

Tesis de Posgrado

Estudio de las características y composición de la oleogomoresina exudada del Mulinum Spinosum, Neneo, de la zona de Zapala en Neuquén

Chiesa, Rubén Alberto

1961

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Chiesa, Rubén Alberto. (1961). Estudio de las características y composición de la oleogomoresina exudada del Mulinum Spinosum, Neneo, de la zona de Zapala en Neuquén. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1089_Chiesa.pdf

Cita tipo Chicago:

Chiesa, Rubén Alberto. "Estudio de las características y composición de la oleogomoresina exudada del Mulinum Spinosum, Neneo, de la zona de Zapala en Neuquén". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1961.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1089_Chiesa.pdf

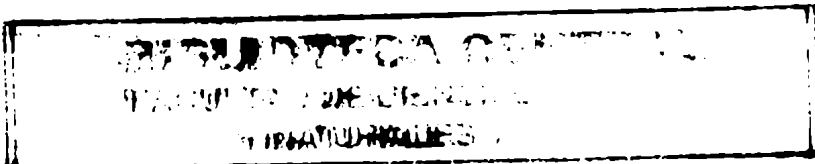
EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



U N I V E R S I D A D D E B U E N O S A I R E S

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

"ESTUDIO DE LAS CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DE LA
OLEOGOMORESINA EXUDADA DEL "MULINUM SPINOSUM"(NENEO)
DE LA ZONA DE ZAPALA EN NEUQUEN".

RUBEN ALBERTO CHIESA

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL

TITULO DE DOCTOR EN QUIMICA

6 351

A Ñ O 1 9 6 1

TESIS. 11

PADRINO DE TESIS

PROFESOR TITULAR Dr. ADOLFO L. MONTES

Sean mis primeras palabras de sincero y profundo agradecimiento para mi padrino de tesis, Doctor Adolfo L. Montes; él ha sido para mí en todo momento un verdadero maestro y amigo, bajo cuya valiosísima dirección he realizado el presente trabajo. También su libro "ANALITICA DE LOS PRODUCTOS AROMATICOS" ha sido una inestimable guía y fuente de consulta durante su realización.

Hago extensiva mi gratitud a los Doctores Molfino, Mirahi Isaac, Wfarnik Miguel, al Ldo. Cimmerman J. y al Rvdo. Padre Luis García, por la colaboración prestada y a todos aquellos que en una ú otra forma han contribuído para alcanzar la meta deseada.

A MIS PADRES

INDICE GENERAL

ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

Descripción botánica	pág.	1
Ubicación en la sistemática	"	4
Oleogomoresina del "neneo"	"	5
Contenido de resina de la raíz del "neneo"	"	7
Resinas naturales - Clasificación	"	9
Características de algunas resinas naturales	"	12
Características de algunas gomo-resinas	"	16
Gomas vegetales	"	17
Aceites esenciales	"	20
Hidrocarburos terpénicos - Características	"	23
Cromatografía sobre papel	"	
Espectrofotometría: Absorción en el ultravioleta	"	31

I - PARTE EXPERIMENTAL

Partición de la oleogomoresina:	pág.	35
<u>GOMA</u> : Ensayos de identificación	"	36
Comparación con otras gomas	"cuadro 1	
Cromatografía sobre papel (Rf)	"	39
<u>RESINA</u> : Punto de ablandamiento	"	42
Índice de ácido	"	44
Índice de éster	"	44
Índice de iodo	"	45
Ensayos de solubilidad (comparación con otras resinas naturales	"	46
Viscosidad	"	46
Índice de refracción	"	47
Investigación de compuestos carbonílicos	"	48
Investigación del ácido abiótico y determinación del equivalente de neutralización de los ácidos	"	48
Ensayos con la resina	"	49

ESENCIA:

A) DETERMINACIONES FISICAS

Caracteres organolépticos	pág.	50
Peso específico a 14,5°C	"	50
Índice de refracción a 14,5°C	"	50
Poder rotatorio	"	50
Destilación fraccionada	"	56

Cromatografía en placa	pág.	59
Espectrofotometría (absorción en el ultravioleta).	"	61
Cromatografía gaseosa	"	68
Espectroscopia infra - roja.	"	78
B) <u>DETERMINACIONES QUIMICAS</u>		
Separación de productos carbonílicos	"	79
Investigación de los aldehidos y cetonas	"	80
Investigación de hidrocarburos parafínicos	"	83
RESUMEN	"	85
CONCLUSIONES	"	87
BIBLIOGRAFIA	"	88

ANTECEDENTESBIBLIOGRAFICOS

Descripción botánica	pág.	1
Ubicación en la sistemática	"	4
Oleogomoresina del "neneo"	"	5
Contenido de resina de la raíz del "neneo".	"	7
Resinas naturales -- Clasificación	"	9
Características de algunas resinas natura- les.....	"	12
Características de algunas gomo-resinas....	"	16
Gomas vegetales	"	17
Aceites esenciales	"	20
Hidrocarburos terpénicos - Características.	"	23
Cromatografía sobre papel	"	
Espectrofotometría: Absorción en el ultra- violeta	"	31

" neneo "

.

Descripción botánica

Planta vulgarmente llamada en la República Argentina "neneo", recibe también otros nombres vernáculos generalmente, así en La Rioja se le llama "raíz del soldado" a la parte usada y en Chile "yerba negra" según Gay (1). Arbusto semiesférico y semiáfilo espinudo, de unos 60-80 cms. de altura, con las ramas levantadas, tortuosas, desnudas en la base donde tienen apenas el grueso de una pluma de cuervo.

Hojas de una pulgada de largo, bi o trifurcadas, con las divisiones laterales bipartidas, pinchudas y con frecuencia algo más largas que el pecíolo, éste es filiforme ancho y abrazador. Del ápice de cada rama nace una umbela, a veces sésil, pero más comúnmente sustentada por un pedúnculo de ocho a diez y seis líneas.

El involucre tiene muchísimas hojuelas **lineares** agudas, libres, levantadas o abiertas, más cortas o rara vez más largas que los pedicelos. Estos, en número de quince a cincuenta, son levantados y sustentan las flores que son pequeñas y de un amarillo rojo.

Esta planta varía mucho en su porte y en la forma de sus hojas, es uno de los elementos característicos de la asociación *Stipa speciosa*. Su abundancia en los campos varía enormemente siendo el elemento dominante en algunos lugares, mientras en otros, aparentemente similares, puede faltar por completo.

Se trata de una planta que aumenta en la estepa a medida que se deteriora la vegetación, a causa de un exceso de pastoreo; Soriano (1953) expresa la creencia que esta especie haya ocupado 50 años atrás un área menor que la actual (2).

Las opiniones contradictorias que existen en la región acerca del valor forrajero del "neneo" han hecho difícil aclarar bien la importancia del mismo para la ganadería.

Las inflorescencias son bien comidas por los lanares aproximadamente

de diciembre a febrero.

Entonces, la carne de los animales toma un gusto desagradable, que puede ser eliminado colocando a éstos por unos 10 días en pasturas libres de "neneo" antes de ser sacrificados.

En campos más pobres que los de la región de Bariloche, como lo son por ejemplo los de la Pampa de alicura, las inflorescencias de "neneo" constituyen un recurso forrajero importante. En años normales las ovejas engordan en base a este alimento durante el verano. En años muy secos, en cambio en que por falta de humedad el "neneo" no llega a florecer en forma abundante, las ovejas entran flacas al invierno.

Las mismas observaciones se han podido realizar en regiones secas de Chubut.

Se halla en discusión que grado de ramoneo puede producirse en el "neneo" fuera del período de floración.

No se tiene seguridad si las ovejas comen realmente las hojas espinosas y las ramitas durante el invierno.

No obstante, como el "neneo" es una de las primeras plantas que aparecen debajo de la nieve, por no aplastarse como las gramíneas, algunos ganaderos consideran que la presencia de cierta cantidad de "neneo" en los potreros, constituye un seguro contra pérdidas excesivas de ganado a causa de nevazones extraordinarias. Se trata de una planta que reverdece temprano en la primavera y hay observaciones sobre algún ramoneo de ramitas tiernas en esta estación.

Se puede reconocer fácilmente cuando los lanares han estado comiendo "neneo" en cierta cantidad, pues entonces presentan la barbilla negra por los aceites contenidos en las plantas, hecho particularmente notable durante la floración estival.

Algunos ganaderos mantienen que el "neneo" es comido por los lanares en campos carentes de mallines mientras otros afirman que fuera de la época de floración, los animales prácticamente no lo tocan.

También esta planta se desarrolla en las cordilleras de Santiago, Colchagua, etc., a una altura de 5 a 8.000 pies. Los habitantes suelen emplear sus raíces para el corrimiento.

En ciertas zonas de la Patagonia, de escasa capacidad para ovinos por cada legua se ocupan grandes extensiones de campo para su cría en plena libertad. Cuando llega el momento de reunirlos para alguna faena, los pastores, repartiéndose en derredor de sus prados y perdiéndose de vista los unos a los otros, apelan a las señales por humazón a cuyo efecto cuentan como materia prima los arbustos secos del "neneo", que aún en tiempo de las altas nevadas, asoman acá y allá las puntas de sus pajizos tallos. Aún cubiertos parcialmente de nieve, basta sacudirlos para descubrir en su centro la hierba seca que mediante un fósforo incendia rápidamente; así el humo noticia a los lejanos jinetes, de que ahí van arreando sus compañeros.

Los pobladores, en sus viajes suelen sacar provecho de esta planta amiga, pues sintiendo los efectos de los fríos patagónicos en sus miembros ateridos, complácense en prenderles fuego a una de las matas de "neneo", y al calor de su llamarada calientan sus manos y huesos, para continuar con nuevo vigor en sus campeadas.



UBICACION EN LA SISTEMATICA

siguiendo la clasificación de Engler la especie *Mulinum spinosum* debe ser ubicada en la:

Clase	:	Dicotiledóneas
Sub clase	:	Arquiclamídeas corolianas de ovario unífero.
Orden	:	Umbeliflorales
Familia	:	Umbelíferas.
Tribus	:	Hidrocotiloideas - Mulineas - Asteriscineas.
Género	:	<i>Mulinum</i>
Especie	:	<i>M. spinosum</i> Persoon (3).

OLEOGOMORESINA DEL "NENEO"

Desde hace muchos años, diversos autores han puesto en evidencia la posibilidad de ser aprovechadas económicamente ciertas especies vegetales, que se desarrollan en las zonas áridas del territorio argentino; estas plantas podrían tener fáciles y múltiples aplicaciones técnicas y así ampliar el volumen de ciertos rubros forestales como maderas, pastas celulósicas, etc.

Observar si alguno de los productos separados puede sustituir por sus propiedades a los del Galbano (*Ferula Galbaniflua*), perteneciente como el "neneo" a la familia de las umbelíferas que nuestro país importa, es la razón que nos demanda la realización del estudio de la oleogomoresina del "neneo".

El "neneo" es un arbusto indígena muy abundante en la zona patagónica y presenta la característica de que casi toda la superficie foliar caulinar se halla cubierta de una exudación gomosa, que mediante fisuras naturales aparece también en las raíces en forma de lágrimas.

Extracción de la muestra :

La muestra en estudio "Oleogomoresina del "neneo" corresponde a la zona de Zapala (Neuquén). Se trata de un exudado provocado por cortes en el tronco y fué proporcionada por el Dr. Luis Pardo de la Dirección de Bosques. El organismo encargado de realizar tareas de resinación en la zona fué la Dirección de Investigaciones Forestales, dependiente de la administración Nacional de Bosques, y estuvieron a cargo del Sr. Fabián T. Zaya Méndez (4).

Estos ensayos se realizaron en enero de 1960, aunque en realidad debieron hacerse en el período octubre-marzo que es la época más propicia; por tal motivo si bien los rendimientos obtenidos no son los reales nos dan idea de la posibilidad de su industrialización. El sistema de extracción empleado es una adaptación del que se utiliza para la obtención de las gomoresinas Asafétidas y Galbano. Los trabajos prepara-

tivos consistieron en dejar al desnudo la corona y por medio de un corte eliminar la parte aérea efectuando **también** varias incisiones en torno al **cuello**. La superficie así expuesta se cubrió con los restos de la planta a fin de evitar la desecación y proteger el exudado de la acción del **calor** solar. Cada 10 días se procedía a su recolección.

En razón de que por este método el rendimiento era muy escaso, se alteró el procedimiento, se practicó el desrame de las plantas y el descortezado parcial de la raíz.

Una vez iniciada la secreción se procedió a la extracción del exudado cada día o día por medio, siendo su rendimiento por unidad superior al anterior.

Los ensayos se llevaron a cabo sobre 680 ejemplares, obteniéndose 5,5 kilogramos de gomoresina. Un obrero puede preparar 70 a 80 plantas diariamente.

La exudación es mayor durante los días calurosos, mientras que el frío la reduce casi por completo.

La gomoresina se presenta como una masa **semilíquida**, mezclada con restos vegetales, conteniendo grumos o lágrimas, que con el tiempo va adquiriendo una coloración castaño claro o ámbar, y tornándose más consistente, pastosa, de olor fuertemente aromático y de un aspecto opaco.

ESTUDIOS REALIZADOS POR LA DIRECCION DE CULTIVOS ESPECIALES (MINISTERIO DE AGRICULTURA DE LA NACION) SOBRE EL CONTENIDO DE RESINA DE LA RAIZ DEL "NENEO" (M. Spinosum).

Técnica utilizada: (5)

Previo limpieza para separación de tierra adherida y eliminación de partes en condiciones no útiles para el análisis, la muestra fué desmenuzada en trozos pequeños y pulverizada con el molino Max Perplex. Al material así preparado, previa disminución de su tenor de agua por secado a la temperatura ambiente, fué extraído en Sohlet utilizando acetona rectificada como solvente.

La solución resinosa se evaporó lográndose como residuo la resina que se presenta en esas condiciones como un producto plástico aromático, adhesivo al tacto y de color muy oscuro.

Sobre una parte alícuota de la muestra se dosaron aceites esenciales, los que son responsables, en su mayor parte, del aroma de la resina, y el contenido analítico de la misma.

Una porción de la resina fué lavada con agua en ebullición y secada al vacío. Se obtuvo así un producto duro, quebradizo, con leve aroma.

Sobre otra porción de resina se determinaron las principales constantes obteniéndose los siguientes datos:

Extracto acetónico (ref. a material seco): 14,2 %

" alcohólico (" " " "): 15,8 %

Aceite esencial (" " " "): 0,3 %

Análisis de la resina total:

Peso específico	1,07
Indice de Saponificación	198
Indice de Esteres	96
Indice de Acidez (directo)	102
Indice de Iodo (Wijs)	100,6
Acidos fijos	43,5
Insaponificable	34,50
Pérdidas y no dosado (soluble en H2O, etc)...	22,05 %

RESINAS NATURALES (6)

Bajo el nombre general de resinas se conocen ciertos productos orgánicos, transparentes, insolubles en el agua, muchas veces dotados de plasticidad y solubles en diversos solventes orgánicos.

El hecho de que estas sustancias han encontrado una vasta aplicación en la industria ya sea en la fabricación de objetos moldeados, barnices, aislantes eléctricos, plásticos, jabones de baja calidad, tintas y linóleos, etc., han impulsado a los hombres de ciencia a la búsqueda de otras nuevas ya sea naturales, por tratamiento especial de éstas o sintéticas cuyas propiedades a veces muy diferentes a las originales han resultado de un amplio campo de utilización de los productos resinosos.

Gran número de especies vegetales segregan productos resinosos cuando se hacen incisiones en sus tallos, según el estado de agregación reciben diferente denominación: resinas cuando son sólidas ej. coloforma o la sandaraca, oleoresina cuando es blanda ej. la extraída del pino, o fluída como la trementina de Venecia.

Bálsamos son productos líquidos o pastosos caracterizados por tener en su composición un tenor alto en constituyentes aromáticos: ác. benzoico, cinámico, vainillina etc. que le confieren un aroma que encuentra aplicación en Medicina y Farmacia.

En la generalidad de los casos las oleoresinas y los bálsamos están formados por soluciones de un aceite esencial y de una resina no volátil, el primero de los cuales puede ser separado por tratamiento con vapor de agua, encontrando como constituyentes del mismo a los terpenos, sesquiterpenos y politerpenos.

Reciben el nombre de Gomoresinas a las resinas asociadas a proporciones más o menos elevadas de gomas y son fácilmente emulsionables en el agua.

Según la variedad de plantas así también lo es las secreciones resino-

sas, algunas son duras con poca cantidad de aceite esencial. Ej.: las Copals y Damar, otras producen bálsamos, oleoresinas ú oleogomoresinas (familia de las umbelíferas).

Los latex son elaborados por una variedad grande de plantas. Ej.: las guta-perchas y las Euforviáceas.

Propiedades físicas: Tres son las propiedades que deben tenerse en cuenta en las resinas por ser productos que intervienen en la preparación de barnices: la dureza, la solubilidad y el color.

Por la dureza se clasifican en:

- | | | |
|-----------------------------------|---|--|
| 1) Ambas Copals | { | a) muy duras: Ambar o succin
b) duras: Copals de Zanzibar, Madagascar.
c) semi-duras: Kami
d) blandas: Manila, Borneo, Copals de América del Sud. |
| 2) Resinas diversas para barnices | { | Damar, Mastic, Sandaraque, Sangdragón, goma-laca, lacas de Japón y de la China |
| 3) Goma-resinas | { | Goma-Amoniacal, Gálbano, goma-guta. |
| 4) Oleo-resinas | { | Trementinas diversas |
| 5) Bálsamos | { | Bálsamos de la Meca, de Tolú, benjuí, Storax. |

De acuerdo a la solubilidad Keyes (7) las clasifica:

1er. Grupo

Copals de Zanzibar			esteres
" " Madagascar	Insolubles en los		hidrocarburos
" " Angola			cetonas
" " Bengala			
" " Congo	Parcialmente		los alcoholes
" " Manila del Sud	solubles en		las mezclas de
			alcoholes y esterres.

La solubilidad de las resinas de ese grupo son considerablemente aumentadas por pirogenación.

2º. Grupo

Kamis	insolubles en	:	esteres, hidrocarburos.
Pontianac	parcialmente solubles en	:	cetonas.
Manilas	solubles en	:	Alcoholes Mezcla de un alcohol e hidrocarburo.

3r. Grupo

Goma-laca	insoluble en	:	esteres - hidrocarburos.
Sandaraca	solubles en	{	Alcohol Alcohol + éster cetonas
Damar	soluble en	{	Esteres alcohol + hidrocarburos o esterres
	parcialmente soluble en	{	Alcoholes cetonas
Yastic		{	esteres
Elemi	Solubles en	{	alcoholes hidrocarburos
Calofonia		{	cetonas

Los puntos de fusión de las resinas son poco definidos, no son netos.

Son amorfas, generalmente la fusión es acompañada de descomposición.

Tres puntos característicos pueden observarse operando sobre las resinas pulverizadas:

- 1) Punto de ablandamiento en el cual el polvo se aglutina.
- 2) Punto de transparencia en el cual la resina molida pierde su opacidad.
- 3) Punto de efervescencia en que la resina pierde su transparencia.

CARACTERISTICAS DE ALGUNAS RESINAS NATURALES

La mayoría de las resinas naturales del comercio son de origen arbóreo o de insectos.

Resinas de origen arboreo:(8).

1) Resinas Dammar: Obtenidas por recolección sistemática por tajeado de árboles en las Indias Holandesas. Estas son denominadas resinas de Batavia y Singapur Dammar. Entran en su composición los ácidos resínicos, resenes y un aceite esencial terpénico, sus ácidos son del tipo no reactivo, de ahí que puedan utilizarse con pigmentos básicos sin ser previamente esterificados.

Se caracterizan por su débil color, su solubilidad en petróleo y naftas derivadas del alquitrán.

Su principal aplicación comprende esmaltes de mucho brillo y buena retención de color y lacas a la nitrocelulosa. Los resenes son extraídos por precipitación con alcohol de una solución de la resina en tolueno. El procedimiento se denomina "descerado".

Copal Manila: Son resinas naturales de origen reciente, recogidas por una incisión natural o por una incisión provocada en los troncos o ramas de árboles en las Islas del Pacífico Sur.

Las resinas Manila pueden ser clasificadas como exudaciones recientes, las cuales se dejan añejar en el árbol y luego se recolectan, y fósiles. Los Copales fósiles son más duros que los de recolección, los Copales claros son más buscados que los oscuros.

El Copal Manila está compuesto principalmente por α y β Manopalolic (ác. monobásico de fórmula $C_{10}H_{18}O_2$), Mancopal resenes y un aceite esencial. Los ácidos representan del 70 al 80% de la resina.

El Copal Manila se caracteriza por su débil color y buena retención del mismo, índice de ácido alto, solubilidad en alcohol y alcalis, insolubilidad en petróleo y nafta de alquitrán.

Las aplicaciones principales de esta resina son: fabricación de barni -

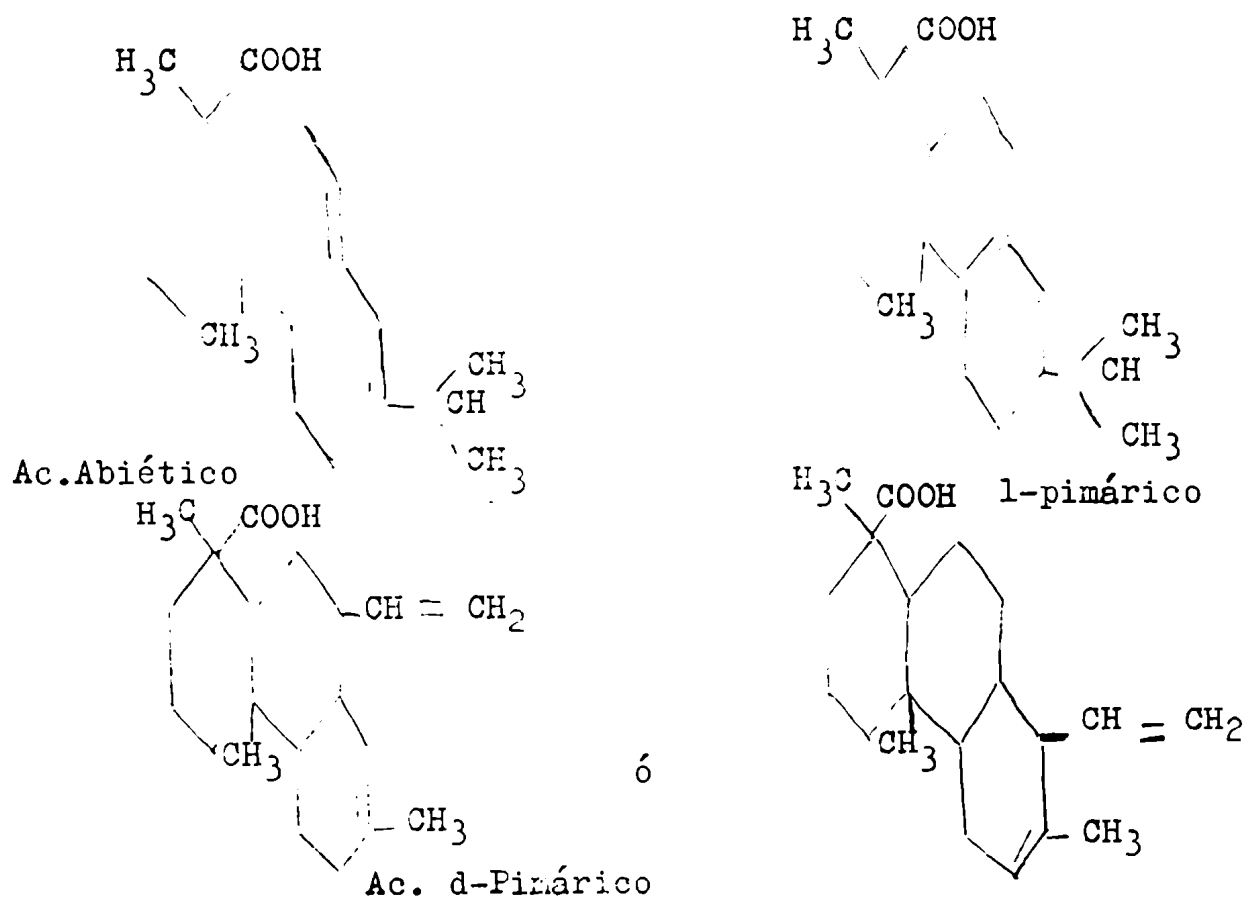
ces, para ello deben ser disueltas en aceites secativos como el de liño y diluídos en solventes como la trementina y spiritu white. También se utiliza para pinturas comerciales, sustituto de goma laca, cera para pisos y moblajes.

Colofonia: Es una resina natural actual, obtenida por recolección sistemática de coníferas tajeadas (colofonia-goma) o por extracción por disolventes, de sobrantes de madera de pino (colofonia de madera). Antiguamente la colofonia-goma era considerada como un importante subproducto de la obtención de trementina.

Estas resinas contienen aproximadamente 85% de ácidos libres, 5% de anhídridos y 10% de resenes insaponificables.

El componente principal es el ácido abiético, un producto de transformación de los ácidos resénicos primarios y naturales.

Los otros ácidos más comunes son l-Pimárico y ác. d-Pimárico.



La colofonia es barata y abundante, se usa mucho como cola para el papel, como integrante de los jabones amarillos para lavar, como componente de las resinas alquídicas modificadas, como fluído de soldadura y en la preparación de secantes para pinturas (jabones metálicos).

Sin embargo, el producto bruto adolece de ciertos defectos que limitan su uso: es blando y pegajoso, bajo punto de fusión (80° C), elevado índice de acidez (alrededor de 160), inestabilidad del color, pobre resistencia al agua y a la electricidad, tendencia a cristalizar, amplia solubilidad y compatibilidad, se envejece rápidamente por oxidación al aire de los ácidos resínicos no saturados que la integran.

Todos estos defectos pueden corregirse modificando la colofonia en varios sentidos: por esterificación, isomerización, tratamiento térmico, hidrogenación o formación de sales para eliminar selectivamente las propiedades indeseables y se conservan o aumentan las excelentes características de formación de films.

Cuando el ác. abiético se calienta simplemente, se produce ya una considerable estabilización, pues la sustancia se desproporciona dando ac."piroabiético" que es una mezcla de ác. dehidroabiético y ác. tetra hidro-abiético, ambos derivados son químicamente inertes y resisten a la oxidación.

Los principales productos obtenidos por modificación de la Colofonia son: goma ester, Albalyn, Flexalyn, Pentalyn, Galex, Staybelite, Vin-sol, Polypale, Hercolyn, jabones, etc.

Resinas de origen de insectos:

Una resina muy común que no tiene origen vegetal es la goma laca, segregada por el insecto de la laca; encontrándose principalmente en la India.

Las lacas naturales están compuestas por un 70 a 90% de cuerpos resinosos, mezclados con sustancias tales como ceras y colorantes.

La goma laca es la más conocida y se la encuentra en el comercio bajo la variedad blanqueada, con un índice de ácido ligeramente mayor que la goma laca anaranjada.

Las lacas naturales se caracterizan por ser solubles en soluciones acuosas de alcalis, alcoholes, ácidos orgánicos y cetonas; parcialmente

solubles o insolubles en otros solventes orgánicos y además por tener un alto índice de saponificación.

Tienen aplicaciones en barnices, lacas, tintas, tintorería, rellenos de madera y también como lacre.

CARACTERISTICAS DE ALGUNAS GOMO-RESINAS (9)

Goma-amoniaco: Esta goma es la savia desecada obtenida de una planta de la familia de las umbelíferas: *Dorema Ammoniacum*, que se desarrolla en Persia. Está constituida por 69% de una resina, ác.salicílico libre, una goma y agua.

Es parcialmente soluble en el agua, se utiliza para la preparación de masilla para el vidrio y la porcelana.

Aga fétida: Es obtenida del látex de la raíz de diversas *Ferulas* que crecen en Persia.

Esta resina se emulsifica con el agua, gracias al 25% de goma que ella contiene. Es utilizada en Medicina.

Gálbano: Es el latex de *Ferula Galbaniflua* que se desarrolla en Persia. Contiene de 50 a 60% de resina, 3 a 10% de aceite esencial y 18% de goma. La resina es un éter de umbeliferona y de un resinoctanol amorfo.

Tiene utilidad por su empleo en Medicina y para la confección de perlas de joyería.

Goma-gutta: Es obtenida por secreción de diversas guttíferas del género *Garcinia*, que crecen en Siam y Ceylan. Contiene de 70 a 80% de ácidos resínicos y 18 a 24% de goma.

Su color amarillo rojizo intenso hace que sea utilizada como colorante para barnices y para el agua gracias a su solubilidad en álcali débil. También tiene aplicación en la industria farmacéutica.

Resina de Gaiac: Extraída de ciertos árboles del tipo *Gayacum*, crece en Antillas y en América. Contiene 73 % de ácidos resínicos y 10% de gomas. Presenta una composición muy compleja.

Tiene aplicación en Medicina.

GOMAS VEGETALES (10) (11)

Las gomas constituyen un grupo de sustancias que se encuentran en mayor o menor grado en casi todas las familias de vegetales.

Son productos segregados en cantidades apenas perceptibles o abundantemente, muchas, asociadas a resinas u oleo-resinas.

Se caracterizan por ser solubles en agua produciendo jaleas o soluciones viscosas y pegajosas que son verdaderos geles.

Otra característica común es la de ser todas ellas productos patológicos producidos por incisiones u otras alteraciones que se provocan en las plantas. Este es el único carácter que las diferencia de los mucílagos, sustancias normales que suelen extraerse de diversas semillas y que ni químicamente ni físicamente se diferencian de las gomas.

Químicamente están relacionadas con los hidratos de carbono; primeramente se creyó que eran simplemente azúcares, pero luego se observó que estaban formadas por ácidos nucleicos unidos a azúcares diversos.

Son verdaderos coloides sin punto de congelamiento ni de ebullición, frente al agua se comportan como coloides hidrófilos.

Algunas tienen la propiedad de dispersarse directamente dando soluciones transparentes, otras en cambio absorben primeramente varias veces su peso de agua formando luego una solución transparente y espesa con el agregado de mayores cantidades de agua.

Por ser sus soluciones sistemas coloidales de baja tensión superficial y elevada viscosidad tienen aplicación como coloides protectores y agentes estabilizadores.

Las propiedades físicas son de vital importancia para determinar el valor comercial y el uso a que van a ser destinadas.

El color varía desde el blanco hasta el marrón oscuro, dependiendo muchas veces de las impurezas que contiene.

La solubilidad es otra de las propiedades que se toma en cuenta, algunas son solubles en agua, otras parcialmente solubles o insolubles. En

la mayoría de los casos dejan un residuo insoluble, ésto ocurre generalmente en las gomas oscuras dependiendo de la edad y del tiempo que han permanecido en la planta.

Existen otras gomas que se encuentran en el endosperma de las semillas y que son carbohidratos llamados hemicelulosas. Se caracterizan por ser sustancias neutras, insolubles en agua, solubles en álcalis y ácidos, semejantes a la celulosa a la cual suelen acompañar y que dan por hidrólisis azúcares simples.

Las hemicelulosas forman soles de alta viscosidad, viéndose disminuída ésta por los ácidos minerales, y en general aumentada por acción de los álcalis. Se hinchan considerablemente cuando son calentadas en el agua. Las sales y los electrolitos no influyen mayormente, salvo aquéllos con centrados que pueden producir precipitación. Las sales de los metales pesados especialmente las de hierro y cobre, así como los agentes oxidantes como los persulfatos, peróxido de sodio y agua oxigenada reducen la viscosidad.

