEZ (Microtécnica).- Ni los ácidos ni sus ésteres metílicos son solubles en etanol ni aún a la temperatura de ebullición (por su elevado peso molecular). El añadido de tolueno determina la solubilización total en caliente y esa mezcla admite una cierta proporción de agua.

Se siguió en todos los casos la siguiente técnica: se disolvió 0,5 g de sustancia en 100 ml de etanol-tolueno (1:1) neutralizado y se titula con NaOH 0,1N en caliente con fenolftaleína.-

2) INDICE DE SAPONIFICACION.- Se siguió esta microtécnica apta para ácidos de alto peso molecular: 0,5 g de sustancia más 5 ml de KOH 0,5N alcohólico más 5 ml de propilenglicol neutralizado más 2,5 ml de xileno, se saponifican durante 1 hora, se añade luego 60 ml de etanol 96% neutralizado hirviente y 1 ml de fenolftaleína y se titula en caliente con ClH 0,1N para mantener la sustancia disuelta.-

3) INDICE DE ICDC (HANUS) (Micrométodo).- Se siguió la técnica de J.Lovern del Torry Research Station, Aberdeen (20) : 0,05 g de muestra fué disuelta en 4 ml de cloroformo (calentando si es necesario) y agitada en frasco bien cerrado con 5 ml de solución Hanus y dejada 30 minutos en la oscuridad. Para titular se agregan 4 ml de IK al 10% y se titula con  $S_2O_3Na_2$  0,025N recientemente preparado agregando 1 ml de almidón al 1% cerca del punto final.

4) INDICE DE HIDROXILO..- Su determinación se basa en la acetilación de la cera con un exceso de anhídrido acético y dosaje de este exceso. Se utilizó la modificación del método original de West efectuadas por Ogg, Porter y Willitis (21). Se efectúa la acetilación con solución de anhídrido acético en piridina y se hidroliza luego el exceso del primero con agua.

Reactivos..- a) Anhídrido acético (fraccionado en columna Vigreux recogiendo la fracción 138-141°C).

b) Piridina deshidratada azeotrópicamente (22)

Técnica..- Se pesa una cantidad de sustancia que equivalga aproximadamente a 2 ml de alcali 0,1N en un frasco de 50 ml en forma de pera. Se vierte 0,4 ml del reactivo acetilante (1 de anhídrido acético en 3 de piridina) con la microbureta "Aglo" (que puede medir 0,01 ml con un error de 0,0005 ml) apoyando el capilar contra el borde. Se cierra con tapón mojado (condensador de agua a reflujo) en piridina y se coloca en baño de agua en el que 1,25 cm de la pera esté en el interior. Se acetila 30 minutos. Se agrega 3 ml de agua a través del condensador y se hidroliza calentando 30 minutos. Se agrega 1 ml de piridina al tapón y se hace que vierta el interior lavando los bordes del tapón y enfriando al chorro de agua. Se agrega 3 ml de butanol al tapón y luego 3 gotas de fenolftaleína. Se titula con bureta que pasa por un orificio de tapón de goma con NaOH acuoso 0,1N. Se hace blanco y se debe determinar el índice de ácidos para los cálculos.-

5) PUNTO DE FUSION..- Se siguió el método del capilar cerrado.-

6) MICROANALISIS CROMATOGRAFICO EN FASE INVERTIDA..- Se utilizó el método de Horvard y Martin (18) según indicaciones de Garton (19) para la resolución de mezclas (de 1 a 60 mg) de ácidos saturados de 12 a 24 átomos de carbono. Se empleó una columna termostatisada a 40°C de 1,5 cm de diámetro y 30 cm de alto conteniendo como fase fija 20 g de colite 503 (de Johns Mansville) embebido en diclorodimetilsilano (B.D.H.) y 16 g de parafina líquida -Silk y Kahn

(23)--. Los ácidos grasos introducidos en la columna fueron elu-  
dos con volúmenes previamente determinados de mezclas de acetona-  
agua de concentraciones crecientes: 55%, 63%, 68%, 75%, 80% y 85%  
(% en volumen/volumen), saturadas con parafina líquida de tal mo-  
do que cada ácido es separado individualmente. El eluido es reco-  
gido automáticamente con un sifón en porciones de 2 ml y titulado  
con una gran microbureta con solución de NaOH (indicador: azul de  
bromotimol) en atmósfera de nitrógeno.--

## B) FRACCIONAMIENTO DE LA CERA .-

### 1) SAPONIFICACION DE LA CERA Y SEPARACION DE LOS ACIDOS GRASOS.-

Ver Cuadro II. Fue realizada por Slovinsky (4) .

### 2) COMPOSICION DE LA FRACCION $A_1$ .- Fue investigada por Slovinsky

(4).

### 3) COMPOSICION DE LA FRACCION $A_2 + A_3$ .-

a) Esterificación.- 34,88 g de la fracción  $A_2$  y 28,85 g de la fracción  $A_3$  fueron esterificados respectivamente con metanol según técnica de Clark et al (24) y Murray y Schoenfeld (8) : se empleó 400 y 320 ml, respectivamente, de benceno-metanol (1:1) (metanol tratado durante 24 horas con cal viva y destilado posteriormente) con 1% en peso de  $SO_4H_2$  concentrado en un Soxhlet en cuyo dedal se agrega una mezcla de  $SO_4Hg$  anhidro (calcinado) y arena (lavada y calcinada), se esterificó a reflujo 24 horas (rendimientos: 95,4% y 93,3% respectivamente). En la purificación de los ésteres metílicos para eliminar los ácidos no esterificados se lavaron repetidamente con solución al 5% de  $CO_3K_2$  en metanol al 40% en caliente. Se prefirió la solución metanólica en vez de la acuosa para evitar en gran parte la formación de emulsiones. Al determinarse las constantes de ambas fracciones metiladas (Ver Cuadro III) se observa su gran similitud lo que está indicando similitud en la composición química por lo que se resolvió mezclar  $A_2$  y  $A_3$  en la misma proporción que en la que aparecieron.-

### b) Separación en columna de urea.-

Preparación: Se purificó urea disolviéndola en etanol hirviente, filtrado, cristalización a 0°C y filtrado, se repite nuevamente y se seca a la bomba (500 g de urea en 850 ml de etanol). Se pulveriza y se recoge lo que pasa a través de un tamiz 100-mesh y se coloca en la columna fuertemente compactada. Según Cason (9) para 300 moles de urea debe agregarse 1 mol de ácido, nosotros hemos empleado 120 g de urea (2 moles) y 3,028 g de áster (aproximada-

mento 1/150 mol).

Separación: 3,028 g de ésteres metílicos A<sub>2</sub>+A<sub>3</sub>, disueltos en iso-octano conteniendo 1% de metanol fueron percolados a través de una columna de 120 g de urea de 2,5 cm de diámetro y 20 cm de altura termostaticada a 45°C. El material fué eluido cuantitativamente con 540 ml del mismo disolvente obteniéndose los resultados anotados en el Cuadro V. La recuperación total fué 95,6%.

