

## Tesis de Posgrado

# Estudio de la composición del aceite esencial de Citronela de Java, procedente de América Central (Guatemala) y cultivada en Corrientes

Santarelli, Matilde Otilia

1959

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:**

Santarelli, Matilde Otilia. (1959). Estudio de la composición del aceite esencial de Citronela de Java, procedente de América Central (Guatemala) y cultivada en Corrientes. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0989\\_Santarelli.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0989_Santarelli.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Santarelli, Matilde Otilia. "Estudio de la composición del aceite esencial de Citronela de Java, procedente de América Central (Guatemala) y cultivada en Corrientes". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1959.

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0989\\_Santarelli.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0989_Santarelli.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

2.19 3

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FISICAS Y NATURALES

RESUMEN DE LA TESIS SOBRE:

"ESTUDIO DE LA COMPOSICION DEL  
ACEITE ESENCIAL DE CITRONELA  
DE JAVA, CULTIVADO EN "EL SOMBRERO",  
PROVINCIA DE CORRIENTES, ARGENTINA".-

PRESENTADA POR:

MATILDE OTILIA SANTARELLI, PARA  
OBTENER EL TITULO DE DOCTORA EN  
CIENCIAS QUIMICAS.-

989

---

El presente trabajo ha sido realizado con el objeto de determinar las constantes físicas y químicas, e investigar la presencia de los componentes que se encuentran en el aceite esencial de Citronela de Java, proveniente de América Central (Guatemala) y cultivado en El Sombrero, Provincia de Corrientes, Argentina.

#### PARTE EXPERIMENTAL:

Se detallan las técnicas empleadas para las determinaciones siguientes:

a) Físicas: Peso específico, índice de refracción, desviación polarimétrica, residuo de evaporación a baño maría, solubilidad en alcohol, destilación fraccionada sobre 300 cm<sup>3</sup>. de aceite, cromatografía directa, absorción en el ultravioleta.

Mediante la aplicación de técnicas cromatográficas (chromatoplates), aplicada directamente al aceite esencial, nos permitió reconocer la presencia de determinados componentes de la esencia. Se detallan los ensayos efectuados.

Es de hacer notar la importancia de estas técnicas, en lo que se refiere a la rapidez y sencillez con que se pueden determinar, número de componentes con dobles ligaduras, hidrocarburos y componentes en general presentes en los aceites esenciales, da una visión cualitativa, rápida del número y tipo de compuestos de la esencia.

b) Se efectuaron las siguientes determinaciones químicas:

Índice de ácido, índice de ester, índice de ester después de acetilar (técnica de Fiore) alcoholes primarios por ftalización, alcoholes secundarios por ftalización, componentes carbonílicos (Técnica de Bryant y Smith).

c) Exámen de las fracciones obtenidas en la destilación analítica.

CONCLUSIONES:

Del análisis de las propiedades físicas y químicas correspondientes al aceite esencial de Citronela de Java estudiado en el presente trabajo, el mismo se puede calificar de calidad buena, teniendo en cuenta la clasificación de Gildemeister y Hoffman de acuerdo al contenido en citronelal.-

*José Montes*      *Bairam*

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES

ESTUDIO DE LA COMPOSICION DEL ACEITE ESENCIAL DE  
CITRONELA DE JAVA,  
PROCEDENTE DE AMERICA CENTRAL (GUATEMALA),  
Y CULTIVADA EN CORRIENTES

TESIS 989

T E S I S

para optar al título de  
Doctora en Ciencias  
Químicas  
Presentada por:

MATILDE OTILIA SANTARELLI

1 9 5 9

PADRINO DE TESIS

PROFESOR ADJ. DR. ADOLFO L. MONTES

Dedicada a:

MI MADRE.

Agradezco sinceramente al Doctor Adolfo L. Montes, Profesor Adjunto de la Cátedra de Bromatología y Análisis Industriales, de la Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, el haberme proporcionado en la realización del presente trabajo, su inapreciable guía y muy eficaz colaboración.-



**Agradecimiento:**

**Al Dr. J.C. Tuja de la firma,  
COMINCO S.R.L., quien tuvo la  
gentileza de facilitarme el  
aceite esencial de Citronela  
de Java.-**

## ÍNDICE GENERAL

| <u>I - Antecedentes bibliográficos</u>  | <u>Página</u> |
|---|---------------|
| Historia y desarrollo .....   | 1             |
| Datos botánicos .....   | 3             |
| Tierra, clima y altitud .....   | 4             |
| Plantación y cultivo .....  | 6             |
| Rendimiento .....   | 10            |
| Métodos de extracción y características .....   | 13            |
| Propiedades físicas y químicas de los componentes<br>del aceite esencial de citronela ..... | 16            |
| Antecedentes del aceite esencial estudiado .....  | 26            |
| <br>  |               |
| <u>II - Parte experimental</u>  |               |
| Caracteres organolépticos .....   | 28            |
| Peso específico a 20°C .....  | 28            |
| Índice de refracción a 20°C, $n_D^{20}$ .....   | 29            |
| Poder rotatorio (rotación óptica o desviación<br>polarimétrica $\alpha_D^{20}$ ) .....      | 29            |
| Residuo de evaporación .....  | 30            |
| Insolubilidad a 20°C .....  | 32            |
| Destilación fraccionada .....   | 33            |
| a) Presión reducida (destilación analítica) .....   | 33            |
| Espectrofotometría (absorción en el ultravioleta .....                                      | 38            |
| <br>  |               |
| <u>Parte experimental.</u>  |               |
| a) Antecedentes .....   | 42            |
| b) Aplicación de los cromatoplates .....  | 43            |
| c) Valores de $\alpha$ y $n_D$ .....  | 46            |
| d) Investigación de compuestos con dobles ligaduras ...                                     | 47            |
| e) Investigación de hidrocarburos .....   | 49            |

|   | <u>Página</u> |
|---|---------------|
| f) Pulverización con ácidos sulfúrico y nítrico .....   | 50            |
| g) Investigación de compuestos carbonílicos. ....   | 51            |
| <br><b>III - <u>Determinaciones químicas</u></b>  |               |
| Índice de ácido .....   | 53            |
| Índice de éster .....   | 54            |
| Índice de saponificación .....  | 56            |
| Determinación de alcoholes .....  | 57            |
| a) Determinación de alcoholes totales (libres y combi-<br>nados) .....  | 57            |
| b) Determinación de alcoholes libres .....  | 61            |
| Determinación de aldehídos y cetonas .....  | 65            |
| Determinación de fenoles .....  |               |
| <br><b>IV - <u>Análisis, descripción e investigación de los componentes<br/>aromáticos</u></b>                    |               |
| Marcha analítica seguida .....  | 69            |
| Cuadro sinóptico de la marcha analítica .....   | 74            |
| Investigación de aldehídos y cetonas .....  | 75            |
| Investigación de alcoholes .....  | 80            |
| Investigación de fenoles (.....(Ver página ..)  |               |
| Hidrocarburos terpénicos .....  | 84            |
| <br><b>V - <u>Resumen de las características y composición del aceite<br/>esencial de citronela estudiado</u></b> |               |
| a) Conclusiones .....   | 88            |
| b) Conclusiones .....   | 90            |
| c) Componentes identificados .....  | 90            |

---

**I - ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS**

## HISTORIA Y DESARROLLO

La industria del aceite de Citronela de Java, data de 1890, cuando durante una cacería cerca de Cheribon, A.K.J.Koffer descubrió a un nativo, que destilaba en un alarubique, pastos de crecimiento salvaje (citronela).

Interesado en la posibilidad de obtención de semejante aceite, cultivó pastos de ese tipo en sus propios campos.

Además de A.K.J.Koffer, M. Treub y P.V. van Romburgh, también iniciaron la producción de Citronela en Java occidental. A.W.K. de Jong (2) y luego H.W.Hofstede (3) contribuyeron al desarrollo de ésta industria.

En 1899 el tipo "Mahapengiri" de citronela introducido de Ceylan, fué primeramente plantado en Buitenzorg y luego propagado profusamente. En ese tiempo era extremadamente difícil competir en el mercado europeo con el bien establecido aceite de citronela de Ceylan.

En 1902 había 2 destilerías de Citronela en Java, una de ellas "Odorata", situada en Tjitjoeroeg de propiedad de Kaffer la otra "Tjikantjana" en Tjandjoer.

Entre 1900 y 1910, los consumidores europeos empezaron a darse cuenta de que el aceite de citronela de Java siendo superior en calidad merecía un precio superior al de citronela de Ceylan.

Además se podía usar el aceite de citronela de Java con mucha más ventaja que el de Ceylan en la nueva industria europea de productos aromáticos, como resultado, la industria de la citronela de Java, se expandió y en 1919, ésta sobrepasó por pri-

mera vez a la de Ceylan, en la producción de citronela.

Desde 1920 a 1926 la producción aumento rápidamente, a fines de 1933 durante la gran depresión mundial, los precios decayeron pero no la producción.

Este aumento de producción a pesar de los precios declinantes fué el resultado de que indujo a muchos pequeños cultivadores a dedicarse a la citronela debido a que ésta industria era aún relativamente remuneradora.

Es necesario considerar el efecto que tuvo sobre la calidad del aceite, el aumento de producción.

En los primeros años de la industria de la citronela, todo el aceite era obtenido por los mismos métodos, las plantas eran cosechadas siempre en las mismas condiciones (consistían exclusivamente de "mahapengiri"), idéntico suelo, altitud, etc.

Las únicas destilerías existentes en esa época eran muy amplias, poseídas y administradas por europeos y las plantas cultivadas en sus propias plantaciones.

El pasto cortado fresco de buena calidad era destilado, por arrastre con vapor y a presión relativamente alta, y en corto tiempo.

En consecuencia los aceites eran de calidad uniforme, y las propiedades fisicoquímicas de los aceites de citronela de Java variaban dentro de pequeños límites.

En los comienzos del año 1900, la variedad "lenabatu" de citronela de hojas angostas más vigorosas y de vida más larga, fué introducida de Ceylan, probablemente con la idea de cultivarla experimentalmente en Java. Se pensó que esta variedad a pesar

de dar un menor rendimiento y una calidad de aceite inferior podía ofrecer una solución al problema de cultivar terrenos pobres de Java. Desafortunadamente, al menos durante los años que las plantaciones de citronela eran expandidas vastamente y la demanda era grande, la variedad "lenabatu" se mezclaba con la variedad "mahapengiri" esto traía como es lógico una disminución de la calidad del aceite de Java, el que había ganado una reputación tan alta en los mercados mundiales.

No es del interés de Java el producir este tipo de aceite y aun hoy día deben cuidarse los cultivadores de recoger sus plantas pequeñas de campos de "lenabatu".

#### DATOS BOTANICOS

La mayor parte del aceite de citronelo, tipo Java es destilado del *Cymbopogon winterianus* jowitt, mahapengiri (*Andropogon nardus* java de jong) llamado "mahapengiri" en Java. Las plantas que se reconocen por sus hojas anchas, requieren tierra buena y mucho cuidado en el crecimiento y cultivo.

Deben ser renovadas después de algunos años porque los rizomas trabajan por sí mismos fuera de la tierra.

Los jóvenes renuevos (pinpollos) que crecen de las hojas axilares de la planta madre se transforman en grandes grupos de hierbas con hojas (3 a 4 pies de alto) que se encorvan hacia afuera hasta que sus extremos casi tocan la tierra.

En el presente la mayor parte de las plantas en Java son de "mahapengiri" pero todavía hay unas pocas de "lenabatu".

El "mahapengiri" no es natural de Java, fué importado de Ceylan en los primeros años del siglo XX.

La hierba salvaje "mana" *Cymbopogon confertiflorus* Stapf, que es la planta origen de todas las hierbas de citronelas comerciales (cultivadas) no se encuentra en Java.

### TIERRA, CLIMA Y ALTITUD

Las condiciones de altitud, clima y suelo afectan profundamente la vitalidad y el tiempo de vida de las plantas, así como el rendimiento y calidad del aceite (particularmente su contenido en citronela).

Es decir que no se puede esperar uniformidad en los aceites que se originan en zonas productoras diferentes.

La citronela fué considerada una planta muy fuerte (resistente) que podía desarrollarse aún en tierra pobre. Esta creencia causó muchos errores costosos, porque tales tierras después de un comienzo promisorio, se agotaron muy rápidamente; las tierras pobres no soportan cultivos de citronela por varios años consecutivos, sin rotar las cosechas, sin descanso o sin fertilización extensa.

Es verdad que aún las plantaciones agotadas (exhaustas) producen una cantidad de aceite apreciable si otros factores intervienen como lluvias abundantes.

Como regla general el rendimiento y calidad del aceite de plantas que han crecido en tierras pobres son normales solo en los primeros tres años y declinan rápidamente. Las hierbas de citronela crecen tanto en altitudes bajas como en altas (hasta 2.000 pies y más).



Toda clase de tierras siempre y cuando sean suficientemente fértiles, sirven a este propósito.

Tierra aluvial rica a 600 o 700 pies de altura y en un clima húmedo con lluvias regulares, ofrecerán probablemente las condiciones más favorables para un buen rendimiento y calidad del aceite y garantizaría la longevidad de las plantaciones. En altitudes mas bajas las plantas crecen muy lentamente durante la estación seca, con el constante peligro de secarse si se cortan en el comienzo o durante este período.

Los suelos pesados y terrosos, (arena y arcilla) de textura pobre no sirven para citronela, tampoco sirven las tierras parcialmente sumergidas, parcialmente secas si no son drenadas cuidadosamente. Los suelos calcáreos con sólo una pequeña capa de arena rinden buena hierba y buenos aceites por un tiempo pero se agotan rápidamente, tan pronto como las raíces alcanzan la cal del subsuelo, el contenido de citronela del aceite empieza a declinar.

Hischmann dice que las tierras arenosas en las cuales las hierbas no crecen muy altas ofrecen la natural precondition para un buen aceite, más aún, tales tierras son menos atacadas por malas hierbas.

A pesar del escaso crecimiento de las plantas en esas arenas, la proporción de aceite en relación con el peso de las hojas es más favorable. Es más ventajosa obtener un porcentaje más alto de aceite de una cantidad más pequeña de hojas, porque la cantidad aumenta el costo del transporte, trabajo, etc.

Cuando las plantas crecen muy rapidamente, la formación de aceite se convierte en función secundaria.

Las tierras realmente adecuadas para la citronela no son escasas y no son siempre apreciadas. La mayoría de productores ppa recen interesarse por un rendimiento abundante de hojas, más que por un crecimiento menor con mayor rendimiento de aceite.

### PLANTACION Y CULTIVO

No hay reglas fijas para disponer plantaciones debido a las grandes variaciones en la naturaleza del terreno, trabajo útil y jornales.

En terrenos ligeramente montañosos, campos cuadrados de cerca de 4 hectáreas son preparados.

El pasto sereh puede crecer allí muy bien, siempre y cuando el suelo no sea demasiado pobre. La citronela crece en el sol y en la sombra pero en este última caso aparecen poros vástagos nuevos, y el crecimiento es retardado y en consecuencia allí habrá una cosecha anual, los tallos se hacen fuertes y leñosos, la sombra es desfavorable también en el rendimiento del aceite y de su contenido total de geraniol.

Dado que la hierba requiere una buena cantidad de humedad, el cultivo debe tener lugar solo en los períodos lluviosos; Así los nuevos campos son generalmente preparados en diciembre-febrero, durante la primera parte de la estación lluviosa.

Ningún cultivador se atrevería a comenzar la plantación en abril-octubre por el riesgo de perder su inversión en el período seco.

El material para plantar "bibit" para pasto sereh, es obtenido dividiendo viejos arbustos, el mejor tipo es el que se

obtiene de la estación experimental en Buitenzorg.

A pesar de que la hierba sereh florece, es difícil hacerla crecer de semilla cuando se transporta "bibit", las hojas deben ser arrancadas de antemano, y sus segmentos secados un poco en la sombra.

En tierra buena las plantas deben ser plantadas de 3 en 3 pies de separación, el intervalo puede ser menor en tierra más pobre. El período entre cosechas debe ser también considerado porque un tiempo de crecimiento más largo requiere una plantación más amplia.

El pasto sereh es plantado cavando agujeros con un azadón, es necesario plantar los segmentos bastante profundos, porque sino por sí solos salen a la superficie se ablanda la tierra, libre de hierbas.

En la práctica actual, no siempre se toma todo el cuidado necesario para un buen cultivo de citronela, debido a que hay periodos en que los precios son bajos. Después del 4to. año el rendimiento de hierbas y aceite disminuye considerablemente, la plantación deberá ser discontinua, después del 5to. año, son raramente buenas las plantaciones.

Frecuentemente se encuentran plantaciones que son renovadas sólo cuando ya no dan más un rendimiento suficiente y aún hay campos que son cosechados hasta el 12º año.

Los nativos que planta pequeñas parcelas, de 1/4 a 2 hectareas, y en tierras más pobres, a menudo interrumpen sus plantaciones después del 3er. año, y rotan la cosecha cultivando manies o tapiocas, este método es de rendimientos pobres,

porque este tipo de rotación no mejora el suelo.

Por esta razón los plantíos nativos rara vez duran más de 3 años, mientras que las plantaciones grandes duran de 4 a 5 años y algunas veces más, porque su suelo es generalmente más fértil y se toma un cuidado mayor en la disposición de los campos de sereh.

Es difícil establecer longevidad de una plantación de sereh, en 1939 había unas pocas plantaciones de 20 años que eran todavía buenas.