Con las bases particularmente con las alcalirio-terreas se forman complejos de adsorción.

El acetato básico de plomo forma un gel blanco pesado y opaco, de la misma forma se comportan frente al permanganato de potasio y la solución de Fehling.

Con el ácido tánico, algunas hemicelulosas reaccionan formando complejos que en presencia de exceso de reactivo, después de efectuarse la mezcla se presentan como soles turbios y se produce una disminución de la tensión superficial. Al dejarse en reposo, la viscosidad aumenta gradualmente hasta convertirse en un gel que adopta la forma del recipiente, hasta que por último se transforma en un gel rígido y se separa un líquido sobrenadante claro.

A medida que transcurre el tiempo la pérdida de líquido es mayor y se transforma en una sustancia sólida dura, de aspecto de cuero.

Con ácido bórico y bórax los soles se transforman en geles viscosos, la viscosidad aumenta, se produce un aumento notable en la tensión superficial llegando un momento en que impide la penetración de agua, al agitarse violentamente el gel se rompe en pequeñas partículas y se torna gradualmente homogéneo.

ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales o esencias vegetales son productos de naturaleza química compleja, volátiles, muy difundidos en el reino vegetal hallándose presentes en las flores, frutos, hojas y en contadas veces en la madera, consisten en mezclas de sustancias de tipo acídico, alifático y aromático.

En la mayoría de los casos se los separa por destilación en vapor donde son volátiles o por extracción con solventes.

Según el método utilizado se obtienen de los vegetales productos que difieren en su composición y junto con el aceite esencial pueden extraerse otros componentes, como ceras, aceites fijos, colorantes, etc. Estos productos pueden hallarse preformados en los vegetales o formando parte de heterósidos de los que son liberados por hidrólisis o bien son producidos en pequeñas cantidades constantemente.

Muy poco se conocía hasta los últimos años de la estructura química de los hidrocarburos terpénicos, los alcanforos y sus derivados oxigenados. En 1887 el Dr. Otto Wallach, después de hacer un extenso estudio de los terpenos llegó a la conclusión que estaban relacionados con el isopreno (C_5H_8), ya que sus fórmulas eran múltiplos de esta unidad, con o sin el agregado de oxígeno o agua.

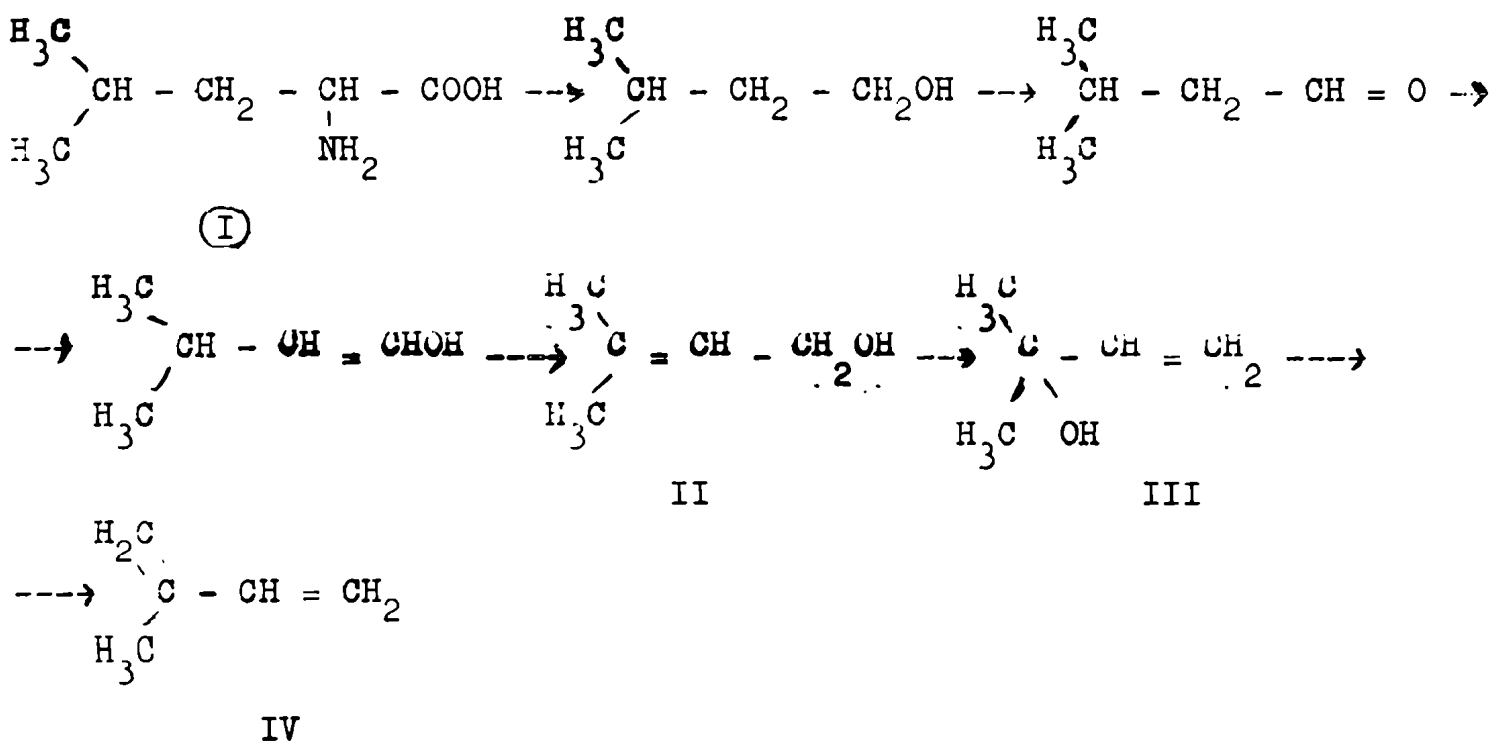
La relación existente de los terpenos con el isopreno se ve confirmada por la observación experimental de que la pirólisis de la esencia de trementina (cuyo principal componente es el pineno) da isopreno y, a la inversa, que dos moléculas de isopreno se unen a 280° - 300° para formar dipenteno.

Las formas dextrógira y levógira constituyen el limorreno y se encuentran en los aceites esenciales de limón y otros vegetales.

La parte que los terpenos juegan en el metabolismo de las plantas no es bien conocida, así como su formación.

Una de las hipótesis acerca de ésto último se debe a Favorsky y Lebe-

deva (12), quienes supieron que la sustancia origen de los terpenos es el aminoácido **leucina** (I) formada por la degradación de proteínas, la cual pasa a isopreno (IV) por las siguientes reacciones:



La condensación de isopreno (IV) con II daría origen al geraniol o con III al linalol. La polimerización del isopreno a hidrocarburo terpénico, alcoholes y sesquiterpenos ha sido estudiada por **Wagner-Jauregg**. A los componentes de naturaleza alifática en cadena recta se los considera derivados del metabolismo de los ácidos grasos y a los de núcleo aromático del metabolismo de los hidratos de carbono.

De acuerdo con sus afinidades físicas los componentes conocidos se los puede clasificar en cuatro grupos:

- 1) El de los terpenos, acíclicos o cíclicos, monoterpénicos, sesquiterpénicos y diterpénicos; mono o bicíclicos, entre ellos encontramos : el pineno, canfeno, limoneno, geraniol, citral, linalol, mentol, mentona, carvona etc.
- 2) Los de núcleo bencénico, componentes importantes y predominantes en algunos aceites esenciales, ej: el benzaldehído, alcohol feniletílico, la vainillina, el timol, el anetol, eugenol, el p. cimeno etc.
- 3) Los alifáticos de cadena recta, siendo estos componentes menores, ej: aldehído decílico, metilnonilcetona, ácidos fórmico, acético, caproico etc.

4) Dentro de este grupo se pueden agrupar los componentes sulfurados, nitrogenados y heterocíclicos y aquéllos aún no identificados, ej.: **isotiocianato** de alilo, los sulfuros de alilo, sulfuro de butilo y propenilo, **antranilato** de metilo, indol, furfural, etc.

No existe acuerdo aún sobre el rol que desempeñan los aceites esenciales en los vegetales (13). Unos afirman que tienen como finalidad atraer los insectos que han de facilitar la polenización, mientras que otros suponen que actúen como una protección contra el ataque de dichos insectos o animales dañinos; otros como Iutz afirman serían sustancias de reserva como dadores de hidrógeno para los procesos de oxidoreducción y serían también fuentes de energía cuando se **interrumpe** la asimilación normal del anhídrido carbónico etc.

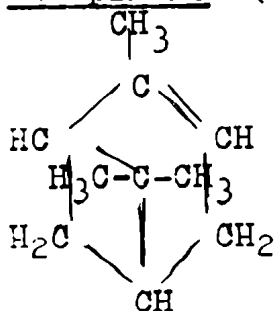
Todos los recursos de que dispone la química orgánica son empleados para el análisis de los aceites esenciales a fin de establecer su composición, a los métodos físicos y químicos usuales se han ido incorporando nuevas técnicas como el perfeccionamiento de la destilación analítica, las técnicas cromatográficas y la espectrofotometría que abren nuevos horizontes para el conocimiento de estos productos.

HIDROCARBUROS TERPENICOS - CARACTERISTICAS

Los hidrocarburos terpénicos son unos de los constituyentes de los aceites esenciales, muy distribuidos en la naturaleza, generalmente extraídos de algunas plantas de la familia de las coníferas y las mirtáceas y del género citrus. Son líquidos incoloros, fragantes, menos densos que el agua y con elevados índices de refracción. Hierven entre 150° y 180° y son fácilmente volátiles en corriente de vapor de agua. Desde el punto de vista químico son muy reactivos. Los terpenos no saturados forman productos de adición con varias sustancias, especialmente el ácido clorhídrico, el bromo, el cloruro de nitrosilo y el ozono. La mayor parte de los terpenos se oxidan con facilidad y tienden a resinificarse por exposición al aire. Muchos de los no saturados existen en las formas cis y trans, y otros, cíclicos y saturados, muestran también isomería geométrica debido a que ciertos grupos están situados del mismo lado o en lados opuestos del plano del ciclo: La mayor parte de los terpenos que se encuentran en la naturaleza son ópticamente activos, no habiendo un sentido predominante en la rotación; algunos son dextrógiros y otros levógiros.

Características de algunos de ellos de posible existencia en el aceite esencial de "neneo".

α -pineno: (14) (15)



P.M. : 136,23

P.E. : 156° - 156,3°

n_D^{20} : 1,4560

Este hidrocarburo ocupa una posición importante entre los terpenos, muchas formas estereoisómeras de este terpeno se encuentran en productos naturales.

El α -pineno se encuentra en muchos aceites destilados de hojas y cortezas. Es el principal constituyente de la esencia de trementina de

tilada de la oleo-resina de muchas especies pertenecientes a la familia de las Pinaceae.

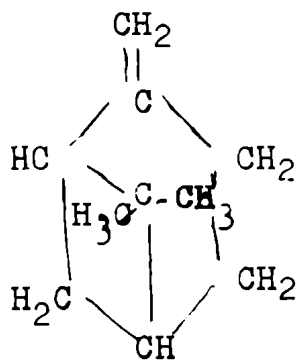
α - pineno: se encuentra en la esencia de trementina griega, en un 95%; en la esencia de trementina rusa, en un 81%; pequeñas cantidades en la esencia de trementina americana y en muchos otros aceites esenciales.

β - pineno: se encuentra en la esencia de trementina española, en un 90 %; en la esencia de trementina austríaca, en un 96%; en la esencia de trementina francesa y americana; en el aceite de Pinus pumilio y en muchos otros aceites esenciales.

γ - pineno: ha sido encontrado en el aceite de limón, en el peppermint americano, en las semillas de coriander etc.

La identificación del α pineno se realiza generalmente preparando el nitrosocloruro cuyo punto de fusión es: 112-113° C.

β - pineno: (nopineno) (16)



P.M. : 136,23

P.E. : 164°

n_D^{20} : 1,4872

El β pineno se encuentra generalmente junto con el α pineno en la esencia de trementina aunque sólo en pequeñas cantidades; la esencia de trementina francesa es particularmente rica en β pineno.

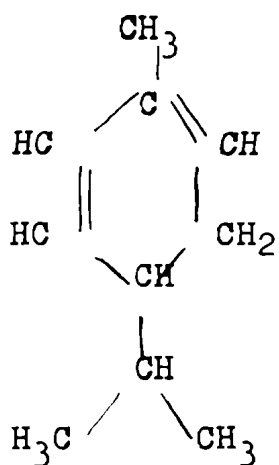
δ - pineno: ha sido identificado en la esencia de trementina sulfatada, en el aceite destinado de la fruta **madura** de Ferula Galbaniflua.

ϵ - pineno: se encuentra en el bálsamo de oregón, en el aceite de agujas del abeto Douglas y en varias especies de abetos y pinos.

ζ - pineno: Se lo ha encontrado asociado con la forma racémica del isómero χ en la Ferula Galbaniflua.

Se utiliza al igual que el α para la preparación del borneol, alcanfor y terpineol. Se puede identificar por derivado tetrabromado de temperatura de fusión 124° - 125°.

α - felandreno: (1 - metil 4 - isopropil 1 - 5 ciclo hexadieno (17)).



P.M. : 136,23

P.E. : 175° - 176°

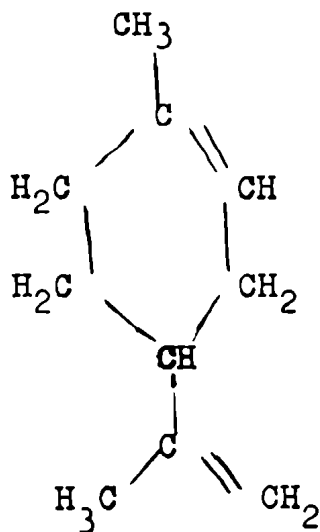
α_D^{15} : + 115,0

d - α - felandreno: se encuentra en el aceite de jengibre, canelo, Schinus Mollé, etc.

l - α - felandreno: ha sido encontrado en el aceite de eucalyptus dives, E. phellandra, pimienta etc.

Usos: El α felandreno se usa en productos industriales con el objeto de eliminar el olor desagradable de éstos, y también en aceites esenciales artificiales o en sus imitaciones.

Dipenteno: (d, l limoneno) (18).



P. M. : 136,23

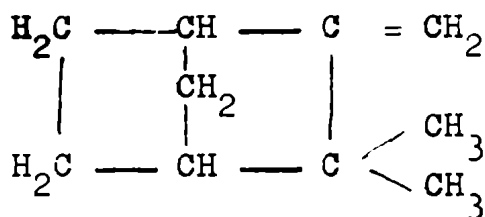
P. E. : 177,6° - 178°

El dipenteno, forma ópticamente inactiva del limoneno, no parece estar distribuido tan ampliamente en la naturaleza como el limoneno.

Es un terpeno de agradable olor a limón; se encuentra en la esencia de trementina de varios orígenes, en el aceite de agujas del Pinus Siberian, en el aceite de lemongrass, de citronella, de bergamota coriander, de nerolí.

Se lo emplea en la industria de los cosméticos, jabones, y en la preparación de aceites esenciales artificiales.

Canfeno: (19)



P.M. 136.23

P.E. 158°-160°

El canfeno es el único hidrocarburo cristalino encontrado en los aceites comerciales. Debido a su naturaleza cristalina puede ser obtenido puro y libre de isómeros.

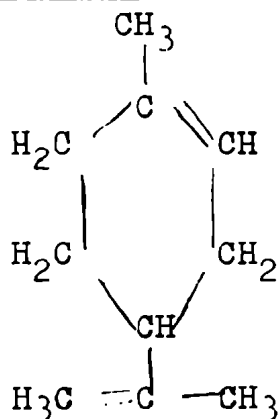
Ha sido objeto de numerosas investigaciones, pudiéndose preparar sintéticamente por eliminación de ClH de cloruro de isobornilo.

d - canfeno: se encuentra en el aceite de agujas de Pinus siberia, limón, naranja, etc.

l - canfeno: Se lo ha identificado en el aceite de agujas de Pinus siberia, en la esencia de trementina americana etc.

d - l - canfeno: ha sido encontrado en numerosos aceites volátiles.

Limoneno: 1 - 8 p - mentadieno (20)



P.M. : 136,23

P.E. : 177° - 178°

Es uno de los terpenos más ampliamente distribuidos, encontrándose en muchos aceites volátiles como principal constituyente, especialmente en los aceites de citrus.

d - limoneno: identificado en el aceite de naranjas, en el aceite de limón, mandarina, lima, bergamota, nerolí etc.; se lo encuentra en el aceite de perejil en un 60%.

l - limoneno: se encuentra en algunos aceites de agujas de pino, en la esencia de trementina rusa, en el peppermint etc.

Se usa ampliamente para perfumar cosméticos, jabones etc. Se lo emplea, también, en las imitaciones de aceites de citrus y en general de aceites esenciales.

CROMATOGRAFIA SOBRE PAPEL

Las primeras noticias que se tienen del empleo de la cromatografía, se atribuyen al biólogo Tswett, nacido en Asti en 1872. Fué empleada por él hacia 1906 para la separación de pigmentos vegetales, una columna rellena de carbonato de calcio, correspondiendo este tipo de cromatografía a la cromatografía de absorción.

Un adelanto grande en la resolución de mezclas diversas fué introducido en la cromatografía de partición desarrollada por Martín y Singe; la separación viene determinada por los diferentes coeficientes de distribución entre la fase acuosa y no acuosa de cada uno de los componentes de la mezcla. Como soporte utilizaron gel de sílice y como líquidos de desarrollo algunos solventes orgánicos no miscibles, pero saturables con agua. Más tarde Consden, Gordon y Martín (21) sustituyeron la columna cromatográfica por tiras de papel de filtro.

La separación de los componentes de una mezcla está basada en la diferencia de solubilidad de las distintas sustancias en un sistema de dos fases líquidas, una de las cuales es móvil y la otra fija y un soporte constituido en este caso por la celulosa del papel.

La ventaja que presenta la cromatografía, reside en las cantidades mínimas de muestra utilizadas en el análisis, en general del orden de gamas.

En la cromatografía en papel las etapas seguidas son las siguientes:

- 1) Siembra de la mezcla a examinar sobre una tira o una hoja de papel de filtro.
- 2) Suspensión e introducción del cromatograma en la cámara de desarrollo que contiene el o los solventes.
- 3) Desarrollo, dependiendo el tiempo de la migración del solvente.
- 4) Secado del cromatograma.
- 5) Revelado del cromatograma mediante el uso de un reactivo para ubicar la posición de la mancha.
- 6) Determinación cuantitativa de cada componente.

Rf: Una de las constantes determinadas es el Rf que se calcula del siguiente modo: (22)

$$Rf = \frac{\text{Distancia: punto inicial} - \text{sustancia X}}{\text{Distancia: punto inicial} - \text{frente del solvente}}$$

y se define: como el cociente de la distancia alcanzada por la sustancia desde su punto inicial, sobre la distancia del frente del solvente, desde su punto inicial.

Los valores Rf son, siempre iguales o menores de 1 e independientes de la longitud de la tira de papel.

Pónese también, cuando se trabaja con azúcares, el valor Rf de una sustancia de referencia arbitrariamente igual a 1, determinándose entonces un valor Rx. La transformación del valor Rx de una sustancia, al valor Rf, se efectúa multiplicando por el valor Rf de la sustancia de referencia, dato que se obtiene consultando la literatura.

$$Rf = Rx \times (Rf \text{ de la sustancia de referencia})$$

El valor Rf depende de varios factores:

- 1) De la sustancia cromatografiada, cada sustancia tiene un Rf característico.
- 2) Del solvente empleado y de la concentración del mismo.
- 3) Del tipo de papel empleado.
- 4) De la técnica seguida.
- 5) Además de las siguientes condiciones:
 - a) Temperatura.
 - b) ph.
 - c) Presencia de metales.
 - d) Duración de la cromatografía.
 - e) Empleo de sustancias simples o de mezclas.

De lo expuesto anteriormente se infiere la necesidad de hacer constar con el valor del Rf, el solvente y el tipo de papel empleado, el procedimiento y la duración del experimento.

Tipo de papel:

Hay que tener en cuenta la orientación de la fibra que depende del pro

ceso de fabricación. La relación entre el eje mayor y menor constituye un índice que permite determinar la orientación de la fibra siendo los cromatogramas mejores cuando el desarrollo se efectúa en el sentido del eje menor.

Los distintos tipos de papel son:

W₁: (Whatman N° 1). Fué el primer papel que se empleó para cromatografía sobre papel. Da excelentes resultados con distintos solventes.

W₂: Se usa con solventes rápidos, obteniéndose manchas chicas y bien delimitadas.

W₃: Posee fibra compacta y espesa, se ha empleado con colidina, butanol, fenol etc.

W₄: Desplaza con vasta rapidez, siendo demasiado rápido para muchas aplicaciones. Es apropiado para cromatografía ascendente.

Whatman N° 3 M.M: Un papel grueso para cromatogramas cuantitativos.

W 42: Ha dado separaciones satisfactorias.

W 45: Es resistente a la rotura aún en estado húmedo, lo hace especialmente apropiado para cromatogramas largos.

S.S.507: (Schleicher y Schull N° 507). Da excelentes resultados para separar cuantitativamente ácidos aminados.

S.S.595: Da excelentes separaciones con valores altos de Rf.

S.S.598 G: Papel blando de rápido flujo del solvente, para pruebas rápidas de orientación.

S.S. 2040 a y b: Corren con rapidez y corresponden aproximadamente al Whatman N° 4.

S.S. 1507: Sirve para azúcares pero no para aminoácidos.

Duriex III: Ha sido poco usado.

Macherey - Nagel N° 214: Utilizado en la cromatografía de las grasas.

Técnica empleada:

Consden y Coll en su método original utilizan recipientes que contienen el solvente en la parte superior de la cámara de desarrollo. De dichos recipientes cuelgan las tiras ú hojas de papel de filtro. En cambio

Williams y Kirby disponen de cilindros de papel de filtro en un recipiente conteniendo el solvente el que migra por capilaridad. En la técnica ascendente la fuerza de gravedad se opone al factor capilaridad, observándose un retardo en la velocidad de avance del frente del solvente.

Condiciones de desarrollo:

pH: El pH tiene la propiedad de modificar el R_f de las distintas sustancias.

Temperatura: Las alteraciones producidas en el valor R_f , se deben a un cambio en la composición de las fases.

Duración de la cromatografía: Depende de la longitud de la tira de papel, de su densidad y de la velocidad de migración del solvente.

Presencia de metales: Pueden aparecer manchas coloreadas que interfieran con las características de otras sustancias.

Empleo de sustancias simples o mezclas:

Para un mismo solvente, el valor del R_f varía según se desarrolle una sustancia simple o una mezcla, esto es debido a que interfieren los distintos componentes.

ESPECTROFOTOMETRIA: Absorción en el ultravioleta.

La espectrofotometría de absorción está basada en la disminución de intensidad de un rayo de luz monocromático al pasar a través de una solución; dicha disminución es debida a la absorción de la luz por la solución.

La propiedad que presentan ciertos compuestos orgánicos y también inorgánicos de absorber radiaciones de distinta longitud de onda, se debe a que poseen en su molécula grupos cromóforos.

La absorción se llama "selectiva" cuando se produce en forma más intensa en ciertas regiones del espectro. La mayoría de los aceites esenciales presentan absorción selectiva de luz ultravioleta, por lo cual se los estudia en la región del espectro que abarca desde 4000 Å. a 2200 Å. El primero es el límite arbitrario que se confunde con la región visible el segundo está fijado por los aparatos utilizados y la transparencia de los disolventes usados.

Cada aceite esencial, así como los componentes del mismo, presenta una absorción característica, de manera que el estudio de la curva "poder de absorción en función de la longitud de onda", permite su identificación y juzgar su pureza. (23).

La reducción de la intensidad de un haz de luz monocromática que pasa a través de un medio absorbente, depende:

- a) de la concentración de la sustancia.
- b) de la longitud del camino recorrido por el rayo incidente a través de ese medio.
- c) del poder de absorción de la sustancia o solución a una determinada longitud de onda.

Las relaciones entre estos factores están dadas por las leyes de Lambert y de Beer.

La ley de Lambert establece que:

$$\log \frac{I_0}{I} = a \cdot d$$

siendo:

I_0 : intensidad de la luz incidente de una determinada longitud de onda.

I : intensidad de luz emergente.

d : espesor del medio.

a : coeficiente de absorción.

La misma ley puede enunciarse en la siguiente forma:

$\log \frac{I_0}{I} = E = D$ extinción o densidad óptica o absorban-
cia del medio.

La ley de Beer relaciona el coeficiente de absorción con la concentración de la sustancia absorbente:

$a = K \cdot c$ K : coeficiente de proporcionalidad.

Relacionando ambas leyes, resulta:

$$E = D = \log \frac{I_0}{I} = K \cdot c \cdot d$$

en este caso K es la medida de la capacidad de absorción de la luz para una sustancia dada y a una determinada longitud de onda.

Es una constante para las sustancias que cumplen la ley de Lambert-Beer, a cualquier dilución o espesor de capa absorbente.

Como la longitud d se expresa en cm., la definición de K dependerá de cómo se exprese la concentración c , siendo las siguientes las más comunes:

a) si c está dada en mol-gramo por litro, K se llama: "coeficiente molecular de absorción o extinción (E)."

b) si c se expresa en gramos por litro, K se llama: "coeficiente específico de absorción o extinción (K, k ,)."

c) si c se indica en gramos por 100 ml, K es $E \frac{1\%}{1 \text{ cm.}}$. Esta última puede transformarse en el coeficiente específico multiplicando por 0,1 y K se transforma en (E) multiplicando por el peso molecular de la sustancia absorbente.

Como los valores de estos coeficientes dependen de la longitud de onda,

para obtener el espectro de absorción, se contruye un gráfico en el que figuren como ordenadas los valores del coeficiente de extinción y como **abcisas** las correspondientes longitudes de onda. En la curva obtenida los mínimos indican las longitudes de onda en las cuales la sustancia presenta absorción selectiva.

Una de las condiciones requeridas para la exactitud de las determinaciones es la elección del disolvente, que debe presentar absorción mínima en la región estudiada.

Las determinaciones se efectúan con espectrofotómetros, que constan esencialmente de:

- a) un prisma para dispersar la luz.
- 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 fotoeléctrico, con equipo de cuarzo. Su funcionamiento es el siguiente:

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

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

Los aceites esenciales muestran actividad variable, (24) dependiendo de su composición. Se ha comprobado el fuerte poder absorbente que poseen los fenoles, sus esteres y los aceites esenciales que los contienen, los aldehidos y cetonas y la influencia que tiene la estructura del resto de la molécula, de los núcleos bencénicos, de los derivados de alcoholes

y fenoles de los 3-5 dinitrobenzoatos por la introducción de esta agrupación atómica y semicarbazonas de aldehidos y cetonas. Como así las 2-4 dinitrofenilhidrazonas de estos últimos.

Se ha observado también la variación notable que sufre la curva de absorción del aceite esencial cuando se lo priva de algunos de sus componentes, como así también la influencia de un determinado grupo cromóforo sobre otros.

Es de mucha utilidad la sensibilidad que presentan los derivados de los compuestos nombrados anteriormente sobre todo cuando se dispone de pequeñas cantidades de muestra que no alcanzan para determinar los puntos de fusión de los derivados y además es un auxiliar poderoso para confirmar otros datos de identificación.

De todo esto se infiere que la espectrofotometría en el ultravioleta es una valiosa técnica auxiliar para el estudio de los aceites esenciales, ya sea en su identificación como así también para valorar algunos componentes y develar las adulteraciones.

I - PARTE EXPERIMENTAL

Partición de la oleogomoresina :	pág. 35
<u>GOMA</u> : Ensayos de identificación	pág. 36
Comparación con otras gomas:	"cuadro 1
Cromatografía sobre papel (Rf)	" 39
<u>RESINA</u> : Punto de ablandamiento	" 42
Índice de ácido	" 44
Índice de éster	" 44
Índice de iodo	" 45
Ensayos de solubilidad (Comparación con otras resinas naturales)..	" 46
Viscosidad	" 46
Índice de refracción	" 47
Investigación de compuestos carboníli- cos	" 48
Investigación del ác. abiético y de- terminación del equivalente de neutra- lización de los ácidos	" 48
Ensayos con la resina	" 49

PARTICION DE LA OLEOGOMORESINA EN FRACCION VOLATIL, GOMA Y RESINA.

La muestra en estudio presenta las siguientes características: se trata de una sustancia de color ámbar, de olor fuertemente aromático, aspecto opaco y consistencia pastosa.

Se procedió a separar los componentes de la oleogomoresina para lo cual se partió de 108,15 gr. de material.

El aceite esencial se extrajo haciendo una destilación por vapor de agua en equipo a reflujo usando trampa A.S.T.M. obteniéndose 16,5 cm³ del aceite esencial.

El contenido acuoso del balón una vez separado del aceite esencial y enfriado dió una suspensión acuosa lechosa y glomérulos de resina.

La suspensión acuosa fué separada por filtración a través de gasa de la parte resinosa.

De la suspensión acuosa por repetidas precipitaciones con alcohol se separaron las gomas. La fracción restante correspondiente a la parte resinosa fué disuelta y extraída primero con éter de petróleo y luego con alcohol etílico.

Resinoide extraído con éter de petróleo : 72,3 g.

" " " alcohol etílico ; 15,8 g.

Goma : 5 g.

Porcentajes:

Aceite esencial 12,84 %.

Resinoide extraído con éter de petróleo : 66,95 %.

" " " alcohol etílico : 14,62 %.

Goma 4,62 %.

Una vez separados los componentes se procedió al estudio de las fracciones obtenidas.

G O M A
= = = = =

ENSAYOS DE IDENTIFICACION

Las propiedades de las gomas y aglutinantes, de actuar en diversas formas frente a diferentes sustancias químicas puras o reactivos preparados en proporciones establecidas, fué utilizada para ir desarrollando métodos para la identificación de las diversas gomas existentes.

M. B. Jacobs y L. Jaffe (25), se ocuparon de estudiar una serie de reacciones como método para identificar las gomas y consiste en hacerlas actuar en determinadas condiciones produciéndose precipitados, desarrollo de color, cambios de estado, etc. que pueden ser específicos para una determinada goma o aglutinante.

Estas reacciones se hallan generalmente reglamentadas en los Codex alimentarios y farmacológicos cuando tales gomas son destinadas a la elaboración de productos alimenticios, farmacéuticos y cosméticos.

Cuando no se utiliza en los rubros mencionados y se le dá otro uso industrial, si bien no existe reglamentación se debe recurrir a estos ensayos a fin de certificar el origen de la goma.

A continuación se hace un detalle de la preparación de los distintos reactivos utilizados.

Reactivos:

Solución de bórax al 4%: 4 gr. de bórax se disuelven en 70 ml. de agua y se lleva a 100 ml.

Cloruro férrico al 5%: 55 gr. de Cl_3Fe se disuelven en suficiente cantidad de una mezcla de 25 ml. de ClH y 975 ml. de agua para hacer un litro.

Solución de iodo: 2 gr. de iodo y 6 gr. de IK disueltos en 100 ml. de agua.

Acetato de plomo al 20%: 20 gr. de acetato de plomo disueltos en 100 ml. de agua.

Sol. Standard de acetato básico de plomo: Activar litargio por calentamiento durante $2\frac{1}{2}$ a 3 horas en mufla a $650-670^\circ$. El producto una vez enfriado debe tener color amarillo limón. Hervir a reflujo durante 45 min. en un Erlenmeyer de 500 ml. 80 gr. de acetato normal de plomo, 40 gr. del

litargirio activado, con 250 ml. de agua. Enfriar, filtrar si hay residuo y diluir con agua recientemente hervida hasta una densidad de 1,25 a 20° C.