1,722 g de la fracción no retenida fueron percoladas nuevamente en otra columna conteniendo 100 g de urea (2,5 cm de diámetro y 17 cm de alto) obteniéndose los resultados anotados en el cuadro V-2 Percolación.

Finalmente se disolvió el material de la columna en agua con lo que los ésteres retchidos por la urea se liberan y se extraen con benceno:

CUADRO V: SEPARACION DE LOS ESTERES DE A<sub>2</sub>+A<sub>3</sub> POR PERCOLACION EN COLUMNA DE UREA.-

	Fracción	Eluyente ml	Cantidad g	P.P. °C	P.Res. °C	I.S.	Eq.Sap.	
1ª Perco- lación	Retenida		1,017	59,3-70,5	66,9	122,1	459,5	
	Eluidas	A	300	1,834	69,2-70,9	67,0		
		B	240	0,045	69,3-71,3			
2ª Perco- lación	Retenida		1,554	69,2-71,0		121,1	463,3	
	Eluidas	A	400	0,120	61,3-62,1		114,2	491,3
		B	225	0,048	61,5-62,1			



### e) Separación de ésteres hidroxilados.

Preparación: Se empleó alúmina "Riedel-de Haen" como material de relleno, la que previamente fué tratada con  $\text{HCl}$  al 2% en caliente, lavada a neutralidad, secada en estufa a  $105^{\circ}\text{C}$  activada por 5 horas de calentamiento a  $500^{\circ}\text{C}$  y desactivada a grado III/IV, según Brockman (17) manteniéndola 26 horas en atmósfera saturada de agua. La actividad se controló con una mezcla de sudán rojo y sudán amarillo en éter de petróleo-benceno (1:1) (17).

Los solventes utilizados fueron purificados previamente. El éter de petróleo fué tratado repetidamente con  $\text{SO}_2$  concentrado hasta que el ácido peroxosulfúrico desapareciera después de un tratamiento y finalmente se destiló sobre KOH recogiendo la fracción que pasa entre  $60$  y  $70^{\circ}\text{C}$ . El benceno se purificó destilándolo sobre KOH.

Se trabajó con una columna de las siguientes características:

Altura efectiva:	25 cm
Diámetro efectivo:	3 cm
Cantidad de alúmina: III/IV:	287 g
Temperatura baño termostático:	$50^{\circ}\text{C}$

Separación .- 43,038 g de los ésteres metílicos de  $\text{A}_2 + \text{A}_3$  fueron fraccionados cromatográficamente siguiendo la técnica de Murray y Schoenfeld (10). Para ello se los disolvió en 295 ml de éter de petróleo y se lo vertió en la columna, previamente saturada del mismo solvente. El cromatograma fué revelado agregando porciones medidas de solventes de polaridad creciente, según se indica en el Cuadro VI. La última fracción, la g, arrastró alúmina por lo que se trató con  $\text{HCl}$  concentrado (para liberar los ácidos de los jabones de aluminio que eventualmente pudieran formarse), se lavó hasta neutralidad, extrayéndose los ácidos y ésteres grasos con benceno caliente.

El colorante de la cera fué retenido por la alúmina en la parte superior de la columna y el eluir con cloroformo-ácido acético pasó en su mayor parte a la fracción e.

Las eluciones fueron rápidas salvo las de la fracción e que fueron aceleradas con vacío

CUADRO VI: SEPARACION CROMATOGRAFICA EN ALUMINA DE LOS ESTERES MONOICOS DE A<sub>2</sub>+A<sub>3</sub>.-

Prección	Eluyente	Volumen ml	Cantidad g	%	P.p. %	I.Ac.	I.S.	M.ScP	I.V.	I.I.	Observo.
Esteres A <sub>2</sub> +A <sub>3</sub>	Etcr de Petróleo (60-70°C)	a 700	34,951		69,5-71,0	0,5	122,3	458,7	2,8	0,8	
		b 500	0,127	79,91	69,2-71,0	0,0	121,1	463,3	0,0	0,7	Bianca Cristalina
	Benceno-Etanol 1:1	c 700	0,685		77,0-79,0	0,0	113,3	495,6	87,6		Amarilla No Cristalina
		d 500	0,067	1,71	77,0-79,0	0,0	113,3	495,6	87,6		
	Cloroformo-Ac. Acético 19:1	e 1.500	7,208 (x)	10,38	80,5-82,0	106,5	127,7	455,3	1,8		Pérdido Cs-curo No Cristalino

(x): Corregido = 3,070

#### d) Composición de la fracción cromatográfica (a,b)

Preparación.— Se preparó unos 150 ml de metal wood (26,7% de Pb, 15,3% de Sn, 10% de Cd y 50% de Bi) de punto de fusión = 70°C, que sirvió como baño de calentamiento del balón de destilación.

Destilación fraccionada: 9,325 g de ésteres metílicos de la fracción (a,b) fueron destilados a 0,5 mm de Hg en una microcolumna de 125 ml de capacidad y 10 cm de altura con una espiral de cobre de 7 cm de alto, obteniéndose 7 fracciones y un residuo en los que se determinaron los índices de saponificación y los puntos de fusión. En base a los equivalentes de saponificación se resolvió cada fracción como compuesto de mezclas binarias de ésteres de número par de átomos de carbono. Los resultados hallados están en el Cuadro VII.

Destilación amplificada de la fracción 2 de (a,b): Esta fracción de la destilación anterior fué resuelta por la técnica amplificada de Weitkamp (16) aplicada ventajosamente a coras por Murray y Schoenfeld (8).

1,367 g de ésteres de la fracción 2 con una temperatura de destilación de 287 a 293°C fueron mezclados con 29,49 g de una mezcla 9:1 de los aceites lubricantes de Shell "Neutral 120" (que destila entre 237 y 330°C) y "Valvata 79" (que destila desde 315 a 360°C), que son totalmente parafínicos, lo que evita posibles polimerizaciones de los mismos.