#### COSECHA

La citronela plantada en diciembre o enero puede ser cosechada por primera vez en septiembre u octubre, los cultivadores nativos siguen generalmente este procedimiento. En un tiempo los cultivadores esperaban un año entero hasta que la planta había desarrollado completamente, lo que es importante para una vida más larga. Durante el primer año de producción una plantación de sereh une como una pradera, a pesar de que las plantas están separadas 3 pies unas de otras; cada planta forma un ramo grande, fuerte, del cual las hojas son cortadas progresivamente. Los cultivadores cortan cada planta separadamente usando cuchillos para ello. Es necesario cortar a tiempo para prevenir que la hierba florezca. Es muy importante elegir la época más oportuna. para cosechar con el objeto de aumentar el rendimiento de la ppantación. Un período de crecimiento muy corto decrece la productividad y parece afectar las plantas en tal extensión que un campo puede parecer a corto plazo, si por el contrario, se abandona el pasto sin cortar por más de 3 me-

ses, las hojas más bajas se marchitan y se perderá mucho aceite, más aún el contenido de geraniol y citronela decrece, es decir que debe elegirse un promedio entre los 2 extremos. De todos modos un período de siega definido no siempre puede ser indicado, porque el clima de Java y las estaciones lluviosas y secas son bastante irregulares, la mejor época para segar parece ser el momento cuando los tallos producen 6 hojas adultas con la 7ma en posición arrollada.

Java occidental tiene su estación lluviosa de octubre a febrero y su estación seca de mayo a septiembre, sin embargo solo julio, agosto y septiembre son realmente secos. Los campos viejos son cosechados al comienzo de la estación seca y en días en que no ha habido un previo rocío natural, las plantas sufren mucho, y los campos están pronto en tan pobre condición en que es a menudo necesario ararlos para preparar el suelo para la siguiente cosecha. La práctica de cortar las plantas demasiado cortas, especialmente el cortarlas debajo del nudo donde las hojas están implantadas en el tallo, es muy perjudicial, corre el riesgo particularmente durante el tiempo seco, de que los tallos mueran.

El corte bajo practicado frecuentemente por los cultivadores nativos tiene otras desventajas, muchas partes casi libres de aceite del tallo son colectadas y cuando se destila disminuye el rendimiento de aceite.

Después de que la hierba es cortada los cosechadores renuevan las hojas viejas y secas y atan las hojas frescas en grupos (atados) así pueden ser llevadas o arrastradas a la destilería.

### RENDIMIENTO DE ACEITE

El rendimiento del aceite depende de determinados factores, clima, fertilidad del suelo, edad de la plantación y el método de destilación; Las cifras de rendimiento dadas por de Jong en 1922 cuando en Java existían las primeras plantaciones de citronela. Como producción en tierra normal durante el 2do. año de plantación, de Jong indicó cerca de 35 toneladas métricas por hectárea, lo que, tomando 0,7% como rendimiento promedio de aceite, alcanzó a 247 Kg. de aceite por hectárea.

Esta cifra parece muy alta cuando se la compara con los rendimientos del aceite de citronela producido durante los años 1932 a 1936, y es probablemente debido al hecho de que en esos primeros tiempos el precio muy alto del aceite permitió un cuidado muy especial de los campos de citronela.

Hischmann (2) en 1939 confirmó tales rendimientos elevados en plantaciones nuevas, durante el segundo año, pero sólo en casos raros.

Como regla general, el rendimiento de aceite de hojas que crecen profusamente en suelo rico es substancialmente inferior a 0,7%. Los campos que dan un rendimiento excepcionalmente alto de aceite consisten de suelos arenosos, donde la citronela, crece no tan alta y más bien lentamente.

Los campos de seréh de 4 a 7 años, no son nada económicos, cuando los precios del aceite eran altos un establecimiento podía mantener algunos campos viejos, aunque aún entonces un establecimiento compuesto principalmente por campos viejos no podía ser considerado una proposición conveniente.

Algunos cultivadores arrancan de raíz sus campos de ci-

tronela al término del tercero año, porque en el cuarto año el rendimiento es muy bajo, así la plantación será productora por un período ligeramente superior a dos años, aunque la mayoría de los nativos tratan de mantener su citronela un poco más de tiempo, aunque éste origine promedios de rendimientos aún más bajos.

La hierba citronela que crece en los establecimientos grandes es casi de la misma calidad que la cultivada por nativos, y contiene aproximadamente el mismo porcentaje de aceite.

### COSCHEA Y DESTILACION (3)

Las hojas son generalmente segadas temprano, por la mañana y luego secadas sobre la tierra fuera de las destilarías.

El secado requiere sólo 3 a 4 horas con sol brillante pero naturalmente más tiempo durante la estación lluviosa.

Mientras se secan las hojas deben ser dadas vueltas de vez en cuando para prevenir la fermentación. Un secado cuidadoso y corto de las hojas beneficia la calidad del aceite, mientras que un secado más lento, especialmente en la lluvia, es perjudicial para la calidad del aceite.

Se dice que las hojas no deberían exponerse totalmente al sol o a la lluvia y que el material debería ser destilado el mismo día en que es cosechado. Si esto no se puede hacer debería ser secado el material en el interior de la destilería o en plataformas cercanas a la caldera.

Los destiladores prefieren trabajar con hojas secas, porque pueden cargar más en un alambique y también porque la destilación de hojas secas requieren menos vapor y combustible. Durante períodos de lluvias continuas la cosecha tendría que ser destilada en condición húmeda y por esta razón la mayoría de los destiladores hoy día no trabajan en tiempos lluviosos. Sería conveniente eliminar el sereh grass, durante el proceso de secado, pero cuando los precios del aceite son bajos pocos destiladores pueden adoptar esta precaución.

Muchos destiladores no se molestan en cortar las hojas en partes pequeñas antes de destilar; ellos parecen olvidar que las hojas enteras ocupan más espacio en la retorta que el material cortado, y debido a la distribución desigual en el alambique, da como resultado un menor rendimiento de aceite.

El cortado (trinchado) de las hojas aumenta la economía de un alambique. Cuando más rápido pase el vapor a través de la carga, menor será el porcentaje por Kg. de vapor condensado. Si por otra parte, el vapor pasa demasiado lentamente a través de la carga el tiempo de destilación será más largo y el rendimiento horario del aceite será menor.

La mayor parte de los destiladores de hoy usan hojas destiladas y exhaustas como combustible, pues la madera resulta muy cara.

La destilación comienza rápidamente y se detiene gradualmente después que cerca de los dos tercios del aceite han sido destilados.

El rendimiento promedio de aceite es de cerca de 0,7%



y disminuye a 0,5% en la estación lluviosa a 1.2% en las épocas secas. Destilando 1.500 Kg. de hojas secas, de buena calidad rinde alrededor de 12.5 Kg. de aceite.

Si un aceite con un alto contenido de geraniol y citronela no puede ser obtenido en una determinada localidad, con plantas crecidas de una buena cosecha, otros factores como el clima, estación y edad de las plantas son los culpables.

### MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y CARACTERÍSTICAS

Tres tipos son empleados en Java, destiladores con agua y vapor, a vapor únicamente, y los llamados "godokkans", un tipo intermedio entre los dos primeros.

1°) Destilador de agua y vapor: Una de las ventajas que posee destilar con agua y vapor, sobre destilar con vapor directamente, es que disminuye el peligro de que el vapor canalice en la retorta. El vapor se forma sobre toda la superficie del agua y en consecuencia penetra igualmente sobre la hierba.

Este proceso es ahora muy usado por los productores nativos. Durante los primeros años de la producción del aceite de citronela en Java, la destilación se llevaba a cabo exclusivamente con corriente directa, pero después de 1910, cuando los nativos y los chinos empezaron a trabajar en esta industria, fué introducido el proceso del agua y vapor, puesto que los destiladores de este tipo eran de precio más bajo y el proceso en sí, más simple.

Además de ser este proceso más económico, no está some-

tido al reglamento que el gobierno de Java aplica a las calderas a vapor.

Estos destiladores de agua y vapor están encastrados en hornos de piedra y están provistos de una criba que provee la hierba. El agua debajo de la criba es calentada con fuego directo, una abertura (por donde puede penetrar un hombre) en lo alto y otra al costado, permite la carga y descarga del material. Las hojas son introducidas en el destilador muy juntas, para prevenir la formación de canales de vapor, el volumen de la carga disminuye durante la destilación. Entre las paredes del destilador y la carga de las hierbas, el enfriamiento y alguna condensación interna que pueden ocurrir, y el condensado que contiene sustancia de extracción no volátil se deposita debajo de la criba, en el fondo del destilador y se va acumulando después de una serie de operaciones. Es por eso aconsejable, sacar el agua en el alambique (debajo de la criba) después de que cada carga ha sido destilada y reemplazarla con agua fresca para la siguiente destilación.

La relación del diámetro de una retorta con su altura, debiera ser por lo menos de 1 a 1,5 ó 2.

Los canales de vapor se forman más rápidamente en retortas bajas, anchas que en las altas y angostas.

Este tipo de destilación se acanaliza para pequeñas cantidades de pasto y cuando el precio del combustible es bajo. La destilación de citronela con agua y vapor donde el vapor debe recorrer un trecho largo para penetrar toda la masa del pasto, no da un rendimiento mejor que la destilación con vapor directa.

## 2°) Destilación en Godokkans:

La destilación en los llamados Godokkans, representa una modificación de la destilación por agua y vapor.

El quemador y la caldera están separados de la retorta. La capacidad de estos tipos de destiladores, varían de 400 a 4.000 Kg. de hierbas. Se acostumbra a destilar una carga de 1.000 a 2.000 Kg. en un tiempo de 5 a 6 horas; después de una rápida separación de unos pocos aldehidos volátiles, sin importancia se destila el citronelal y geraniol, el rendimiento de geraniol total, particularmente citronelal, disminuye después de unas pocas horas, desde allí en adelante sólo los compuestos menos deseados como sesquiterpenos y alcoholes sesquiterpénicos pueden ser colectados. En condiciones normales la composición del aceite después de 4<sup>h</sup> de destilación alcanza apenas una proporción de contenido total de geraniol (se entiende por "geraniol total" la cantidad de elementos acetilables: geraniol nerol, citronelal, citronelol, borneol) del 85% y 35% de citronelal, evidentemente entonces una destilación de 5 a 6 horas originaría un aceite que no cumple estos requisitos.

## 3°) Destilación con vapor directo.

En sus trabajos sobre la producción de aceite de citronela. De Jong (5) y Hofstede (6) se refieren a la destilación a vapor, durante esta época las destilaciones a vapor eran efectuadas únicamente por grandes establecimientos. En este tipo de destilación el vapor era generado en una caldera separada, calentada por madera. En lo que concierne a la presión se creía al principio que una presión de vapor alta daba mejores resultados. De Jong, por ejemplo, recomendaba una presión de 3 a 4 atmósferas, pero se observó que una presión tan alta

mentras daba una mayor rendimiento afectaba la calidad del aceite, disminuyendo el contenido en geraniol total.

7)- Propiedades físicas y químicas de los componentes hallados en el aceite esencial de citronela de Java.-

El aceite esencial de Citronela de Java, como la casi totalidad de las esencias, está constituido por una mezcla de varios componentes.

La composición química y las características físicas del aceite de citronela de Java suele permanecer aproximadamente constante, aunque pueden producirse modificaciones dentro de límites más o menos estrechos, bajo la influencia de diversos factores.

Aún para una misma región se ha podido comprobar variaciones en las características de la esencia, con la época de la recolección debido muy probablemente a variaciones en las condiciones climáticas.

Además de todos los factores señalados influyen en la composición de la esencia, el método utilizado en la extracción y el tiempo transcurrido entre el corte y la destilación.

Todos estos factores introducen modificaciones en el producto final y variaciones en el rendimiento.

Las primeras investigaciones realizadas sobre aceite de citronela de Java, se deben a Schimmel y Cía. (7)

Trabajos efectuados sobre ésta esencia demostraron la presencia de los siguientes componentes: (8)

Alcoholes:

Isobutílico.

Isoamílico.

3-hexen-1-ol.

1-3-metil-1-pentanol.

n-1-hexanol

Metil-eugenol.

Elemol..

d-citronelol

Geraniol.

Chavicol.

Eugenol.

Cadinol.

Cymbopol.

Cetonas:

d-1-metil-3-ciclohexanona

Metilheptenona.

Aldehidos:

Isovaleraldehido

Furfural

Benzaldehido

Citral

Citronelal

Vanillina

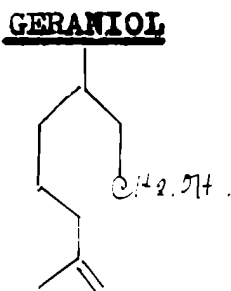
Hidrocarburos terpénicos:

L-limoneno

d-l-limoneno

En el aceite esencial de citronela de Java estudiado, fueron identificados los siguientes compuestos:

Alcoholes primarios:



Es uno de los principales componentes del aceite de citronela, también se lo encuentra en el de palmarosa (95%), de geranio (40-50%), lemongras, rosa, lavanda, etc.

Es un líquido oleoso de olor parecido a rosas y a geranio.

Tiene la propiedad no presentada por el citronelol y otros compuestos terpénicos, de unirse al cloruro de calcio anhidro, dando un compuesto cristalino insoluble en éter.

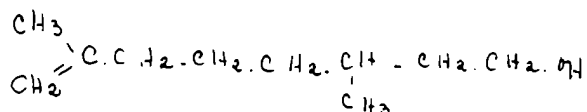
Entre los principales compuestos que sirven para su caracterización se encuentran:

3-5 dinitro benzoato de geranilo P.F. 62°C

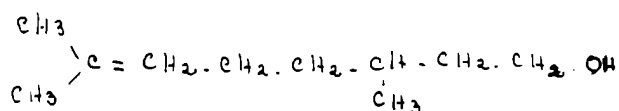
ftalato ácido de geranilo P.F. 47°C

difenil carbamato de geranilo P.F. 82°C

CITRONELOL



**2-6-dimetil-1-octen 8-ol**



**2-6 dimetil-2-octen 8 ol**

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

El (d) se encuentra en el aceite de citronela de Java, geranio, eucalyptus citriodora, etc.

Es un aceite incoloro, con agradable olor a rosa.

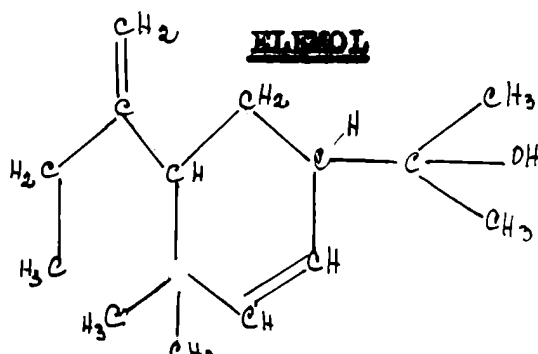
El citronelol da un acetyl derivado con estas constantes:

P.Eb. = 120°C a 15 mm.

$d_{17} = 0,8928$  ;  $n_D^{17} = 1,4456$ .

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

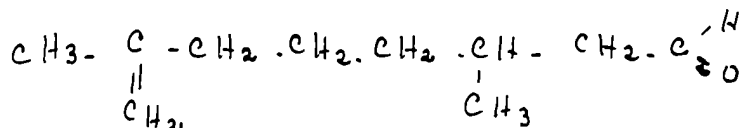
Alcohol sesquiterpénico



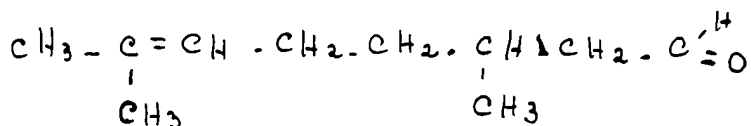
**Aldehidos:**

**CITRONELAL**

Es una mezcla de dos isómeros:



**dimetil 2-6-ceten 1-al 8**



**dimetil 2-6 ceten 2 al 8**

No se encuentra muy distribuido en la naturaleza. Su forma dextrógira en las esencias de eucalipto, aceite esencial de *Eucalyptus globulus*, la forma levógira en la esencia de citronela de Java, en el aceite de *Leptospermum laevessens* de la variedad *citratum* y en otros pocos aceites.

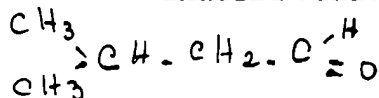
Entre los principales compuestos del citronelal que favorecen su identificación tenemos:

Semicarbazona, de P.F. = 83° - 84°

2-4 Dinitrofenilhidrazona: P.F. = 76°5 - 78°0.

Citronelal dimedona = P.F. = 77° - 79°0.

**ISOVALERALDEHIDO**



**3 - metil - butanal.**



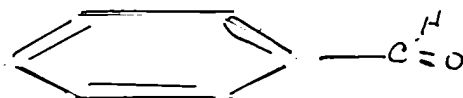
Se lo encuentra en el aceite de *Eucalyptus Globulus*, citronela de Java, y en otros pocos aceites esenciales.

Puede ser identificado mediante la preparación de los siguientes derivados:

2-4-dinitrofenil hidrazona P.F. 123°C.

p-yodobenzoil-hidrazona P.F. 218°-219°C.

BENZALDEHIDO



En la naturaleza se encuentra este aldehído aromático, el más sencillo, en las almendras amargas y en las semillas de muchos otros frutos (melocotón, albaricoque, etc.), en forma de un glucósido cianogenético, la amígdalina. Es un líquido colorado, incoloro, de olor característico a almendras amargas.

Se encuentra en numerosos aceites esenciales, nerolí, cajuput, niaolí, citronela, etc.