Reactivo de Millón: Tratar 2 ml. de Hg en Erlenmeyer de 200 ml. con 20 ml. de NO_3H , bajo campana. Cuando paso la primera reacción violenta, agitar cuanto sea necesario para mantener al Hg en fina división y mantener la reacción. Luego de unos 10 minutos, cuando la reacción ha cesado prácticamente a pesar del Hg. aún presente agregar 35 ml. de agua y si se separa sal básica agregar suficiente cantidad de NO_3H diluido para disolverla.

Agregar gota a gota una solución al 10% de NaOH con agitación intensa hasta que el precipitado que se forma no se disuelve más sino que se dispersa para formar una permanente turbidez.

Agregar 5 ml. de NO_3H diluido y mezclar. Esta solución debe usarse en el mismo día de preparada.

Solución de ácido tánico al 10%: 10 gr. de ácido tánico se disuelven en 10 ml. de alcohol y se diluye a 100 ml. con agua.

Debe agregarse ácido acético diluido a la solución a ensayar previa adición del ácido tánico.

Ac. sulfúrico conc.: D = 1.84

Alcohol de 96°:-

Hidróxido de potasio al 10%.

Reactivo de Schiff: 0,2 gr. de fucsina, en aproximadamente 120 ml. de agua caliente. Enfriar y agregar 2 gr. de $\text{So}_3 \text{Na}_2$ disuelto previamente en 20 ml. de agua y 2 ml. de HCl.

Llevar a 200 ml. y colocar en refrigerador durante, por lo menos, 24 horas antes de usar.

Procedimiento a seguir: Se prepara una solución de la goma al 0,5% y sobre 5 ml. de la solución se vierten 2 o 3 gotas del reactivo. Se anotan las observaciones y luego se adiciona más reactivo. Con So_4H_2 , KOH,

1.₃ Fe neutro y reactivo de Schiff, se agregan **unas** gotas y después se hierve la solución. Se agrega un exceso y se vuelve a hervir. Con el reactivo de Schiff primero se hierve la solución y luego se agrega el reactivo, la aparición de una coloración roja no se toma en cuenta, si o solo la formación de un precipitado.

Los resultados de las reacciones cualitativas figuran en el Cuadro 1, sí como los de otras gomas para establecer comparaciones.

C U A D R O N° 1 - R E A C C I O N E S D E I D E N T I F I C A C I O N D E G O M A S

R E A C T I V O	AGAR-AGAR	ARABIGA	KARAYA	TRAGACANTO	GARROFIN	ESPINA CORONA	GUAYACAN	N E N E O
SOLN.de BORAX 4%	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Gelifica	Gelifica	Gelifica	Negativa
SOLN.de Cl_3Fe 5% (frío)	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Ligera ge- lificación	Negativa	Negativa	Negativa
SOLN.de Cl_3Fe 5% (cal.)	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Precipita	Negativa	Negativa	Negativa
SOLN. de IODO	Puntos negros que desaparecen	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
ACETATO BASICO de Pb.	Ppdo. volu- minoso	Abundante Ppdo. blanco	Ppdo. blanco	Ppdo.volu- minoso	Precipit. gelatinoso	Gelatinoso	Gelatinoso	Ligero ppdo.
REACTIVO DE MILLON	Precipita	Ppdo.fino sol en exceso	Precipita	Precipita	Precipita	Precipita	Precipita	Ligero ppdo.
SOLN. de ACIDO TANICO	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Ppdo blanco lechoso y opaco	Precipita do trans- lúcido	Precipi- tado	Negativa
SO_4H_2 CONC.D = 1.84	Clarifica	Negativa	Precipita	Negativa	Clarifica	Clarifica	Negativa	Negativa
REACTIVO DE SCHIFF	Negativa	negativa	Negativa	Negativa	Gelifica	Gelifica	Gelifica	Negativa
ALCOHOL 96°	Precipitado	Precipit.	Precipit.	Precipit.	Precipit.	Precipit.	Precipit.	Precipit.
K.OH al 10%	Peq.Coágulos	Ppdo. ama- rillo	Negativa	Coloración amarilla	Gelifica	Gelifica	Gelificación muy ligera	Negativa

CROMATOGRAFIA SOBRE PAPEL

Determinación del Rf de los glúcidos presentes en la goma.

1) Preparación de la muestra a cromatografiar.

La muestra a cromatografiar requiere previamente un tratamiento para eliminar las proteínas y taninos que son sustancias interferentes.

Además la concentración en iones de la solución debe ser mínima o preferentemente libre de iones.

Se preparó una solución acuosa diluída de la goma aproximadamente al 1% y se defecó empleando una solución saturada de acetato de plomo agregando ésta gota a gota sobre la primera hasta no más precipitación, para lo cual se pasó la solución a tubos de centrífuga; se centrífugó y luego de decantar para separar la fase sobrenadante del precipitado se agregó una gota más de la solución saturada de acetato de plomo a fin de asegurarse que la precipitación había sido total.

A continuación se eliminó el exceso de plomo utilizando una solución de $\text{PO}_4 \text{ HK}_2$.

La solución defecada se dividió en dos partes: A y B.

La solución (A) se utilizó para hacer la cromatografía directamente.

La solución (B) se sometió a la hidrólisis para lo cual se pasó a un Erlenmeyer y se agregó HCl de densidad 1,125 gr/l, se conectó a un refrigerante a reflujo y se dejó hervir durante 2 horas y media. Se enfrió y neutralizó con NaOH de 40% y se filtró.

Sembrado de las gotas y desarrollo.

El sembrado de las gotas se efectuó con una pipeta capilar, sobre papel Whatman N° 1 cuyas dimensiones eran 18 cm. de ancho x 54 cm. de largo, dimensionando en el sentido mayor de la hoja. Las gotas se depositaron, teniendo la precaución de que no fuesen de más de 5 mm. de diámetro, situándolas entre sí a 2 cm. de distancia. Se sembraron juntamente con la muestra azúcares tipos (al 1%) indicadas en cada cromatograma.

El solvente utilizado fué el n - butanol 4; ácido acético 1, agua 5.

Para ello se tomaron 40 ml. de n - butanol, 10 ml. de ácido acético y

50 ml. de agua, la mezcla se pasó a una ampolla de decantación, se agitó, se dejó en reposo $\frac{1}{2}$ hora y se tomó la capa superior desechando la inferior.

El papel una vez sembrado se introdujo con el solvente en la cámara de desarrollo descendente; la que previamente se había saturado con el solvente.

La cámara de desarrollo estaba formada por un soporte de vidrio que sostenía una cubeta que contenía el solvente con dos trozos de varillas de vidrio para sostener el papel.

El soporte y la cubeta ubicados en el interior de dos cubas unidas con un trozo de tela engomada para hacer el cierre hermético.

Cada desarrollo duraba 48 horas, al cabo de las cuales se sacaba el papel y se dejaba secar bien, procediéndose a efectuar su revelado.

Revelado y determinación cualitativa.

Esta operación consiste en tratar el cromatograma con un agente químico adecuado que sea capaz de reaccionar con el glúcido produciéndose una coloración característica, de modo tal, de ponerlo en evidencia.

Revelador utilizado : Ftalato de anilina (26)

Se disuelven 1,66 grs. de ácido ftálico y 0,93 grs. de anilina en 100 ml. de butanol previamente saturado de agua, se rocía el cromatograma y se lleva a 105° durante 10 minutos.

Este revelador es bastante sensible, reacciona con los azúcares reductores, tiene el inconveniente de que si produce manchas rojo marrones bien delineadas, el papel toma un tinte rosado que puede llegar a encubrir la mancha producida por un glúcido, cuando éste se encuentra en baja concentración. El control del proceso es un poco molesto cuando no se dispone de estufa con ventana de vidrio que obliga a abrir la puerta a cada instante con el consiguiente descenso de la temperatura. Hay que tener cuidado de que la temperatura no se eleve unos grados más porque el papel se tuesta.

Los valores del Rf. se calcularon tomando como referencia a la glucosa

considerándola como 1.

$$R_b = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra}}{\text{Distancia recorrida por la glucosa}}$$

Distancia recorrida por la muestra : 15,5 cm.

" " " " d-glucosa : 12,2 cm.

$$R_b = 1,27$$

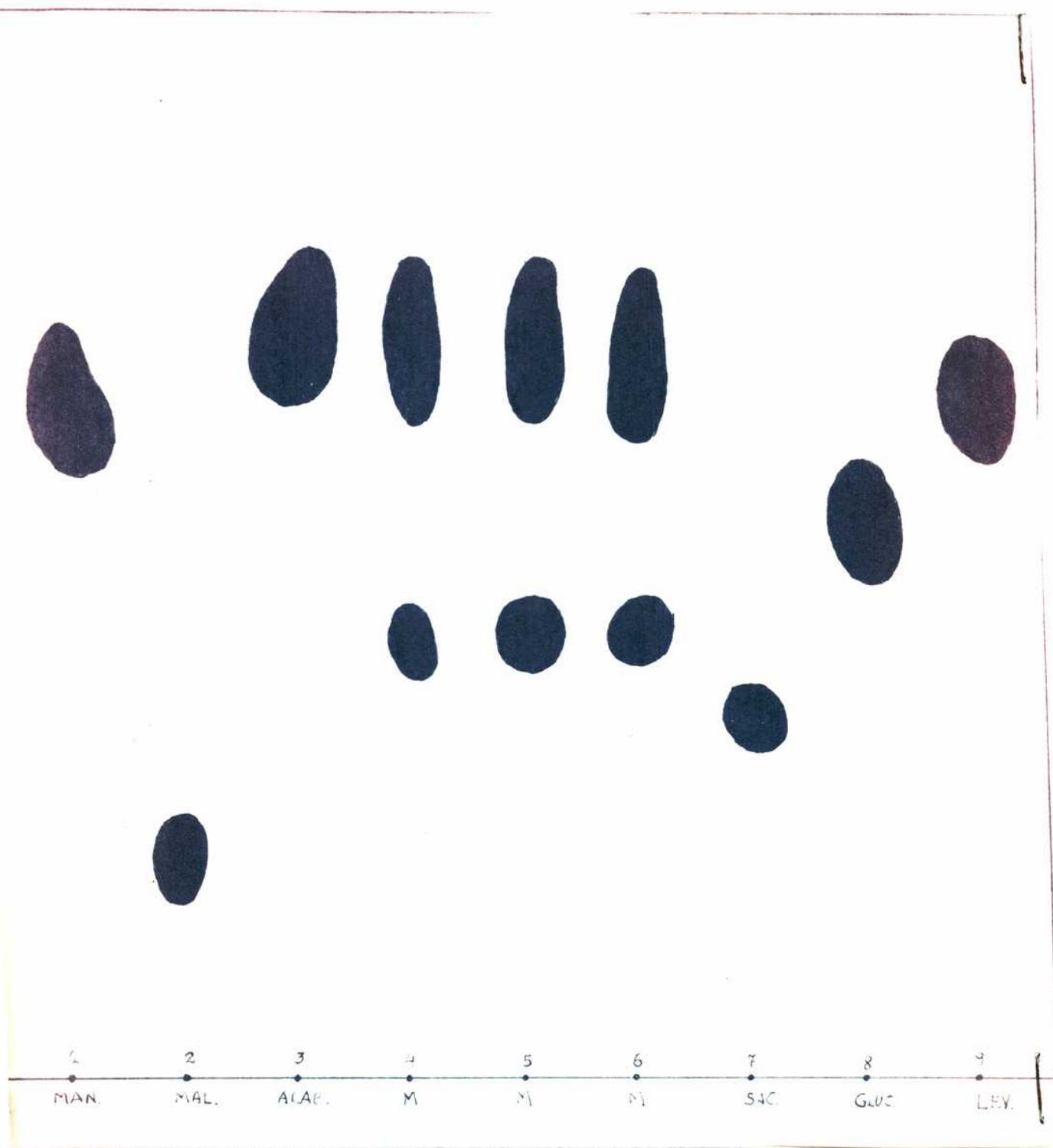
$$R_f = R_b \times (\text{Rf. de la sustancia de referencia}).$$

$$R_f = 1,27 \times 0,18 = 0,22$$

Por el valor del Rf. y la coloración de las manchas nos induce a pensar

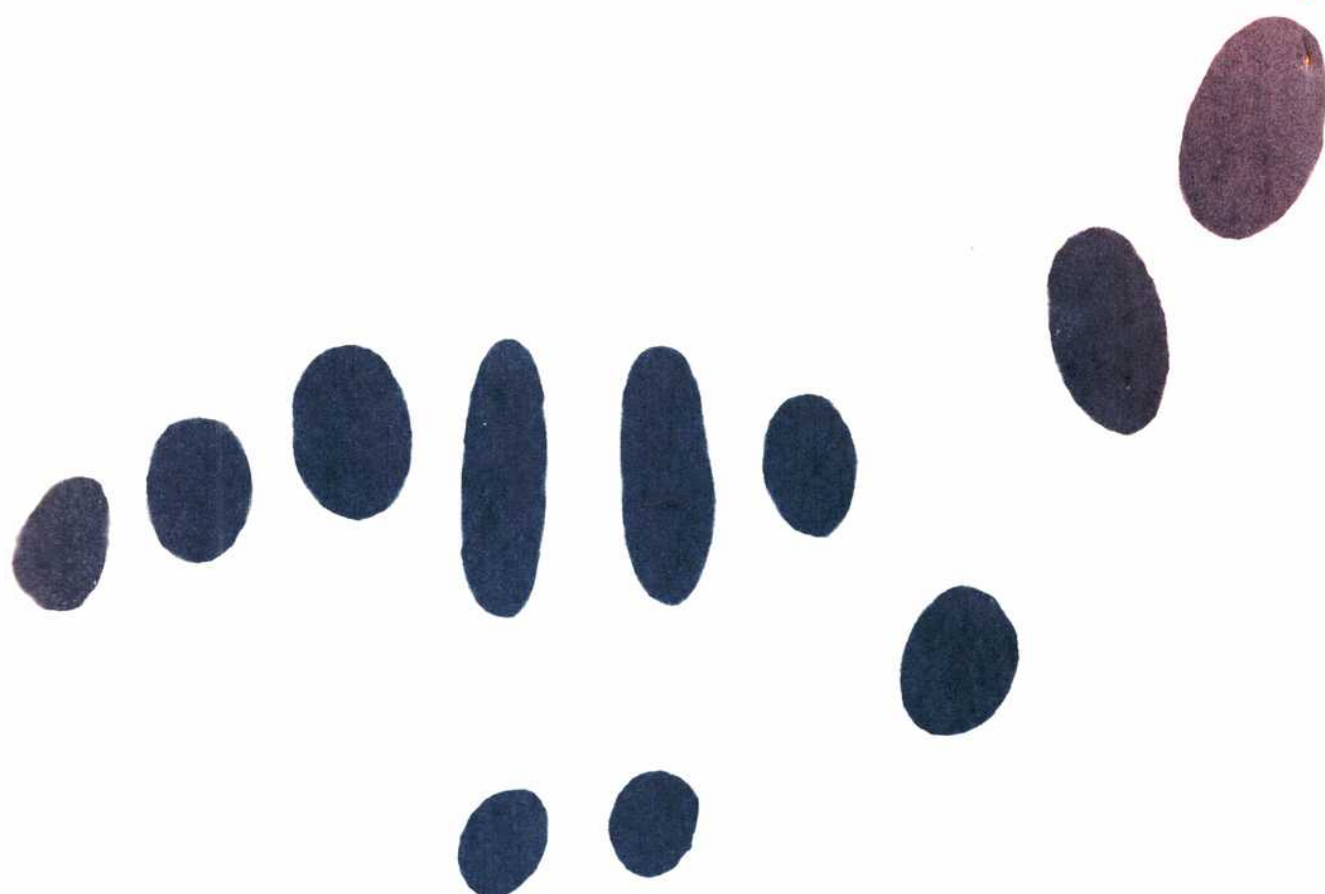
que los constituyentes de la goma sean arabinos ya que el R_b y el Rf

son muy aproximados a los de la d - arabinosa.



1° Manosa.
2° Maltosa.
3° Arabinosa.
4°, 5° y 6° Muestra.

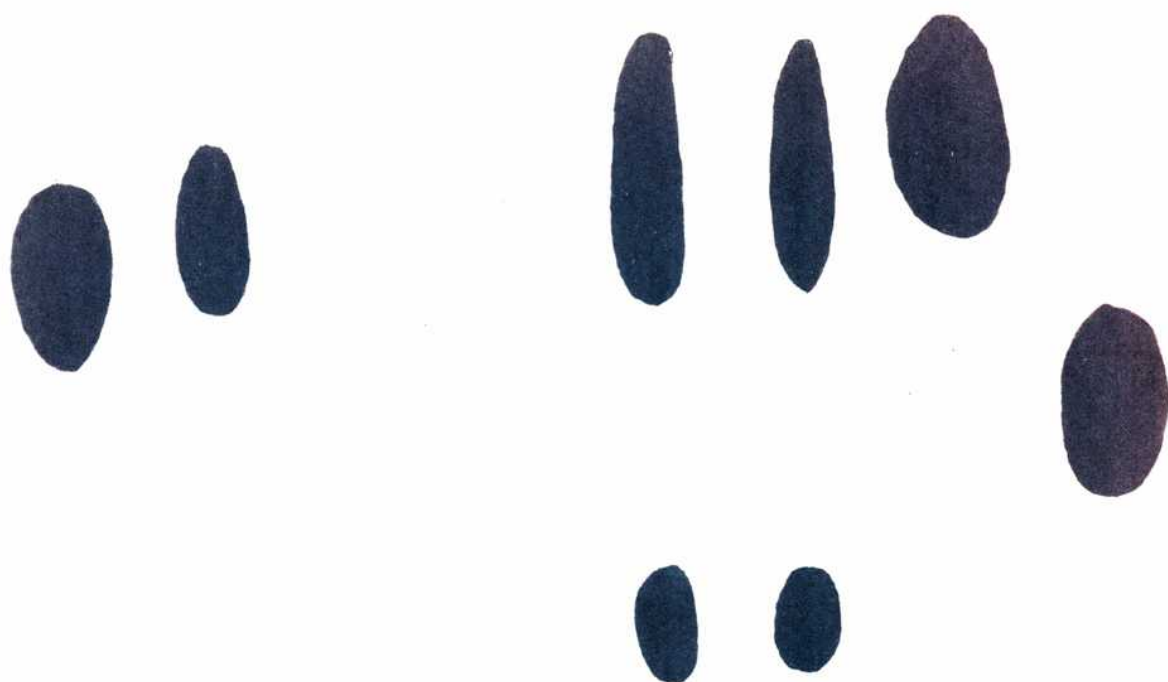
7° Sacarosa.
8° Glucosa.
9° Levulosa.



1 2 3 4 5 6 7 8 9
SOR MAN. ARAB. M M LEV. G XIL RIB.

1° Sorbita.
2° Manosa.
3° Arabinosa.
4° y 5° Muestra.

6° Levulosa.
7° Glucosa.
8° Xilosa.
9° Ribosa.



1° Manosa.

2° Levulosa.

3° y 4° Muestra sin hidrolizar.

5° y 6° Muestra hidrolizada.

7° Arabinosa.

8° Glucosa.

R E S I N A

= = = = =

TERMINACIONES EFECTUADAS

Punto de ablandamiento (Softening Point Tester) (27)

El aparato sirve para determinar el punto de ablandamiento de sustancias orgánicas semiduras, insolubles en agua y glicerina, particularmente aceite mineral bituminoso.

El punto de ablandamiento determinado con el método del anillo y la bola, representa la temperatura a la cual un cilindro (preparado de material de prueba) de dimensiones prescriptas cambia su forma al ablandarse, como efecto del peso de una bola de dimensiones y peso conocido.

El aparato viene diseñado para 2 ó 4 ejemplares de prueba.

Datos técnicos:

Diámetro de la bola..... 9,5 mm.

Peso " " " 3,5 g.

Distancia entre la superficie inferior de la bola

el fondo del plato 25,4 mm.

Límite de medida del termómetro ... 0° - 160° C.

Graduación del termómetro 1° C.

Alto de ensayo 600 á 800 mm.

El aparato consta de tres partes principales:

a) anillo.

b) bola.

c) artefacto de sostén.

Las partes del aparato se pueden observar en el gráfico.

Preparación de los anillos de prueba:

Se colocan los anillos sobre una superficie lisa, se funde el material de prueba, en nuestro caso la resina, y se rellenan los anillos con ésta; hay que tener la precaución de fundir el material calentándolo a una temperatura que no sea mayor que 40° C más que el punto de ablandamiento esperado. Si es necesario deberá pasarse por cedazo, cuidando de prevenir la formación de burbujas, una vez llenos los anillos se dejan enfriar por 30 minutos a temperatura ambiente o en agua helada si el

ESQUEMA DEL APARATO PARA DETERMINAR PUNTO DE ABLANDAMIENTO
=====

- 1) plato soporte redondo.
- 2) plato base.
- 3) plato tapa.
- 4) tornillos fijadores.
- 5) mangas fijadoras.
- 6) aparato con bola en el centro.
- 7) vaso de ensayos.
- 8) termómetro.

punto de ablandamiento esperado está por debajo de 30° C.

Luego a continuación se procede a eliminar el material desbordante, se fija los anillos en las aberturas del plato que sostiene y se procede a colocar todo el aparato de sostén en el vaso de ensayos.

Baño utilizado:

Si el punto de ablandamiento está por debajo de 80° C se llena el vaso de ensayo con agua recientemente hervida de 5° C hasta 51 mm. de altura sobre la **superficie** del anillo superior. Se colocan los anillos dentro de las aberturas correspondientes del aparato sostén y se colocan las bolas de acero dentro de las aberturas del plato sostén.

El termómetro se coloca en la abertura apropiada de la tapa de tal manera que el bulbo inferior de mercurio esté al mismo nivel que la **superficie** inferior del plato sostén. Se mantiene la temperatura por 15 minutos a 5° C, se colocan entonces las bolas en el centro de los anillos.

Si el punto de ablandamiento está supuesto entre 80° y 110° C, se utiliza una **mezcla** formada por 2/3 parte de glicerina de Pe 1,2 y 1/3 parte de agua; si en cambio el punto de ablandamiento supera los 110° se utiliza un baño de glicerina de Pe: 1,25. En este último caso la temperatura debe ser mantenida por 15 minutos a 30° C.

Cuando el tiempo de solidificación expire el calentamiento puede ser comenzado. El alza de la temperatura alcanzará a 5° C por minuto.

Pruebas en las cuales el alza de temperatura se desvía por más de 0.50°C después de los primeros 3 minutos deben ser descartadas.

En el momento de producirse el ablandamiento de las sustancias y las bolas alcanzan el plato base se lee la temperatura.

La media aritmética de las temperaturas observadas durante las dos pruebas se toma como punto de ablandamiento.

Para la determinación se utilizó un baño de glicerina y se siguieron los detalles de la técnica obteniéndose los siguientes resultados:

1a. determinación ; 45° C.

2a. " : 45° C.

Temperatura de ablandamiento 45° C.

Índice de ácido: El índice de ácido es igual al número de miligramos de hidróxido de potasio que son necesarios para agregarlos a un gramo de resina para neutralizarla usando fenolftaleína como indicador.

Método: (28) Se pesan exactamente alrededor de 2 g. del material (resina) en un Erlenmeyer o un matraz de saponificación y se disuelve en 15 a 20 ml. de alcohol de 95° neutralizado a la fenolftaleína y se agregan unas gotas de solución alcohólica de fenolftaleína. Agitando continuamente se valora con solución acuosa 0,1 N de Na OH, desde bureta hasta aparición del color rosado persistente, si se gasta más de 10 ml. de la solución alcalina conviene repetir pesando solo 1 g. del material o bien usar solución 0,5 N de alcali.

$$I A = \frac{5,61 \times \text{ml HO Na } 0,1 N}{\text{Peso resina en gramo.}}$$

1a. determinación: Peso de resina = 1,0208 g.

Alcali gastado : 21,3 ml. Na OH 0,1 N f = 1,0659

$$I A = 124,7$$

2a. determinación: Peso de resina = 1,0130 g.

Alcali gastado : 21,1 ml. Na OH 0,1 N f = 1,0659

$$I A = 124,5$$

Índice de Ester (29): Cantidad de KOH necesaria para saponificar los ésteres de 1 g. de muestra.

Método: En un matraz de saponificación de 250 ml. con boca esmerilada para adaptar tubo refrigerante de 1 m, se coloca una cantidad exactamente pesada del material (de 1 a 5 g. según el contenido en ésteres) y se disuelven en alcohol metílico (5 a 10 ml) y neutralizar la acidez libre a la fenolftaleína (igual que para índice de ácido) se agregan 20 ml. de solución alcohólica 0,5 N de KOH exactamente medida.

Se adapta el tubo refrigerante y se hace hervir sobre baño de agua a reflujo por una hora. Se enfría a temperatura ambiente y valora el exceso de alcali con el H 0,5 N. Se lleva una determinación paralela en

blanco para determinar el consumo de ácido para el volumen de alcali usado y calcular exactamente la cantidad de alcali empleado en la saponificación de los ésteres. Con los datos obtenidos se calcula en I.E.

$$\text{I.E.} = \frac{28,05 \times \text{ml. alc. } 0,5 \text{ N.}}{\text{peso resina en g.}}$$

Peso resina: 1,0474

Acido gastado: para la muestra: 14,0 ml. Cl. H 0,1 N f= 1,1894

" el blanco : 16,6 " " " "

$$\text{I.E.} = 70,6$$

Indice de iodo: Expresa el nº de gramos de iodo absorbidos por 100 grs. de muestra. Se empleó para la determinación el método Wijs.

Procedimiento: Se pesa exactamente de 0,1 a 0,5 grs. de muestra, en un pequeño recipiente seco se transfiere a un frasco de 500 ml. con tapa esmerilada y seco al que se agrega 15 ml. de Cl_3CH ó Cl_4C para disolver la muestra. Con pipeta se agregan 25 ml. de solución de iodo Wijs, dejando escurrir la pipeta un tiempo definido.

El exceso de iodo debe ser 50 - 60% de la cantidad agregada, ésto 100 - 150 % de la cantidad absorbida.

Se deja el frasco en reposo en la oscuridad por 30 minutos a temperatura uniforme. Al fin de ese período se agregan 20 ml. de solución al 15% de I K y 100 ml. de agua destilada. Se titula el iodo con solución de $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$ 0,1 N. agregándola con constante agitación hasta que el color amarillo de la solución haya casi desaparecido. Se agregan 2 ml. de una solución al 1% de almidón y se continúa la titulación hasta que el color azul se haya atenuado. Se tapa el frasco y sacude vigorosamente de manera que el iodo remanente en la capa de solvente orgánico pase a la copa acuosa y se completa la titulación.

Peso de resina : 0,200 gr.

B (blanco) : 44,65 ml. de Sol. $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$ 0,1 N f = 0,984

M (muestra) : 29 ml. de sol. $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$ 0,1 N f = 0,984

$$\text{I iodo} = \frac{(\text{B} - \text{M}) \text{ f } \times 1,2692}{\text{peso muestra}}$$

$$\text{I iodo} = 97,78$$

ENSAYOS DE SOLUBILIDAD EN DISTINTOS SOLVENTES

Se realizaron estos ensayos por tratamiento de 2 gramos de resina finamente pulverizada y 10 ml. de solvente, dejándose actuar en frío, durante 24 horas; leyéndose los resultados luego de transcurrido este período. Se anotó si la resina era soluble, parcialmente soluble, gelificada o era insoluble; determinándose además los valores de la solubilidad en gr/ml. Esto último se constató filtrando y evaporando 2 ml. de la solución.

SOLVENTE	SOLUBILIDAD gr/ml.	SOLVENTE	SOLUBILIDAD gr./ml.
Acetona	0,16	Acetato de etilo	0,18
Etanol de 96°	0,13	Toluoal	0,17
Butanol	0,10	Eter de petróleo	0,15
Glicerina	insoluble	Metil etil	0,18
Acetato de butilo	0,22	Cetona	

CUADRO COMPARATIVO CON OTRAS RESINAS NATURALES (30).

R E S I N A (E N F R I O 24 HORAS)					
SOLVENTE	COLOFONIA	COPAL MANILA	GOMA LACA	DAMMAR	N E N E O
Acetona	Soluble	parcialmente soluble	parcialmente soluble	parcialmente soluble	parcialmente soluble
Etanol	Soluble	parcial.soluble	Soluble	parcialm. soluble	Parcialm. soluble
Butanol	Soluble	parcial.soluble	parcialm. soluble	parcialm. soluble	parcialm. soluble
Acetato etilo	Soluble	parcial.soluble	parcialm. soluble	parcialm. soluble	parcialm. soluble
Acetato butilo	Soluble	parcial.soluble	parcialm. soluble	parcialm. soluble	parcialm. soluble
Eter de Petróleo	Parcialm. soluble	insoluble	insoluble	parcialm. soluble	parcialm. soluble
Metil etil Cetona	soluble	soluble	parcialm. soluble	insoluble (gel.)	parcialm. soluble

Viscosidad: Se preparó una solución de la resina al 50% en acetato de butilo se determinó la viscosidad por el método a la burbuja.

Viscosidad L - M. Viscosidad Gardner-Holdt a 25° C. equivale a 3,00 - 3,20 poises.

Índice de refracción:

Técnica: Se prepara una **serie de** soluciones de la resina en el mismo solvente, de concentraciones diferentes; y se le determina a cada una el índice de refracción a 20° C, mediante un refractómetro. En este estudio se usó el de Abbe.

Con los valores obtenidos se traza un gráfico en el cual indicándose en las ordenadas los índices de refracción y en las abscisas los porcentajes en peso de las soluciones (gramos de resina por 100 gr. de solución). El índice de refracción para la resina pura se obtiene por extrapolación a la concentración 100%.