En las 25 fracciones recogidas, pesadas, se determinó los índices de saponificación de cada una de ellas y se construyó un gráfico de índices de saponificación versus cantidad destilada (Ver Gráfico 1 y Cuadro VIII)

Destilación amplificada de (a,b): 1,6 g de los ésteres (a,b) de  $A_2 + A_3$  fueron a su vez destilados por el método de Weitkamp junto a 58 g de mezcla de 7:3 de aceites Shell "Neutral 120" y "Valvata 79". Se utilizó la microcolumna anterior a un vacío de 100 micrones de Hg. Se separaron 29 fracciones en las que se determinaron los índices de saponificación que se encuentran detallados en el Cuadro IX y Gráfico 2.—

Análisis cromatográfico en fase invertida de algunas fracciones

CUADRO VII: DISTILACION ESTERES METILICOS FRACCION A<sub>2</sub>+A<sub>3</sub>

Fracción	Peso	Temp. Baño °C	I.S.	Equiv. Sup.	Saturación de ácidos saturados			P.F. °C
					0.2%	0.3%	0.3%	
1	1,501	260-287	123,4	454,7	0,532	0,749		62,7-65,4
2	2,501	287-293	123,2	455,6	0,091	1,590		56,8-67,2
3	1,734	293-298	122,0	459,3	0,412	1,322		67,2-69,3
4	0,984	293-315	120,9	464,1	0,089	0,895		68,9-69,9
5	0,754	315-318	119,5	469,4		0,630	0,074	69,1-70,0
6	1,221	318-349	118,0	474,9		0,052	0,359	69,4-70,5
7	0,356	349-360	116,3	482,3		0,154	0,202	70,1-71,0
Residuo	0,414	--	103,6	541,5		0,179 (1)	0,235	70,9-76,7
Totales (8)	9,325				2,024	6,421	0,880	
<b>NOJERES Y ESTERES</b>								
					21,70	66,86	9,44	
<b>ACIDOS Y ACIDOS</b>								
					21,66	68,83	9,46	
<b>MOLDES ACIDO Y MOLDES ACIDIC</b>								
					22,90	68,29	8,81	

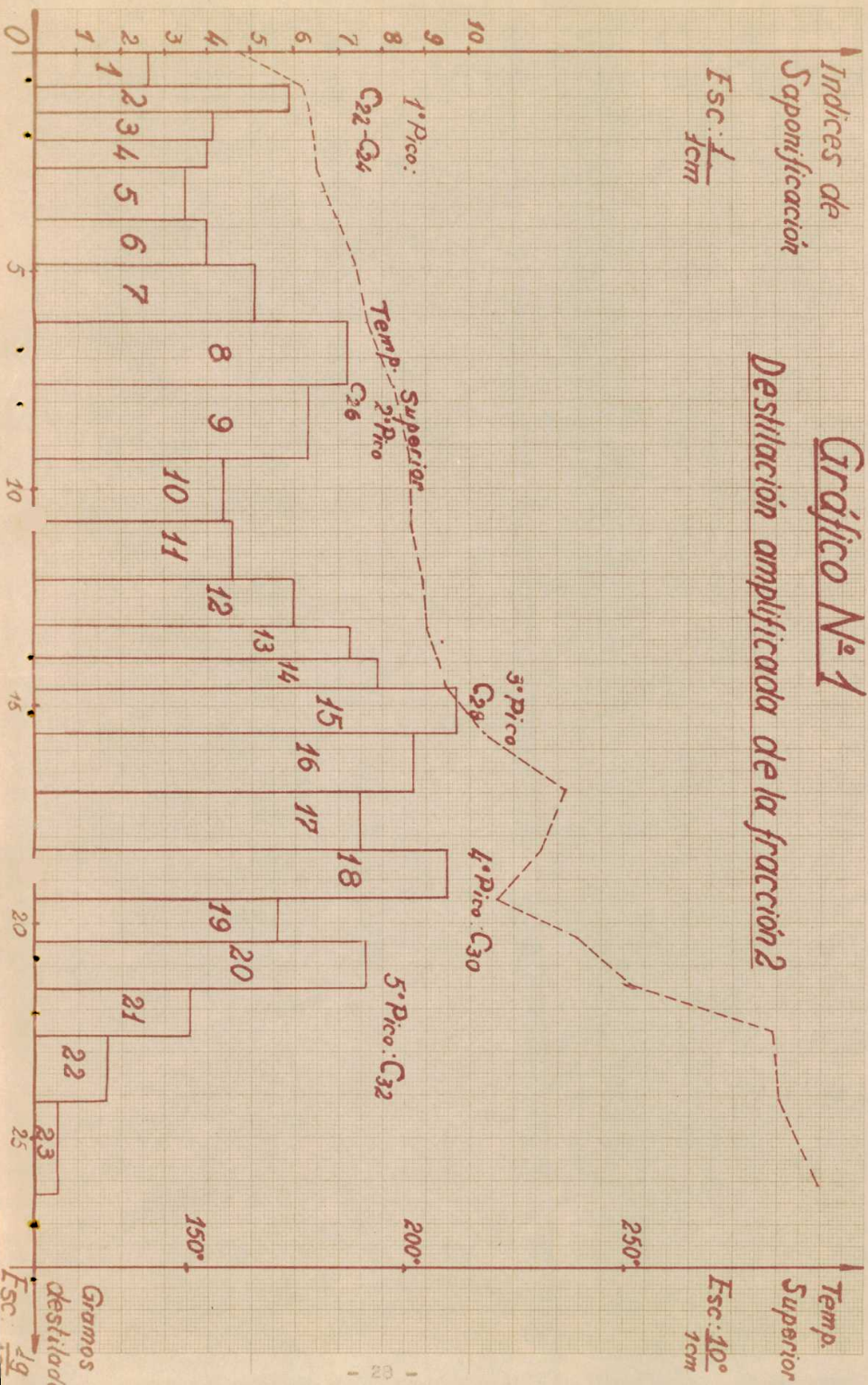
(1): Se incluyó tomando el I.S. de la Fracción anterior.

CUADRO VIII: DESTILACION AMPLIFICADA DE LOS ESPERES METILICOS DE LA  
FRACCION 2 DE LA DESTILACION POR CORRIENTE DE LA FRACCION  
ORGANOCRAFICA (a,b) DE A<sub>2</sub>+A<sub>3</sub>-

Fracción	Peso (g)	Temperaturas		I.J.
		Bajo (°C)	Alto (°C)	
1	0,718	223-245	162-176	2,6
2	0,644	245-249	176-178	5,8
3	0,666	249-250	178-179	4,1
4	0,658	250-250	179-180	4,0
5	1,116	250-250	180-185	3,5
6	1,049	250-253	185-187	4,0
7	1,333	253-261	187-191	5,1
8	1,409	261-266	191-197	7,2
9	1,634	266-268	197-201	6,3
10	1,438	268-273	201-201	4,4
11	1,350	273-275	201-204	4,6
12	1,036	275-276	204-205	6,0
13	0,719	276-277	205-174	7,3
14	0,741	277-290	174-209	7,9
15	0,973	290-301	209-213	9,7
16	1,389	301-304	218-237	8,2
17	1,286	304-307	237-231	7,0
18	1,122	307-315	231-221	9,5
19	1,001	315-323	221-239	5,6
20	1,008	323-333	239-252	7,6
21	1,058	333-352	252-285	3,6
22	1,508	352-356	283-285	1,7
23	2,182	356-391	285-293	0,6