Puede ser identificado mediante la preparación de los siguientes derivados cristalinós:

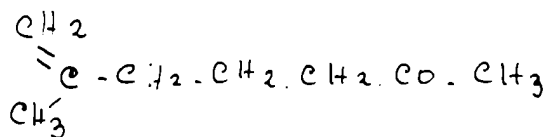
p-yodobenzoilhidrazona P.F. = 230°-231°C.

2-4 dinitrofenilhidrazona P.F. = 237°C.

Cetonas

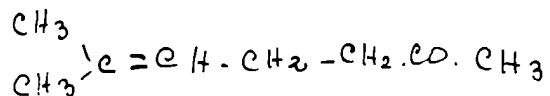
Metil heptenona

METIL HEPTENONA



$\alpha$  - metilheptenona

2 metil-1-hepten-6 ona



$\beta$  - metilheptenona

2 metil-2-hepten-6 ona

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

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

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

Se caracteriza mediante la obtención de los siguientes compuestos:

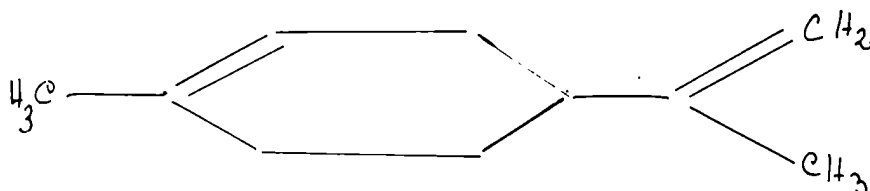
Semicarbazona, de P.F. = 136°-137°C

2-4 dinitrofenilhidrazona P.F. = 81°C.

p-nitrofenilhidrazona P.F. = 103°5-104°C.

Hidrocarburos terpénicos:

1 - LIMONENO



Es uno de los terpenos más abundantes y más frecuentes en los aceites esenciales, especialmente en los cítricos y se presenta en tres modificaciones: d-limoneno, l-limoneno y d-l-limoneno (este último llamado racémico o dipenteno).

d-limoneno se halla en un 90% en la esencia de naranja, además en las de limón, mandarina, pomelo, comino, etc.

l-limoneno se encuentra en las esencias de citronela, pino, yerba buena, etc.

Es un líquido incoloro con un agradable olor a naranja o limón. Es inestable frente al aire y a la luz.

Se puede aislar por destilación fraccionada, redestilación sobre sodio metálico.

Para su identificación el derivado más frecuentemente obtenido, es el tetrabromado de P.F. = 103°-104°C.

d-l-LIMONENO

Es la forma ópticamente inactiva del limoneno y no está tan ampliamente distribuido en la naturaleza como éste.

Aún cuando se informa de su presencia en un aceite esencial puede ser que en realidad se trate de la forma ópticamente activa del limoneno o pineno, de los cuales se ha formado por calentamiento o por la acción de los reactivos.

Se encuentra efectivamente en las siguientes esencias: trementina rusa, lemongras, citronela, palmarosa, anis estrellado, alcanfor, etc.

Las propiedades difieren de las del limoneno únicamente por su inactividad óptica, su olor también recuerda a naranja o limón.

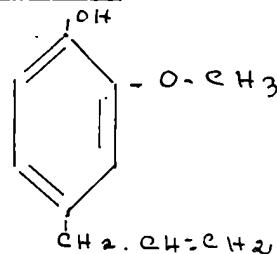
Se puede aislar por destilación fraccionada.

Se identifica mediante la obtención del derivado tetrabromado inactivo que funde a 124° - 125°C.

El nitrosocloruro funde a 78° pero si se continúa calentando puede solidificar, volviendo a fundir a 103°-104°C.

### Fenoles

#### EUGENOL



p-alil-guayacol

2-metoxi-4-alil-fenol

2-oxi-5-alil-anisol

El eugenol se encuentra en pequeña cantidad en numerosos aceites esenciales, en el aceite de citronela de Java, laurel; se encuentra en la naturaleza en forma de glucósido: la gúina o geósido, que se extrae de la raíz de *geum urbanum*, es el vicianósido del eugenol, en el que el oxihídrico libre de éste se combina con el oxihídrico glucosídico del disacárido denominado vicianoso.

Se lo puede caracterizar por la formación de los siguientes derivados:

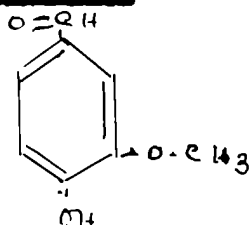
Fenilacetato P.F. = 97°C

2-4-dinitrofenil éter P.F. = 114°-115°C

Derivados: dibromado P.F. 80°

Tetrabromado P.F. 118° - 119°C.

VANILINA



4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído

Se encuentra muy repartido en el reino vegetal, pero en la mayoría de los casos, y aún en la vainilla, está contenido sólo en pequeñas cantidades; la vanillina puede ser caracterizada mediante la preparación de los siguientes derivados:

Semicarbazona P.F. = 130°C

p-nitrofenilhidrazona P.F. 227°C

2-4-dinitrofenilhidrazona P.F. 271°C.

**ANTECEDENTES**  
**DEL ACEITE ESENCIAL DE CITRONELA DE JAVA**

El aceite esencial de Citronela de Java estudiado, procede de América Central (Guatemala), y cultivado en El Sombrero (Provincia de Corrientes) y cosechado en el año 1958, durante el mes de Enero.

Fué destilado por Cominco, S.R.L., utilizándose el método de destilación por arrastre con vapor de agua, con un rendimiento de 70 Kg. por hectárea.

El equipo de destilación consta de:

- a) Una caldera generadora de vapor, el que llega al alambique donde se halla el material a destilar.
- b) Una cúpula por donde se carga el alambique.
- c) Un "cuello de cisne" y
- d) un condensador provisto de un serpentín enfriado con agua.

Estos aparatos son de hierro.

Es importante mantener fría el agua del refrigerante, pues puede perderse los componentes volátiles.-

**II - PARTE EXPERIMENTAL**

**Caracteres organolépticos.**

**Peso específico a 20°.**

**Índice de refracción a 20°,  $n_D^{20}$**

**Poder rotatorio (rotación óptica o desviación polarimétrica)  $\frac{20}{D}$**

**Residuo de corporación.**

**Solubilidad a 20°C.**

**Destilación fraccionada.**

**a) Presión reducida (destilación analítica).**

**Espectrofotometría (absorción en el ultravioleta).**

**Cromatografía.**

**a) Ensayos en papel.**

**b) Preparación de los chromatoplates.**

**c) Investigación de compuestos con dobles ligaduras.**

**d) Investigación de hidrocarburos.**

**e) Investigación con ácidos sulfúrico y rusoico.**

1) Caracteres organolépticos

ASPECTO: Producto oleoso.

COLOR: ambar claro.

OLOR: pronunciado, característico.

2) Peso específico a 20°

Se usó picnómetro, determinándose a 20°C, con respecto al agua a 20°C.

1ra. Determinación.

|   |                   |
|---|-------------------|
| peso picnómetro + esencia:  | 22,9104 g.        |
| tara:   | <u>12,6200 g.</u> |
| peso esencia:   | 10,2904 g.        |
| peso picnómetro + agua:   | 24,0750 g.        |
| tara:   | <u>12,6200 g.</u> |
| peso del agua:  | 11,4550 g.        |
| peso específico: $\frac{20^\circ\text{C}}{20^\circ\text{C}} = \frac{10,2904}{11,4550} = 0,8982$ |                   |

2da. Determinación.

|   |                   |
|---|-------------------|
| peso picnómetro + esencia:  | 22,9106 g.        |
| tara:   | <u>12,6200 g.</u> |
| peso esencia:   | 10,2906 g.        |
| peso picnómetro + agua:   | 24,0752 g.        |
| tara:   | <u>12,6200 g.</u> |
| peso agua:  | 11,4552 g.        |
| peso específico: $\frac{20^\circ\text{C}}{20^\circ\text{C}} = \frac{10,2906}{11,4552} = 0,8982$ |                   |



Promedio: Peso específico :  $20^{\circ}\text{C}$   
 $\frac{\quad}{20^{\circ}\text{C}} = 0,8982$

3°) Índice de refracción a  $20^{\circ}\text{C}$ .

Para esta determinación se empleó el refractómetro de Abbe, que elimina la dispersión de la luz mediante un sistema compensador, que permite hacer la lectura para la línea D del espectro, utilizando directamente la luz blanca.

La determinación fué efectuada a la temperatura de  $20^{\circ}\text{C}$ .

| 1ra. Determinación  | 2da. Determinación  |
|---------------------|---------------------|
| $n_D^{20} : 1,4755$ | $n_D^{20} ; 1,4756$ |

Promedio: 1,47555

4) Poder rotatorio (rotación óptica o desviación polarimétrica).

Se determinó a  $20^{\circ}$  con el polarímetro de Lippisch y luz de sodio.

La esencia se coloró en tubo de 2 cm. de largo,

$\frac{20}{D}$  en tubo de 2 cm. de largo: -0,50  
que corresponde en tubo de:

10 cm. de largo:  $\frac{20}{D} : -2,5$

La literatura refiere valores que oscilan entre -3 y  $1^{\circ}$ , 47.-

### 5) Residuo de evaporación

Determinó el porcentaje de componentes no volátiles, a la temperatura de 100°C, que existe en el aceite esencial.

Es un dato importante, por cuanto sirve para dar una idea del grado de polimerización de la esencia, como así también sirve para juzgar sobre la presencia de adulterantes (aceites fijos, resinas,,ésteres, sesquiterpenos, etc.)

Un valor bajo puede indicar que en la esencia se ha agregado terpenos, fracciones volátiles de petróleo, alcohol, etc.

### TECNICA

"Pesar en mg. en un cristalizador Pirex, que se ha mantenido en desecador por 30 minutos, péses en él, al cg., una cantidad conveniente de aceite (alrededor de 5 g. para los muy volátiles, 2 g. para los pesados y 100 g. para las aguas florales) y caliéntese sobre baño de agua en ebullición el tiempo conveniente (2 a 3 horas). Se recomienda cristalizadores de 8 cm. de diámetro por 4,5 cm. de alto. Para productos fácilmente polimerizables se recomienda la evaporación al vacío (por ej. diacetilo)".

Fué empleado un cristalizador de 8 cm. de diámetro por 4 cm. de alto, evaporando hasta constancia de peso. La operación duró 16 horas pesándose cada 3 horas, enfriando previamente el cristalizador en el desecador.

### 1ra. Determinación:

|                                   |                   |
|-----------------------------------|-------------------|
| Peso del cristalizador + esencia: | 32,0060 g.        |
| tara:                             | <u>27,0160 g.</u> |
| peso de la esencia:               | 4,9900 g.         |

Después de 14 horas, pesándose cada 3 horas, previamente enfriado en desecador.

|                               |                   |
|-------------------------------|-------------------|
| Peso cristalizador + residuo: | 27,5164 g.        |
| Tara:                         | <u>27,0160 g.</u> |
| peso residuo                  | 0,5004 g.         |

$$\frac{4,9900}{0,5004} = \frac{100}{x} \quad x = 10,02\%$$

2da. Determinación:

|                                   |                   |
|-----------------------------------|-------------------|
| Peso del cristalizador + esencia: | 38,2350 g.        |
| Tara:                             | <u>33,2400 g.</u> |
| peso de la esencia:               | 4,9950 g.         |

Después de 14 horas, pesándose cada 3 horas, previamente enfriado en desecador.

|                               |                   |
|-------------------------------|-------------------|
| Peso cristalizador + residuo: | 33,7410 g.        |
| Tara:                         | <u>33,2400 g.</u> |
| peso residuo:                 | 0,5010 g.         |

$$\frac{4,9950}{0,5010} = \frac{100}{x} \quad x = 10,03\%$$

Promedio: 10,025%

### 6) Solubilidad a 20°C.

Casi todas las esencias son insolubles en agua, pero se disuelven en mayor o menor grado en disolventes orgánicos como: eter, eter de petróleo, cloroformo, bencina, tetracloruro de carbono, acetona, alcohol, vaselina, etc., pero su solubilidad en alcohol se encuentra influida por su composición química, así los terpenos bajan la solubilidad y en cambio los compuestos oxigenados la aumenta.

La solubilidad en alcohol se expresa como el volumen de alcohol de una determinada dilución, necesaria para disolver un volumen dado de esencia a cierta temperatura, (generalmente a 20°C).

#### TECNICA

"Se coloca en un tubo de ensayo limpio y seco un ml. de esencia y se mantiene a 20°C. en baño de agua; se agrega con una bureta alcohol de la graduación elegida hasta solución límpida, anotando el volumen gastado. Se sigue agregando alcohol hasta completar los 10 ml., anotando si apareció opalescencia, y a que volumen".

|                                |                       |
|--------------------------------|-----------------------|
| Solubilidad en alcohol de 96°: | En todas proporciones |
| " " " " 90°:                   | " " "                 |
| " " " " 80°:                   | 1,50                  |
| " " " " 70°:                   | 2,40                  |

Para preparar el alcohol a 70°, 80°, 90°, se empleó la siguiente dilución:

Mezclas (partes, en peso) (9)

| <u>graduación</u> | <u>Alcohol 95°</u> | <u>Agua Destilada</u> |
|-------------------|--------------------|-----------------------|
| 70°               | 65,50              | 32,50                 |
| 80°               | 79,60              | 20,40                 |
| 90°               | 92,70              | 7,30                  |

7) DESTILACION FRACCIONADA:

a) Presión reducida

Destilación analítica

Por ser las esencias mezclas complejas de numerosas sustancias orgánicas, la destilación fraccionada aplicada a las mismas es un medio muy importante para separar cada uno de los componentes; en nuestro caso la destilación ha tenido un fin de orientación, estudiando cada una de las distintas fracciones sobre las cuales se realizó determinaciones físicas y químicas con el fin de conocer la composición química de la esencia.

La destilación fué efectuada a presión reducida con 300 ml. de esencia (269.46 g.), en una columna de fraccionamiento calculada y construída por el Dr. A.L.Montes.

El tiempo destinado al fraccionamiento analítico fué de 7 horas.

Descripción somera de la columna:

ESQUEMA

Longenecker aplicó a la destilación fraccionada de mez-

clas de ésteres grasos, una columna calentada eléctricamente y rellena (E.H.P.), con un dispositivo para reflujo total y recolección del líquido destilado.

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

Para reducir pérdidas de calor y mantener el control de las condiciones de destilación, la columna se calienta eléctricamente con 15 pies de alambre nicromo (N° 22) arrollado en un tubo Pyrex, de 25 mm. todo a lo largo de la parte empaquetada.

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

Un control exacto de la temperatura de la columna (2u4 se lee en un termómetro colocado entre la columna y la camisa de calentamiento) es fácilmente regulable con resistencias externas.

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

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

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

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

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

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

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

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

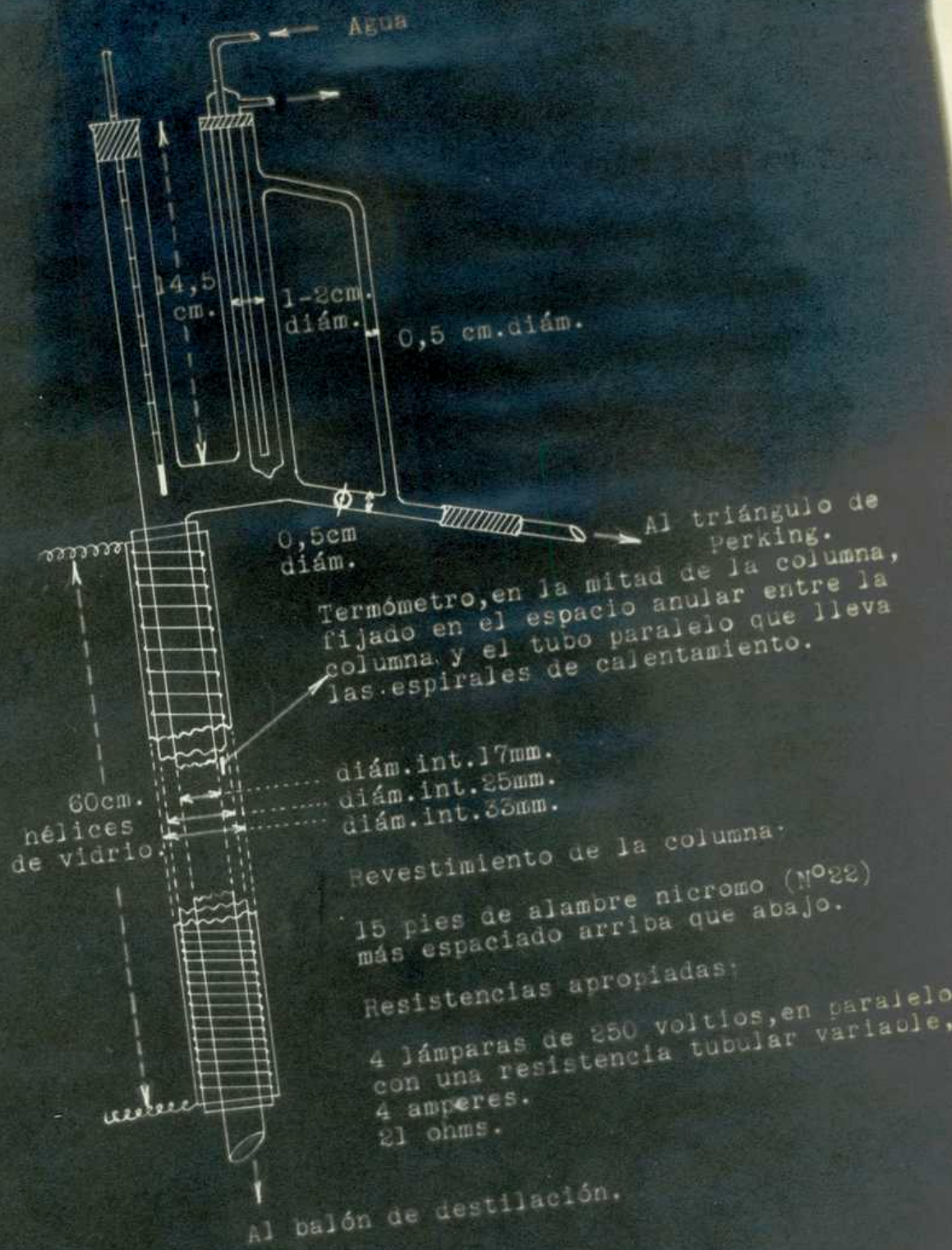
A pesar del prolongado período de calentamiento no hay evidencia de que los ésteres no saturados residuales sufran una descomposición mayor que cuando se utiliza un simple bulbo de Willstatter.