Para la resina del "neneo" se utilizó como solvente el acetato de butilo.

$$D_{15,4} = 1,3974.$$

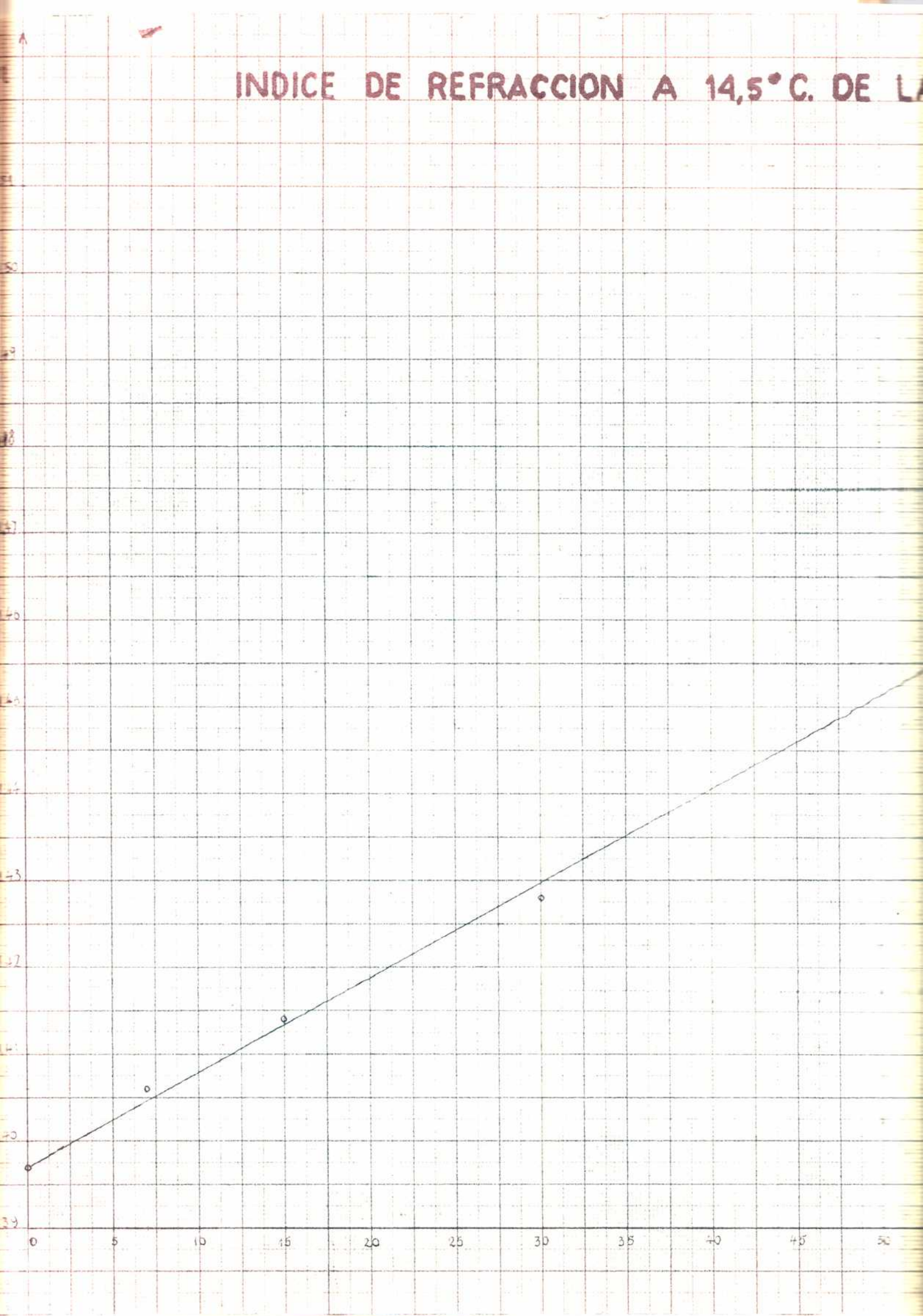
$$\text{se prepararon soluciones al } 7\% : D_{15,4} = 1,4060$$

$$15\% : D_{15,4} = 1,4140$$

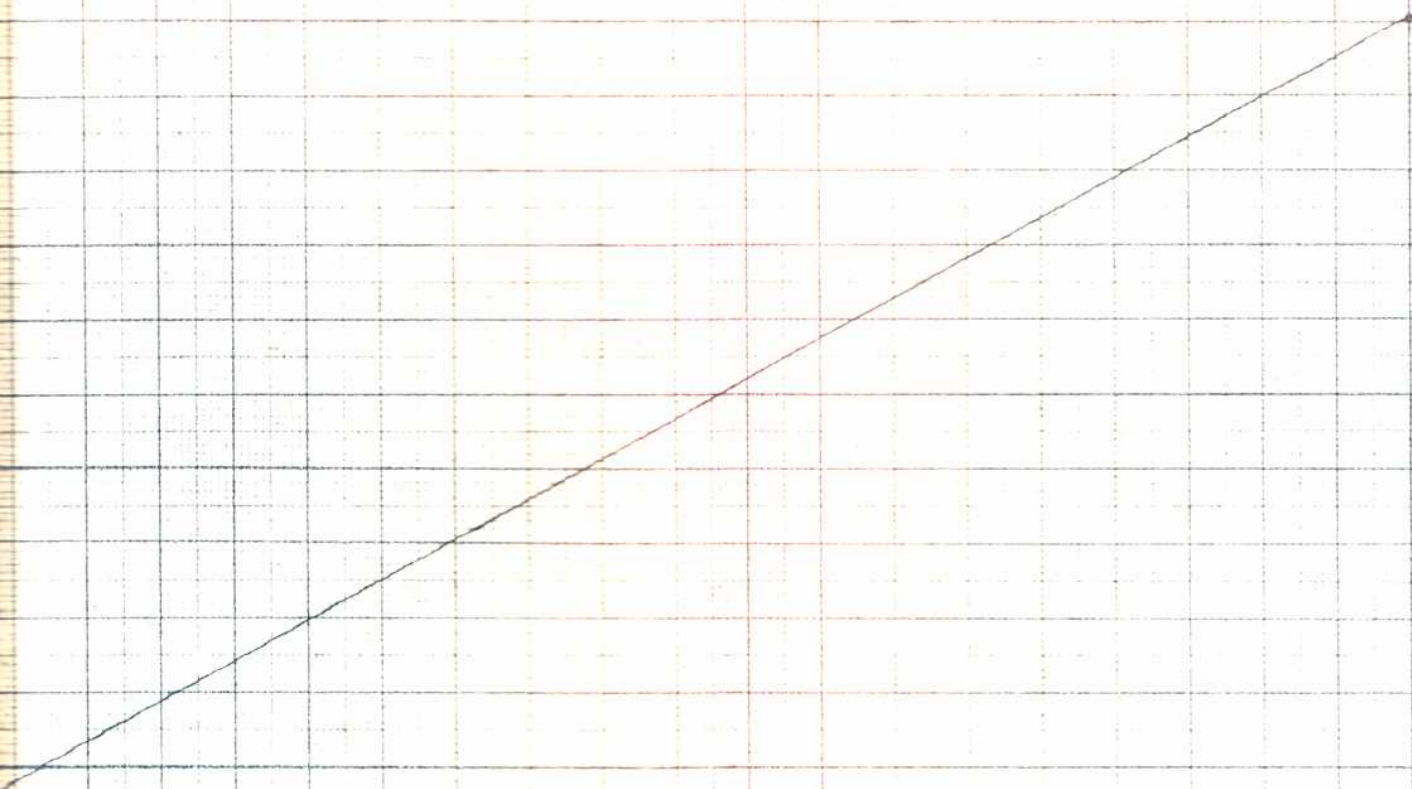
$$30\% : D_{15,4} = 1,4280$$

Extrapolando se obtiene como valor del índice de refracción (ver gráfico siguiente). $D : 1,5050$

INDICE DE REFRACCION A 14,5°C. DE LA



A RESINA DEL "NENEO"



INVESTIGACION DE LA PRESENCIA DE COMPUESTOS CARBONILICOS

1) Se preparó una solución al 10% de la resina en etanol libre de aldehidos y se procedió a identificar la presencia de compuestos carbonílicos, preparando con éstos las 2-4 dinitrofenilhidrazonas siguiendo la técnica dada por Shriner y Fuson (32).

Se prepara una solución del reactivo agregando a 0,4 g. de 2-4 dinitrofenilhidrazina pura, en un Erlenmeyer pequeño, 2 ml. de ácido sulfúrico concentrado y luego gota a gota y agitando 3 ml. de agua hasta solución completa y a esta solución caliente se agregan 10 ml. de alcohol de 95°.

A un ml. de la solución de resina se le agregó 5 ml. del reactivo anterior, generalmente a los 5 ó 10 minutos comierza la cristalización, en esta oportunidad se dejó toda una noche en heladera. Apareciendo el derivado, se recrystalizó de alcohol con ácido acético glacial obteniéndose cristales de color anaranjado. P.F.: 182° C.

Investigación del ác. abiético y determinación del equivalente de neutralización de los ácidos.

Se preparó una solución de la resina en éter etílico aproximadamente al 5%.

Se partió de 100 ml. de solución y se trató con solución de CO_3Na_2 al 5%, con el fin de extraer los ácidos resínicos como sales de sodio, luego se liberaron de sus sales acidificando con solución de ác. clorhídrico y haciendo extracciones con éter.

Se obtuvieron 0,370 gr. de ácidos resínicos.

Sobre 21 mgrs. se realizó la reacción de Morawski, resultando negativa.

Técnica: "La resina se disuelve en igual volumen de anhídrido acético y se trata con una gota de ác. sulfúrico $D = 1,53$, se observa una coloración violeta fugaz en presencia de ác. abiético".

Con el resto de los ácidos resínicos se determinó el equivalente de neutralización.

Peso ác. resínicos: 0,349 g.

Alcali gastado : 8,1 ml. NaOH 0,1 N f = 0,9794.

I. A. = 127,5

Ensayos con la resina:

Para determinar en forma aproximada el valor que puede tener la oleo-gomoresina para barnices, se preparó una solución de 30 - 50 % de ésta en esencia de trementina y se hicieron ensayos sobre distintas superficies y se comprobó que era de secado lento. Con el fin de mejorarlo en este aspecto se adicionó de aceite de lino doble cocido, pero continúa siendo el secado lento y presenta poca adherencia.

Usando la resina libre de aceite esencial y goma, soluble en éter de petróleo el barniz obtenido por disolución en esencia de trementina (partes iguales de resina y disolvente), presenta mejores características, secado más rápido, mayor adherencia y brillo.

A C E I T E E S E N C I A L
= = = = =

A) DETERMINACIONES FISICAS

Caracteres organolépticos	pág. 50
Peso específico a 14,5° C	" 50
Indice de refracción a 14,5° C	" 50
Poder rotatorio	" 50
Destilación fraccionada	" 56
Cromatografía en placa	" 59
Espectrofotometría (absorción en el ultra- violeta)	" 61
Cromatografía gaseosa	" 68
Espectroscopia infra-roja	" 78

A) DETERMINACIONES FISICAS

Caracteres organolépticos:

Aspecto: producto oleoso, límpido.

Color: amarillo muy pálido recién destilado.

Olor: Suigeneris.

Peso específico a 14,5° C

$$\text{Pe} : 0,8407 \frac{\text{gr.}}{\text{cm}^3}$$

Indice de refracción a 14,5° C.

Se empleó el refractómetro de Abbe, que permite efectuar la lectura con luz blanca ya que dispone de un sistema compensador para obtener el dato para la línea D del espectro, en que se suele expresar

$$\begin{matrix} 14,5 \\ D \end{matrix} = 1,4650$$

Poder rotatorio (rotación óptica o desviación polarimétrica.)

Se usa el polarímetro de Lippich y luz de Na, a 20° C, empleando tubos de longitud adecuada según el color del aceite esencial y su poder rotatorio

$$\begin{matrix} 20 \\ D \end{matrix} : - 16$$

CROMATOGRAFIA EN COLUMNA

Los resultados obtenidos en las determinaciones químicas nos indujeron a pensar en la existencia de hidrocarburos, posiblemente del tipo terpénico, aldehidos y cetonas en el **aceite** esencial.

Con el fin de separar y estudiar los hidrocarburos presentes se empezó por eliminar los compuestos carbonílicos, para ello se procedió a destilar una parte de la muestra sobre sodio metálico, a presión reducida.

Separación de los hidrocarburos:

En el presente trabajo hemos tratado de separar los hidrocarburos terpénicos que estaban en la muestra mediante el uso de una columna cromatográfica de gel de sílice, y su posterior reconocimiento preparando los derivados bromados, nitrosocloruros etc.

Los hidrocarburos terpénicos adsorbidos selectivamente en la columna de gel de sílice son luego eluidos progresivamente, conforme a sus isotermas de adsorción, mediante el uso de otra sustancia (como ser tolueno, benceno y otros), que es adsorbida más intensamente y desplaza a los hidrocarburos terpénicos que son eluidos con el disolvente utilizado como soporte.

La separación de una mezcla de hidrocarburos por medio de adsorción selectiva se basa en el hecho de que la tendencia de éstos a ser absorbidos decrece en el orden aromáticos > olefinas > saturados y la capacidad que tiene el gel para la absorción de olefinas aumenta del siguiente modo: cadena derecha ' cadena ramificada olefina cíclica.

Para realizar la cromatografía se respetaron las condiciones óptimas encontradas para realizarla por la Dra. Gallardo Isabel (Trabajo de Tesis) que son las siguientes:

Sílice: Mallinckrodt o Inpkem: 50% de 90 mallas y 50% de 200 mallas, activada a 0,5 mm Hg durante 1 hora.

La columna no debe estar seca en ninguna parte pues sino se agrieta y ya no sirve.

Temperatura: $3 \pm 0,5^{\circ} \text{C}$, refrigerando con agua salada helada (obtenida

con una mezcla de hielo, agua y sal).

Solvente 7: libre de aromáticos.

Eluyente: Tolueno, benceno ú otro que absorba más fuertemente, no se deben usar soluciones más concentradas del 30%.

Velocidad: Aproximadamente 0,5 ml. por minuto.

Técnica seguida para eliminar aromáticos:

1) Se preparó mezcla sulfonítrica en proporción 2 mole SO_4H_2 + 1 mol NO_3H en cantidad suficiente como para nitrar 100 ml. de benceno.

Se agregó el NO_3H sobre el SO_4H_2 en baño de hielo teniendo la precaución de hacerlo lentamente con el fin de evitar que se eleve la temperatura y luego sobre la mezcla, siempre agitando despaciosamente un litro del solvente 7; se agitó con agitador mecánico durante ocho horas a unos 40°C .

Después se lavó con agua; luego con solución concentrada de SO_4H_2 , en el cual el nitrobenceno es muy soluble, al separar la solución del SO_4H_2 éste tenía fuerte olor a nitrobenceno.

Luego se lavó con agua, con solución de NaOH diluído, con agua y después de tratar con SO_4Na_2 anhidro, se destiló con columna de fraccionamiento recogiendo la fracción que pasó entre $65^\circ - 68^\circ \text{C}$.

Esta técnica no dió resultado pues quedaban aromáticos sin nitrar.

Se varió la técnica anterior utilizando oleum.

Procedimiento:

Se trata un litro de solvente 7 en ampolla de decantación con porciones de $1/3$ parte o menos de oleum(hay que manipular con sumo cuidado pues se calienta),dejando enfriar luego de cada agregado, agitar, esperar que se separen las dos capas y a continuación retirar la capa de oleum,ésto se repite tantas veces hasta que el oleum **salga** con un color muy próximo al natural.

Después se trata con SO_4H_2 concentrado hasta que salga incoloro. Luego se lavó con agua dos o tres veces y luego con alcali aproximadamente 4N (NaOH, por ej. con dos porciones de 100 ml), después se lavó nuevamente

on agua y luego de secarlo con SO_4Na_2 para secarlo se pasa a un balón de destilación y se destila con columna de fraccionamiento recogiendo una fracción que pasa entre $65^\circ - 68^\circ$.

de esta manera **o**btúvose un solvente libre de aromáticos comprobándose haciendo una espectrofotometría de adsorción en el ultravioleta.

ensayos preliminares:

Para constatar la adsorción de la sílice se realizaron ensayos pesando 1 gr. de silicagel (50% 90 mallas, 50% 200 mallas) en un vasito de precipitados, colocándolo en un baño de hielo y sal, $t^\circ: - 1^\circ \text{C}$, en otro matraz se enfrió una mezcla formada por Careno D^3 y solvente 7 en la relación de un 1 cc. del primero por 4 cc. del segundo (20%).

Una vez fríos se agregó con pipeta aforada 5 cc. de la mezcla sobre la sílice, se agitó durante 10 minutos, luego se decantó, se dejó tomar la temperatura ambiente y se determinó el índice de refracción antes y después de la adsorción.

Como la adsorción había sido pequeña se activó la sílice a 0,5 mm Hg durante 1 hora, se volvió a repetir el ensayo anterior con las mismas cantidades de sílice y de mezcla, observándose que nuevamente la adsorción había sido pequeña, por lo cual se activó la sílice aumentando la temperatura. La adsorción es pequeña, se varió la proporción de la sílice utilizando una mezcla de una tercera parte de 90 mallas y el resto de 200 mallas. Se repitieron los ensayos anteriores obteniéndose resultados más satisfactorios.

Columna:

La sílice, se coloca en la columna en forma de "Slurry" masa empapada. Para ello se pesó 10 g. de sílice (tercera parte de 90 mallas, el resto de 200 mallas); activadas al vacío a alta temperatura durante 1 hora y se agregó 20 ml. de solvente N° 7 agitando bien hasta obtener una masa sin grumos; la mezcla se agregó lo más rápidamente en la columna que es de vidrio Pyrex 1 x 50 cm., el adsorbente nunca debe estar seco, sino resulta una columna de rendimiento nulo.

Cromatografía N° 1:

Se preparó la columna en la forma descripta refirgerándola a 3° ± 0,5°C durante 10 minutos, luego se agregó la muestra: 2 cc. del aceite esencial al 20% en solvente 7, cuando las últimas trazas de dicha muestra fueron lavadas con solvente 7, se agregó el eluyente benceno al 25%. Para aligerar la columna se aplicó presión en la parte superior de forma que se consiguió una velocidad adecuada.

Se fueron recogiendo fracciones de 0,5 ml. en diferentes tubos y se determinó el índice de refracción a cada uno de ellos.

Solv. 7 $\frac{10}{D} = 1,3850$ Benceno al 25% $\frac{10}{D} = 1,4125$

Tubo	$\frac{10}{D}$	t.	D	t.	D	t.	D	t.	D
1	1,3850	9	1,3850	17	1,3870	25	1,4060	33	1,4116
2	1,3850	10	1,3850	18	1,3883	26	1,4080	34	1,4116
3	1,3850	11	1,3850	19	1,3910	27	1,4090	35	1,4125
4	1,3850	12	1,3850	20	1,3920	28	1,4100	36	1,4125
5	1,3850	13	1,3850	21	1,3950	29	1,4100		
6	1,3850	14	1,3850	22	1,3980	30	1,4105		
7	1,3850	15	1,3850	23	1,4020	31	1,4110		
8	1,3850	16	1,3860	24	1,4040	32	1,4110		

Cromatografía N° 2:

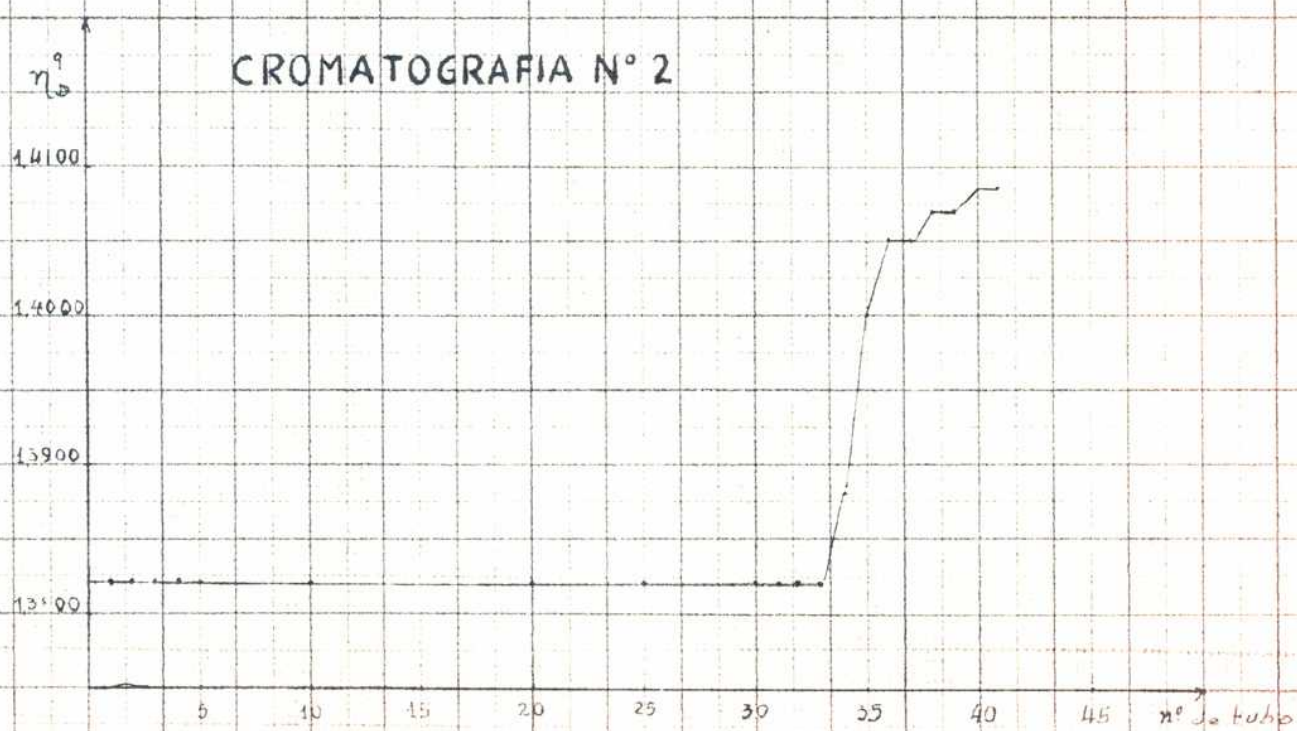
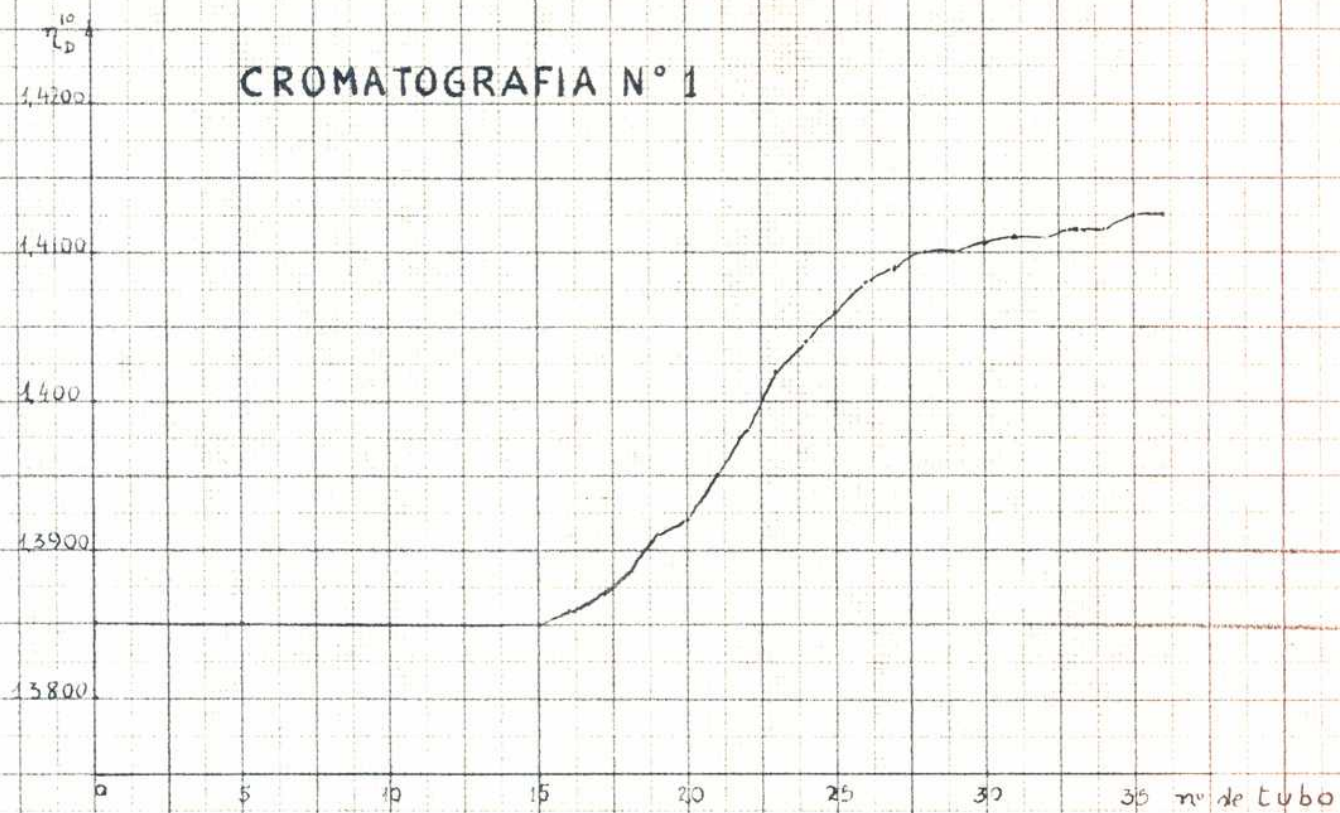
Muestra: 2 ml. de aceite esencial neneo al 20%.

Columna: 10 g. Si O₂ (1/3 90 mallas, resto 200 mallas)

Solvente 7: libre de aromáticos.

Eluyente: Benceno al 25%, 1 tubo /minuto.

Tubo	$\frac{10}{D}$	t.	D	t.	D	t.	D	t.	D	t.	D
1	1,3820	9	1,3820	17	1,3820	25	1,3820	33	1,3820	41	1,4085
2	1,3820	10	1,3820	18	1,3820	26	1,3820	34	1,3880	42	1,4085
3	1,3820	11	1,3820	19	1,3820	27	1,3820	35	1,400		
4	1,3820	12	1,3820	20	1,3820	28	1,3820	36	1,4050		
5	1,3820	13	1,3820	21	1,3820	29	1,3820	37	1,4050		
6	1,3820	14	1,3820	22	1,3820	30	1,3820	38	1,4070		
7	1,3820	15	1,3820	23	1,3820	31	1,3820	39	1,4070		
8	1,3820	16	1,3820	24	1,3820	32	1,3820	40	1,4085		



A pesar de haber trabajado con las condiciones óptimas de eficiencia de estas columnas las tentativas realizadas para separar los componentes de la muestra han sido infructuosas. Por lo cual la muestra fué sometida a una destilación fraccionada.

Destilación Fraccionada:

Dado que un aceite esencial es una mezcla compleja de muchos componentes, la destilación fraccionada es una ayuda importante para la separación de los mismos.

Las condiciones en que debe efectuarse dependen no sólo de la composición química de la esencia sino también de la proporción relativa de los componentes. La destilación a presión normal tiene el inconveniente de que las altas temperaturas pueden provocar modificaciones en la esencia que se ponen de manifiesto por la aparición de coloraciones diversas, variaciones en el poder rotatorio, etc. inconvenientes que se subsanan efectuando la destilación a presión reducida. Aún empleando este método se obtienen fracciones con 2 o más componentes, si sus temperaturas de destilación son muy próximas.

Se destilaron 20 ml. de la esencia a presión reducida, empleando una columna de Longenecker.

Descripción de la columna:(34).

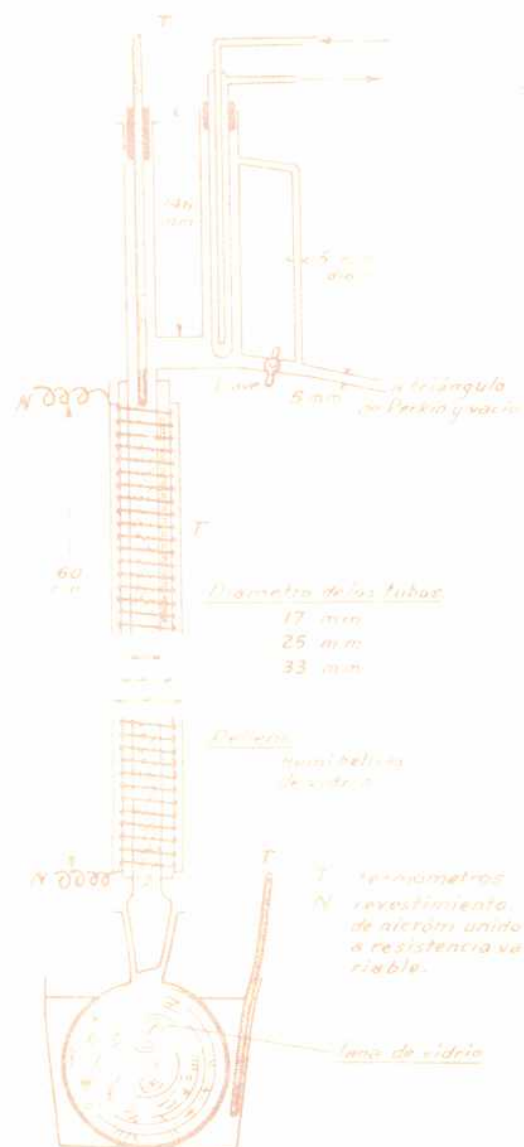
La columna es totalmente de vidrio Pyrex, siendo visible toda la operación. Tiene 90 cm. de altura; el diámetro interior es de 17 mm.

En el interior hay 60 cm. con hélices de vidrio. Para reducir la pérdida de calor y mantener el control de las condiciones de destilación, la columna es calentada eléctricamente con 15 pies de alambre de nicromo enrollado en un tubo Pyrex de 25 mm. de diámetro y a lo largo de toda la zona con hélices de vidrio. Esta camisa caliente está protegida y aislada por un tubo Pyrex de 33 mm. de diámetro. El control de la temperatura de la columna, registrado en un termómetro colocado entre la columna y la camisa eléctrica, se regula por medio de resistencias externas variables. En la parte superior de la columna hay también un termómetro. Los vapores ascendentes rozan su bulbo en su camino hacia el condensador.

La recolección del destilado es regulada por una llave, que está colocada debajo del condensador, mientras que una conexión aparte mantiene la

Columna Rectificadora "LONGENECKER"

"50 a 1000 cc. por hora" A PRESION REDUCIDA



aja presión cuando la llave está cerrada.

a máxima eficiencia se obtiene regulando las temperaturas del baño y a columna de manera que no haya acumulación visible de líquido en la ona de máxima congestión.

a velocidad de destilación y por lo tanto la de recolección del producto condensado se controla por la llave que lleva la cabeza de la columna. La llave está cerrada al comenzar la destilación y frecuentemente urante la recolección de fracciones intermedias, para permitir la existencia del equilibrio fase vapor-líquido. Las fracciones se recogen a ravés de un receptor tipo Perkin, de manera de poder retirar el destiado sin romper el vacío del aparato.

os resultados están consignados en el cuadro siguiente:

Frac ción	Peso	Presión	Temp. destilación	Temp.en columna	Temp.en balón	Indice refracción
Nº	g.	mm/Hg	a C.	a C.	a C.	a 24º
1	3,6190	30	61-61,5º	75	94	1,4564
2	3,7462	30	61-61,5	75	94	1,4575
3	3,8122	30	61-61,5	75	85	1,4580
4	2,2198	30	61-61,5	75	90-105	1,4600
5	1,4170	30	61-61,5	88	115	1,4615
6	0,8265	10	47,5	88	123	1,4680
7	0,3937	4-5	43	88	128	1,4790
8	0,2602	3-4	43	88	145	1,4835
Resi duo	1,0279					1,4880

omo los resultados obtenidos mediante la destilación fraccionada anterior no fueron satisfactorios ya que no se separaron fracciones de componentes puros, siendo éstas formadas por mezclas de varios componentes hecho comprobado mediante la determinación de los índices de refracción de cada una de ellas, se efectuó una redestilación del aceite esencial a la cual se agregó propilen glicol.

Se obtuvieron 5 fracciones que figuran en el cuadro siguiente:

Fracción	Presión	Temperatura destilación	Temperatura columna	Temperatura balón
Nº	mm Hg	° C	° C	° C
1	25	27,5-42	35	88
2	30	42,5	52	88
3	30	51,5-54	60	116
4	30-28	54,5-58	64	105
5	28	59-62	64	129-135

CROMATOGRAFIA EN PLACA

Investigación de carbonílicos

Preparación de placa adsorbente:

a) Placa de vidrio de 3 mm. de espesor aproximadamente. El tamaño es de 20 cm x 11 cm. Cada placa usada debe ser antes contrastada para verificar si el espesor es uniforme y asegurarse así que la placa adsorbente también lo es.

b) Preparación de la mezcla adsorbente.