# Gráfico N° 1

## Destilación ampliada de la fracción 2



CUADRO IX: DESTILACION AMPLIFICADA DE LOS ESTERES METILICOS DE LA  
FRACCION OROMATOGRAFICA (a,b) DE Ag 43

Cantidad destilada total: 1,5843 g

Pr	Peso (g)	Temperatura (°C)		I.S.	Esteres de Acidos Saturados														
		Baño	Cabeza		C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>22</sub>	C <sub>24</sub>	C <sub>26</sub>	C <sub>28</sub>	C <sub>30</sub>	C <sub>32</sub>	C <sub>34</sub>					
1	0,658	226-233	180-185	6,76	0,0111	0,0037	0,0035	0,0052											
2	0,995	233-239	185-192	5,60	0,0123	0,0039	0,0044	0,0086	0,0013										
3	1,241	239-242	192-198	4,44	0,0104	0,0028	0,0043	0,0007	0,0027										
4	1,814	242-250	198-205	2,98	0,0070	0,0019	0,0034	0,0125	0,0070										
5	1,639	250-253	205-210	3,06	0,0032	0,0010	0,0024	0,0138	0,0110										
6	1,656	253-254	210-210	2,71	0,0008	0,0002	0,0006	0,0087	0,0050	0,0152									
7	1,549	254-260	210-212	3,42						0,0387									
8	1,572	260-264	212-214	3,09						0,0355									
9	1,994	264-268	214-220	2,93						0,0428									
10	1,906	268-271	220-222	2,86						0,0134	0,0286								
11	2,009	271-274	222-227	3,15						0,0495									
12	2,161	274-277	227-231	3,23						0,0546									
13	1,937	277-279	231-232	3,68							0,0301								
14	2,584	279-281	232-232	3,35							0,0169	0,0203							
15	2,277	281-282	232-234	3,75							0,0710								
16	1,934	282-284	234-238	5,81							0,0936								
17	2,188	284-285	238-239	8,14							0,1481								
18	1,878	285-285	239-239	8,17							0,1276								
19	0,698	285-294	239-244	7,43							0,0432								
20	0,505	294-302	244-247	7,63							0,0340								
21	1,023	302-305	247-251	8,55							0,0771								
22	1,160	305-309	251-256	8,52							0,0872								
23	1,034	309-312	256-260	8,02							0,0711								
24	1,478	312-314	260-264	5,48							0,0714								
25	1,127	314-317	264-267	5,03							0,0500								
26	1,094	317-320	267-270	2,90							0,0187								0,0099
27	0,537	320-327	270-285	3,95							0,0062								0,0132
28	1,965	327-356	285-320	3,00															0,0549
29	2,855	356-363	320-326	1,29															0,0343
Totales (g)					0,0448	0,0134	0,0186	0,0595	0,0270	0,1456	0,1877	0,5577	0,4177	0,1123					
Esteres % de Esteres					2,83	0,85	1,17	3,76	1,70	9,19	11,85	35,20	26,36	7,09					
Acidos % de Acidos					2,77	0,84	1,15	3,73	1,66	9,17	11,85	35,26	26,45	7,12					

## Gráfico N° 2

Destilación amplificada de (a,b)

I.S.

Temp. Superiores  
(°C)

340

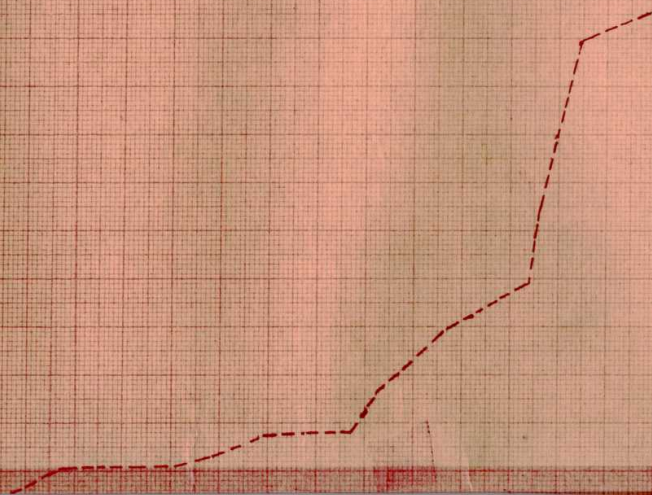
320

300

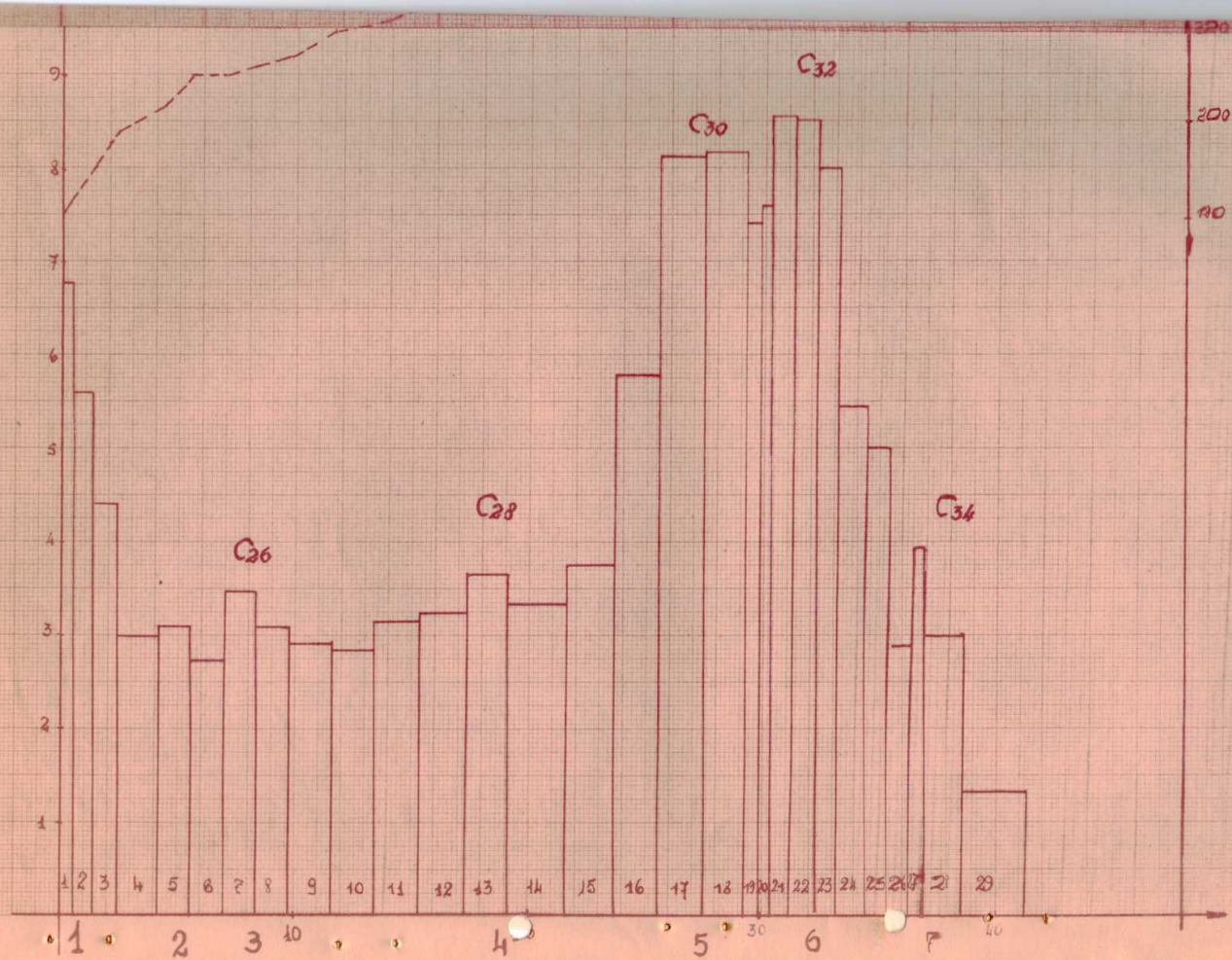
280

260

240







Cantidades  
destiladas  
(g)