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

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



COLUMNA RECTIFICADORA TIPO LONGNECKER -



| FRAC-<br>CION.<br>Nº | TEMPERATURA<br>DE CABEZA<br>DE DESTILACION<br>Cº | TEMPERATURA<br>DE LA CO-<br>LUMNA<br>Cº | TEMPERATURA<br>DEL<br>BALON<br>Cº | PESO DE<br>LA FRAC-<br>CION<br>g. | INDICE<br>DE RE-<br>FRACC.<br>n <sub>D</sub> <sup>20</sup> | PRESION<br>mm.de Hg. | DESVIACION<br>POLARIME-<br>TRICA<br>D <sub>D</sub> <sup>20</sup> |
|----------------------|--|---|-----------------------------------|-----------------------------------|--|----------------------|--|
| 1                    | 37   | 44                                      | 140                               | 0,2590                            | —  | 40                   | —  |
| 2                    | 45   | 58                                      | 141                               | 1,0728                            | —  | 40                   | —  |
| 3                    | 51   | 66                                      | 141                               | 1,3626                            | 1,4669   | 40                   | —  |
| 4                    | 51   | 76                                      | 141                               | 2,6570                            | 1,4672   | 40                   | - 60   |
| 5                    | 52   | 79                                      | 141                               | 0,4944                            | 1,4603   | 40/30                | —  |
| 6                    | 53   | 82                                      | 145                               | 0,4318                            | 1,4572   | 36                   | —  |
| 7                    | 72   | 90                                      | 150                               | 1,0210                            | 1,4558   | 35                   | —  |
| 8                    | 76   | 90                                      | 152                               | 1,2592                            | 1,4492   | 35                   | 8,40   |
| 9                    | 90   | 90                                      | 153                               | 2,4228                            | 1,4492   | 35                   | 8,25   |
| 10                   | 94   | 94                                      | 153                               | 2,4624                            | 1,4490   | 35                   | 9,25   |
| 11                   | 97   | 98                                      | 153                               | 13,6248                           | 1,4490   | 33                   | 9,30   |
| 12                   | 98   | 98                                      | 153                               | 11,1814                           | 1,4490   | 34/33                | 8,25   |
| 13                   | 98   | 98                                      | 155                               | 10,3216                           | 1,4490   | 34/33                | 8,25   |
| 14                   | 99   | 100                                     | 155                               | 5,4304                            | 1,4505   | 34/33                | 8,25   |
| 15                   | 99   | 110                                     | 155                               | 7,3684                            | 1,4560   | 34/33                | 5,20   |
| 16                   | 104  | 110                                     | 162                               | 2,9204                            | 1,4561   | 35                   | 5,60   |
| 17                   | 113  | 120                                     | 170                               | 3,5424                            | 1,4590   | 35                   | 4,05   |
| 18                   | 120  | 120                                     | 173                               | 10,5474                           | 1,4680   | 35                   | 0  |
| 19                   | 120  | 120                                     | 173                               | 11,4782                           | 1,4700   | 35                   | -0,85  |
| 20                   | 120  | 120                                     | 170                               | 11,4934                           | 1,4672   | 36                   | -0,80  |
| 21                   | 120  | 128                                     | 185                               | 12,6124                           | 1,4700   | 36                   | -0,80  |
| 22                   | 128  | 128                                     | 185                               | 14,5414                           | 1,4715   | 36                   | -0,80  |
| 23                   | 128  | 130                                     | 193                               | 12,4640                           | 1,4730   | 38                   | -0,80  |
| 24                   | 128  | 130                                     | 196                               | 13,2370                           | 1,4740   | 38                   | -0,80  |
| 25                   | 130  | 130                                     | 200                               | 15,1700                           | 1,4740   | 38                   | -0,80  |

8) ESPECTRO FOTOMETRIA  
ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA

(10) Mediante el estudio de los espectros de absorción ha sido posible dilucidar la estructura de numerosos compuestos.

Se basa en la disminución de intensidad de un rayo de luz monocromático al pasar a través de una solución, se debe a la absorción de la luz por la solución.

Si esta absorción es producida de forma más intensa en ciertas regiones del espectro, se llama selectiva; la mayoría de los aceites muestran una absorción selectiva de luz ultravioleta, por eso se estudian en la región del espectro que va de 4.000 Å a 2.200 Å.

Debido a que cada componente del aceite esencial presenta una absorción característica, es posible estudiar su composición y juzgar su pureza, mediante el estudio de la curva dada por el poder de absorción, respecto de las diferentes longitudes de onda.

Para registrar y comparar los espectros de absorción de líquidos puros y de disoluciones en general se representan en una curva el coeficiente de extinción frente a la longitud de onda o número de ondas, ésta curva es característica de la sustancia absorbente de la luz.

El fundamento del espectrofotometro es el siguiente:

Se pasa la luz a través del líquido contenido en un recipiente con paredes de cuarzo, y se hace que el haz emergente entre en un prisma de cuarzo o en un espectrógrafo de red. Mediante un análisis fotométrico adecuado del espectro resultante se puede

determinar el grado de transmisión luminosa para cada longitud de onda o frecuencia.

La disminución del haz de luz monocromática que pasa a través del medio absorbente depende de la concentración de la sustancia del espesor a través del cual se transmite la luz, del poder de absorción de la sustancia o solución a una determinada longitud de onda, las relaciones cuantitativas de estos factores están expresados en las leyes de Lambert y de Beer.

#### LEY DE BEER:

Establece que si  $I$  es la intensidad de la luz transmitida a una longitud de onda dada,  $I_0$  la correspondiente luz incidente,  $c$  la concentración de la disolución en moles por litro y  $d$  el espesor a través del cual se transmite la luz;  $\epsilon$  es el coeficiente de extinción molecular del soluto para esa longitud de onda, su relación será:

$$I = I_0 10^{-\epsilon cd}$$

Algunas veces se utiliza la ley de Beer en la forma  $I = I_0 10^{-\epsilon cd}$  donde  $\epsilon$  es el coeficiente de absorción molar.

#### LEY DE LAMBERT:

Para un líquido puro se emplea de "Lambert"

$I = I_0 10^{-kd}$  siendo  $k$  el coeficiente de extinción de la sustancia.

Trazando el diagrama del coeficiente de extinción con respecto a la longitud de onda se tendrá una "curva de absorción", característica de cada sustancia.

APARATO USADO:

Los espectrofotómetros constan, esencialmente de:

- a) Un prisma para dispersar la luz en sus ondas (producir espectros).
- b) Un sistema óptico que incluye los recipientes con la solución absorbente y con el solvente puro.
- c) Un sistema para comparar las intensidades ( $I_0$ ) de la luz transmitida por el solvente y ( $I$ ) transmitida por la solución.

Al trabajar con luz ultravioleta, todo el sistema óptico debe ser de cuarzo.

En nuestro caso, se utilizó un espectrofotómetro Beckmann, modelo D.U. fotoeléctrico, con equipo de cuarzo y fuente luminosa (lámpara de hidrógeno) para determinación en el ultravioleta, cuyo funcionamiento es el sig:

Un rayo de una fuente continua de luz ultravioleta produce un espectro en haces monocromáticos mediante un prisma. Se efectúa el pasaje de un haz de longitud de onda dada por el disolvente puro y también por la solución de la sustancia absorbente. En ambos casos el rayo llega a una célula fotoeléctrica donde un galvanómetro indica directamente  $\frac{I_0}{I}$ .

Los datos para la curva de absorción se obtienen repitiendo estas medidas para la longitud de onda deseada.

VALORES OBTENIDOS PARA EL ACEITE ESENCIAL DE CITRONELA DE JAVA.

Las determinaciones fueron efectuadas por el Dr. Adolfo E. Montes.-

Se disolvió el aceite esencial de citronela en etanol, en la proporción de 1:10.000

| LONGITUD DE ONDA<br>$\mu$ (milimicras) | EXTINCCIONES<br>$\log \frac{I_0}{I} = E$ |
|--|--|
| 230                                    | 0,365                                    |
| 235                                    | 0,342                                    |
| 240                                    | 0,311                                    |
| 245                                    | 0,275                                    |
| 250                                    | 0,249                                    |
| 255                                    | 0,223                                    |
| 260                                    | 0,200                                    |
| 265                                    | 0,155                                    |
| 270                                    | 0,152                                    |
| 275                                    | 0,133                                    |
| 280                                    | 0,117                                    |
| 285                                    | 0,104                                    |
| 290                                    | 0,095                                    |
| 295                                    | 0,076                                    |
| 300                                    | 0,067                                    |
| 305                                    | 0,063                                    |
| 310                                    | 0,057                                    |
| 315                                    | 0,054                                    |
| 325                                    | 0,052                                    |
| 330                                    | 0,050                                    |

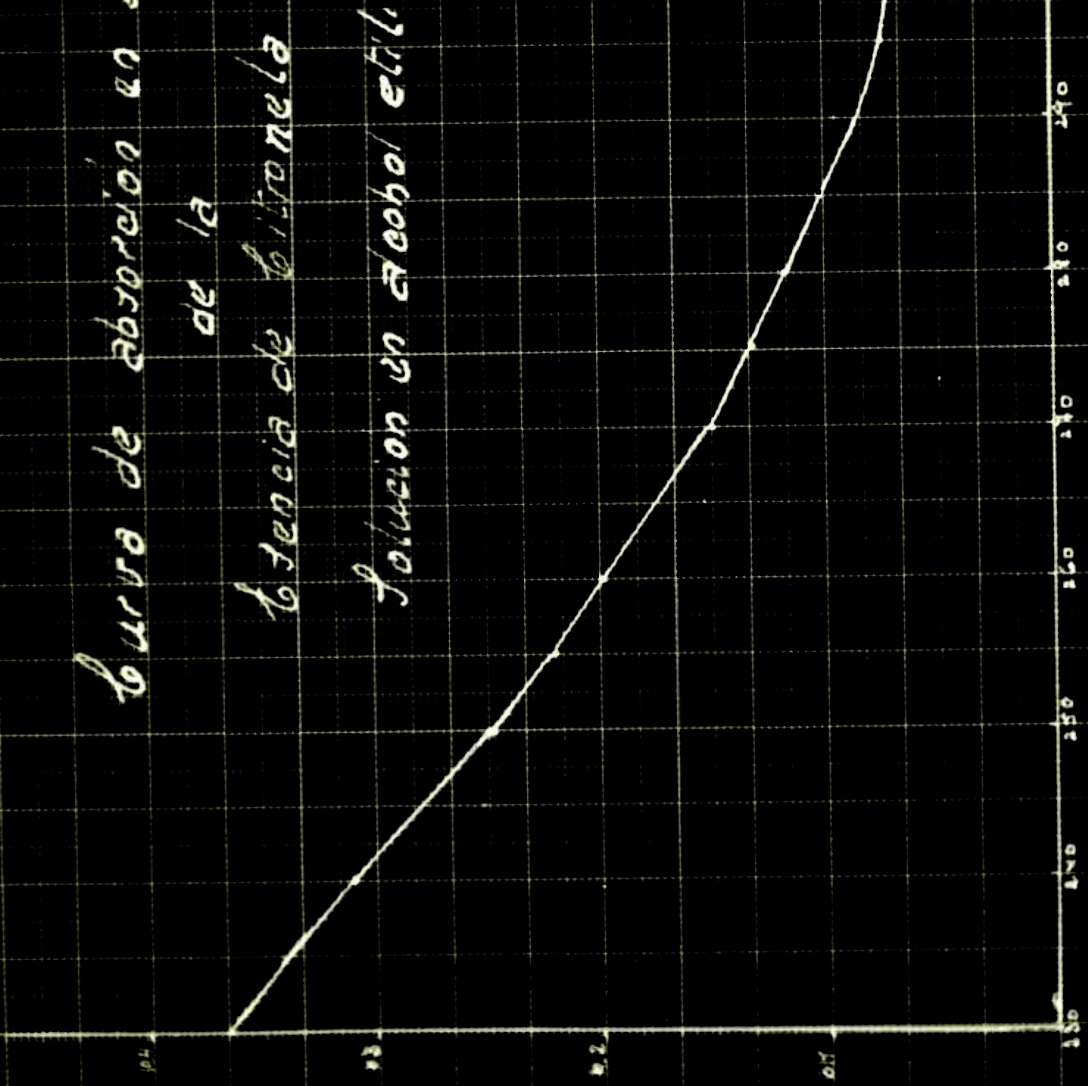
Gráfico: Se trazó representando en ordenadas los valores de  $\log \frac{I_0}{I} = E$  y en abscisas, las longitudes de onda correspondientes, en milimicras ( $\mu$ ).

Conclusión:

La curva era bastante regular (ausencia de máximas). Significa que los componentes del aceite de citronela son poco absorbentes.-



Curva de absorcion en  
funcion de la  
concentracion de la  
solucion en alcohol etilico



9) CROMATOGRAFIA: a) Antecedentes.

(11) La utilización de las propiedades de absorción y distribución de sistemas complejos y su resolución en los diversos componentes que los constituyen ha adquirido un ímpetu extraordinario en los últimos veinte años. En el año 1861 el físico alemán Schönbein fue el primero en reconocer la posibilidad de aplicar el principio de la absorción selectiva con fines separativos, él usó tiras de papel de filtro impregnadas de almidón con ioduro de potasio hasta detectar el ozono y observó que cuando un extremo del papel era sumergido en una solución, los diversos componentes de la misma ascendían por capilaridad alcanzando alturas diferentes sobre la tira de papel, Schönbein subrayó entonces "que este fenómeno puede auxiliar al analista en forma cualitativa en los casos en que otros métodos resulten ineficaces, por ejemplo, para la separación de colorantes orgánicos disueltos".

El botánico ruso M. Tswett, desarrolló el método llamado "Análisis cromatográfico de adsorción" (12) Aplicó también el método cromatográfico para el caso de sustancias no coloreadas, en el año 1910, publicó en ruso un extenso trabajo "sobre pigmentos vegetales y animales", el método original de Tswett consistía en hacer pasar una solución que contenía diferentes solutos coloreados a través de un tubo de vidrio vertical que había sido llevado con un material absorbente finamente dividido aparecían sobre la columna diversas zonas coloreadas, más o menos bien definidas, lo que indicaba la separación parcial o



total de los componentes de la solución, éste conjunto de bandas constituía el "cromatograma", luego había que revelar el cromatograma por pasaje a través de la columna de un solvente adecuado, las bandas se desplazarán sobre la columna en el mismo sentido que el solvente con diferente velocidad para cada uno de los componentes de la solución.

Este método de separación en columna no encontró rápida aplicación, a pesar del éxito obtenido por Tswett, a ésta demora contribuyeron (ver Strain "Chromatographie edsortion Analysis" (13) la ciencia de la escuela alemana que la adsorción podía descomponer compuestos lábiles, las necesidades de *macro* cantidades no siempre obtenidas y la guerra de 1914 que no permitió la difusión de la obra de Tswett escrita en ruso.

Hasta el año 1931 fué prácticamente ignorada las múltiples posibilidades de este método por los químicos, a partir de esa fecha tomó impulso cuando Kuhn y Lederer (14) publican sus trabajos sobre el desdoblamiento del caroteno ordinario en  $\alpha$  y  $\beta$  caroteno.-

A partir de entonces se comienza a utilizar las técnicas cromatográficas para resolver problemas relacionados a la separación de sistemas complejos, química de los hidratos de carbono, de los lípidos y de las proteínas.

b) Aplicación de la cromatografía al estudio del aceite esencial de citronela de Java.

El objeto de la investigación efectuada mediante la aplicación de la cromatografía directa, utilizando a tal efecto las técnicas ajustadas por los Dres. Adolfo Montes, Benjamín Frydman y Alejandro Troparewsky, nos sirvió de orientación sobre la calidad

de algunos de los componentes.

b) Thromatoplates

Este método en el que se utilizan tiras de vidrio recubiertas con un material adsorbente, presenta muchas ventajas con respecto a la cromatografía en columna, en la que materiales incoloros como ser los terpenos son difíciles de localizar, además de necesitar mayor cantidad de aceite, y requiere además una preparación mucho más cuidadosa de las columnas. Además el thomatoplates no necesita la aplicación de succión y por lo tanto su desarrollo es más rápido y fácil.-

TECNICA:

Se ha seguido la técnica aconsejada y ajustada por Montes, Freydmán y Troparevsky (15).

"En placas o láminas de vidrio de 20 cms. de largo por 11 cms. de ancho y 3 mm. de espesor, se recubren en un espesor de 0,5 mm. con una pasta preparada de la siguiente manera: se mezclaban 30 gramos de ácido silícico puro y seco, tamizado por 200 mallas (partículas de 74 micrones o menores) con 3 gramos de almidón bien molido; se agregaban en frío 54 ml. de agua y empastaba bien; se colocaba la pasta en baño de agua a 85°C agitando hasta que espesara (lleva unos dos minutos); se retiraba del baño agitando para enfriarla y agregaban luego otros 10 ml. de agua, continuando la agitación, luego se extendía la pasta sobre las placas. Las placas recubiertas con esta pasta se colocaban en estufa a 110°C por 30 minutos.