30 gr. de ác. silícico, tamizado por tamiz de 200 mallas, se mezclan con 3 g. de almidón molido a polvo fino, éste actúa como material ligante. Se agrega a la mezcla 60 ml. de agua. Preparada la suspensión se lleva a baño María a 35° C, agitando continuamente. Transcurrido un corto tiempo se observa que la mezcla comienza a espesarse, desaparecen los grumos y adquiere consistencia gelatinosa. Continuando la agitación se retira del baño y deja enfriar, la masa espesa más; cuando está completamente fría se agrega 10 ml. de agua y homogeneiza bien la pasta hasta notarla sin grumo ni asperezas.

La placa bien limpia y seca, se coloca entre dos bandas de vidrio elevadas 0,5 mm sobre el nivel de la placa central. La Mezcla se extiende con la mayor rapidez posible sobre la placa y luego usando las bandas como soporte se pasa una regla metálica limpia y seca; la placa debe quedar recubierta con una capa de 0,5 mm. de mezcla.

c) Se lleva la placa a estufa a 110° y deja durante 30 minutos.

d) Luego se somete al vacío de 0,5 mm. a 1 mm. de Hg sobre KOH durante 1 hora. A continuación se rompe el vacío con aire seco y se procede a sembrar las sustancias. Se introduce la placa en la cuba cromatográfica saturada con vapores del solvente; cuando el frente ha recorrido 15 cm. se retira la placa y se deja secar al aire.

Se colocaron 2 gotas aceite esencial "neneo" en la base de la placa y a la par carvona, cromatografiándose con éter de petróleo (PE 60-70) + 30% acetato de etilo. Para el revelado se pulverizó con una solución de

Cl H 2N saturada con 2-4 dinitrofenilhidrazina obteniéndose los siguientes resultados:

En frío: se obtuvo manchas de color:

- a) rosado rojizo o rojizo neta $R_c = 0,92 - 0,98$
- b) amarilla tenue más o menos neta $R_c = 0,71$
- c) amarilla (dudosa) $R_c = 0,55 - 0,57$
- d) amarilla anaranjada tenue $R_c = 0,15 - 0,19$

Queda un poco de base anaranjada.

Al calentar a 105°C durante 10 minutos:

- a) mancha violácea casi con el frente neta
- b) violácea suave neta $R_c = 1,18 - 1,22$
- c) color claro (verdosa?) neta $R_c : 0,92 - 0,98$
- d) violácea fuerte neta $R_c : 0,71 - 0,79$
- e) verdosa? más o menos neta $R_c : 0,55 - 0,57$
- f) violácea más o menos neta $R_c : 0,26 - 0,29$
- g) violácea o verdosa $R_c : 0,15 - 0,17$

El R_f de la carvona fué 0,51

Conclusiones:

Seguro carbonílicos

- a) rosado rojizo o rojizo $R_c = 0,92 - 0,98$ que pasa a color claro con el mismo R_c al calentar neta.
- b) amarilla tenue más o menos neta $R_c : 0,71$ que pasa a violácea fuerte al calentar con $R_c 0,71 - 0,79$ neta.
- c) amarilla $R_c : 0,55 - 0,57$ que pasa a verdoso? al calentar más o menos neta.
- d) amarillenta o anaranjada tenue $R_c : 0,15 - 0,19$ que pasa a violeta o verdoso con $R_c 0,15 - 0,17$ neta.

Aparecen al calentar (que?)

- a) mancha violácea casi con el frente neta.
- b) violácea suave (tenue) $R_c : 1,18 - 1,22$ neta.
- c) violácea $R_c : 0,26 - 0,29$ más o menos neta.

Espectrofotometría (absorción en el ultravioleta)

Se preparó una solución del aceite esencial del "neneo" al 2‰ en alcohol.

Se obtuvieron los siguientes valores:

Longitudes de onda	Extinciones
m ^μ (milimicras)	E
220	2,80
225	2,63
230	1,88
235	1,36
240	1,85
245	1,43
250	1,228
255	1,174
260	1,165
265	1,168
270	1,153
272	1,148
274	1,147
276	1,14
280	1,117
285	1,090
290	1,066
295	1,038
300	1,024
305	1,018
310	1,014
315	1,012
320	1,011
325	1,009
330	1,008
340	1,007
350	1,006

Absorción en el ultravioleta de la 2-4 dinitrofenilhidrazona de carboní-
licos volátiles neneo. Solución alcohólica 2‰.

Longitudes de onda	Extinciones
m μ (milimicras)	E
215	1,635
217	1,65
218	1,65
220	1,665
225	1,68
230	1,64
235	1,53
240	1,40
245	1,33
250	1,28
255	1,27
260	1,23
265	1,17
270	1,06
275	0,92
280	0,75
285	0,54
290	0,45
295	0,43
300	0,438
310	0,54
320	0,77
330	1,10
340	1,485
350	1,82
360	2,00
365	2,03
370	2,00
375	1,93
378	1,88
380	1,84
385	1,73
390	1,60
395	1,48
400	1,36

Absorción en el ultravioleta de la 2 - 4 dinitrofenilhidrazona de cetona pesada neneo. Solución alcohólica 2 ‰.

Longitudes de onda	Extinciones
m, (milimicras)	E
215	0,475
217	0,473
218	0,473
220	0,473
225	0,473
230	0,46
235	0,433
240	0,40
245	0,38
250	0,37
255	0,36
260	0,35
265	0,33
270	0,305
275	0,27
280	0,227
285	0,182
290	0,158
295	0,145
300	0,135
310	0,133
320	0,165
330	0,235
340	0,325
350	0,42
360	0,50
370	0,53
375	0,535
378	0,528
380	0,52
385	0,505
390	0,48
395	0,45
400	0,415

Absorción ultravioleta de la 2 - 4 dinitrofenilhidrazona del ácido cetónico obtenido por oxidación fracción 1 de la destilación en columna. Solución alcohólica 2 ‰.

Longitudes de onda m ^μ (milimicras)	Extinciones E.
215	0,903
217	0,91
218	0,915
220	0,915
225	0,97
230	1,02
235	1,00
240	0,94
245	0,88
250	0,815
255	0,79
260	0,76
265	0,73
270	0,68
275	0,60
280	0,495
285	0,35
290	0,225
295	0,18
300	0,184
310	0,255
320	0,40
330	0,62
340	0,89
350	1,15
360	1,32
370	1,37
375	1,33
378	1,30
380	1,27
390	1,06
400	0,84

Absorción en el ultravioleta de la cetona fracción pesada del neneo.

Solución alcohólica 2 ‰.

Longitud de onda	Extinciones
m, μ (milimicras)	E.
215	1,80
217	1,815
218	1,815
220	1,825
225	1,80
230	1,90
235	1,87
240	1,77
245	1,565
250	1,3
255	1,05
260	0,86
265	0,72
270	0,625
275	0,56
280	0,575
285	0,47
290	0,425
295	0,37
300	0,325
310	0,235
320	0,165
330	0,11
340	0,076
350	0,053

Absorción en el ultravioleta de la 2 - 4 dinitrofenilhidrazona de cetona neneo. Solución alcohólica 2‰.

Longitud de onda m μ (milimicras)	Extinciones E.
215	1,32
217	1,33
218	1,33
220	1,34
222	1,35
225	1,36
230	1,33
232	1,30
235	1,25
240	1,16
245	1,10
250	1,08
255	1,08
260	1,06
265	1,02
270	0,95
275	0,84
280	0,69
285	0,525
290	0,44
295	0,41
300	0,41
305	0,435
310	0,48
320	0,63
330	0,87
340	1,13
350	1,36
360	1,50
365	1,52
370	1,51
375	1,47
378	1,43
380	1,42
390	1,26

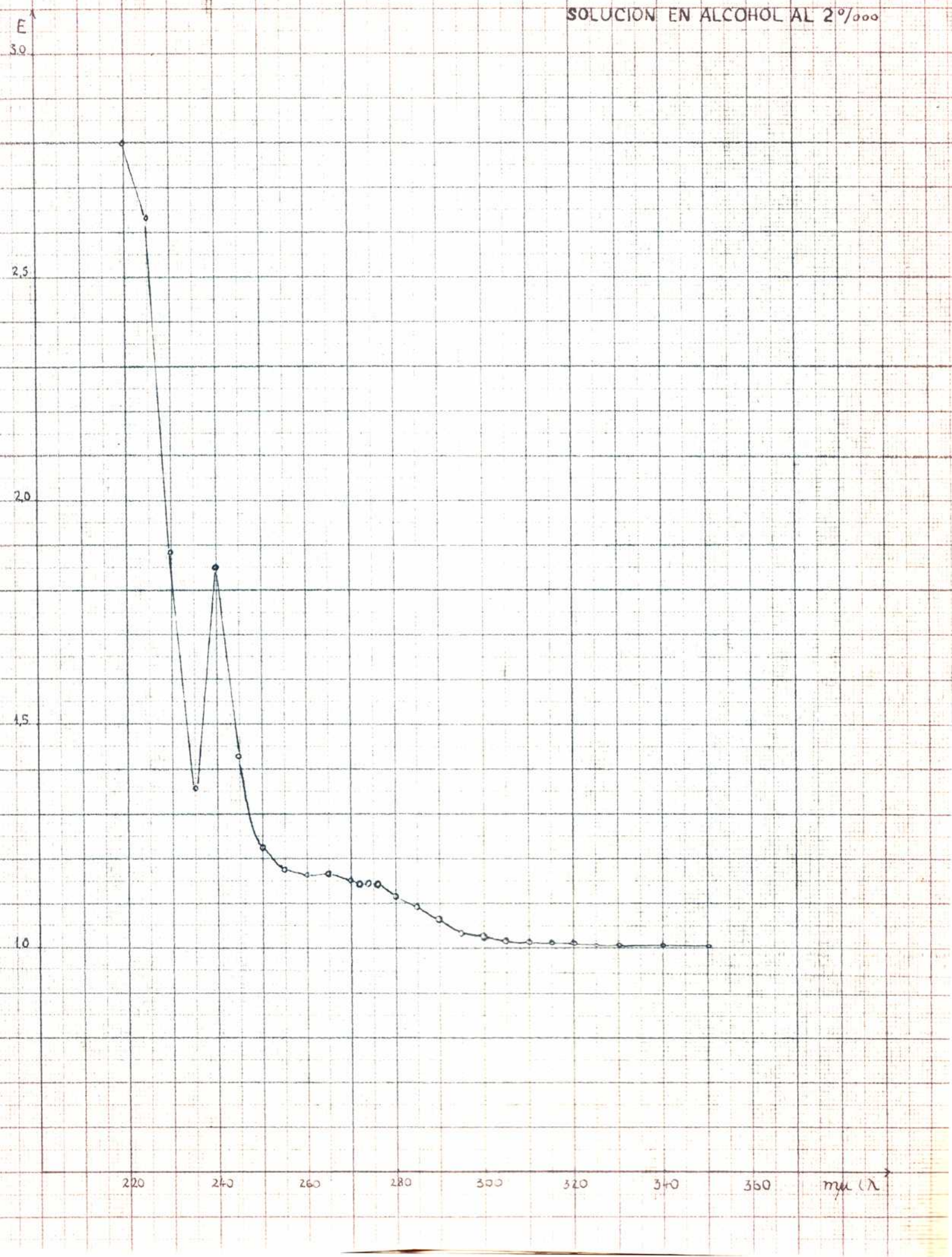
CONCLUSIONES:

Del estudio de los espectros de las 2 - 4 dinitrofenilhidrazonas se desprende:

- 1) La cetona aislada del aceite entero podría corresponder a una cetona del tipo ciclohexanona.
- 2) En cambio la cetona pesada se inclina hacia el tipo alifático.
- 3) El carbonílico volátil se aproxima al tipo ciclohexanona.
- 4) El ácido cetónico (obtenido por oxidación de la fracción 2) se asemeja al tipo terpénico cíclico saturado aunque no netamente. Podría corresponder al ác. pinónico obtenido por oxidación del α pineno.

CURVA DE ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA DEL ACEITE ESENCIAL DEL 'NENEO'

SOLUCION EN ALCOHOL AL 2‰



CURVA DE ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA DE LA 2-4 DINITROFENILHIDRAZONA DE CARB

VOLATILES DEL NENEO

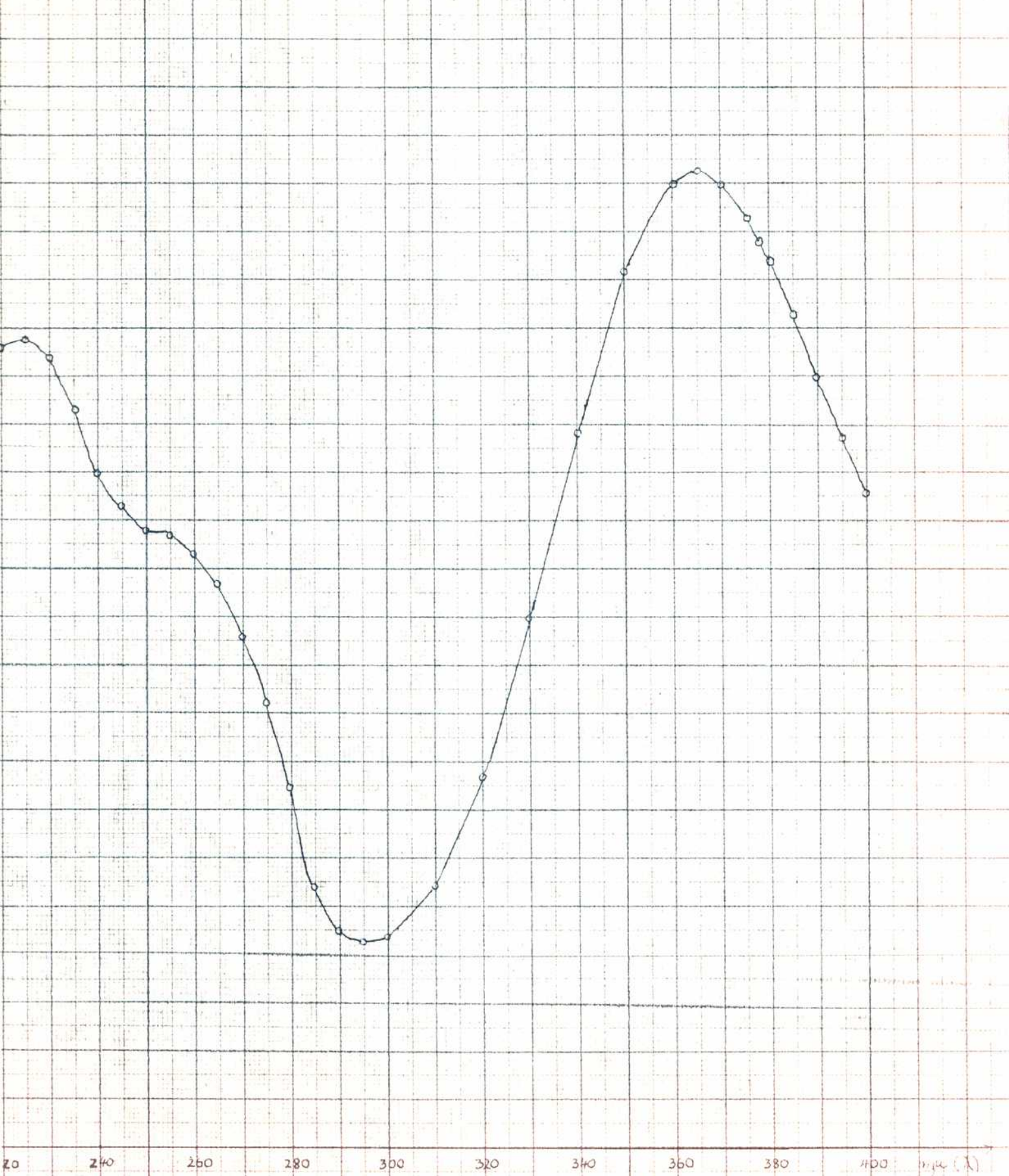
SOLUCION ALCOHOLICA A



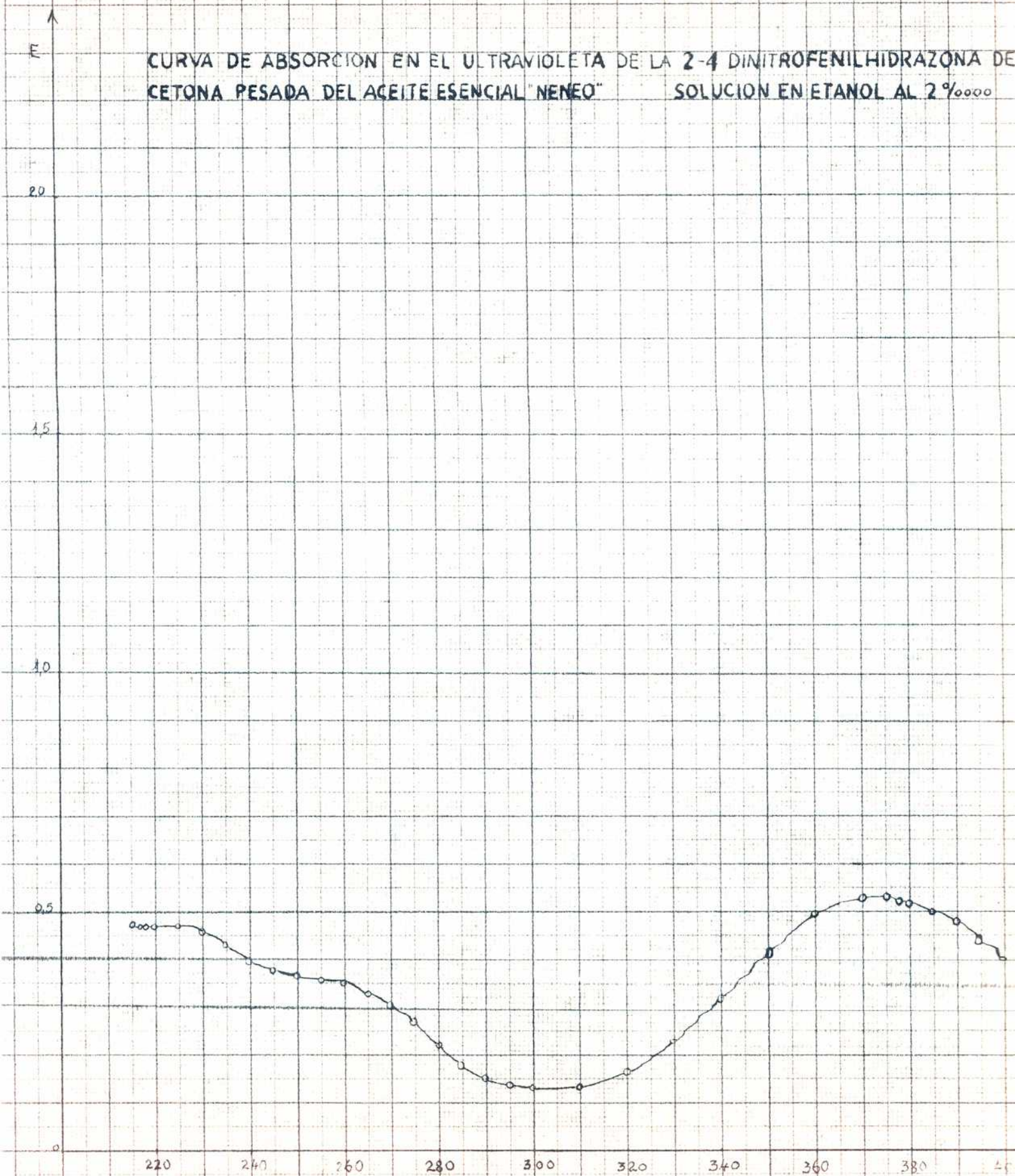
YA DE ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA DE LA 2-4 DINITROFENILHIDRAZONA DE CARBONILICOS

ATILES DEL NENEO

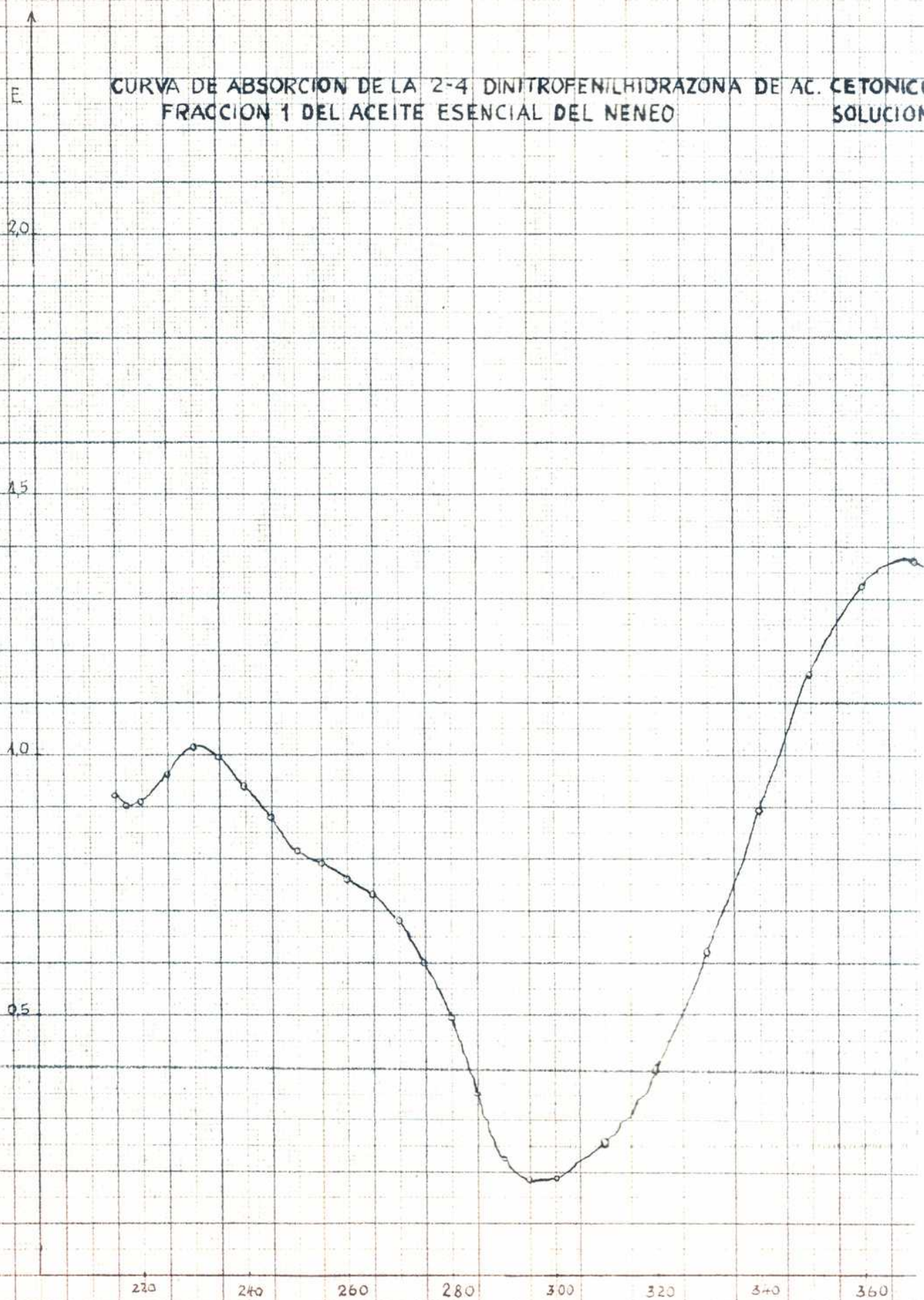
SOLUCION ALCOHOLICA AL 2%₆₀₀₀



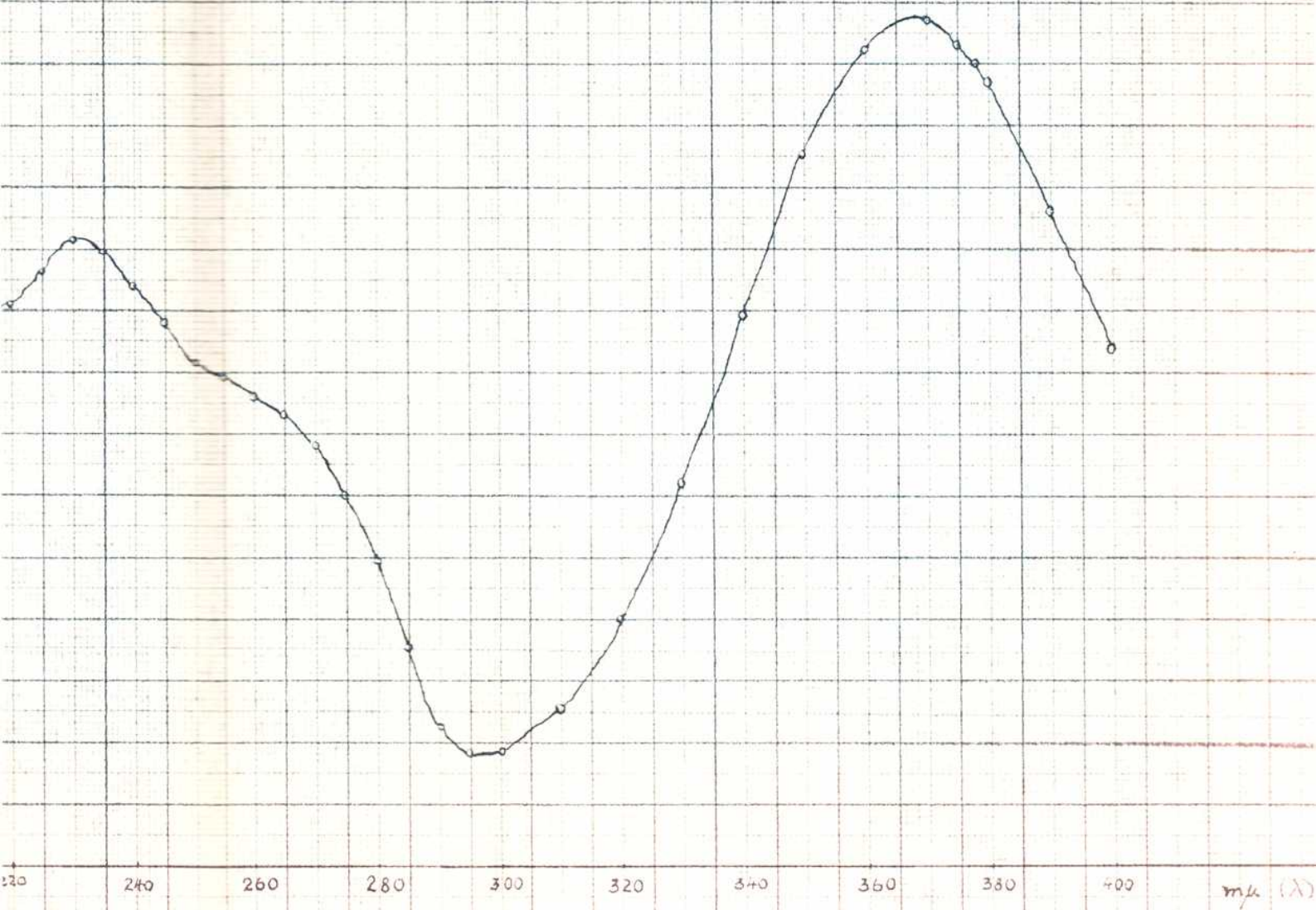
CURVA DE ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA DE LA 2-4 DINITROFENILHIDRAZONA DE
CETONA PESADA DEL ACEITE ESENCIAL "NENEO" SOLUCION EN ETANOL AL 2‰



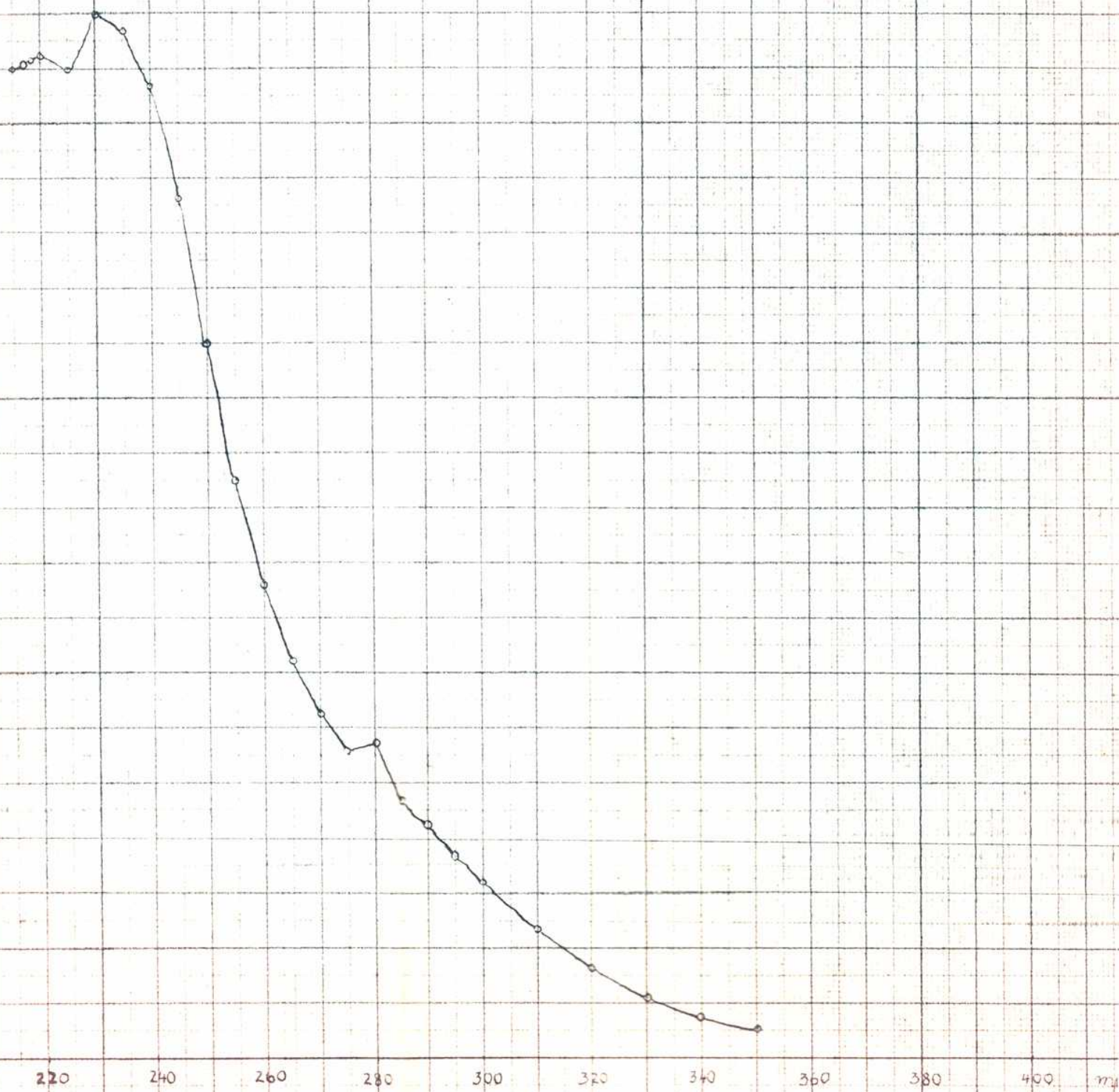
CURVA DE ABSORCION DE LA 2-4 DINITROFENILHIDRAZONA DE AC. CETONICA
FRACCION 1 DEL ACEITE ESENCIAL DEL NENEO SOLUCION