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100

CROMATOGRAFIA EN FASE INVERTIDA DE LA FRACCION Nº 1 DE LA DESTILACION AMPLIFICADA DE (a,b).-

Temperatura: 40°C

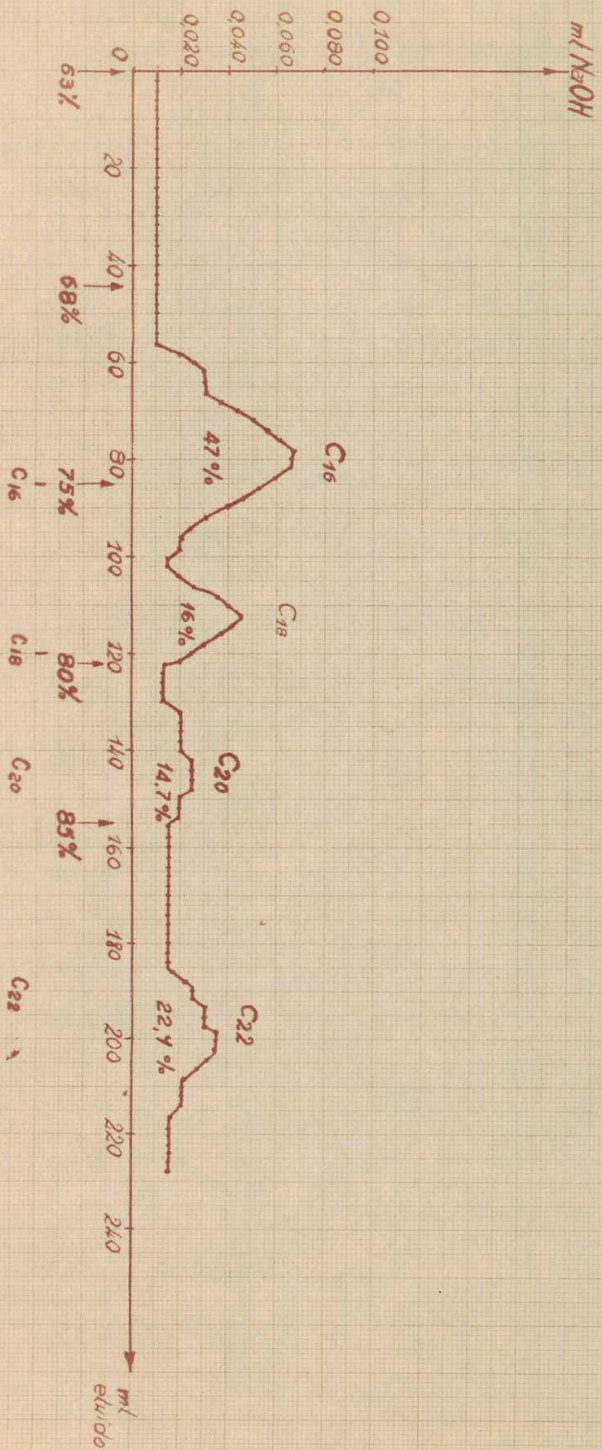
Tiempo elución: 1½ minuto

	Sifones	ml NaOH
63%	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	
	8	
	9	
	10	
	11	
12	0,015	
13	0,015	
14	0,020	
15	0,020	
16	0,020	
17	0,015	
18	0,015	
19	0,015	
20	0,015	
21	0,015	
22	0,015	
68%	23	0,015
	24	0,015
	25	0,015
	26	0,015
	27	0,015
	28	0,015
	29	0,015
	30	0,015
	31	0,020
	32	0,025
	33	0,030
	34	0,030
	35	0,030
36	0,035	
37	0,045	
38	0,050	
39	0,055	
40	0,060	
41	0,065	
42	0,065	
43	0,065	
75%	44	0,060
	45	0,055
	46	0,050
	47	0,045
	48	0,035
	49	0,030
	50	0,025
	51	0,020
	52	0,020
	53	0,015
	54	0,015
	55	0,020

	Sifones	ml NaOH
80%	56	0,025
	57	0,035
	58	0,040
	59	0,045
	60	0,040
	61	0,035
	62	0,030
	63	0,025
	64	0,015
	65	0,015
	66	0,015
	67	0,015
	68	0,015
	69	0,020
	70	0,020
	71	0,020
	72	0,020
73	0,020	
74	0,025	
75	0,025	
76	0,025	
77	0,025	
78	0,020	
79	0,020	
80	0,020	
85%	81	0,015
	82	0,015
	83	0,015
	84	0,015
	85	0,015
	86	0,015
	87	0,015
	88	0,015
	89	0,015
	90	0,015
	91	0,015
	92	0,015
	93	0,015
	94	0,015
	95	0,015
	96	0,015
	97	0,020
98	0,025	
99	0,025	
100	0,030	
101	0,030	
102	0,030	
103	0,035	
104	0,035	
105	0,035	
106	0,030	
107	0,025	
108	0,020	
109	0,020	
110	0,020	
111	0,015	
112	0,015	
113	0,015	
114	0,015	
115	0,015	
116	0,015	
117	0,015	