Retiradas de la estufa y aún calientes se procedía a su activación al vacío, en presencia de OH.K sólido.

Se usó un vacío de 5 mm. de Hg. por una hora. Luego se rompía el vacío con aire seco y usaban las placas tratando de que no transcurriesen más de 10 minutos entre el momento de retirarlas de la cámara de vacío, hasta pasar a las cubas de desarrollo.

En las cubas el disolvente se colocaba dos horas antes para lograr la saturación de la atmósfera con el mismo. Al retirar las placas de la estufa se deben hacer las marcas y anotaciones que se estimen necesarias con un lápiz negro común.

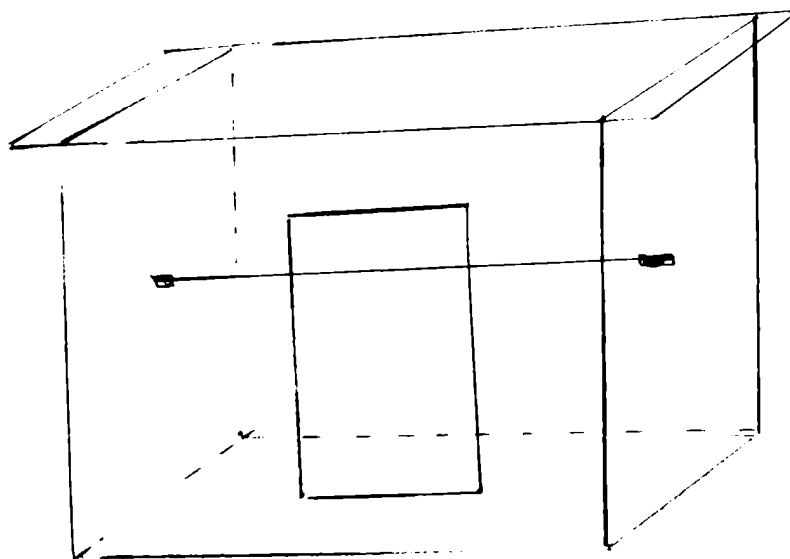
Los disolventes usados fueron: eter etílico para disolver los productos a cromatografiar y depositarlos sobre la placa. Se usaron micropipetas, empleando cantidades muy pequeñas".

Para efectuar la cromatografía, se toman las placas preparadas como se ha explicado, y se aplica con una micropipeta unas gotas de la solución eterea del producto (que contenga aproximadamente de 25 a 50 microgramos) a unos dos cm. del borde inferior de la placa.-

Se pueden colocar hasta cuatro gotas por placa, separadas dos cm. una de otra. En nuestro caso colocábamos 3 gotas. Se deja evaporar el éter y lleva la placa a la cubeta donde previamente, 2 horas antes como mínimo, se ha colocado el disolvente adecuado según el caso, hexano normal o éter de petróleo para el caso de investigar hidrocarburos, y un destilado de éter de petróleo (temp. de ebullición entre 60° y 70°C) adicionado de 15% de acetato de etilo para los componentes oxigenados. Usando estos disolventes una cromatografía de 15 cm. de desarrollo, dura aproximadamente 90 minutos.

La parte inferior de la placa, próxima a donde se ha fijado el producto queda en contacto con el disolvente y la placa se mantiene

vertical mediante soporte adecuado o suspendida de la tapa de la cubeta, el dispositivo usado por nosotros fué el siguiente: fig.1



El desarrollo es ascendente y se conduce hasta que se observa que el disolvente ha recorrido 15 cm. o más (marcando previamente con una línea de lápiz el límite). Se sacan luego las placas de la cubeta y dejan secar al aire, procediendo luego a la aplicación del reactivo.

Una vez reveladas las manchas se procede a determinar sus  $R_f$ .

c) Valores de R y  $R_f$ .

"La relación entre la distancia de migración de soluto en un

un sistema cromatográfico y la distancia de migración del solvente da el valor de R que es muy usado en la descripción de las sustancias como medida de su adsorción. Este valor depende de muchas condiciones que deben ser controladas y descritas. Estas incluyen: tiempo y distancia de migración, naturaleza, descomposición y pureza de los líquidos de lavado, temperatura y actividad del adsorbente.

Desde el punto de vista teórico la migración de una zona de soluto debe ser referida a la región de máxima concentración. Como esta región es difícilmente detectable en general, el límite frontal de la zona es dejado como referencia y el valor correspondiente de R se denomina  $R_f$ . (16)-

d) Investigación de compuestos con dobles ligaduras

"Reactivo usado: Fluoresceína bromo. Se usa para identificar compuestos con dobles ligaduras.

Para aplicarlo se pulveriza la placa seca con una solución diluida de fluoresceína en agua y luego expone a vapores de bromo.

Donde hay compuestos con dobles ligaduras, éstas absorben el bromo y la mancha permanece amarilla; donde no hay el bromo se combina con la fluoresceína para dar eosina, de color rojo. Queda la placa de color rosado rojizo con manchas de color amarillo donde hubo absorción de bromo. A la luz ultravioleta resalta aún más la diferencia".

De modo que para investigar compuestos con dobles ligaduras se procede de la siguiente manera:

- 1°) Se prepara la placa según b).
- 2°) Se desarrolla en una cuba saturada 2 horas antes con eter de petróleo 60-70°C, con 15% de acetato de etilo.
- 3°) Revela con fluoresceína bromo según d).
- 4°) Se observan el número de manchas y determina el Rf.

Resultados obtenidos:

Se hicieron cuatro determinaciones con el aceite esencial diluido con eter etílico, depositando con una micropipeta de 30 a 50

El desarrollo duró 90 minutos hasta una extensión de 17 cm.

|          | Nº de<br>manchas | Rf x 100    | Componentes idénticos<br>Eugenol-benzaldehido-<br>geraniol- citronelal- |
|----------|------------------|-------------|---|
| 1a. Det. | 4                | 57-77-84-98 | Idem  |
| 2a. Det. | 4                | 58-76-84-98 | Idem  |
| 3a. Det. | 4                | 56-77-84-93 | Idem  |
| 4a. Det. | 4                | 57-76-84-98 | Idem  |

Debido a que por la gran variedad de componentes que se encuentran en la esencia a pesar de la amplitud de desarrollo del cromatograma hay coincidencia de Rf para componentes de composición distinta, y se encuentran presente compuestos que tienen Rf muy aproximados como ser: limoneno y geraniol con Rf: 84  
citral: Rf: 97 Citronelal: 98 fué necesario para guiarse conducir un cromatograma paralelo con un testigo conocido.

Para obviar el inconveniente de coincidencia de Rf, fué necesario aplicar algunas reacciones de diferenciación.

e) Investigación de hidrocarburos.

- 1º Preparación de la placa según b)
- 2º Desarrollo de la misma en una cuba saturada por lo menos 2 horas antes con eter de petróleo de 60-70°C solamente.
- 3º Revelado con fluoresceína bromo según d).

Resultados obtenidos:

|                           | Nº de<br>Manchas. | Rfx 100 | Componente<br>Identificado |
|---------------------------|-------------------|---------|----------------------------|
| Testigo sd<br>de limoneno | 1                 | 84      | limoneno                   |
| 1a. Det.                  | 1                 | 84      | limoneno                   |
| 2a. Det.                  | 1                 | 84      | limonero                   |
| 3a. Det.                  | 1                 | 84      | limoneno                   |

Estas determinaciones se hicieron la 1a. y 2a. en la esencia diluída con eter etílico y la tercera con la fracción cuarta obtenida en la destilación fraccionada, diluída con eter etílico; se tomó esta fracción debido a que las propiedades de la misma como su desviación polarimétrica negativa evidenciaba la posible presencia de hidrocarburos terpénicos.

f) Investigación de compuestos poco reactivos.

"Acido sulfúrico concentrado o su mezcla con 10% de ácido nítrico, se usa como revelador de compuestos difícilmente detectables.

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

Parte experimental

- 1º Preparación de la placa según b)
- 2º Desarrollo de la misma en una cuba saturada previamente (2 horas antes) con eter de petróleo de 60-70°C, con 15% de acetato de etilo.
- 3º Revelado con pulverización sulfúrica nítrica.

---

|          | Número de Manchas | Rf x 100       | Componentes   |
|----------|-------------------|----------------|---|
| 1a. Det. | 4                 | 0-55-76-34-98- | Vanillina-eugenol-benzaldehído geraniol-citronelal. |
| 2a. Det. | 4                 | 0-55-76-84-98- | Idem.   |
| 3a. Det. | 4                 | 0-56-75-83-98  | Idem.   |
| 4a. Det. | 4                 | 0-56-76-84-96  | Idem.   |

---

Las cuatro determinaciones se hicieron con la esencia diluída en eter etílico.



Para la mejor apreciación de las manchas, se calentaba las placas después de ser pulverizadas, con la mezcla sulfúrica nítrica durante unos diez minutos en 110°.

g) Investigación de componentes carbonílicos, mediante la aplicación del reactivo clorhidrato de 2-4 dinitrofenilhidrazina.

"Es un reactivo efectivo para componentes carbonílicos. Se pulveriza el cromatograma desarrollado y seco con una solución de 2-4 dinitrofenilhidrazina disuelta en H al 2 .

Donde hay componentes carbonílicos se forman manchas de distinto color según la naturaleza química del aldehído o cetona, desde amarillo claro (por ejemplo la fencona) al rojo oscuro (piperona) permitiendo determinar perfectamente los Rf. Si luego se calienta la placa a 110°C por 15 minutos, se observa: a) oscurecimiento en general de las manchas donde se habían formado las 2-4 dinitrofenilhidrazonas.

b) Aparición de nuevas manchas, debidas a formación de hidrazonas de compuestos presentes en muy pequeñas cantidades, que no se formaban en frío (en general son manchas amarillas) a terpenos que reaccionan en medio ácido y en caliente (dan manchas marrones, verdes, violetas, etc.) a alcoholes terpénicos, sensibles al calor (linalol por ej.) dan manchas marrón violáceas".

Parte experimental

- 1° Preparación de las placas según b)
- 2° Desarrollo con eter de petróleo 60-70°, con 15% de acetato de etilo.
- 3° Revelado con pulverización del reactivo: 2-4 dinitrofenilhidrazona disuelta en

**III DETERMINACIONES QUIMICAS.**

- 1 ) **Indice de ácido.-**
- 2 ) **Indice de éster.-**
- 3 ) **Indice de saponificación.-**
- 4 ) **Determinación de alcoholes.**
  - a) **Determinación de alcoholes totales (libres y combinados).-**
  - b) **Determinación de alcoholes libres primarios.-**
  - c) **Determinación de alcoholes libres primarios y secundarios.-**
- 5) **Determinación de aldehidos y cetonas.-**

1°) Indice de acido.-

" Es el número de mg. de OH.K necesario para neutralizar los ácidos grasos libres de un gramo de aceite esencial".-

TECNICA:

" Se pesan exactamente alrededor de 2g. de aceite esencial en un erlenmeyer o en un matraz de saponificación (si se va luego a seguir con la determinación del índice de éster) y se disuelven en 15 á 20 ml. de alcohol etílico de 95°, neutralizada su acidez a la fenolftaleína; se agregan unas gotas de solución alcohólica al 1% de fenolftaleína.- Agitando continuamente se valora con solución acuosa 0,1 N de OH.Na, desde Lureta, hasta aparición de color rosado persistente.- Si se gasta más de 10 ml. de la solución alcalina, conviene repetir pesando sólo un gramo del aceite, o bien usar solución 0,5 N de álcali"

El índice de ácido se calcula así:

$$\text{I.A.} = \frac{5,61 \text{ ml OH. Na } 0,1N}{\text{peso aceite (g)}} = \frac{28,05 \text{ ml OH.Na } 0,5N}{\text{peso aceite (g)}}$$

Puede calcularse el porcentaje de ácido libre, expresando en un determinado ácido, de peso molecular M. con ésta fórmula:

$$\% \text{ de ácido libre, M.} = \frac{M \cdot \text{ml. OH.Na } 0,1N}{100 \cdot \text{peso aceite}} = \frac{M \cdot \text{ml OH.Na } 0,5N}{20 \cdot \text{peso aceite}}$$

Para ácidos bibásicos, se divide por 2, etc.-

| Peso muestra<br>g. | OH.Na 0,1N<br>f = 0.98<br>ml.- | Indice de<br>ácido. |
|--------------------|--------------------------------|---------------------|
| 5.6000             | 3,38                           | 3,31                |
| 5.4440             | 3,14                           | 3,23                |
| 5.2002             | 3.-                            | 3,36                |
| 4.8000             | 2,90                           | 3,32                |
| <u>Cálculos:</u>   | <u>Promedio:</u>               | <u>3,30</u>         |

$$\frac{5,61 \times 3,38 \text{ ml.} \times 0,98}{5.6000 \text{ g.}} = 3,31$$

$$\frac{5,61 \times 3,14 \text{ ml.} \times 0,98}{5.4440 \text{ g.}} = 3,23$$

$$\frac{5,61 \times 3 \text{ ml.} \times 0,98}{5.2002 \text{ g.}} = 3,36$$

$$\frac{5,61 \times 2,90 \text{ ml.} \times 0,98}{4.8000 \text{ g.}} = 3,32$$

Hemos usado alrededor de 5g. de muestra, por su baja acidez, y no se ha expresado en ningún ácido.-

## 2º) Indice de ester.-

" Es el número de miligramos de OH.K necesario para saponificar los ésteres de un gramo de esencia".

### TECNICA:

" En un matraz de saponificación de 250 ml. con boca esmerilada para adaptar tubo refrigerante de un metro,

se coloca una cantidad exactamente pesada del aceite esencial (de 1 á 5 g. según el contenido en ésteres) y se disuelve en alcohol neutro (5 á 10 ml) y se agregan 20 ml. de solución alcohólica 0,5N de OH.K exactamente medidos.- Se adapta el tubo refrigerante y hace hervir sobre baño de agua, a reflujo, por una hora o más.- Se enfría a temperatura ambiente y valora el exceso de álcali con HCl 0,5N.- Se lleva una determinación paralela en "blanco" para conocer el consumo de ácido para el volumen de álcali usado y calcular exactamente la cantidad de álcali empleada en la saponificación de los ésteres"

Con los datos obtenidos se calcula el índice de éster así:

$$\text{I.E.} = \frac{28.05 \cdot a}{s}$$

a = ml OH.K N/2 necesarios para saponificar el aceite.-

s = peso del aceite en gramos.-

Suele expresarse el contenido en ésteres, para el predominante en el aceite, por cien gramos del mismo.- En tal caso se aplica la fórmula:

$$\% \text{ éster, M} = \frac{M \cdot \text{IE}}{561,04} = \frac{a \cdot M}{20 \cdot s}$$

(Si fuera de ácido bibásico, se divide por 2, etc.)

donde:

M : peso molecular del éster predominante.-

a: número de ml. de álcali 0,5N usado en la sapon-

nificación.-

s : peso de la muestra, en gramos.-

Algunos ésteres necesitan más de una hora de saponificación: Sílicatos, 2 horas; acetato de mentilo, 2 horas; acetato de cedrilo, 4 horas; isovalerianatos, 6 horas;-

En nuestro caso hemos saponificado durante 1, 2, y 4 horas, además, no lo expresamos en ningún éster.-

| Tiempo de saponificación.- | Peso del aceite | OH.K 0,5N consumidos | Indice de éster | Promedio |
|----------------------------|-----------------|----------------------|-----------------|----------|
| 1                          | 5.1010          | 4,69                 | 25,29           |          |
| 1                          | 5.0820          | 4,67                 | 25,16           | 25,22    |
| 2                          | 5.1710          | 4,67                 | 25,52           |          |
| 2                          | 5.1000          | 4,60                 | 25,30           | 25,41    |
| 4                          | 5.1410          | 4,81                 | 26,24           |          |
| 4                          | 5.0650          | 4,70                 | 26,02           | 26,13    |

3°) Indice de saponificación.-

" Es el número de mg. de OH.K necesario para neutralizar los ácidos grasos libres y saponificar los ésteres de 1 gramo de aceite esencial".