CURVA DE ABSORCIÓN DE LA 2-4 DINITROFENILHIDRAZONA DE AC. CETÓNICO OBTENIDO POR OXIDACIÓN
FRACCIÓN I DEL ACEITE ESENCIAL DEL NENEO SOLUCIÓN EN ETANOL AL 2‰

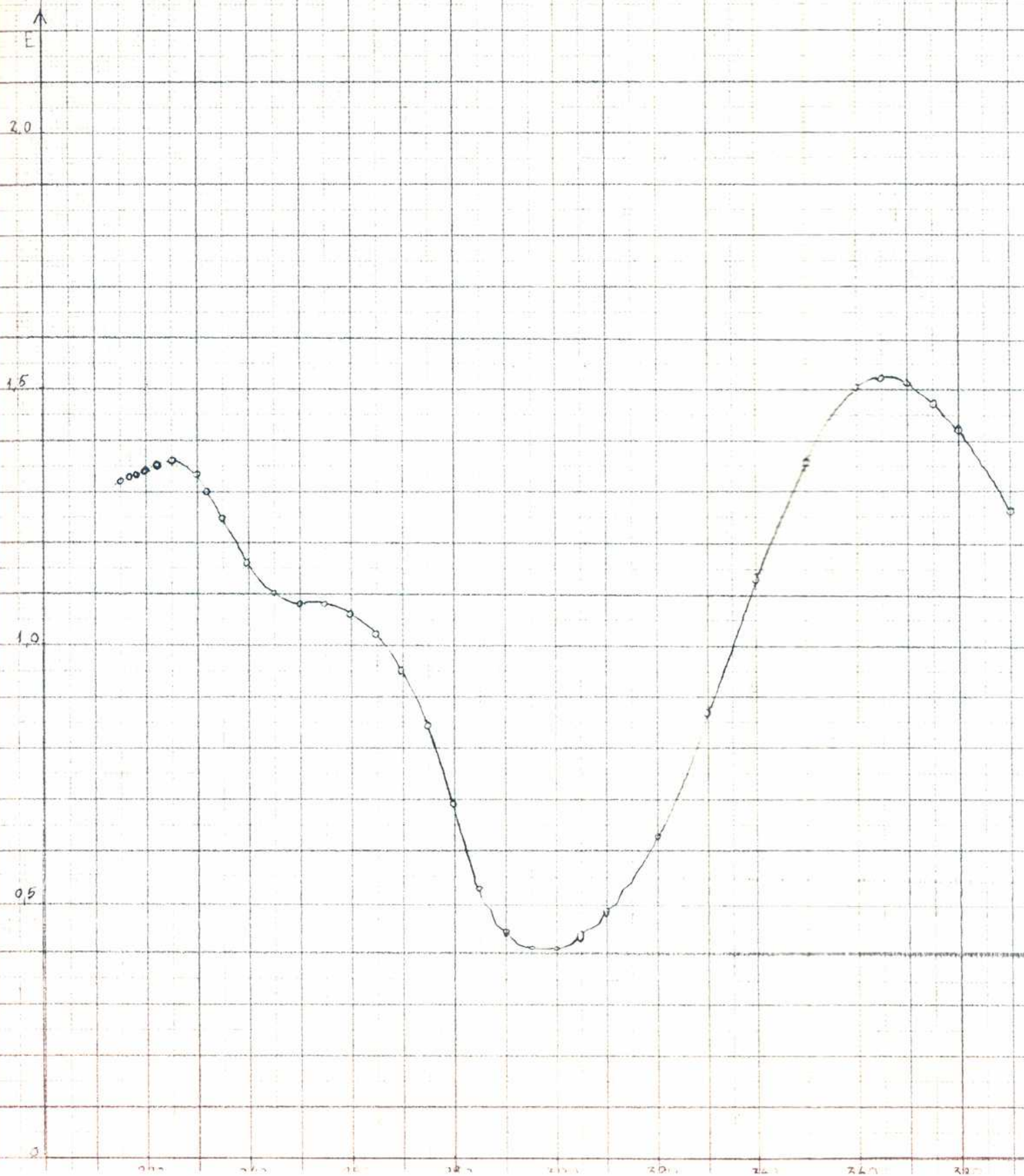


CURVA DE ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA DE LA CETONA FRACCION PESADA DEL NENEO
SOLUCION EN ETANOL AL 2‰

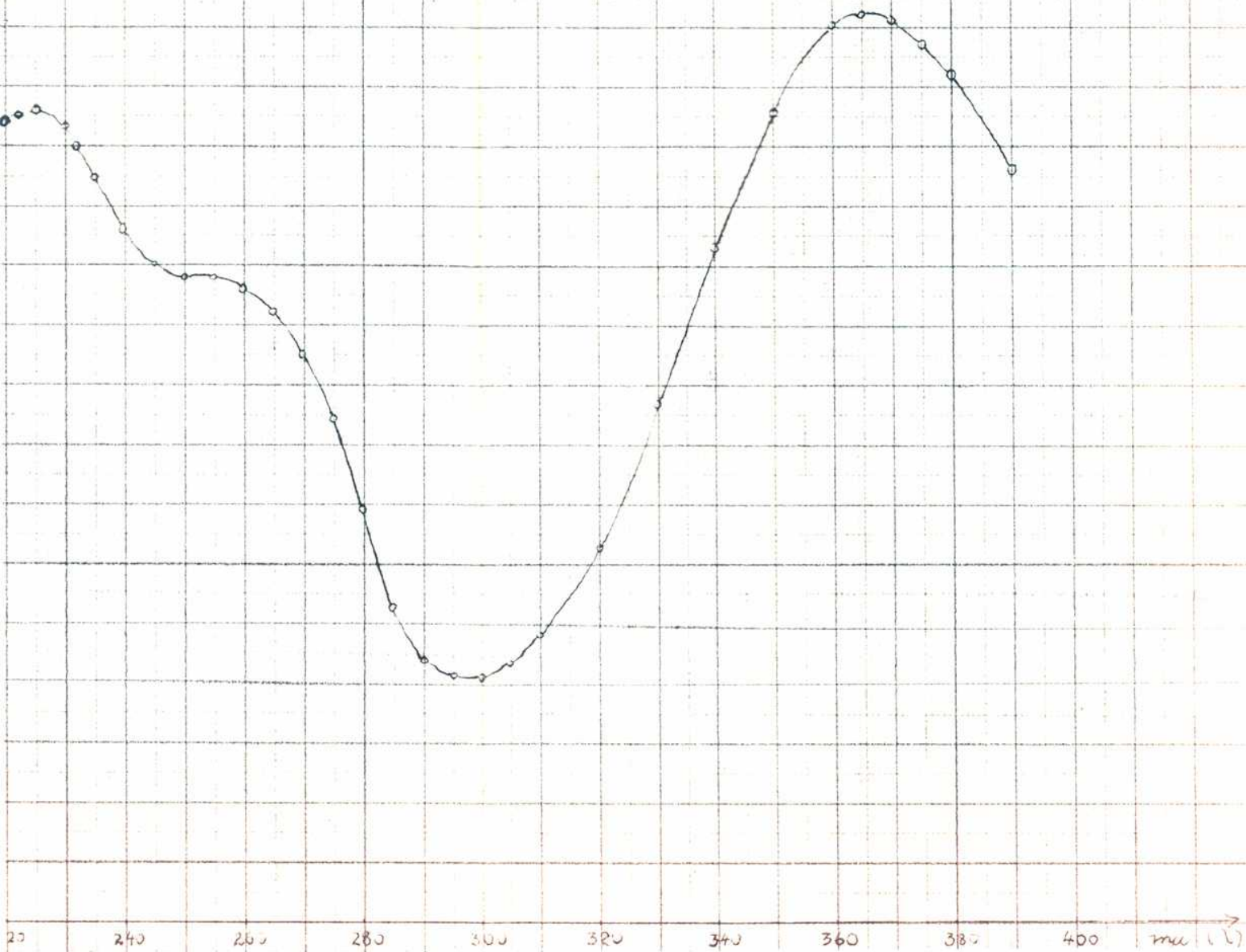


siendo este máximo en 215 mμ

CURVA DE ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA DE LA 2-4 DINITROFENILHIDRAZONA DE CETON
SOLUCION EN ALCOHOL A



DE ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA DE LA 2-4 DINITROFENILHIDRAZONA DE CETONA NENEO
SOLUCION EN ALCOHOL AL 2%⁰⁰⁰⁰



CROMATOGRAFIA GASEOSA

Para completar nuestro trabajo se realizó la cromatografía gaseosa, siendo este método uno de los mayores avances realizados en los últimos años.

Esta nueva técnica cromatográfica desarrollada por Martín y Singe, que se vá perfeccionando día a día, por su mayor sensibilidad y cantidades mínimas de muestra requerida generalmente del orden del microlitro o inferiores, abre nuevas posibilidades para la resolución de mezclas completas (35).

El término cromatografía gaseosa es usado para aquellas técnicas en las cuales la tradicional fase líquida es reemplazada por un gas. Las separaciones que son efectuadas, mediante este método dependen de la repetida distribución de las sustancias a ser separadas entre el gas y la fase fija empaquetada en la columna.

La cromatografía puede ser por adsorción o por partición según que la fase fija es un adsorbente o un adsorbente líquido con un material soporte inerte. Las sustancias a ser separadas se moverán a través de la columna en una corriente gaseosa y en general a temperatura inferior a la temperatura crítica es decir que son realmente vapores.

La muestra se introduce en el cromatógrafo, ya sea al estado gaseoso o líquido pues como el aparato está a una temperatura que es aproximadamente la temperatura de ebullición de la muestra, **pasa enseguida** al estado gaseoso y es arrastrada por un gas que actúa como desarrollante y eluyente ej.: hidrógeno, nitrógeno, helio, argón etc.

Los diferentes aparatos usan diversos medios para detectar la salida de las fracciones separadas; ya sea mediante un Katarómetro que aprecia la diferencias en milivoltios de conductividad entre el gas soporte y el gas más cada fracción separada; o mediante argón activado con radiación beta etc. Las columnas utilizadas tienen una efectividad resolutive superior a los mil platos teóricos.

El poder separador de la columna depende de un número de factores, in -

cluyendo la naturaleza y cantidad de líquido estacionario, el tamaño de la partícula del soporte, la uniformidad de empaquetamiento, la longitud y diámetro de la columna, la temperatura, la naturaleza, velocidad y presión de distribución del gas carrier, las propiedades de los componentes de la mezcla a ser separadas en su solución en el solvente y el tamaño de la muestra. En aplicaciones analíticas la última es como una regla muy pequeña, varía entre 1 - 100 mg. El límite superior está determinado principalmente por las dimensiones de la columna.

Existen columnas que tienen altas eficiencias pero el último puede solamente ser realizado efectivamente si la muestra después de la introducción ocupa solamente una pequeña sección elemental de la columna.

De otro modo las bandas de elución se vuelven más anchas. Es por tanto de importancia emplear pequeñas muestras. La introducción exacta de muy pequeñas muestras ocasiona problemas. Las muestras líquidas pueden ser introducidas por medio de una micropipeta, un tubo capilar, una jeringa hipodérmica mediante una cápsula de suero ó por ruptura de una ampolla sellada. Los gases pueden introducirse por entrapamiento y medida del volumen forzándolo luego hacia la columna mediante el gas carrier.

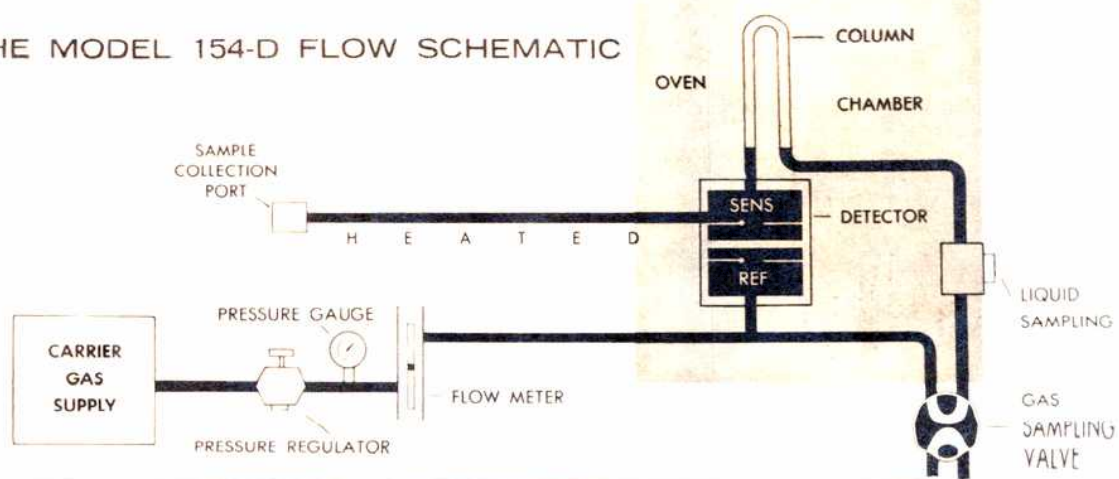
Cada componente separado aparece en el gráfico trazado por un registrador como un pico, representado cada uno de ellos un componente puro y el orden en que aparecen es el del tiempo de retención que está vinculado a su temperatura de ebullición y magnitud molecular.

Esta nueva técnica viene siendo aplicada a los aceites esenciales permitiendo resolver mezclas, determinar el grado de pureza de una sustancia, etc.

El análisis cualitativo y cuantitativo de mezclas naturales y sintéticas de terpenos es engorrosa y requiere bastante tiempo siendo la cromatografía gaseosa de gran valor potencial en este campo.

Se han estudiado y determinado datos de retención relativa de numerosos hidrocarburos terpénicos y compuestos relacionados con ellos con diferentes columnas como Ftalato de didecyl y carbowax y los datos obtenidos

THE MODEL 154-D FLOW SCHEMATIC



son de un valor incalculable para el analista.

La caracterización y análisis cuantitativo de mezclas de hidrocarburos terpénicos y sus derivados son sumamente dificultosos. La mayor parte de las mezclas de terpenos naturales y sintéticos contienen muchos compuestos y grupos grandes de estos compuestos incluye, isómeros geométricos de posición y ópticos que tienen propiedades físicas y químicas similares. Además muchos terpenos son fácilmente isomerizables ú oxidables.

La cromatografía gaseosa posee ventajas inherentes que la hacen interesante para la caracterización y análisis cuantitativo de los mismos. Estas incluyen alta eficiencia de separación, poco tiempo de retención en la columna cromatográfica, uso de una atmósfera inerte durante el análisis, deja libre de azeótropos y la aplicabilidad a muestras sumamente pequeñas como dijimos.

Además la cromatografía gaseosa ha probado ser un poderoso auxiliar de técnicas ultravioletas infrarojos y espectrógrafo de masa.

También resulta de mucha utilidad para ser aplicada a fracciones separadas por otros métodos físicos y químicos.

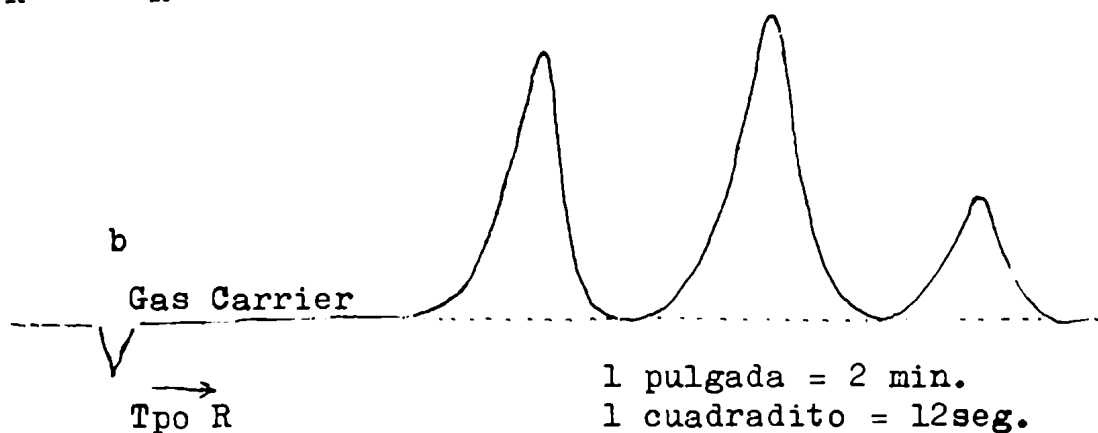
Para los fines comparativos de los cromatogramas problema y tipo se deben fijar las condiciones de la operación a saber:

- 1°) Gas.
- 2°) Fase fija y relleno.
- 3°) Columna $\left\{ \begin{array}{l} \text{longitud.} \\ \text{diámetro.} \end{array} \right.$
- 4°) Temperatura de operación.
- 5°) Presión de gas (psi).
- 6°) Flujo del gas (ml/min.)
- 7°) Velocidad de registro.

Se calculan a los fines también de comparación.

T_R = tiempo de retención en min. (corresp. a ubicación del vertice del pico) a partir del comienzo de salida del aire.

$$V_R = T_R \times \text{flujo} = \text{volúmen de } N_2 \text{ que ha salido en ml.}$$

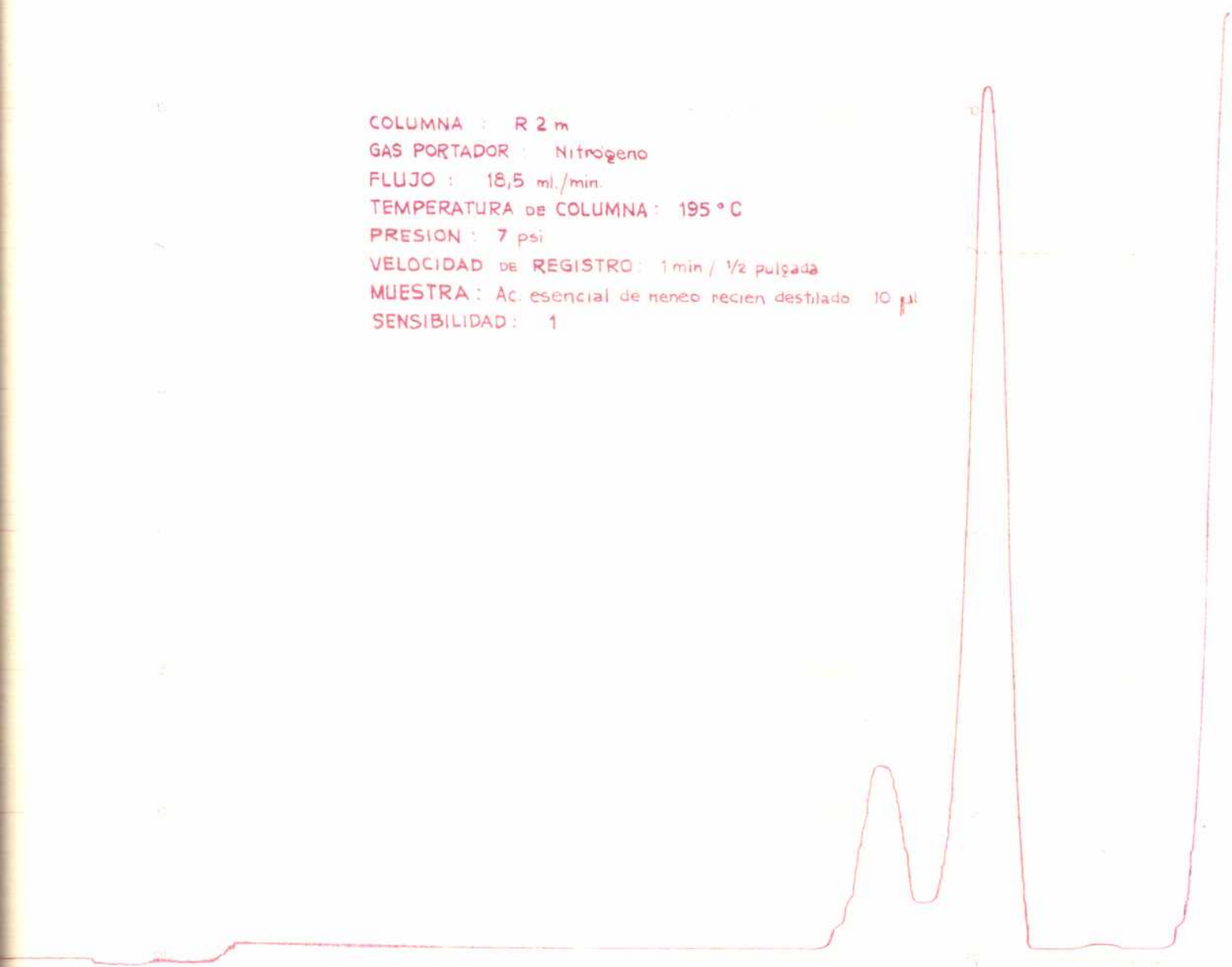


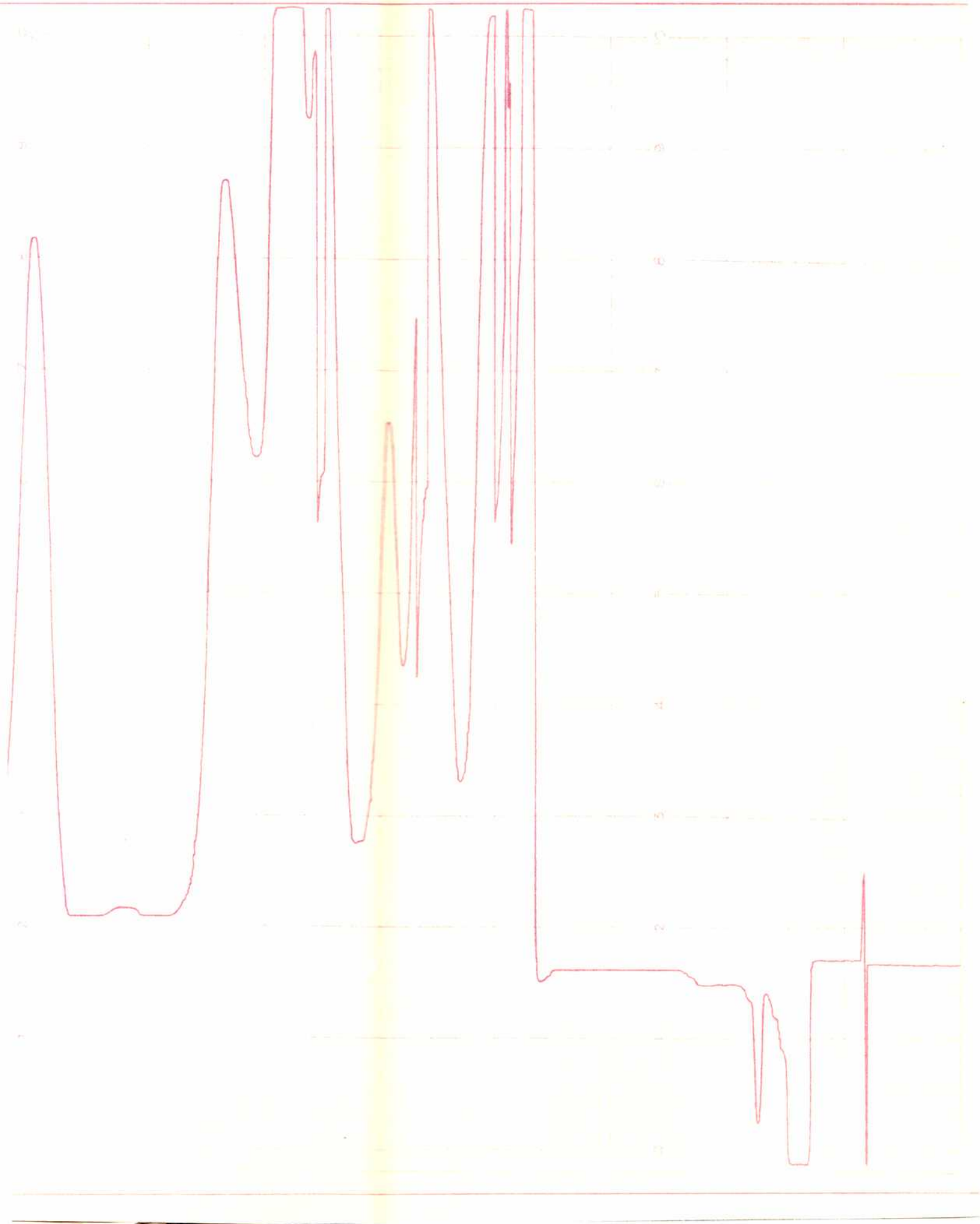
Parte práctica: Cada una de las fracciones obtenidas en la destilación analítica fué sometida a la cromatografía gaseosa, como así el aceite esencial tal cual; en este último caso el eluido correspondiente a cada pico se lo hizo burbujear a la salida del cromatógrafo en tubos que contenían una solución de bromo en éter.

Se obtuvieron así los derivados bromados que fueron recristalizados varias veces y se determinaron los puntos de fusión de los mismos observándose que no son definidos, no existiendo un punto de fusión neto. Los precipitados más abundantes fueron los que corresponden a los picos 6 y 7 siendo los puntos de fusión de éstos alrededor de 126° C. Correspondería al limoneno.

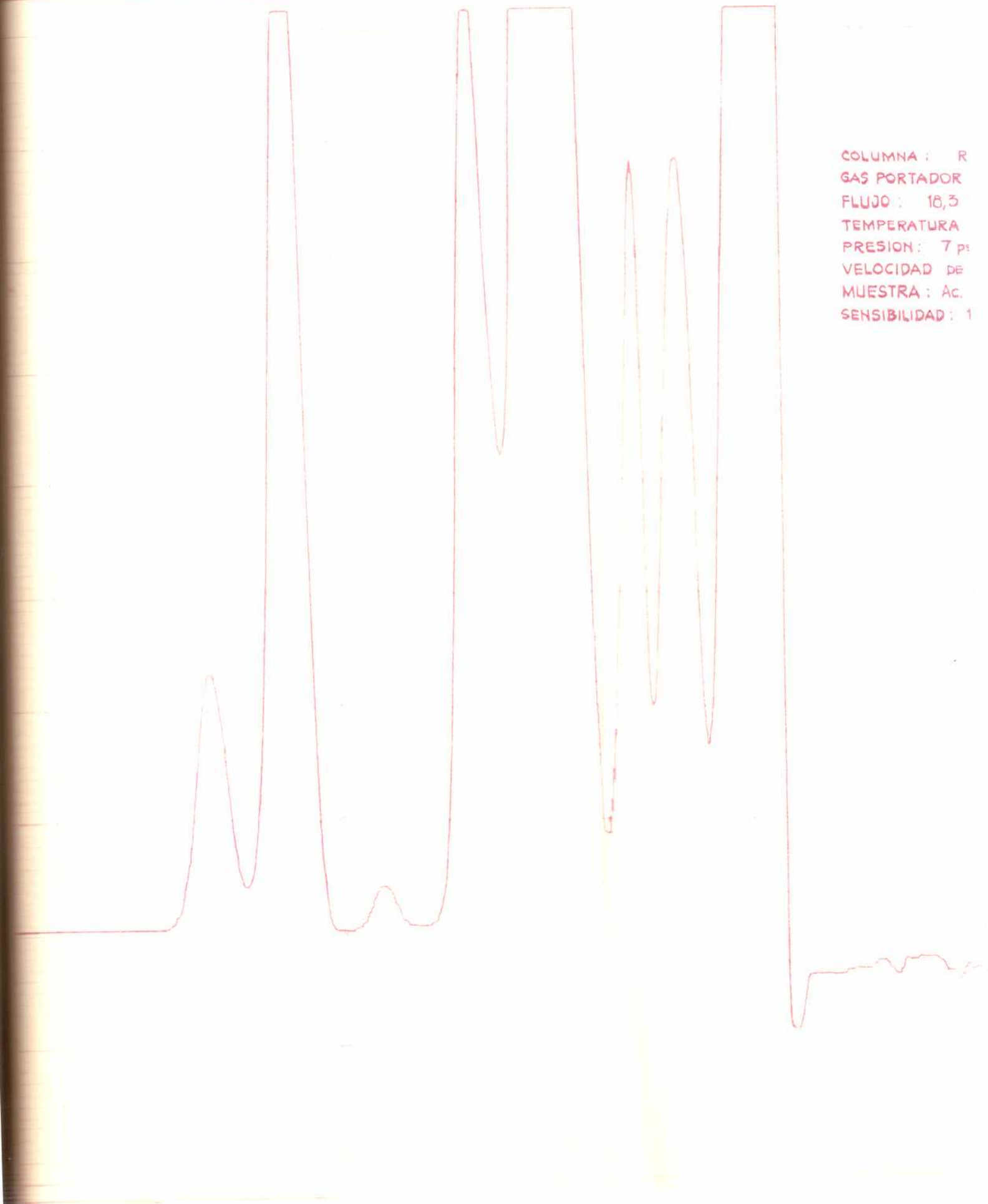
Se calcularon los tiempos y volúmenes de retención de cada pico para el aceite esencial y para cada una de las fracciones. Para los fines comparativos se determinaron los tiempos y volúmenes de retención de componentes puros en las mismas condiciones y con la misma columna utilizada para la muestra. Los valores obtenidos se transcriben a continuación:

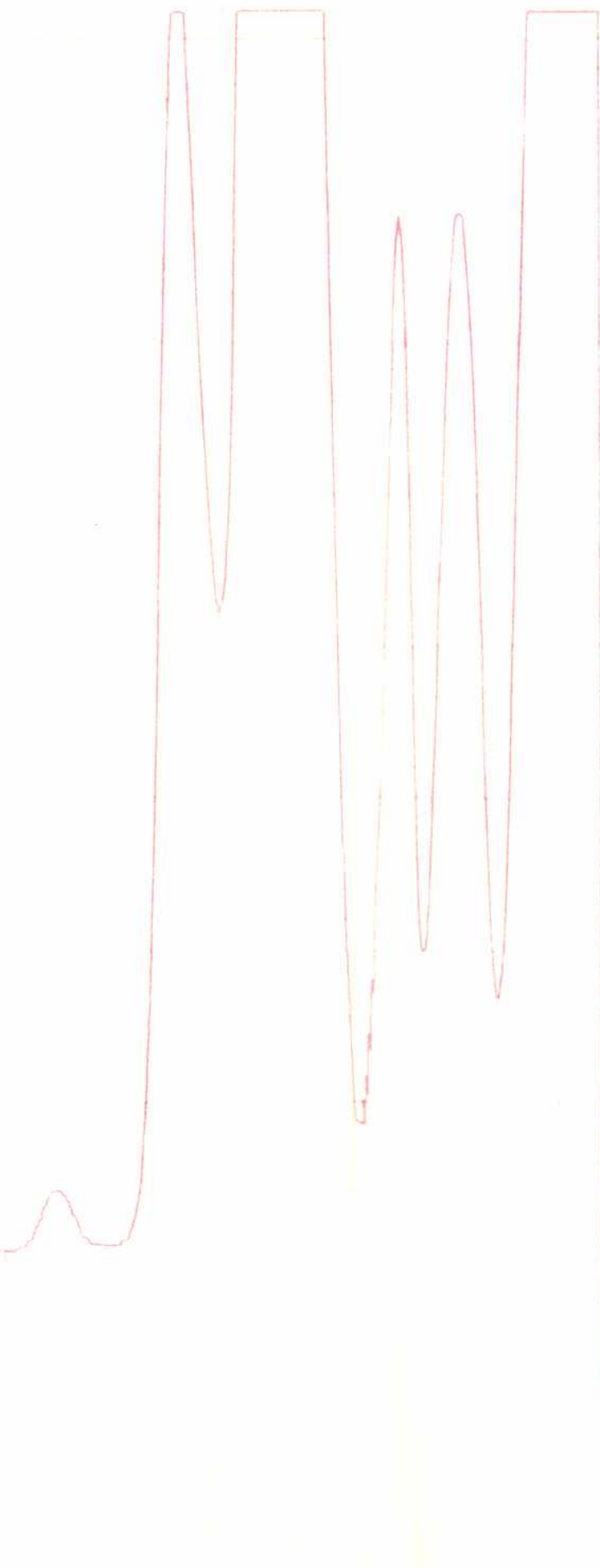
COLUMNA : R 2 m
GAS PORTADOR : Nitrogeno
FLUJO : 18,5 ml./min.
TEMPERATURA DE COLUMNA : 195 °C
PRESION : 7 psi
VELOCIDAD DE REGISTRO : 1 min / 1/2 pulgada
MUESTRA : Ac. esencial de neneo recién destilado 10 μ l.
SENSIBILIDAD : 1