## Gráfico N° 3

Cromatografía en fase invertida de la fracción 1.-



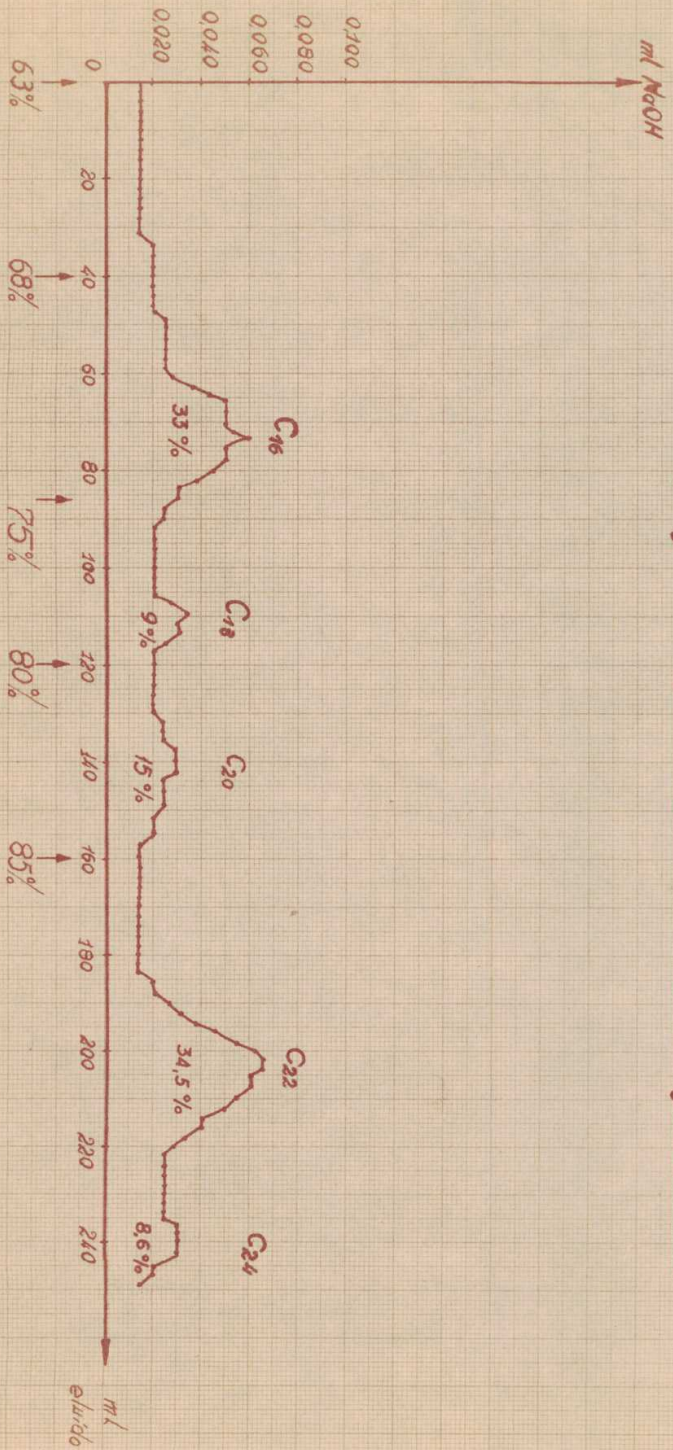
CRONOMETRÍA EN FASE INVERTIDA DE LA FRACCIÓN 3 DE LA DESTILACIÓN AMPLIFICADA DE (a,b).-

Temperatura: 40°C; Tiempo de elución: 1½ minuto

	Sifones	ml NaOH		Sifones	ml NaOH
63%	1			63	0,020
	2			64	0,020
	3			65	0,020
	4			66	0,025
	5			67	0,025
	6			68	0,025
	7			69	0,030
	8			70	0,030
	9			71	0,030
	10			72	0,025
	11			73	0,025
	12	0,015		74	0,025
	13	0,015		75	0,025
	14	0,015		76	0,020
	15	0,015		77	0,020
	16	0,020		78	0,020
	17	0,020		79	0,015
	18	0,020	65%	80	0,015
68%	19	0,020		81	0,015
	20	0,020		82	0,015
	21	0,020		83	0,015
	22	0,020		84	0,015
	23	0,020		85	0,015
	24	0,025		86	0,015
	25	0,025		87	0,015
	26	0,025		88	0,015
	27	0,025		89	0,015
	28	0,025		90	0,015
	29	0,025		91	0,015
	30	0,030		92	0,015
	31	0,040		93	0,020
	32	0,050		94	0,020
	33	0,050		95	0,025
	34	0,050		96	0,030
	35	0,050		97	0,035
	36	0,055		98	0,045
	37	0,050		99	0,050
	38	0,050		100	0,060
	39	0,045		101	0,065
	40	0,040		102	0,065
	41	0,030		103	0,060
75%	42	0,030		104	0,060
	43	0,025		105	0,055
	44	0,025		106	0,050
	45	0,020		107	0,040
	46	0,020		108	0,040
	47	0,020		109	0,035
	48	0,020		110	0,030
	49	0,020		111	0,025
	50	0,020		112	0,025
	51	0,020		113	0,025
	52	0,020		114	0,025
	53	0,025		115	0,025
	54	0,030		116	0,025
	55	0,035		117	0,025
	56	0,030		118	0,030
	57	0,030		119	0,030
	58	0,025		120	0,030
	59	0,020		121	0,030
80%	60	0,020		122	0,020
	61	0,020		123	0,020
	62	0,020		124	0,015

## Gráfico N.º 3'

Cromatografía en fase invertida de la fracción 3. -



CROMATOGRAFIA EN FASE INVERTIDA DE LA FRACCION 5 DE LA DESTILACION

AMPLIFICADA DE (a,b).-

Temperatura: 39,5°C

Tiempo elución 1½ minuto

	Sifones	ml NaOH		Sifones	ml NaOH
63%	1		85%	71	0,025
	2			72	0,025
	3			73	0,025
	4			74	0,025
	5			75	0,020
	6			76	0,020
	7			77	0,015
	8			78	0,015
	9			79	0,015
	10			80	0,015
	11			81	0,015
	12	0,015		82	0,015
	13	0,015		83	0,015
	14	0,015		84	0,015
	15	0,015		85	0,020
	16	0,015		86	0,020
	17	0,015		87	0,020
	18	0,015		88	0,020
	19	0,015		89	0,020
	20	0,015		90	0,020
	21	0,015		91	0,020
	22	0,015		92	0,025
68%	23	0,015	93	0,025	
	24	0,015	94	0,030	
	25	0,015	95	0,030	
	26	0,015	96	0,035	
	27	0,015	97	0,040	
	28	0,015	98	0,055	
	29	0,015	99	0,065	
	30	0,015	100	0,070	
	31	0,015	101	0,075	
	32	0,015	102	0,075	
	33	0,020	103	0,080	
	34	0,025	104	0,080	
	35	0,030	105	0,075	
	36	0,075	106	0,070	
	37	0,035	107	0,065	
	38	0,035	108	0,060	
	39	0,035	109	0,050	
40	0,030	110	0,050		
75%	41	0,030	111	0,045	
	42	0,025	112	0,045	
	43	0,025	113	0,040	
	44	0,020	114	0,040	
	45	0,015	115	0,040	
	46	0,015	116	0,045	
	47	0,015	117	0,045	
	48	0,015	118	0,045	
	49	0,015	119	0,045	
	50	0,015	120	0,040	
80%	51	0,015	121	0,040	
	52	0,020	122	0,040	
	53	0,020	123	0,040	
	54	0,020	124	0,040	
	55	0,020	125	0,040	
	56	0,020	126	0,040	
	57	0,015	127	0,040	
	58	0,015	128	0,040	
	59	0,015	129	0,035	
	60	0,015	130	0,035	
61	0,015	131	0,030		
62	0,015	132	0,030		
63	0,015	133	0,030		
64	0,015	134	0,030		
65	0,015	135	0,025		