Así para el aceite de citronela de Java, y teniendo presente el tiempo de saponificación, se tiene:

| Tiempo de<br>saponificación<br>Horas | Índice de<br>saponificación<br>IS = IA + IE |
|--------------------------------------|---|
| 1                                    | $28,52 = 3,30 + 25,22$                      |
| 2                                    | $28,70 = 3,30 + 25,41$                      |
| 4                                    | $29,43 = 3,30 + 26,13$                      |

#### 4°) Determinación de alcoholes.-

Los alcoholes presentes en las esencias pueden ser: primarios, secundarios y terciarios.-

El fundamento de los métodos de valoración es la esterificación mediante distintos radicales ácidos ó sus derivados, anhídridos, cloruros, variando las condiciones y el catalizador usado.-

##### a) Determinación de alcoholes totales primarios, secundarios y terciarios, libres y combinados.-

Método de acetilación descrito por Fiore y adoptado por la "Essential Oil Ass. of U.S.A.-

#### TECNICA:

" En un erlenmeyer de 125 ml con tapa esmeril se colocan, enfriando con hielo, 10 ml. de aceite esencial (secado previamente con sulfato de sodio anhidro) y una vez bien frío se agregan 20 ml. de dimetilamilina (libre de monometilamilina, susceptible de acetilarse), se mezcla

bien y agregan 8 ml. de cloruro de acetilo y 5 ml. de anhídrido acético (sirve como disolvente, para evitar la cristalización de la masa reaccionante).- Se enfría unos minutos y deja luego a temperatura ambiente por media hora; se sumerge en baño de agua a  $40^{\circ}\text{C} + 1^{\circ}\text{C}$ , por tres horas.-

Luego el aceite acetilado se lava con 75 ml. de agua helada por tres veces, y después con porciones de 25 ml. de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  al 5%, para eliminar la dimetilanilina y con solución de  $\text{CO}_3\text{Na}_2$  al 10% para eliminar el ácido y finalmente con agua destilada, hasta neutralidad.-

El aceite se seca con sulfato de sodio anhidro, y determina su índice de éster, según procedimiento indicado para los ésteres".-

Fórmula para calcular % de alcoholes totales, expresándolo en el predominante:

$$\% \text{ alcoholes totales, expresado en } M = \frac{a \cdot M}{20 (s - 0,021 \cdot a)}$$

a = número de ml. de álcali 0,5N. Necesario para saponificar el aceite acetilado.-

M = peso molecular del alcohol predominante.-

S = peso del aceite acetilado empleado en la determinación, expresado en gramos.-

0,021: peso que se incorpora al aceite durante la acetilación, por ml. de solución de álcali 0,5N gastado (es decir, peso de radical acetilo, menos un hidrógeno que pierde el alcohol, por ml. de solución 0,5N)



Cuando los alcoholes presentes son varios, el resultado se expresa como índice de éster después de acetilar:

$$\text{I.E. después de acetilar} = \frac{28,05 \text{ g}}{S}$$

También se puede expresar en porcentaje de hidroxilo alcohólico:

$$\text{OH. \%} = \frac{a \cdot 17}{20 (S - 0,021 \cdot a)}$$

| <u>Peso de</u><br><u>aceite a</u><br><u>cetilado</u><br><u>g.</u> | <u>OH.K N/2</u><br><u>consumi-</u><br><u>dos.</u><br><u>ml.</u> | <u>Indice de és</u><br><u>ter aceite a</u><br><u>cetilado.</u><br><u>2 hs. sapon.</u> | <u>Hidroxilo</u><br><u>alcohó-</u><br><u>lico.</u><br><u>%</u> | <u>Guraniol</u><br><br><u>%</u> |
|---|---|---|--|---------------------------------|
| 1,5870  | 3,10  | 143,10  | 4,86   | 46,06                           |
| 1,5650  | 8,00  | 143,40  | 4,86   | 46,00                           |
| Promedio  |   | 143,25  | 4,86   | 46,03                           |

CALCULOS:

1a. Determinación.

Esencia acetilada

tara :<sup>+</sup> 53,4230 g

tara : 51,8360 g

esencia acetilada: 1,5870 g

Blanco: se gastó 19,1 ml. de HCl 0,5N. f: 0,99

$$19,1 \times 0,99 = 18,91.-$$

HCl 0,5N f 0,99 gastados para valorar el exceso

de álcali = 10,81 ml.-

OH.K N/2 consumidos 18,91 - 10,81 = 8,10 ml.

2a. Determinación.

Esencia acetilada: 1,5650 g.

HCl 0,5N f. 0,99 gastados para valorar el exceso de álcali ; 10,91

OH.K consumidos: 18,91 - 10,91 = 8 ml.

1a. Determinación

% alcohol total expresado en el alcohol predominante, geraniol.-

Peso molecular del geraniol = 154.24

$$\frac{(18.91 - 10.81) \cdot 154.24}{20 (1,5870 - 0,021 \times 8.1)} = 46,06\%$$

$$\text{I.E. después de acetilar} = \frac{28,05 \times 8.1}{1,5870} = 143.10$$

$$\% \text{ OH. alcohólico } = \frac{8.1 \times 17}{20 (1,5870 - 0,021 \times 8.1)} = 4,86$$

2a. Determinación

% alcohol total expresado en el alcohol predominante, geraniol, de peso molecular 154.24

$$\frac{(18.91 - 10.91) \cdot 154.24}{20 (1,5650 - 0,021 \times 8.00)} = 46\%$$

$$\text{I.E. después de acetilar} = \frac{28,05 \times 8.00}{1,5650} = 143.4$$

$$\% \text{ OH. alcohólico} = \frac{8 \times 17}{20 (1,5650 - 0,021. 8.00)} = 4.86$$

- . -

### DETERMINACION DE ALCOHOLES LIBRES:

#### Primarios y Secundarios.

Para dosar alcoholes primarios y secundarios, por separados entre sí, y de los terciarios, se aplicó la ftalización.-

#### b) Determinación de alcoholes libres primarios.

#### TECNICA:

" En un baloncito adecuado con boca esmeril y refrigerante a reflujo, se calientan 2g. del aceite esencial, previamente secado con sulfato de sodio anhidro, con 2g. de anhídrido ftálico puro (bien pulverizado) y 2 ml. de disolvente adecuado (benzol).- Se calienta sobre baño de agua, a 100°C. durante 2 horas, agitando frecuentemente.- Se deja enfriar a temperatura ambiente por media hora.- Se agregan 70 ml. de solución acuosa de OH.K 0,5N., exactamente medidos.- Se tapa y agita por 10 minutos para llevar el anhídrido ftálico no combinado a ftalato de potasio (debe disolverse todo el anhídrido ftálico en exceso; en caso contrario, seguir agitando, ayudándose con una varilla de vidrio).- Se titula el exceso de álcali con HCl 0,5N, empleando como indicador la fenolftaleína.- Se lleva un ensayo en "blanco", con anhídrido ftálico

lico, para determinar su título" (17)

El cálculo se hace así:

$$\% \text{ alcohol } 1a, M = \frac{M (b-a)}{20.s}$$

M : peso molecular del alcohol primario.

S : peso de la muestra, en gramos.-

b : número de ml. de OH.K N/2 requerido para la cantidad de anhídrido ftálico agregado.-

a : número de ml. de OH.K N/2 utilizado realmente.-

Cálculos: 1a. Determinación.

Peso aceite : 1,8540 g.

peso anh.ftálico  $\varphi$  1,9980 g.

peso anh.ftálico blanco : 2.0030 g.

Titulado: ml. HCl 0,5 N f = 1, gastados: 33,5 ml.

para el blanco se gastó 23,5 ml. de HCl f: 1, 0,5N.-

El factor de la solución de OH.K 0,5N = 0,997

2.0030 g. anhid.ftál. "blanco"  $70 \times 0,997 - 23,5 \times 1 = 46,29$

1.9980 g. " " ensayo 1 b = 46,174 ml. OH.K N/2

Para calcular el valor de a fué necesario descontar los ml. de sol. de OH.K N/2 consumidos por los ácidos grasos libres que contenía la esencia.- Se determinó así:

Según el índice de ácido, su valor promedio era: 3,30

1 g. esencia \_\_\_\_\_ 3,30 mg. OH.K (Por def.I.A.)

1,8540g. " \_\_\_\_\_ x = 6,11 mg. OH.K

28,05 mg. OH.K \_\_\_\_\_ 1 ml. sol. OH.K N/2

6,11 mg. OH.K \_\_\_\_\_ x = 0,21 ml. sol. OH.K N/2

70 x 0,997 - 0,21 ; 69.790 - 0,21 = 69,58 ml. sol.

a = 69.58 - 33,5 x 1 = 36,08 ml. sol. OH.K N/2

b - a = 46.174 - 36,08 = 10.094

% alcohol, M =  $\frac{M(b-a)}{20,5}$

% geraniol =  $\frac{154.24 \times (46.174 - 36,08)}{20 \times 1,8540} = 41,98\%$

### 2a. Determinación:

peso aceite : 1,9520 g.

peso anhídrido ftálico: 1,9510g.

El mismo "blanco" que en la la. determinación.

Titulación: ml. HCl 0,5N f = 1 gastados: 34,6 ml.

### Cálculos:

factor de la 99% de OH.K 0,5N = 0,997

20030 g. anhíd.ftálico "blanco" 70x0,997-23,5x1 = 46,29 ml.

1.9510g. " " \_\_\_\_\_ b = 45,088 ml. OH.K N/2

Cálculo de a:

1 g. esencia \_\_\_\_\_ 3,30 mg. OH.K (Por def. I.A.)

1,9520g. " \_\_\_\_\_ x = 6,438 mg. OH.K

28,05 mg.OH.K \_\_\_\_\_ 1 ml. sol. OH.K N/2

6,438 mg.OH.K \_\_\_\_\_ x = 0,219 ml. sol. OH.K N/2

luego:

70 x 0,997 - 0,219 69.571.

a = 69.571 - 34,60 = 34.971 ml. OH.K N/2

% alcohol la. =  $\frac{154,25 (45,088 - 34,971)}{20 \times 1,9510} = 40,2$

$$\text{Promedio : } \frac{41,98 + 40,20}{2} = 41,04$$

c) Determinación de alcoholes libres primarios y secundarios.

TECNICA:

" Se conduce la ftalización sin disolvente y a 125 - 130°C., sobre baño de aceite mineral durante 2 horas.- En este caso, suele observarse que sublima anhídrido ftálico y se deposita alrededor de la boca del baloncito y comienzo del tubo refrigerante, por lo cual conviene agregar el álcali por la parte superior del tubo, de modo que al caer arrastre y disuelva el anhídrido ftálico; luego se hace caer algo de agua destilada para llevar todo el álcali al balón.- Se hace la valoración del exceso de álcali y cálculo como antes.- Con alcoholes libres secundarios se determinan por diferencia entre ésta determinación y la anterior"

Cálculo: la. Determinación

peso del aceite: 1,9960 g.

peso del anhíd.ftálico: 1,9970 g.

El mismo blanco que en la determinación de alcoholes primarios.

ml. de HCl f = 1 gastados: 29.2 ml.

2.0030 g. anh.ftálico "blanco" \_\_\_\_\_  $70 \times 0,997 - 23,5 \times 1 = 46,29$  ml.

1,9970 g. " " \_\_\_\_\_ b = 51,14 ml.OH.K N/2

Cálculo de "a".

El aceite de citronelo de Java no posee alcoholes libres secundarios.-

- . -

5) Determinación de aldehidos y cetonas.-

Técnica de Bryont y Smith, modificada por el Dr. Adolfo C. Montes (18)

TECNICA

"Reactivos:

- a) Solución 0,5N de clorhidrato de hidroxilamina puro, en alcohol de 80°C., neutralizado al azul de bromofenol, a color verde azul;
- b) Solución 0,5N de OH.Na en alcohol de 90°, libre de aldehidos, que se titulará en el momento de uso;
- c) Solución de indicador preparada con 20 ml. de piridina y 10 ml. de solución al 1% de azul de bromofenol, llevada a un litro con alcohol de 95°, libre de aldehidos.-

Procedimiento:

En un erlenmeyer común o de boca esmerilada ( si se va a calentar a reflujo), se coloca una cantidad adecuada (0,5 á 1,0 g. de componente carbonílico o cantidad correspondiente del aceite esencial) del producto, con 100ml. de solución indicadora, ajustando el pH al "blanco" paralelo; luego, se agrega a cada uno 35 ml. del reactivo.- Se titula a temperatura ambiente el HCl liberado, con la solución alcohólica 0,5N de OH.Na, hasta obtener el color del "blanco".- Se debe calcular de modo que el reactivo esté en fuerte exceso, preferible el doble de lo necesario; y

lg. esencia \_\_\_\_\_ 3,30 mg. OH.K (por def. I.A.)

1,9970g." \_\_\_\_\_ x = 6,59 mg. OH.K

28,05 mg. OH.K \_\_\_\_\_ 1 ml. sol. OH.K N/2

6,59 " " \_\_\_\_\_ x = 0,234 ml. sol. OH.K N/2

luego:

$$70 \times 0,997 - 0,234 = 69,566 \text{ ml. OH.K N/2}$$

$$a = 69,566 - 29,2 = 40,36 \text{ ml. sol. OH. K N/2}$$

$$\% \text{ alcohol} = \frac{154,25 (51,14 - 40,36)}{20 \times 1,9960} = 41,4 \%$$

### 2a. Determinación:

peso aceite : 2.0210 g.

peso del anhídrido ftálico: 1,9970 g.

El mismo blanco que en las determinaciones anteriores.-

ml. de HCl f = 1 gastados = 29,32 ml.

2.0030 g. anhid.ftálico "blanco" \_\_\_\_\_  $70 \times 0,997 - 23,51 = 46,29 \text{ ml.}$

1,9970 g. " " \_\_\_\_\_ b = 51,14 ml. OH.K N/2

Cálculo de "a"

1 g. esencia \_\_\_\_\_ 3,30 mg. OH.K (por def. I.A.)

2,0210g. " \_\_\_\_\_ x = 6,67 mg. OH.K

28,05 mg. OH.K \_\_\_\_\_ 1 ml. sol. OH.K N/2

6,67 " " \_\_\_\_\_ x = 0,237 ml. sol. OH.K N/2

luego:

$$70 \times 0,997 - 0,237 = 69,553 \text{ ml. OH.K N/2}$$

$$a = 69,553 - 29,32 = 40,23 \text{ ml. OH. K N/2}$$

$$\% \text{ alcohol} = \frac{154,24 (51,14 - 40,23)}{20 \times 2,0210} = 41,60\%$$

Promedio: 41,50 %



la valoración es necesario hacerla con luz natural"

El cálculo se hace así:

$$\% \text{ producto carbonílico, } M = \frac{a \cdot M}{20 \cdot s}$$

donde:

a = número de ml. de OH.Na N/2 necesarios para neutralizar al HCl liberado en la oximación, hasta color del "blanco";

M = peso molecular del compuesto carbonílico;

s = peso de la muestra, en gramos.-

En vez de expresar los resultados en un solo componente carbonílico, conviene, cuando son varios los presentes, calcular el porcentaje en grupo carbonílico (=CO)

$$\% \text{ de } =\text{CO} = \frac{\text{ml. alcali } 0,5\text{N} \times 28}{20 \cdot s}$$

En nuestro caso se hicieron dos determinaciones, dejando las sustancias reaccionantes en contacto durante 24 horas.-

#### 1a. Determinación:

esencia + tara = 67,8140 g.

- tara : 66,8050 g.

esencia: 1,0090 g.

Se determinó a un pH 6, con potenciómetro.-

Se gastó: 4,3 ml. de OH.Na 0,5 N.-

#### Cálculo:

$$\% \text{ producto carbonílico,} = \frac{4.1 \times 154.24}{20 \times 1.0090} = 32,40 \%$$

expresado en citronelal P.M = 154,24

2a. Determinación

esencia + tara = 93.2640 g.

tara : 92.2510 g.

esencia: 1,0130 g.

Se hizo la determinación en iguales condiciones que la anterior.-

Se gastó 4,2 ml. de OH.Na 0,5 N

Cálculo:

$$\frac{4.2 \times 154.24}{20 \times 1.0130} = 32,05 \% \text{ del producto carbonílico expresado en citronelal.-}$$

pred

$$\text{Promedio} = \frac{32,40 + 32,05}{2} = 32,22 \%$$

**IV - AISLAMIENTO, DOSAJE E INVESTIGACION**  
**DE LOS COMPONENTES PRINCIPALES.**

- 1) Marcha analítica (cuadro sinóptico).
- 2) Investigación de alchidos y estomas.
- 3) Investigación de alcohólos.
- 4) Investigación de fenoles.
- 5) Hidrocarburos terpénicos.

### 1) MARCHA ANALITICA SEGUIDA

Se disolvió 50 ml. de esencia en 100 ml. de eter, luego se trató con 50 ml. de solución de OH.K al 5%, en una ampolla de de decantación. El extracto acuoso podría contener fenoles (eugenol, vainillina), se acidificó con H<sup>Cl</sup> al 20% v/v, hasta ligera acidez, y luego se extrajo los fenoles liberados con eter etílico, el residuo etéreo tenía un olor a esencia de cloro, característico del eugenol.

#### Reacciones de caracterización

Reacción coloreada con  $\text{Cl}_3\text{Fe}$  (19)

#### TECNICA:

Solución alcohólica de  $\text{Cl}_3\text{Fe}$

(1:10) solución amarilla.

Solución alcohólica del fenol.

Poner unas gotas de la 1a. solución en un tubo de ensayo, y agregar 1-2 ml. de la 2da. solución. Si hay eugenol, da una coloración azul.

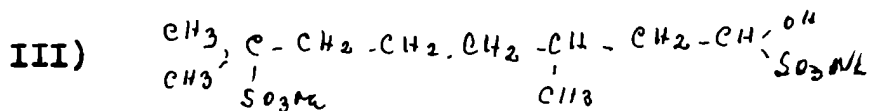
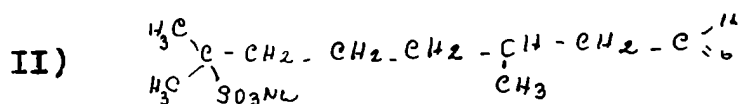
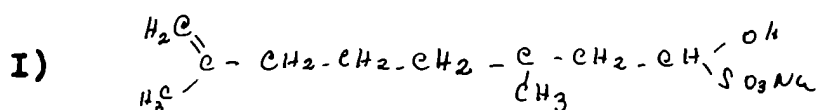
La reacción dió una coloración verde azulada, lo que indicaba la presencia de fenol (eugenol).