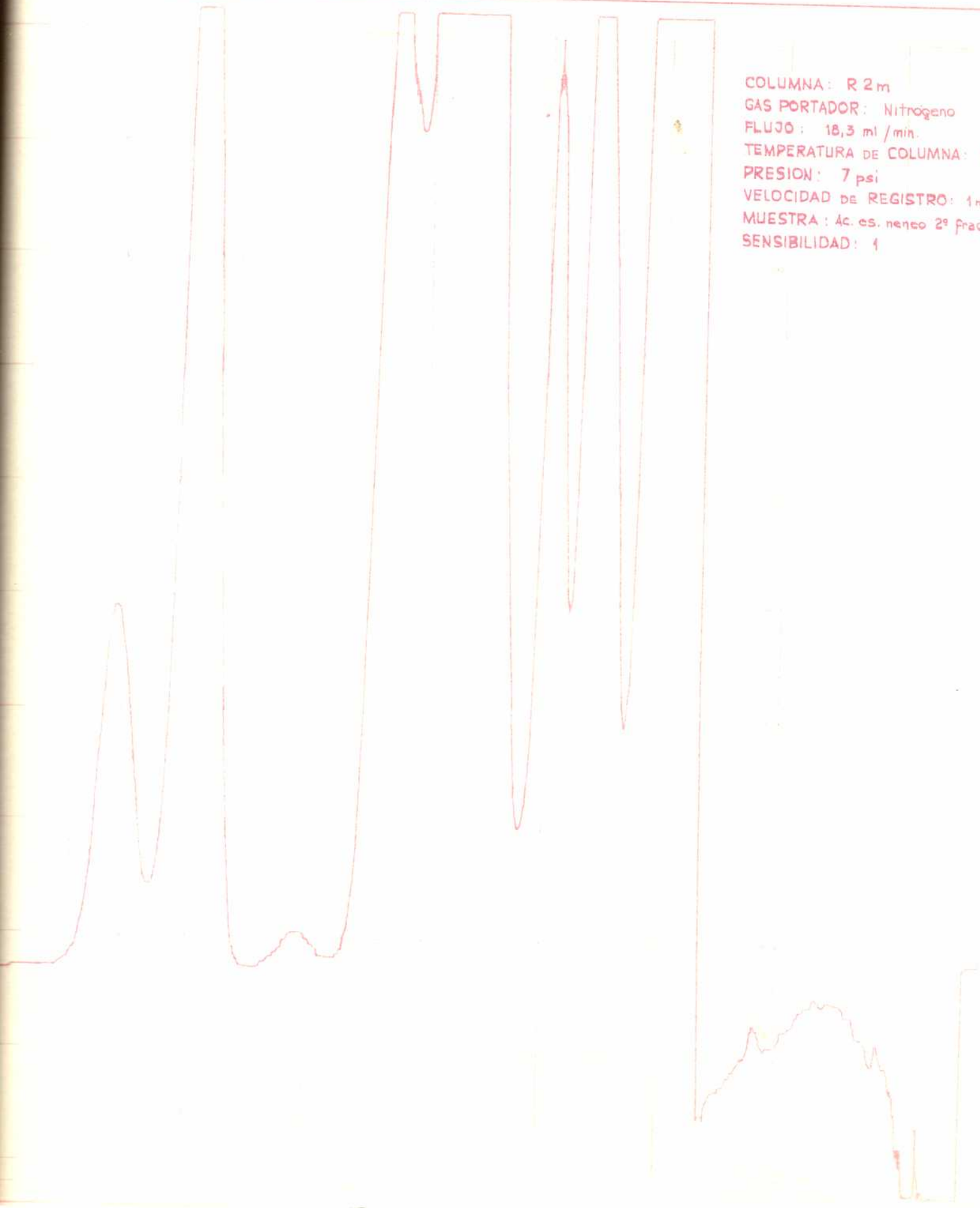
COLUMNA : R
GAS PORTADOR
FLUJO : 18,3
TEMPERATURA
PRESION : 7 ps
VELOCIDAD DE
MUESTRA : Ac.
SENSIBILIDAD : 1



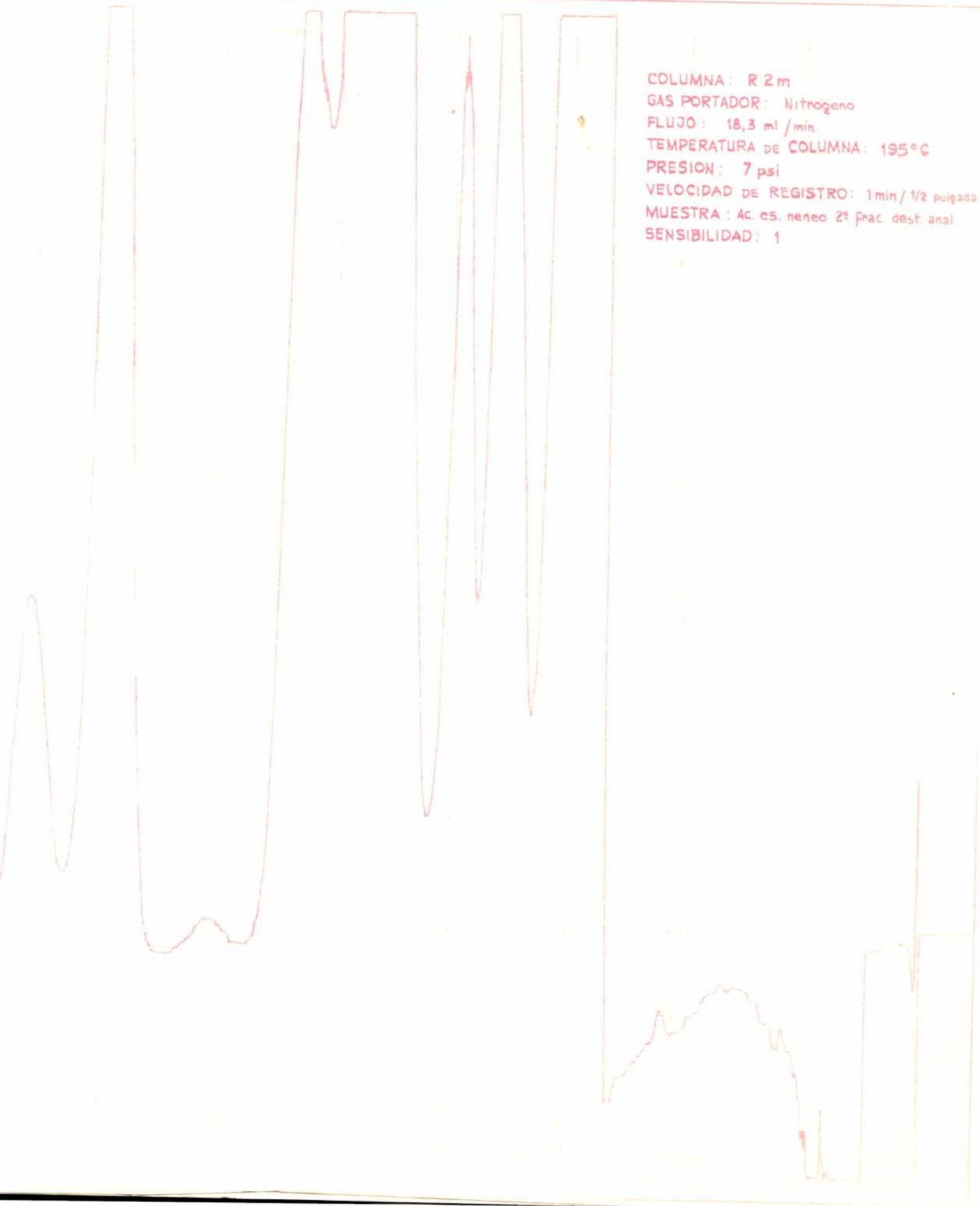


COLUMNA : R 2 m.
GAS PORTADOR : Nitrogeno
FLUJO : 10,3 ml./min.
TEMPERATURA DE COLUMNA: 195° C.
PRESION: 7 psi
VELOCIDAD DE REGISTRO : 1 min/ 1/2 pulgada
MUESTRA : Ac. esencial neneo 1ª frac. dest. anal 5 µl
SENSIBILIDAD: 1

COLUMNA: R 2 m
GAS PORTADOR: Nitrogeno
FLUJO: 18,3 ml/min.
TEMPERATURA DE COLUMNA: 1
PRESION: 7 psi
VELOCIDAD DE REGISTRO: 1 m
MUESTRA: Ac. es. neno 2º frac.
SENSIBILIDAD: 1



COLUMNA: R 2 m
GAS PORTADOR: Nitrógeno
FLUJO: 18,3 ml/min.
TEMPERATURA DE COLUMNA: 195°C
PRESION: 7 psi
VELOCIDAD DE REGISTRO: 1 min/1/2 pulgada
MUESTRA: Ac. es. neneo 2º frac. dest. anal
SENSIBILIDAD: 1



COLUMNA: R 2 m

GAS PORTADOR: Nitrógeno

FLUJO: 18,3 ml/min.

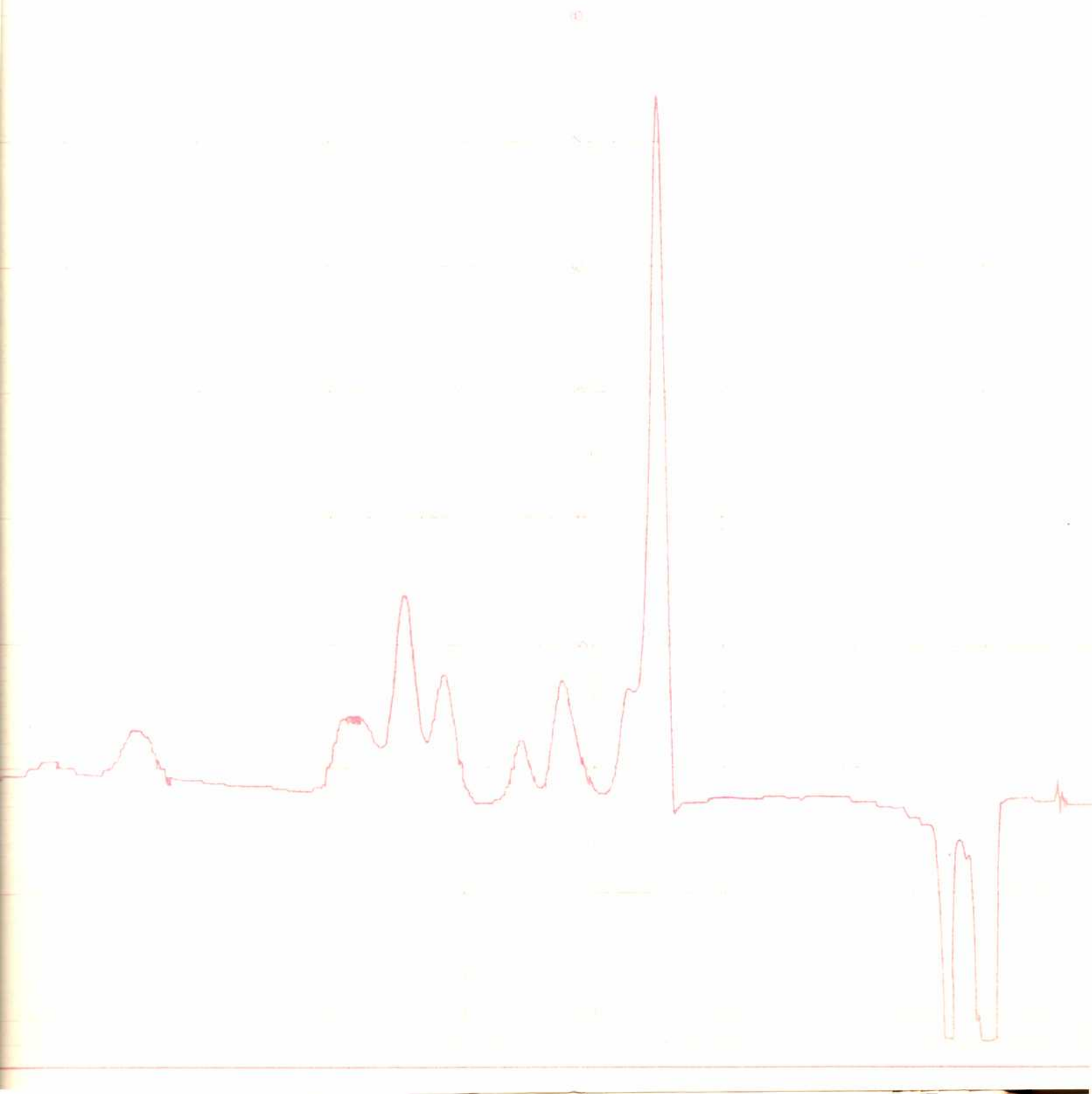
TEMPERATURA DE COLUMNA: 195°C.

PRESION: 7 psi

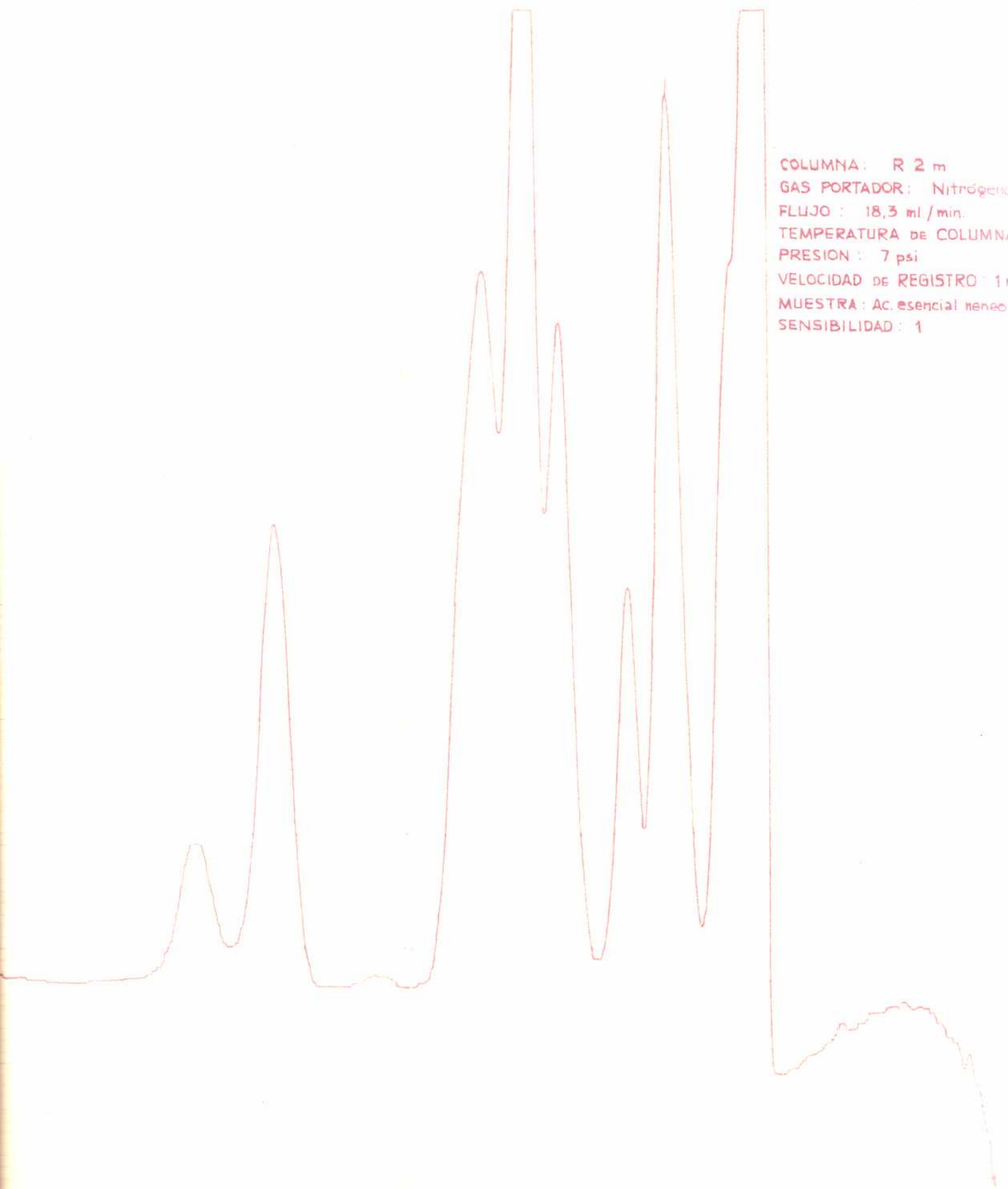
VELOCIDAD DE REGISTRO: 1 min. / 1/2 pulgada

MUESTRA: Ac. esencial neneo 3^º frac. dest. anal. 5µl.

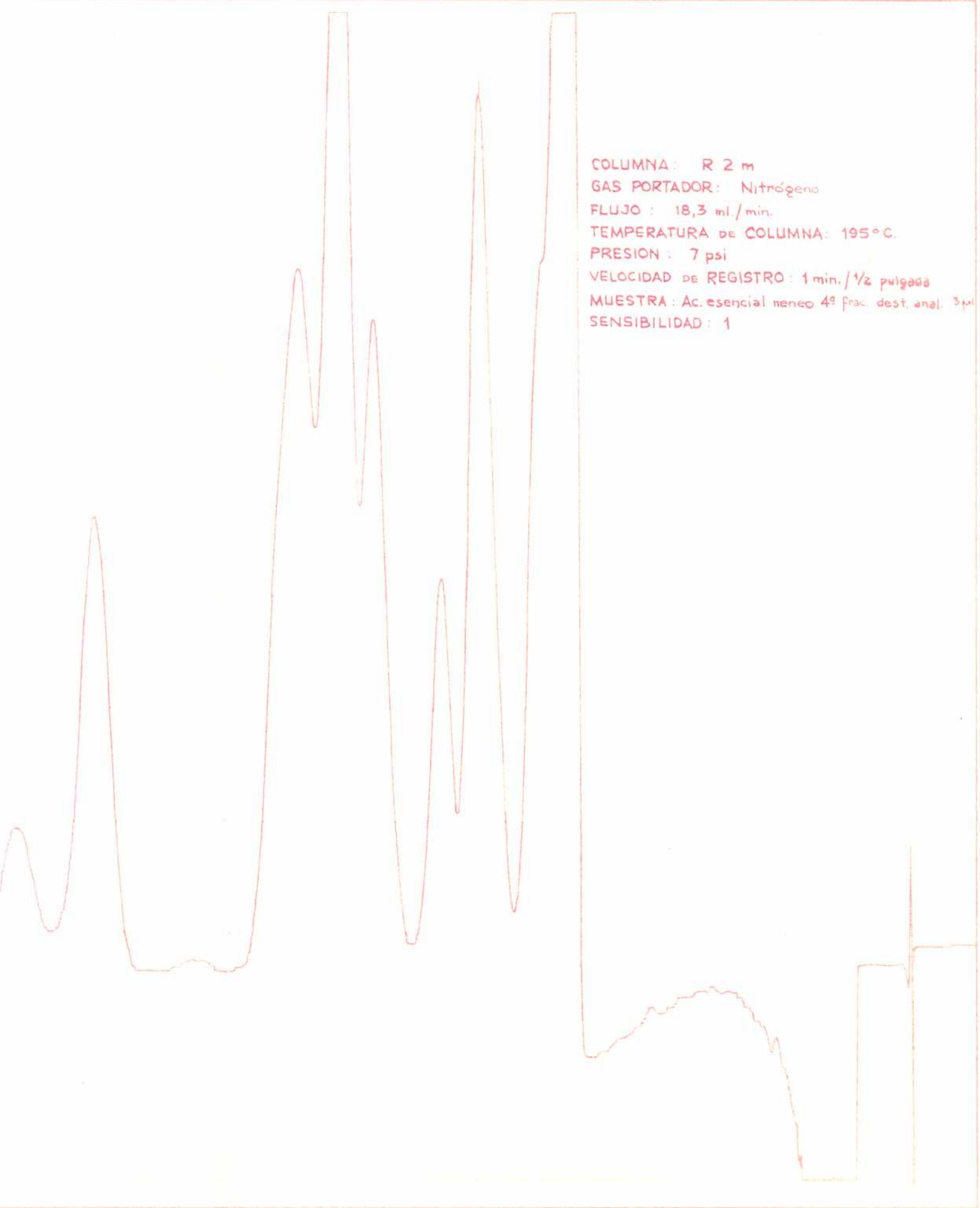
SENSIBILIDAD: 1



COLUMNA: R 2 m
GAS PORTADOR: Nitrogeno
FLUJO : 18,3 ml/min.
TEMPERATURA DE COLUMNA:
PRESION : 7 psi
VELOCIDAD DE REGISTRO: 1 cm/min
MUESTRA: Ac. esencial henebol
SENSIBILIDAD : 1



COLUMNA: R 2 m
GAS PORTADOR: Nitrógeno
FLUJO: 18,3 ml/min.
TEMPERATURA DE COLUMNA: 195°C.
PRESION: 7 psi
VELOCIDAD DE REGISTRO: 1 min./1/2 pulgada
MUESTRA: Ac. esencial neneo 4^a frac. dest. anal. 3 µl
SENSIBILIDAD: 1



COLUMNA : R 2 m.

GAS PORTADOR : Nitrógeno

FLUJO : 18,3 ml./min.

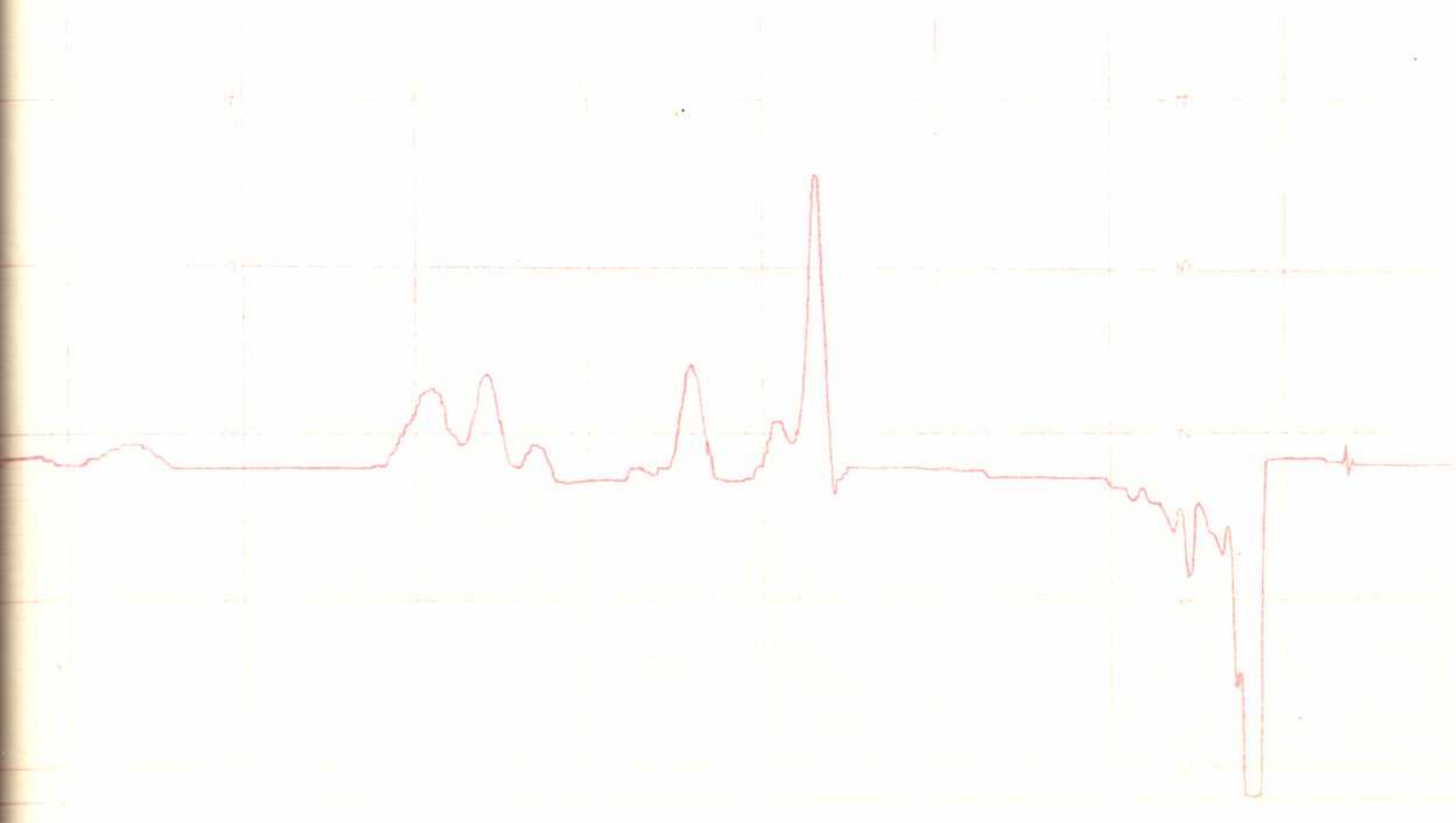
TEMPERATURA DE COLUMNA : 195°C.

PRESION : 7 psi

VELOCIDAD DE REGISTRO : 1 min. / 1/2 pulgada

MUESTRA : Ac. es. neneo 5º frac. dest. anal. 2 μ l.

SENSIBILIDAD : 1



COLUMNA : R 2 m

GAS PORTADOR : Nitrogeno

FLUJO : 18,3 ml./min.

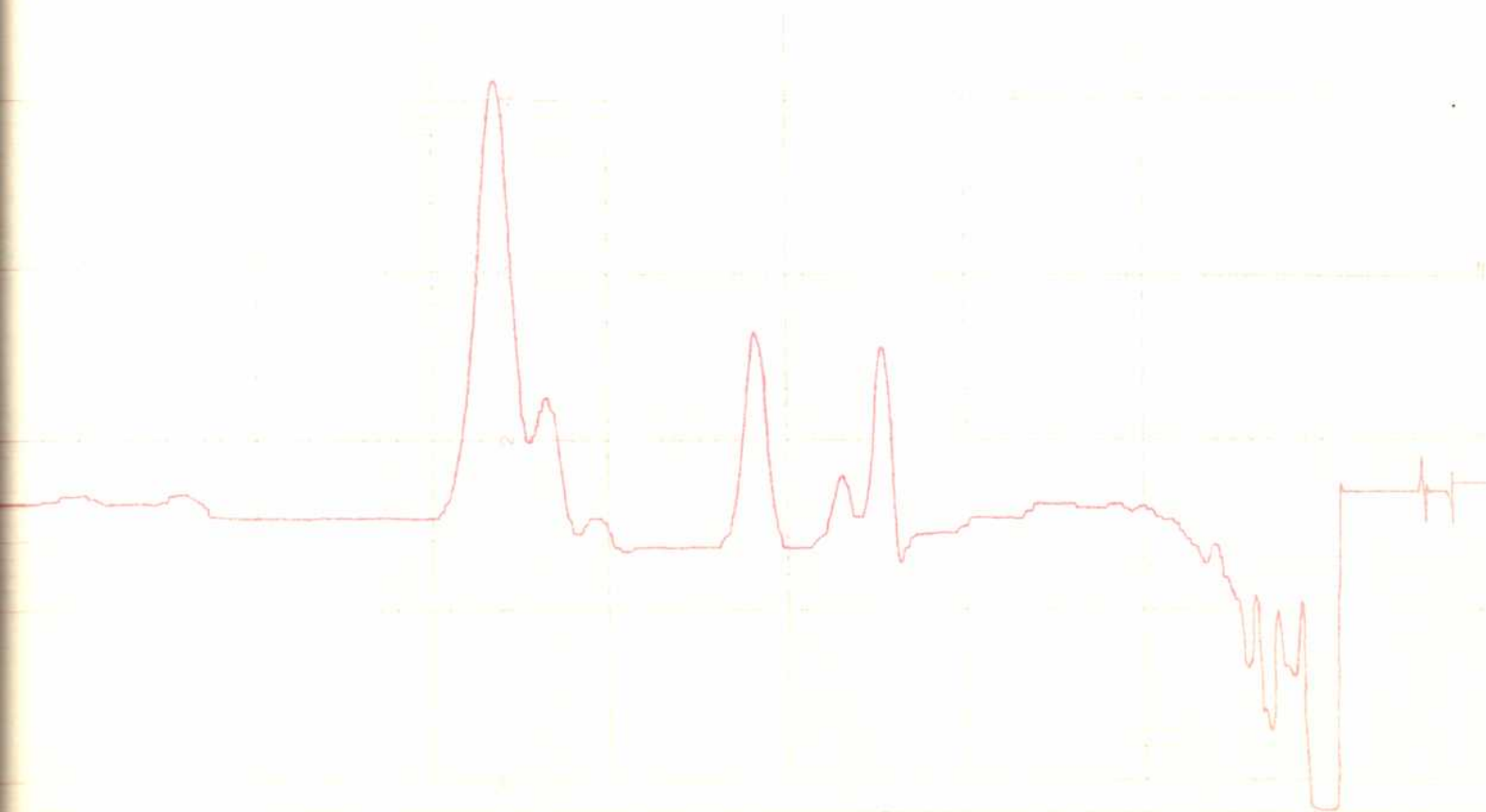
TEMPERATURA DE COLUMNA: 195°C.

PRESION: 7 psi

VELOCIDAD DE REGISTRO: 1 min. / 1/2 pulgada

MUESTRA: Ac. esencial neneo frac. 7ª dest. anal. 2 µl.

SENSIBILIDAD: 1



COLUMNA : R 2 m

GAS PORTADOR : Nitrogeno

FLUJO : 18,3 ml./min.