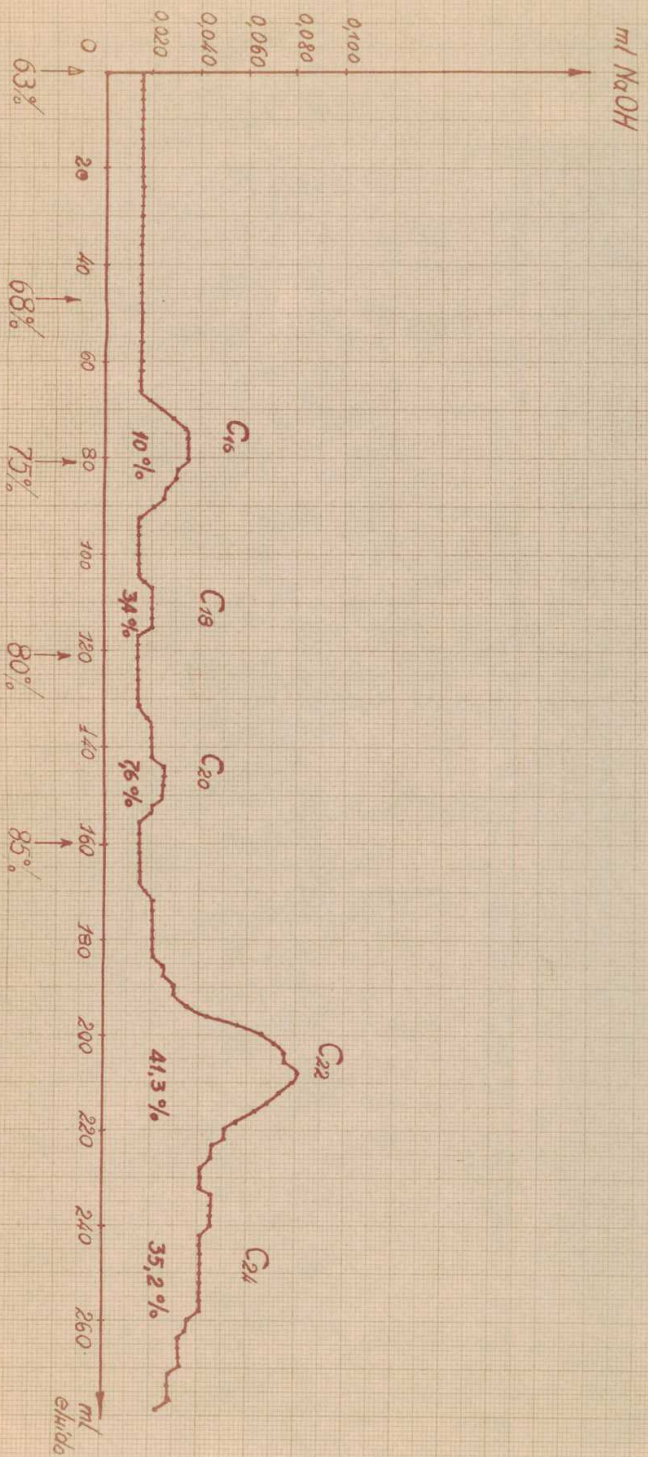
63	0.015
64	0.015
65	0.015
66	0.020
67	0.020
68	0.020
69	0.020
70	0.020

133	0.030
134	0.030
135	0.025
136	0.025
137	0.025
138	0.025
139	0.020



## Gráfico N° 3

Cromatografía en fase invertida de la fracción 5.