#### Separación de componentes carbonílicos.

En la esencia de citronela de Java existe como uno de los principales constituyentes el citronelol, el que puede ser aislado y purificado (20 y (21) a través de su compuesto bisulfítico cristalino normal obtenido por la acción del bisulfito de sodio sobre

el aceite esencial que lo contiene. Pero debido a la poca estabilidad del citronelal debe tenerse mucho cuidado en la descomposición de este compuesto bisulfítico.

En el citronelal se observa la existencia de una ligadura etilénica y un grupo carbónilico, este compuesto puede generar tres formas diferentes de compuestos bisulfítico teóricamente posible y que actualmente han sido preparados.



Tiemann demostró que el compuesto normal I, es formado cuando el citronelal es mezclado con hielo machacado y una solución fría al 35% de bisulfito de sodio, donde el exceso de anhídrido sulfuroso ha sido eliminado previamente en corriente de aire.

El derivado sulfonado III se forma por tratamiento del citronelal con un exceso de solución de bisulfito de sodio que contiene además sulfito de sodio. Este compuesto cristalino puede ser aislado. Tratando éste compuesto con alcali diluido se convierte en el monoderivado II del cual el citronelal no puede ser regenerado ni aún con solución de OH.

Con sulfito de sodio neutro gran cantidad del citronelal forma los derivados hidrosulfos II y III a partir de los cuales, el citronelal no puede regenerarse.

Esta reacción del citronelal con sulfito de sodio neutro puede servir para la separación del citral el cual reacciona rápidamente con el sulfito de sodio. Solo es necesario en este caso neutralizar el  $\text{OH.Na}$  a medida que se va liberando en el curso de la reacción.

Tiemann también demostró que su método puede aplicarse a la separación del citronelal de pequeñas cantidades de metil heptenona. Esta cetona no reacciona con solución concentrada y neutra de bisulfito de sodio y bicarbonato de sodio.

Zimmerman sugiere otro método para aislar el citronelal que consiste en utilizar una solución al 35% de sulfito de sodio anhidro que ha sido neutralizada en presencia de fenolftaleína con ácido sulfúrico diluido y añadido de 2% de sulfato de sodio.

Después de enfriar y agitándose añade lentamente el aceite. El compuesto bisulfítico que se forma luego se separa. La temperatura deberá siempre mantenerse por debajo de  $20^{\circ}$  a  $21^{\circ}\text{C}$ .

El líquido alcalino se neutraliza con ácido acético al 10%, pero teniendo cuidado de que la masa remanente quede ligeramente alcalina.

Después que el resto de la esencia ha sido añadida se agita la mezcla por espacio de media hora. El precipitado se libra del resto de esencia por lavado con eter.

En el presente trabajo hemos verificado la separación del citronelal mediante la técnica de Tiemann.

TECNICA:

El aceite residual, libre de fenoles, se trata con una solución de bisulfito de sodio al 35%, previamente liberada de anhídrido sulfuroso mediante corriente de aire, y convenientemente enfriada, la esencia también debé ser enfriada, mediante el agregado de trocitos de hielo, y la mezcla se agita.

Una vez separados los compuestos carbonílicos, fué extraída la esencia con eter, caracterizándose en esta solución libre de compuestos carbonílicos y fenoles, la presencia de alcoholes primarios y terciarios, dado que en la determinación de alcoholes se llegó a la conclusión de que no había alcoholes secundarios.-

Esta determinación fué realiada basándose en la propiedad que tiene el anhídrido ftálico de reaccionar con los alcoholes formando los mono-esteres respectivos.

Esta esterificación constituye un medio para separar los alcoholes primarios de los secundarios y terciarios, los primarios reaccionan cuantitativamente aún con soluciones diluídas en benceno y a la temperatura de baño maría, los secundarios requieren en general temperaturas de 120° a 130° sin disolvente y los terciarios no reaccionan en éstas condiciones.

Una vez separados los alcoholes primarios mediante la ftalización, en la esencia residual se verifico la presencia de alcoholes terciarios mediante la siguiente técnica:

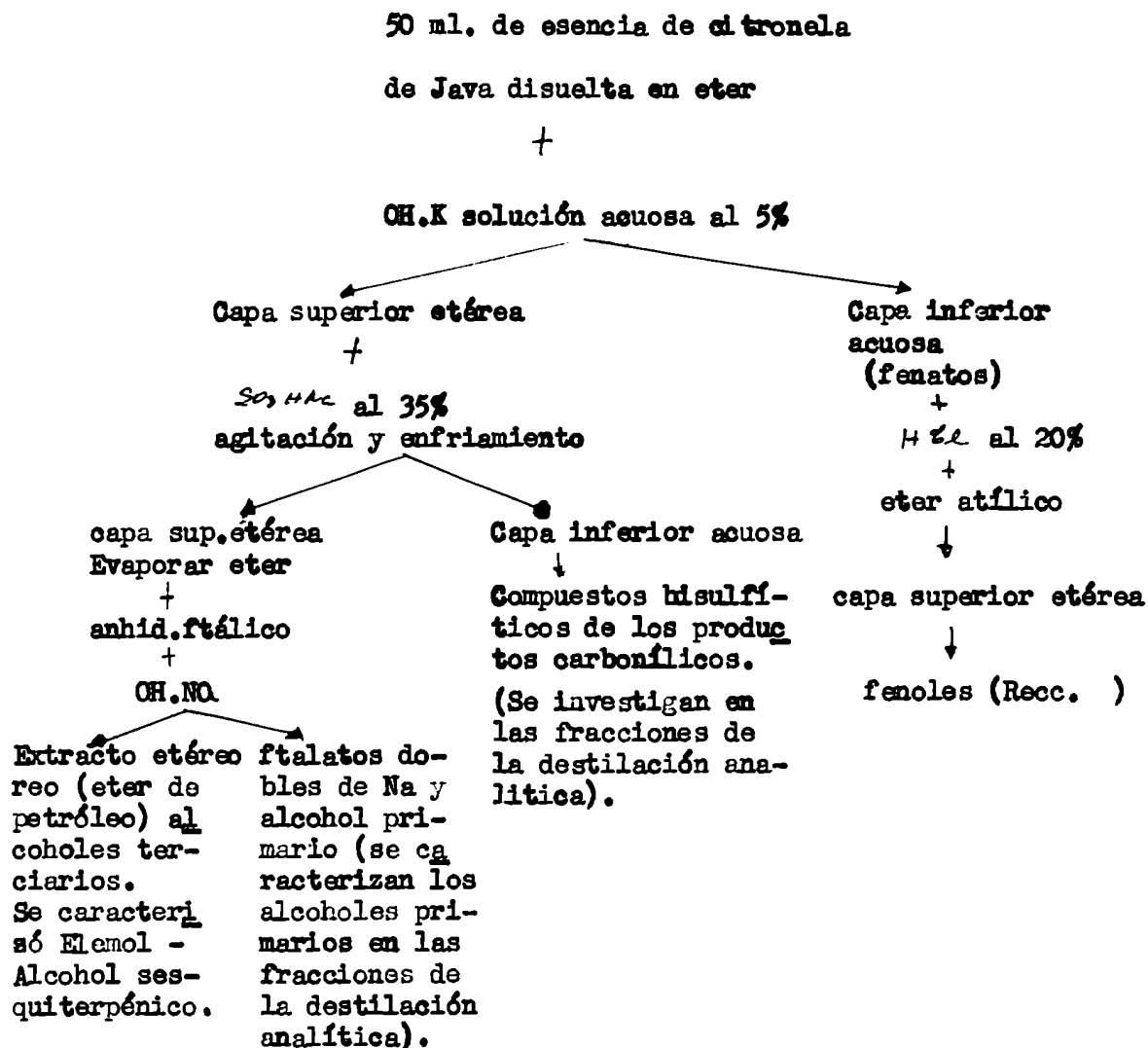
La esencia residual, libre de compuestos carbonílicos, fenoles, alcoholes primarios, fué extraída con eter de petróleo,

en el residuo por evaporación se procedió a caracterizar alcoholes terciarios.

Se deshidrató con *SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>* anhidro, disolvió en eter de petróleo y pasó a un tubo de ensayo seco, se agregó isocianato de fenilo, se calentó sobre baño de agua, filtró en caliente y se dejó en el tubo tapado en la heladera durante dos días, el precipitado obtenido se recrystalizó en eter de petróleo y determinó el punto de fusión del feniluretano obtenido P.F. = 114°C., correspondiendo al alcohol sesquiterpénico monocídico, elemol.



CUADRO SINOPTICO DE LA MARCHA ANALITICA



2) INVESTIGACION DE ALDHIDOS Y  
CETONAS EN LAS DISTINTAS FRAC-  
CIONES.-

- a) Precipitación a la gota con 2-4-dinitrofenilhidracina en las fracciones obtenidas por destilación analítica, para determinar en cuales había aldehidos o cetonas.

Estas reacciones se hicieron sobre porta objetos, colorando 3 gotas de cada fracción y 3 gotas del reactivo.

REACTIVO

Preparación de la 2-4 dinitrofenilhidrazona de aldehidos:  
Método de Shriner y Fuson (22).

Hacer una pasta con 0,4 g. de sulfato de 2-4 dinitrofenilhidracina, más 2 ml. de  $H_2SO_4$  concentrado, se hace una pasta y se agregan 3 ml. de agua, gota a gota, agitando, hasta solución completa. A la misma aún caliente se adicionan 10 ml. de alcohol de 95° libre de aldehidos. Si no queda completamente límpida, la solución se filtra antes de usarla.

Bol. de aldehidos: 0,5 g. del compuesto carbonílico se disuelven en 20 ml. de alcohol de 95°, libre de aldehidos.

A la solución del aldehido se le agrega la solución del reactivo y se deja a temperatura ambiente. En general la cristalización se produce entre 5 y 10 minutos. Si así no ocurriese se deja estar una noche. Excepcionalmente es necesario calentar a reflujo por unos minutos. Se recristaliza en alcohol etílico o acetato de etilo (en frío o en caliente).

| FRACCION | Precipitado: color y cantidad       |
|----------|-------------------------------------|
| 1        | negativo                            |
| 2        | negativo                            |
| 3        | negativo                            |
| 4        | negativo                            |
| 5        | anaranjado; muy pequeño             |
| 6        | anaranjado; muy pequeño             |
| 7        | anaranjado; muy pequeño             |
| 8        | naranja; abundante                  |
| 9        | naranja; muy abundante              |
| 10       | naranja; muy abundante              |
| 11       | naranja; abundante.                 |
| 12       | naranja; abundante                  |
| 13       | naranja; abundante                  |
| 14       | naranja; abundante                  |
| 15       | anaranjado rojizo; abundante        |
| 16       | anaranjado rojizo; regular cantidad |
| 17       | anaranjado; muy pequeño             |
| 18       | negativo                            |
| 19       | negativo                            |
| 20/25    | negativo.                           |

B) Precipitación de los aldehidos o cetonos con sulfato de 2-4 dinitrofenilhidracina, usando un ml. de las fracciones que dieron positivo a la gota.

Todas las reacciones se hicieron por duplicado.

| Fracción N° | Recristaliz.en:  | Punto de Fusión° | Observaciones |
|-------------|------------------|------------------|---------------|
| 6           | ale.etílico 3 v. | 81° - 82°        | franca fusión |
| 7           | " " 4 v.         | 122° - 121°      | franca fusión |
| 8           | " " 3 v.         | 195° - 196°      | franca fusión |
| 9           | " " 3 v.         | 196° - 200°      | franca fusión |
| 10          | " " 3 v.         | 200° - 198°      | franca fusión |
| 11          | " " 3 v.         | 76° - 77°        | franca fusión |
| 12          | " " 3 v.         | 76° - 76°        | franca fusión |
| 13          | " " 3 v.         | 77° - 76°        | franca fusión |
| 14          | " " 3 v.         | 77 - 78°         | franca fusión |
| 15          | " " 3 v.         | 76° - 78°        | franca fusión |
| 16          | " " 3 v.         | 76°- 77°         | franca fusión |

Parecen existir 4 aldehidos: El primero correspondiente a la fracción 6, el segundo a la fracción 7, una mezcla correspondiendo a las fracciones 8, 9 y 10, y el último a las fracciones 11 a 16.

c) PRECIPITACION DE LAS SEMICARBAZONAS CORRESPONDIENTE a aldehidos o cetonas de las distintas fracciones.

Todas las precipitaciones se hicieron por duplicado.

| Fracción | Recristalizado en:       | P.fusión °C.          |
|----------|--------------------------|-----------------------|
| 6        | en alcohol etílico 3 v.  | 135° 136°             |
| 7        | en alcohol etílico 3 v.  | 118° 120°             |
| 8        | en alcohol metílico 2 v. | 200 <del>a</del> 198° |
| 9        | Alcohol metílico 2 v.    | 188° 200°             |
| 10       | Alcohol metílico 2 v.    | 201° 204°             |
| 11       | Alcohol metílico 2 v.    | 82° 81°               |
| 12       | Alcohol metílico 2 v.    | 83° 82°               |
| 13       | Alcohol etílico 3 v.     | 84° 83°               |
| 14       | Alcohol etílico 3 v.     | 84° 82°               |
| 15       | Alcohol etílico 3 v.     | 83° 84°               |
| 16       | Alcohol etílico 3 v.     | 84° 82°               |

#### TECNICA

##### Precipitación de semicarbazonas:

##### Método de Quenther (23)

"A una solución acuosa de clorhidrato de semicarbanido, se agrega una cantidad equimolar de acetato de Sodio, y a esta solución se añade una cantidad ligeramente menor que la equimolecu-

lar del aldehído (o cetona); agitar; suele ser necesario agregar alcohol para obtener una solución clara (Si el compuesto carbónico es insoluble en agua, conviene disolverlo previamente en 5-10 ml. de alcohol etílico libre de aldehídos). En general, la semicarbazona cristaliza en pocos minutos.

Otras veces tarda más tiempo. A veces se requiere calentar. Para una purificación final, se recristaliza en un disolvente adecuado, tal como el agua, alcohol o acetona.

Cromatografía de las 2-4 dinitrofenilhidrazonas  
obtenidas de las distintas fracciones de la destilación  
analítica.

| Fracción | Desarrollo en:                                  | Nº de componentes |
|----------|---|-------------------|
| 6        | eter de petróleo                                | 1 - 1             |
| 7        | eter de petróleo                                | 1 - 1             |
| 8        | eter de petróleo y luego<br>en acetato de etilo | 2 - 2             |
| 9        | eter de petróleo y luego<br>en acetato de etilo | 3 - 3             |
| 10       | eter de petróleo y luego<br>acetato de etilo    | 2 - 2             |
| 11       | eter de petróleo                                | 1 - 1             |
| 12       | eter de petróleo                                | 1 - 1             |
| 13       | eter de petróleo                                | 1 - 1             |
| 14       | eter de petróleo                                | 1 - 1             |
| 15       | eter de petróleo                                | 1 - 1             |
| 16       | eter de petróleo                                | 1 - 1             |

La cromatografía fué hecha con papel watman N° 1, la 2-4 dinitrofenilhidrazonas se disolvian en éter etílico, y se depositaban con una micropipeta cerca de un extremo del papel que se sumergía en el solvente, la cromatografía en papel fué solo una orientación con el fin de observar si se trataba de un solo componente o mezclas.

En la investigación de aldehidos y cetonas se efectuaron las siguientes determinaciones:

- 1) Cromatografía sobre placas de vidrio (chromotoplates).
- 2) Cromatografía con papel watman N° 1.
- 3) Precipitación a la gota con sulfato de 2-4 dinitrofenilhidracina, en las fracciones obtenidas por destilación analítica, para determinar en cuales había aldehidos y cetonas.
- 4) Precipitación de los aldehidos con sulfato de 2-4 dinitrofenilhidracina usando un ml. de las fracciones que dieron positivo a la gota.
- 5) Investigación de aldehidos en distintas fracciones.
- 6) Precipitación de las semicarbazonas correspondientes a aldehidos y cetonas de las distintas fracciones.
- 7) Todas las determinaciones se hicieron por duplicado.

### CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos fueron identificados los siguientes aldehidos y cetonas.

### DINITROFENILHIDRAZONAS

| <u>Compuesto</u> | <u>P. F. obtenido</u> | <u>P.F. correspondiente</u> |
|------------------|-----------------------|-----------------------------|
| metilheptenona.  | 81,5°C                | 81°C                        |
| isovaleraldehido | 121,5°C               | 123°C                       |
| citronelal       | 77,5°C                | 78°C                        |

En las fracciones 8, 9 y 10, parecen existir mezclas de aldehidos, cuyos derivados obtenidos no fué posible estudiar se trató de purificar en distintos disolventes, 1º) en alcohol etílico sin obtenerse derivados cristalinos, lo mismo en eter de petróleo y acetato de etilo.

Las características que presentaban los derivados de estas 3 fracciones eran semejantes, el color anaranjado; presentaban una fusión pastosa, lo que se hizo necesario utilizar 2 capilares para poder determinar su punto de fusión, un capilar más fino y abierto que debía ser introducido dentro de otro más grueso y cerrado.

#### SEMICARBAZONAS

| <u>Compuesto</u> | <u>P.F. obtenido</u> | <u>P.F. correspond.</u> |
|------------------|----------------------|-------------------------|
| metilheptenone   | 135,5°C              | 136-138°C               |
| isovaleraldehido | 119°C                | 119-120°C               |
| citronelal       | 83,5°C               | 84°C                    |

En las fracciones 8, 9 y 10 parecen existir mezclas de aldehidos, cuyos P.F., son más altos que en las fracciones anteriores y posteriores, podrían ser mezclas de benzaldehido y citral.