CROMATOGRAFIA EN FASE INVERTIDA DE LA FRACCION 7 DE LA DESTILACION

AMPLIFICADA DE (a,b) .-

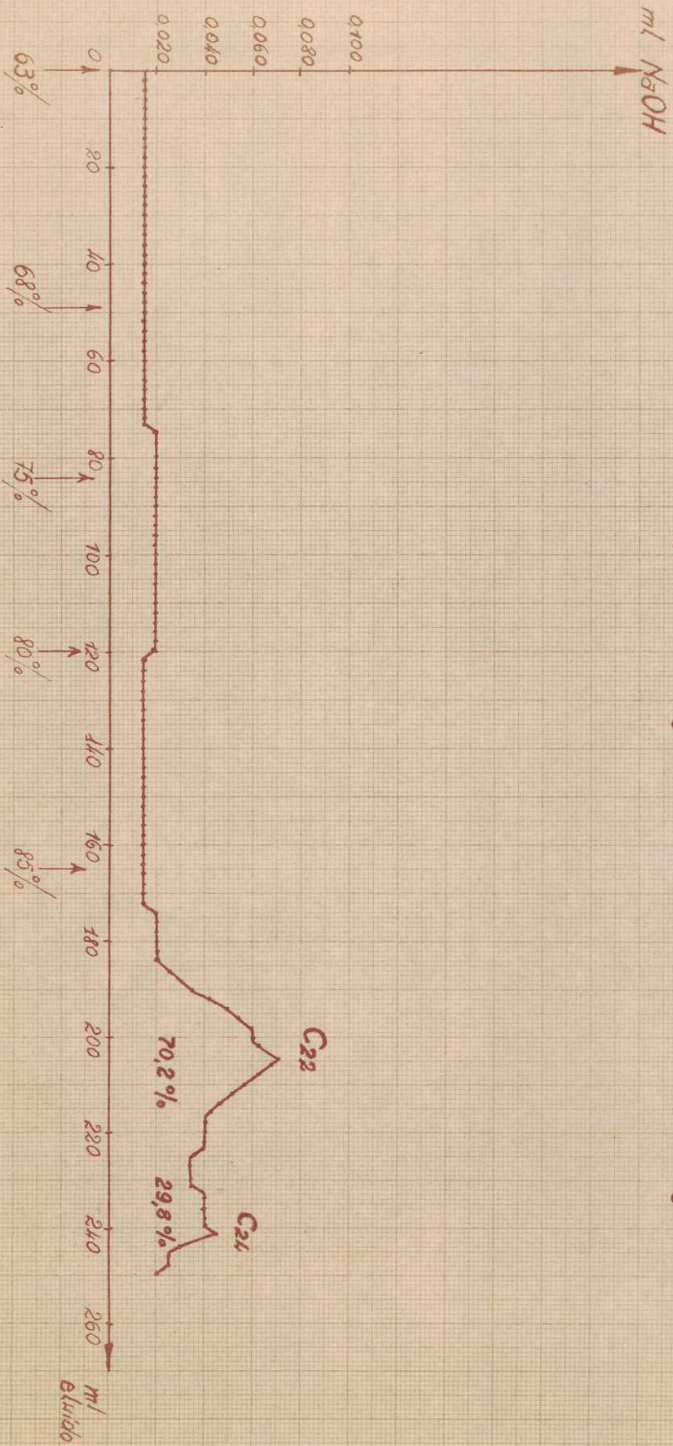
Temperatura: 39,5°C

Tiempo de elución: 1½ minuto

	Sifones	ml NaOH		Sifones	ml NaOH
68%	1		85%	54	0,015
	2			55	0,015
	3			56	0,015
	4			57	0,015
	5			58	0,015
	6			59	0,015
	7			60	0,015
	8			61	0,015
	9			62	0,015
	10			63	0,015
	11			64	0,015
	12	0,015		65	0,015
	13	0,015		66	0,015
	14	0,015		67	0,020
	15	0,015		68	0,020
	16	0,020		69	0,020
	17	0,020		70	0,020
	18	0,020		71	0,020
	19	0,020		72	0,020
	20	0,020		73	0,025
75%	21	0,020	74	0,030	
	22	0,020	75	0,035	
	23	0,020	76	0,045	
	24	0,020	77	0,050	
	25	0,020	78	0,055	
	26	0,020	79	0,060	
	27	0,020	80	0,060	
	28	0,020	81	0,065	
	29	0,020	82	0,070	
	30	0,020	83	0,065	
	31	0,020	84	0,060	
	32	0,020	85	0,055	
	33	0,020	86	0,050	
	34	0,020	87	0,045	
	35	0,020	88	0,040	
	36	0,020	89	0,040	
	37	0,020	90	0,040	
	38	0,020	91	0,040	
	39	0,020	92	0,035	
	80%	40	0,020	93	0,035
41		0,015	94	0,035	
42		0,015	95	0,035	
43		0,015	96	0,040	
44		0,015	97	0,040	
45		0,015	98	0,040	
46		0,015	99	0,040	
47		0,015	100	0,045	
48		0,015	101	0,035	
49		0,015	102	0,025	
50		0,015	103	0,025	
51		0,015	104	0,020	
52		0,015	105	0,015	
53		0,015			

## Gráfico N° 3'''

Cromatografía en fase invertida de la fracción 7.-



#### IV) CONCLUSIONES . -

Se estudió la composición de los ácidos presentes en la cera sanjuanina de Bulnesia retama estableciéndose que:

12) La aplicación de la cromatografía en columna de alúmina y en fase invertida, así como la destilación fraccionada a vacío y la destilación amplificada permitió separar y señalar:

a) Un predominio marcado (69,9%) de ácidos saturados: palmítico, esteárico, araquídico, behénico, lignocérico, hexacosanoico, octacosanoico, triacontanoico, dotriacontanoico y tetratriacontanoico. De entre estos ácidos el triacontanoico (23,4%), dotriacontanoico (17,4%), y octacosanoico (9,2%) son los más abundantes.

b) La existencia de ácidos hidroxilados de elevado peso molecular en una proporción mínima de 7,4%

c) La existencia de 22,7% de ácidos no alizados en los que los datos obtenidos nos sugieren una composición similar a los 77,3% anteriores.-

21) Por el comportamiento frente a la urea, entre los ácidos de la cera parece existir un 5% de ácidos ramificados.-

32) Entre los ácidos estudiados no pudo reconocerse la presencia de ácido oleico u otros ácidos no saturados normales de menos de 24 átomos de carbono.-

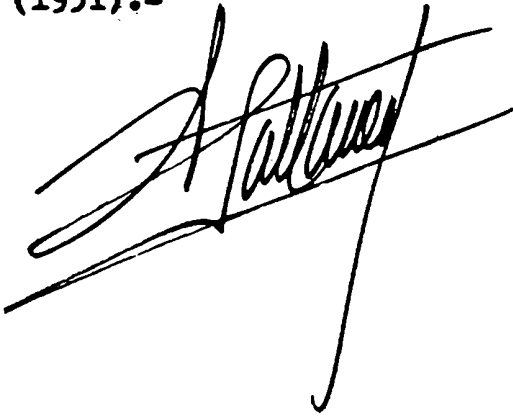
V) B I B L I O G R A F I A . -

- 1) TINTO JOSE C. y PARDO LUIS. - Rev. de Inv. Forestal 1 71 (1957)
- 2) TINTO JOSE C. y PARDO LUIS. - Ind. y Quím. 17 541 (1956)
- 3) DESCOLE H.R., O'DONNELL C.A. y LOURTIEZ A. - Lilloa 5 257 (1940)
- 4) SLOVINSKY M. - Tesis Fac. Cs. Ex. y Nat. Bs Aires (1957)
- 5) MURRAY Y SCHOENFELD. - J. Am. Oil Chem. Soc. 28 461 (1951)
- 6) CHIBNALL A.C., LATNER A.L., WILLIAMS E.F. y AYRE C.A. - Biochem. J. 28 313 (1934)
- 7) BUNGER W.B. Y KUMMEROW F.A. - J. Am. Oil Chem Soc. 28 121 (1951)
- 8) MURRAY K.E. Y SCHOENFELD R. - J. Am. Oil Chem. Soc. 30 25 (1953)
- 9) CASON J., SUMRALL G., FREEMAN ALLEN C., GELLIES G. Y ELBERG S. - J. Bio. Chem. 205 435 (1953)
- 10) MURRAY Y SCHOENFELD. - Austr. J. Chem. 8 437 (1955)
- 11) BOUGAULD J. Y BOURDIEZ L. - J. Pharm. Chim. Paris 29 561 (1909)
- 12) FUJITA A. Y YOSHIEAWA T. - J. Pharm. Soc. Japan 71 913 (1951)
- 13) WARTH A. - "The Chemistry and Technology of Waxes" (1947)
- 14) MEYER H. Y ECKERD A. - Monatsch. 34 1159 (1913)
- 15) JENSEN W. - Finn. Pap. Trib. B. 32 261 (1950)
- 16) WEITKAMP A.W. - J. Am. Oil Chem. Soc. 24 236 (1947)
- 17) BROCKMAN H. Y SCHODDER H. - Ber. 74 74 (1941)
- 18) HORVARD Y MARTIN A.J.P. - Biochem. J. 46 532 (1950)
- 19) GARTCH G.A. Y LONGH A.K. - Biochem. Biophys. Acta 23 192 (1957)
- 20) LOVERN J.A. - Comunicación privada
- 21) CGG C.L., PORTER W.L. Y WILLIAMS C.C. - Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 17 394 (1945)
- 22) MITCHELL J.B. Y SMITH D.H. - "Aquametry" (1948)
- 23) SILK H.H. Y HALL H.H. - Biochem. J. 56 406 (1954)

FOERBA

24) CLARK D.J., HATT H.H. Y TROYANN W.J. -- Austr.J.Apl.Sci 2 378

(1951).-

A large, stylized handwritten signature, possibly reading 'A. Hatt', written in black ink. The signature is slanted and has a long, sweeping tail.A smaller, more compact handwritten signature, possibly reading 'W. J. Troyann', written in black ink. It features a distinct loop and a short tail.