#### 3) Identificación de alcoholes

Se verificó la presencia de geraniol y d-citronelol, en la fracción N° 23 obtenida de la destilación analítica. La presencia de estos alcoholes de acuerdo a la temperatura de destilación calculada, a 35 mm. de Hg. deben de ponerse en evidencia en las fracciones comprendidas entre 18 y 25.-

### TECNICA

La fracción obtenida de la destilación analítica fué sometida a un tratamiento con anhídrido ftálico, con el objeto de separar los alcoholes primarios.

Este proceso de ftalización puede servir para la separación del geraniol en presencia de citronelol según el método de Flattan y Labbe (24).

El proceso descrito por estos autores se basa en la diferente solubilidad de los ftalatos ácidos de estos alcoholes en éter de petróleo.

La fracción conteniendo ambos alcoholes es hervida en un aparato a reflujo con una cantidad adecuada de anhídrido ftálico disuelto en benceno. Después de hervir la mezcla, el benceno es evaporado y el residuo tratado con  $\text{OH.Na}$ , formándose en consecuencia los ftalatos dobles de sodio y alcohol respectivo.

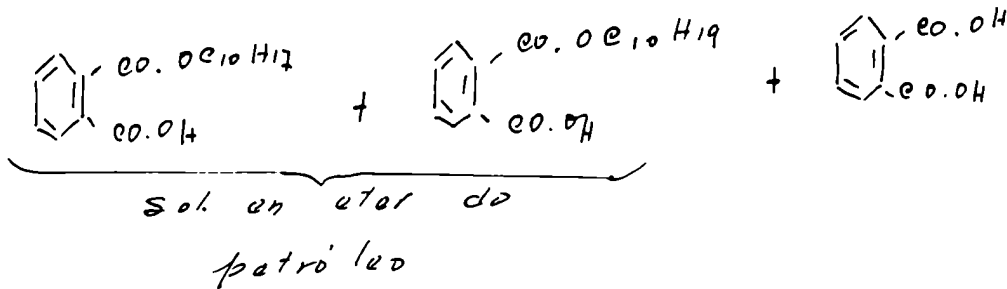
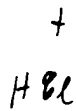
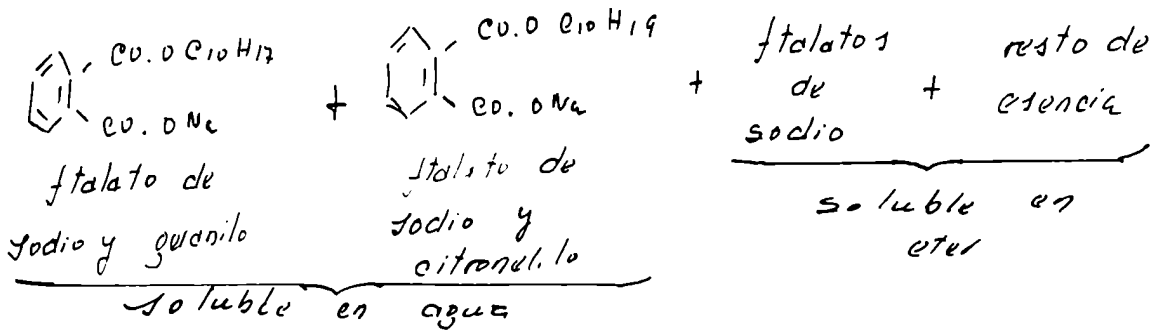
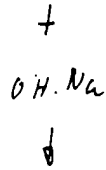
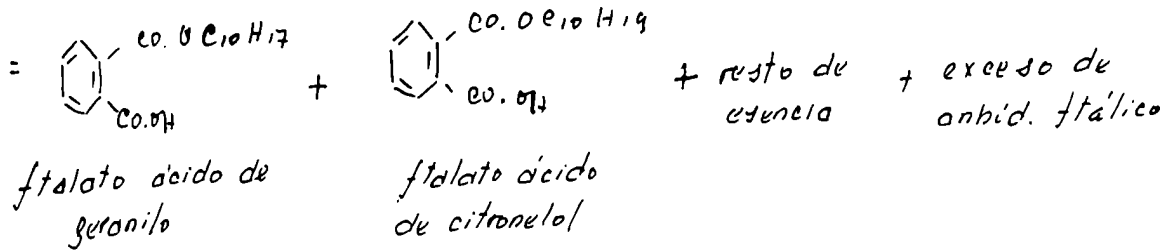
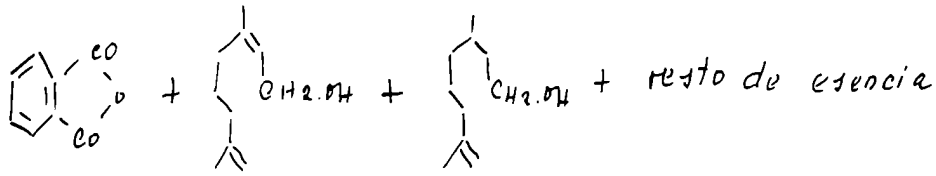
La masa gelatinosa obtenida es disuelta en agua, y la solución acuosa conteniendo los ftalatos dobles, es lavada con éter para eliminar impurezas.

Los extractos etéreos contienen el resto de la esencia que por evaporación del éter queda lista para efectuar las investigaciones correspondientes.

La capa acuosa purificada es acidificada con  $\text{HCl}$  diluido formándose nuevamente el geraniol y citronelil ftalato ácidos que son extraídos con éter de petróleo.

Esquemáticamente puede representarse así:





La solución en éter de petróleo conteniendo los ftalatos ácidos se enfría a  $-5^{\circ}\text{C}$  donde la casi totalidad del geranil ftalato ácido cristaliza quedando en solución el compuesto del citronelol.

En esta forma hemos conseguido la separación del geraniol de citronelol, procediéndose ahora a la caracterización mediante la formación de algún compuesto, de *PF.* definido.

#### Identificación del geraniol:

Se caracterizó mediante la formación del geranil ftalato de plata (25).

El geranil ftalato ácido obtenido por el método anteriormente descrito fué adicionado de varios centímetros cúbicos de  $\text{OH.NH}_4$  con el objeto de formar el ftalato doble de amonio y geraniol, adicionándose luego 10 cm<sup>3</sup>. de agua para aumentar su volumen. Se diluye luego toda la solución con 25 cm<sup>3</sup>. de alcohol y se añaden varios cm<sup>3</sup>. de solución 0.1N de  $\text{NO}_3 \text{Ag}$ .

Se forma un precipitado blanco cristalino que es filtrado y lavado con alcohol y luego con éter dejándose secar al aire.

Este precipitado puede ser purificado por disolución en benceno puro.

A esta solución se le añade luego dos veces su volumen de alcohol metílico. Se deja enfriar, se precipitan cristales prismáticos cuyo punto de fusión establecido fué de  $131^{\circ}\text{C}$ .

Confirmamos la existencia del geraniol puesto que su geranil ftalato de plata funde a  $133^{\circ}\text{C}$ .

#### Identificación del citronelol.

Después de la separación del ftalato ácido de geraniol

la solución en éter de petróleo debe contener en nuestro caso puramente citronelil ftalato ácido que no precipita por enfriamiento.

Evaporando la solución etérea se obtiene un líquido amarillento viscoso que no cristaliza. Característica ésta que coincide con la del igual compuesto del citronelol.

Se caracteriza mediante la formación de citronelil ftalato ácido siguiendo la técnica utilizada para la obtención del geraniol ftalato de plata.

El citronelilftalato de plata obtenido fundió a 124°C.

#### 4) Identificación de fenoles

(Ver página Nº 69 )

#### 5) Identificación de hidrocarburos terpénicos.

En los aceites esenciales pueden haber varios tipos de hidrocarburos:

- a) Hidrocarburos terpénicos: Son los más importantes y comunes: alifáticos o cíclicos; monoterpénicos, sesquiterpénicos y diterpénicos, mono, bi y tricíclicos, siendo los más numerosos, los ciclo mono y sesquiterpenos.
- b) Hidrocarburos aromáticos: En menor cantidad, aunque a veces constituyentes de importancia en ciertos aceites como el p. ciniano (en aceites de trementina sueco y ruso; esencias de limón, etc.)

c) Hidrocarburos alifáticos, de cadena recta: (parafinas y olefinas) ~~sumamente~~ escasos, así Gildemeister y Hoffman (26) descubrieron el n-heptano (C<sub>7</sub> H<sub>16</sub>) en los aceites esenciales de un pequeño grupo de pinos (hojas de pino).

Las parafinas superiores raras veces se presentan en las esencias, debido a su baja volatilidad, siendo, más bien, componentes de concretos y resinoides.

#### L-LIMONENO Y DIPENTENO:

Antes de preparar el derivado bromado, que es el más característico, y como había un antecedente bibliográfico que indicaba la presencia de limoneno (27) se hizo con la esencia total y la fracción H, que probablemente, de acuerdo a sus propiedades, como ser, temperatura de destilación en una presión correspondiente, desviación polarimétrica negativa, debía contener hidrocarburos terpénicos, una cromatografía sobre placas de vidrio, (chromatoplates) ver resultados y conclusiones en la parte correspondiente a cromatografía - "Investigación de hidrocarburos" Pag N°

En cuanto a la investigación cualitativa podría efectuarse con el reactivo de Bezzsonoff; Mo O<sub>3</sub> · 2O<sub>3</sub> (P2O<sub>5</sub>)<sub>17</sub> · 2H<sub>2</sub>O, disuelto en *SouHe* al 5% (28) que produce un color azul con muy pequeñas cantidades de limoneno y sirve para diferenciarlos de otros terpenos.

Lamentablemente la revista citada en (28): *Riechstoff Ind.* 13, 84 (1938) No se halla en ninguna biblioteca pública del país (29) de modo que fué imposible preparar dicho reactivo.

#### Preparación del derivado bromado

Se siguió la técnica recomendada por Wallach (30) con

algunos variantes, en la fracción N° 4 de la destilación analítica.

### TECNICA

"Una parte de la fracción en estudio, previamente deshidratada con *S<sub>04</sub>Na<sub>2</sub>*, se disuelve en cuatro partes de éter etílico; se enfría con mezcla frigorífica. Se agrega bromo anhidro (enfriada con la misma mezcla), gota a gota, agitando hasta color rojo persistente. Se deja evaporar el éter al aire. Conviene trabajar bajo campanas. Luego se lava con alcohol etílico frío, hasta eliminar el exceso de bromo, y se recristaliza de acetato de etilo caliente".

El derivado tetrabromado no precipitó rápidamente, se dejó 3 días en la heladera.

El punto de fusión del derivado obtenido fué de 111°C.

Siendo el punto de fusión del derivado tetrabromado del l-limoneno de: 103 a 104°, y el del dipenteno (d-l-limoneno) de: 124° a 125°, probablemente el punto de fusión del derivado tetrabromado obtenido, corresponde a una mezcla de ambos, ya que de acuerdo a los antecedentes bibliográficos (19) en el aceite esencial de citronela de Java se encuentran los 2 hidrocarburos terpénicos, y además la presencia del limoneno fué confirmada en la cromatografía hecha sobre placas de vidrio (chromatoplates).

V

- 1) Resumen de las características y composición del aceite esencial de citronela estudiado.
- 2) Componentes identificados.
- 3) Conclusiones.

1) Resumen de las características y composición del aceite esencial de citronela de Java, estudiado

ANTECEDENTES

Lugar de cultivo: Corrientes  
Epoca de cosecha: Enero  
Método de obtención: Destilación por arrastre con vapor de agua.  
Rendimiento: 75 Kg. x hectárea

CARACTERES FISICOS

Caracteres organolépticos

Aspecto: Producto oleoso.  
Color: ~~ambas~~ claro.  
Olor: ~~pronunciado~~, característico.  
Sabor: Amargo y picante.

Peso específico a 20°C/20°C : 0,8982  
Índice de refracción  $n_D^{20}$  : 1,47555  
Poder rotatorio a 20°C: - 2,5  
Residuo de evaporación: 10,025%  
Solubilidad: en alcohol etílico a 20°C  
96° : soluble en todas proporciones  
90° : soluble en todas proporciones  
80° : 1,50  
70° : 2,40

Destilación fraccionada, a presión reducida.

Destilación analítica: se obtuvieron 25 fracciones destiladas entre 30 y 40 mm. de Hg.

Absorción en el ultravioleta:

solución en alcohol 1: 10.000

no se observa máximo (curva regular, componentes poco absorbentes).

Cromatografía.

En papel watman N° 1

Chromatoplates.

CARACTERES QUIMICOS

Indice de éster:

1 hora de calentamiento : 25,22

2 horas de calentamiento : 25,41

4 horas de calentamiento: 26,13

Indice de saponificación:

1 hora de calentamiento: 28,52

2 horas de calentamiento: 28,70

4 horas de calentamiento: 29,43

Alcoholes totales (Fiore)

Como índice de ester, desp. acetilar: 143,25

Como hidroxilo alcohólico %: 4,86

Alcoholes totales, expresado en el alcohol

predominante (veraniol): % 46,03

Determinación de alcoholes libres, prima-

rios y secundarios %: 41,50

Alcoholes libres secundarios: -no hay-

Aldehidos:

Expresados en el compuesto carbonílico

predominante (citronelal) %: 32,22



## 2) Componentes identificados

|                         |                                 |
|-------------------------|---------------------------------|
| Alcoholes primarios:    | geraniol<br>citronelol.         |
| Alcohol terciario       |                                 |
| sesquiterpénico:        | elemol.                         |
| Aldehidos:              | citronelal<br>isoraleraldehido. |
| Cetona:                 | metilheptenona.                 |
| Hidrocarburo terpénico: | l-limoneno.                     |
| Fenol:                  | Eugenol.                        |

### Componentes probables.

|                         |              |
|-------------------------|--------------|
| Aldehido:               | benzaldehido |
| Hidrocarburo terpénico: | dipenteno.   |
| Fenol:                  | venillina.   |

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

El aceite esencial de Citronela de Java estudiado, procedente de América Central (Guatemala) y cultivado en Corrientes, comparado con la esencia de otros países, consignados en la bibliografía, y teniendo en cuenta la clasificación hecha por Gildemeister y Hoffman (31) de acuerdo al contenido en citronelal, que considera de inferior calidad cuando este aldehido está en una concentración por debajo del 25%, calidad buena si no contiene menos de 35% de citronelal y muy buena cuando está por encima del 35%.

El aceite estudiado en el presente trabajo teniendo en cuenta el contenido en citronelal, así como las demás propiedades físicas y químicas puede considerarse un aceite de calidad buena.

Es de hacer notar que los valores obtenidos, se pueden modificar, como está claramente expresado en los antecedentes consignados.-

Según la naturaleza del suelo, procedimiento de extracción, época de cosecha y muchos otros factores que es necesario tener en cuenta.-

---

Adolfo Fuentes

Dr. Alvarado

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

- (1) **GUENTHER** - **The Essential Gils.** Tomo I pag. 82 - Nueva Yor, 1948.
- (2) **HISCHMANN**, **IBID** (1939) 17.
- (3) **GUENTHER** - Obra citada. T. pág. 93,
- (4) **GUENTHER** - Obra citada T. pág. 96
- (5) "The Ethereal Oil Yielding Plants of the Netherlands East Indies and the Preparation of their Oils", Ber van de Afd. Handelsmuseum van het Koloniaal Inst. N° 7, 183. Indische Mercur 45 (1922), 1.
- (6) "Citronellaolie", Mededeeling van de Afdeeling Nijverheid, N° 4, Buitenzorg, Archipel Drukkerij (1928).
- (7) Ber. Schimmel Co. April (1900), 11, 13 April (1902), 14; April (1910), 29.
- (8) **Guenther** - Obra citada, T. pág. 111.
- (9) **GUENTHER** - Obra citada Vol. I pág. 250.
- (10) **GLASSTONE** - Textbook of Physical Chemistry (1946)
- (11) **Mittelmann N.** - **Chemia** T. XV pág. 73 y Sig. 1949.
- (12) **M. TSWETT.** Ber-dent. Botan. Ges., 24, 234, 316, 384 (1906).
- (13) **Strain** "Chromatographie Adsorption Analysis" Interscience Pub. Inc. 1942.
- (14) **Kuhn R.U. Lederer E.** "Zerlegung des Carotins in Seine Componente Ber, 64, 1349, (1931).
- (15) **Frydman B. Montes A.L. y Troparevsky A.** **Anales Asoc. Quím. Arg.** 45, 248 (1957).
- (16) **Troparevsky Alejandro** - Tesis doctoral; F.C.E.F. y N. (1956)
- (17) **Schimmel y Co.:** Ber, October, 39 (1912)
- (18) **Montes, Adolfo L:** Obra citada, pág. 92.
- (19) **Girol y Pereira J.** "Análisis orgánico funcional" Pág. 121 (1913)
- (20) **Guenther** Obra citada, Vol. II Pág. 336.
- (21) **Bull. Soc. de Chimique de France** 1891-21, pág. 207

- (22) Quentner, E. Obra citada, Tomo II Pág. 812.
  - (23) Quentner, E. Obra citada, tomo II Pág. 818.
  - (24) Otto M.P. L'industrie des parfums. 1924, pág. 145.
  - (25) Journ prakt. Chem. 2 a.s 56, 28, pág. 1897.
  - (26) Gildemeister y Hoffmann "Die Atherischen Ole"; 3ra. Ed., vol.I. pág. 301.
  - (27) Guenther E. Obra citada, Tomo I pág. 113.
  - (28) Quentner E. obra citada, Tomo II pág. 22%27.
  - (29) Informe del Comité Argentino de Bibliotecarios de Investigaciones Científicas y Técnicas (Sociedad Científica Arg.)
  - (30) Quentner E. Obra citada; Tomo II pág. 780.
  - (31) "Die Atherischen Ole", 3 d. Ed. Vol II, 364.
-