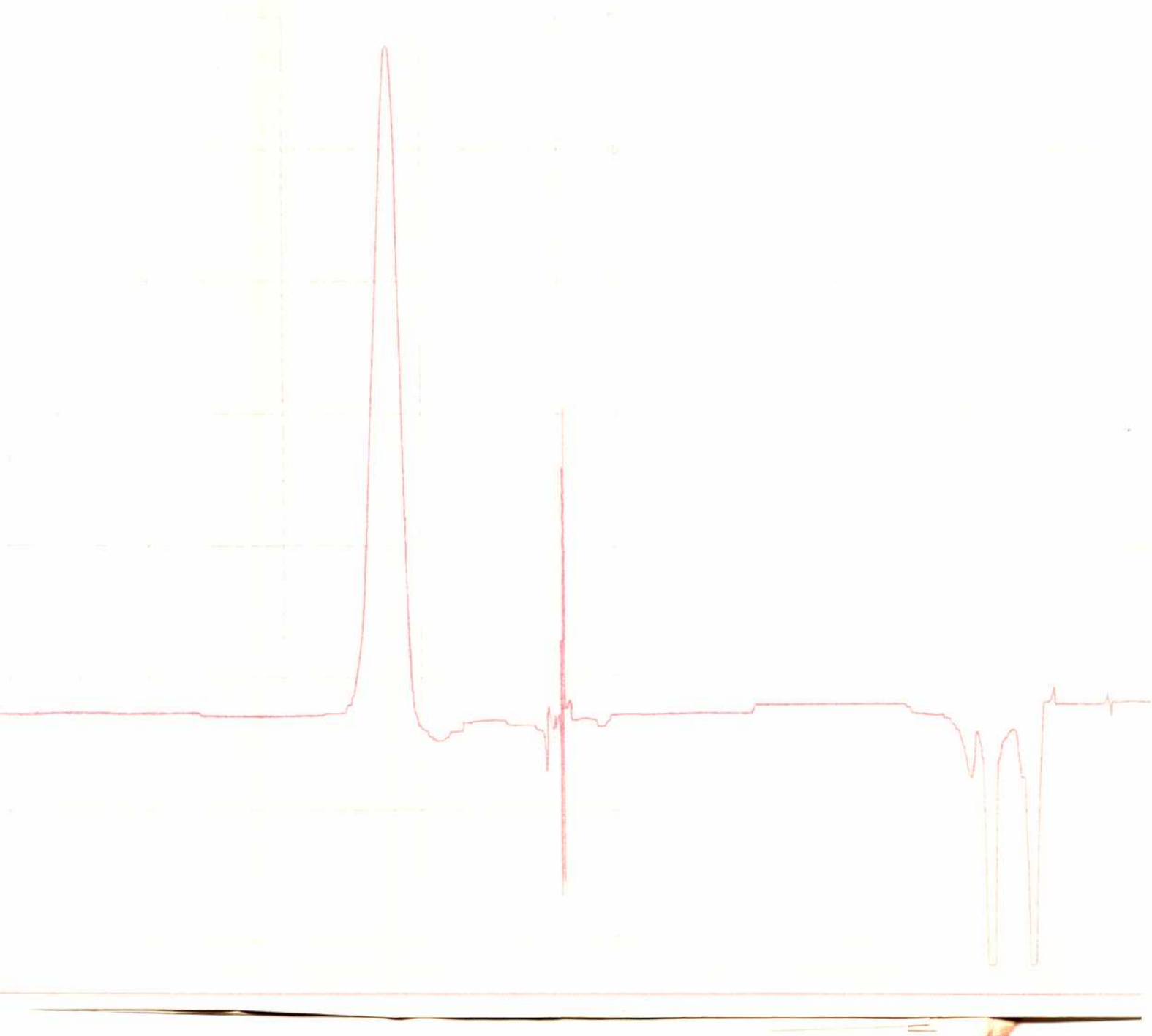
TEMPERATURA DE COLUMNA : 195 °C

PRESION : 7 psi

VELOCIDAD DE REGISTRO : 1 min. / 1/2 pulgada

MUESTRA : Ac. esencial neneo frac. 8° dest. anal. 3 μ l

SENSIBILIDAD : 1



COLUMNA: SAIB 2x1m

GAS PORTADOR: Nitrogeno

FLUJO: 13,3 ml./min.

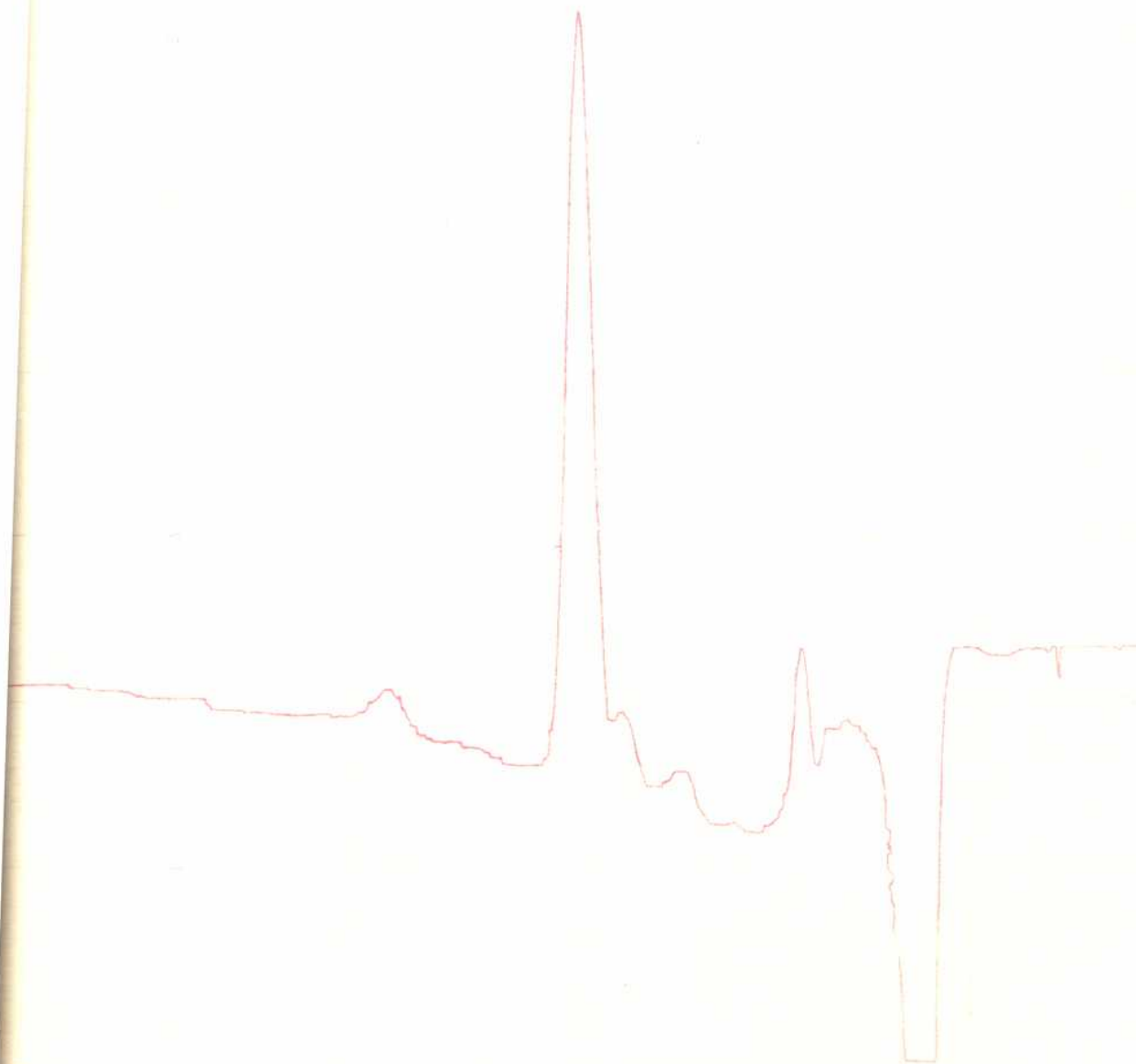
TEMPERATURA DE COLUMNA: 200 °C.

PRESION: 7 psi

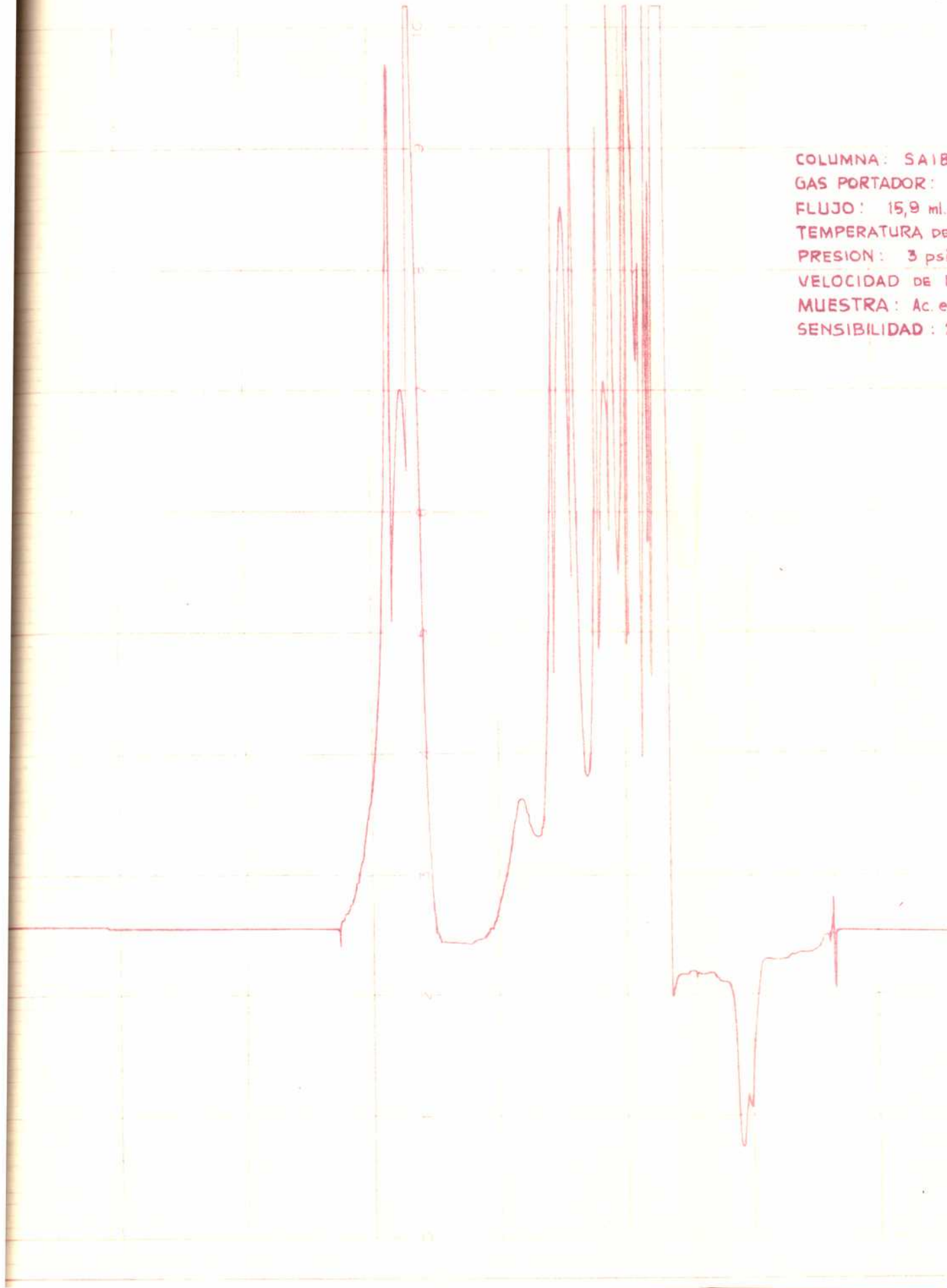
VELOCIDAD DE REGISTRO: 1 min. / 1/2 pulgada

MUESTRA: Ac. esencial neneo residuo destil. 2 μ l.

SENSIBILIDAD: 1



COLUMNA: SA18
GAS PORTADOR: 1
FLUJO: 15,9 ml/
TEMPERATURA DE
PRESION: 3 psi
VELOCIDAD DE R
MUESTRA: Ac. es
SENSIBILIDAD: 2



COLUMNA: SAIB 2 m

PORTADOR: Nitrogeno

DEBITO: 15,9 ml./min.

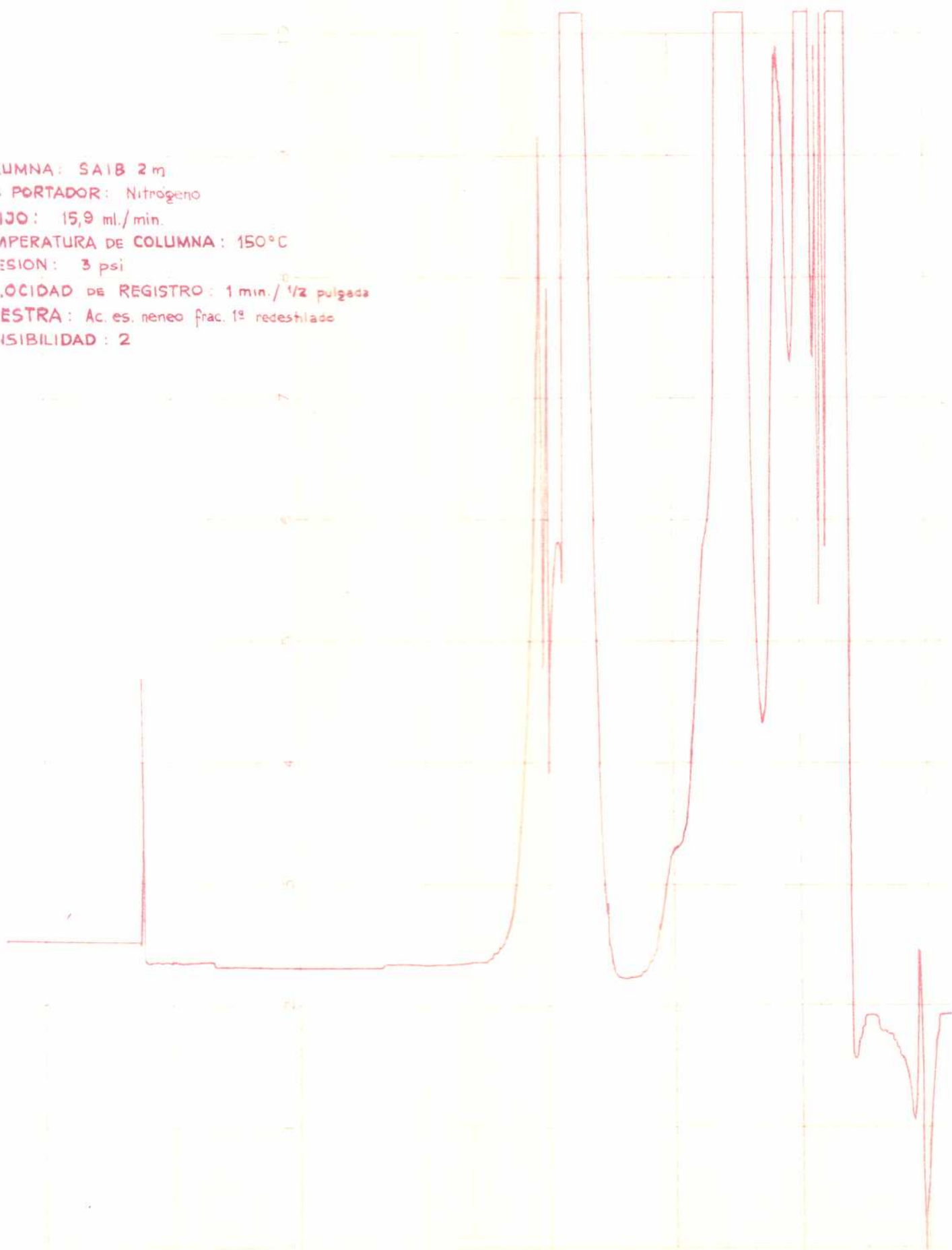
TEMPERATURA DE COLUMNA: 150°C

PRESION: 3 psi

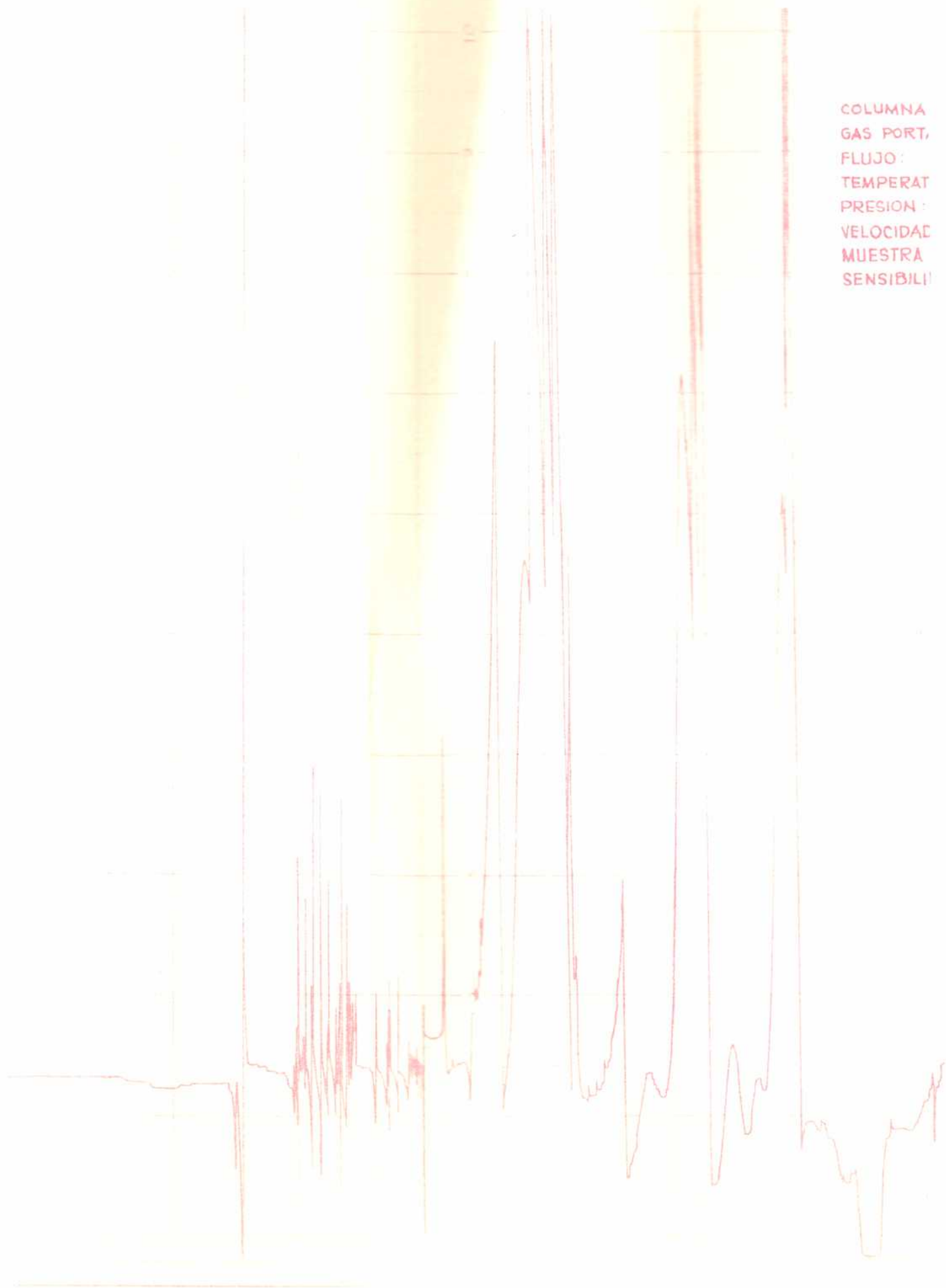
VELOCIDAD DE REGISTRO: 1 min./ 1/2 pulgada

ESTRA: Ac. es. neneo frac. 1ª redestilado

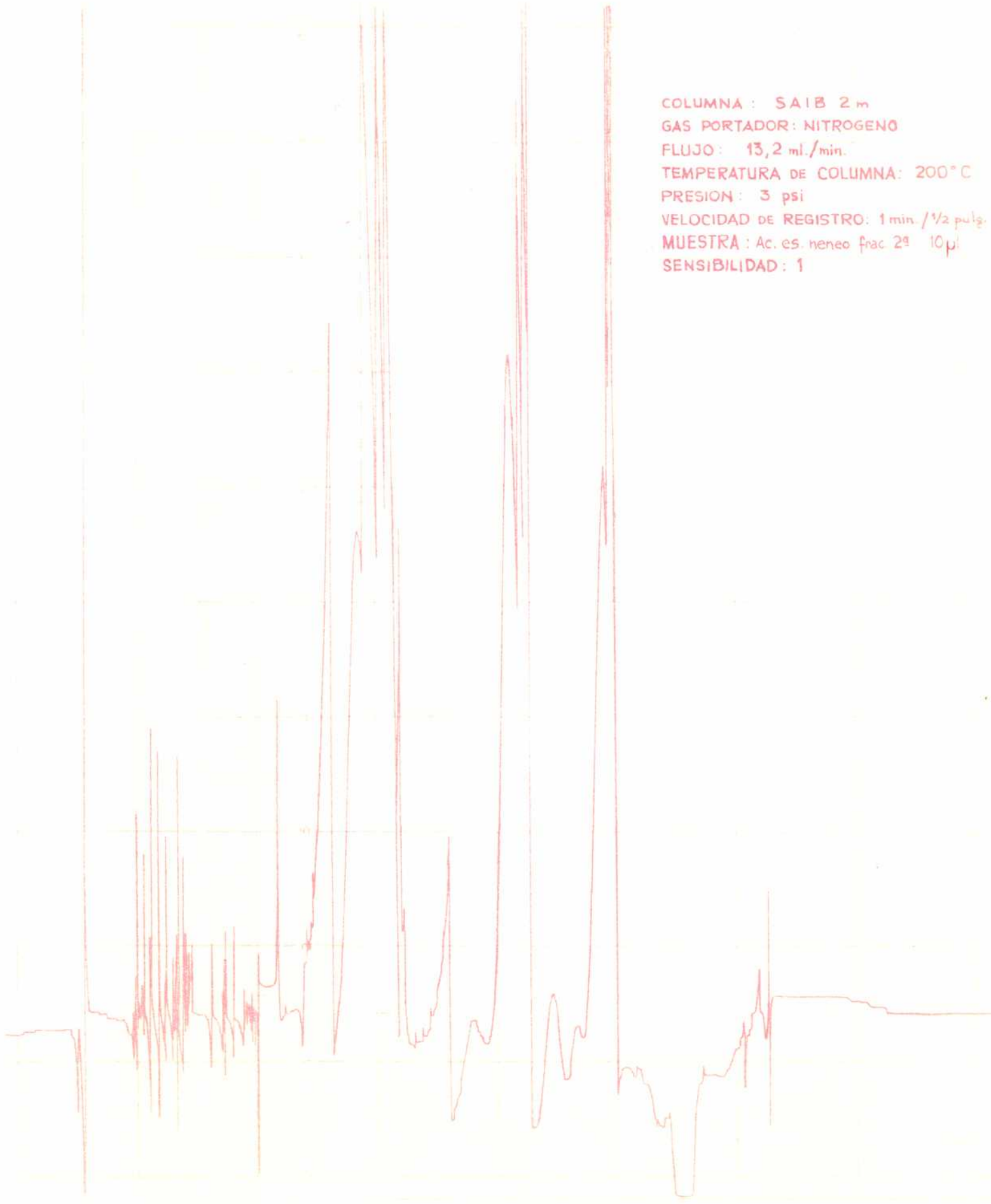
RESOLUCION: 2



COLUMNA
GAS PORT,
FLUJO:
TEMPERAT
PRESION:
VELOCIDAD
MUESTRA
SENSIBILI

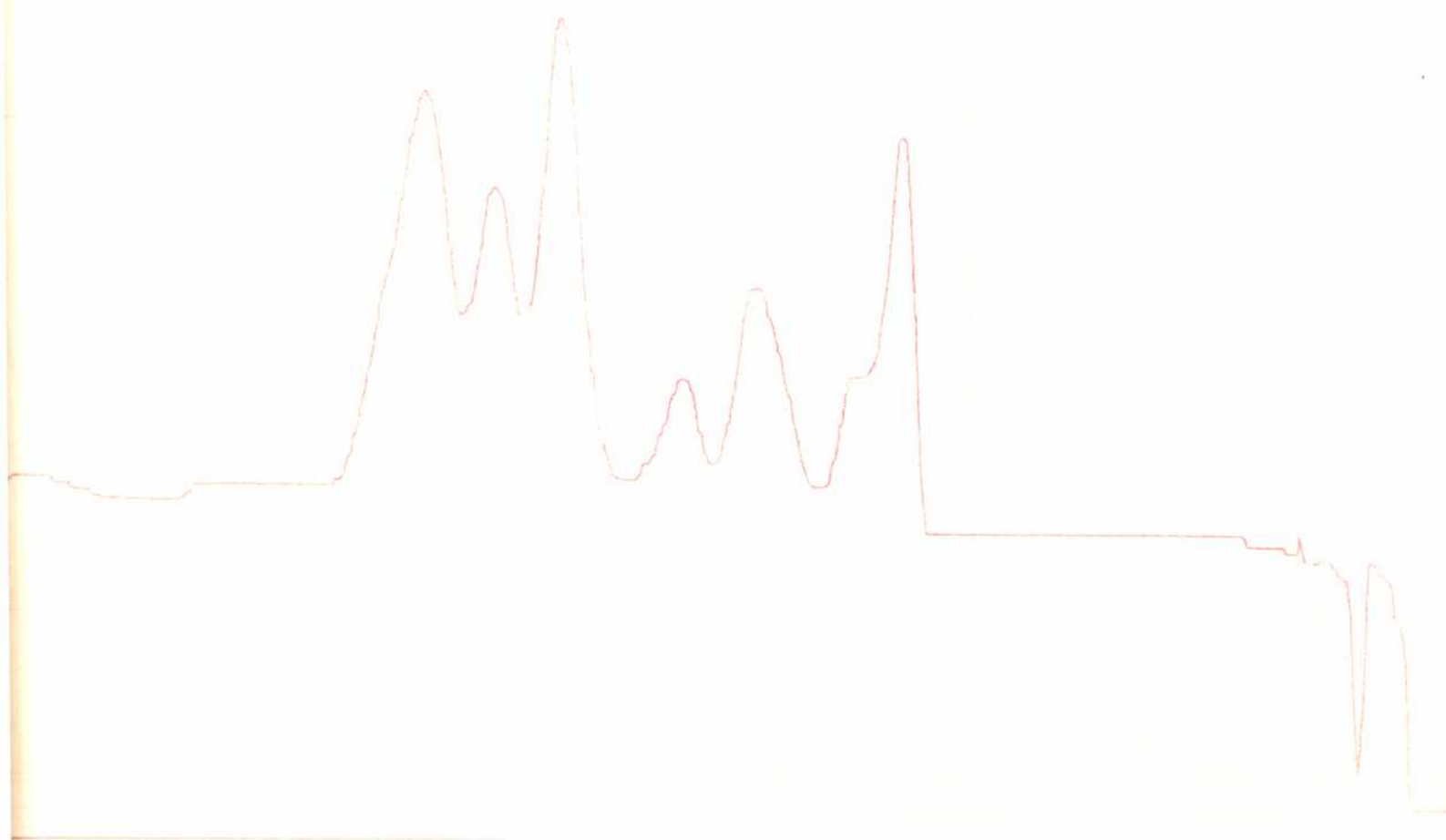


COLUMNA : SAIB 2 m
GAS PORTADOR: NITROGENO
FLUJO: 13,2 ml./min.
TEMPERATURA DE COLUMNA: 200°C
PRESION: 3 psi
VELOCIDAD DE REGISTRO: 1 min. / 1/2 pulg.
MUESTRA : Ac. es. neneo frac. 2ª 10 µl
SENSIBILIDAD: 1



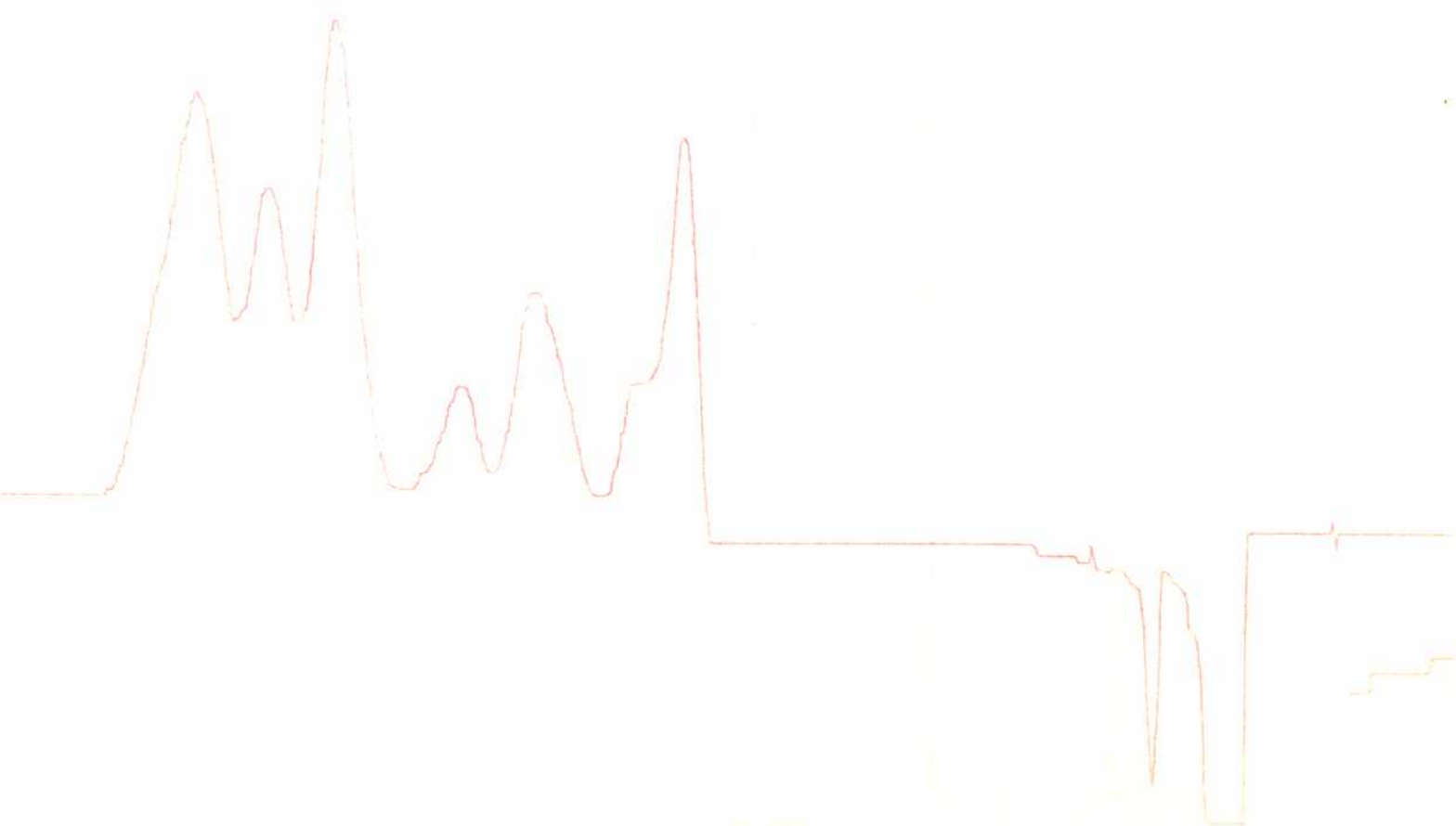


COLUMNA: R 2 m.
GAS PORTADOR: Nitro
FLUJO: 16,8 ml./min.
TEMPERATURA DE COLUMNA
PRESION: 6,3 psi
VELOCIDAD DE REGISTRO
MUESTRA: Ac. es. neneo m
SENSIBILIDAD: 1

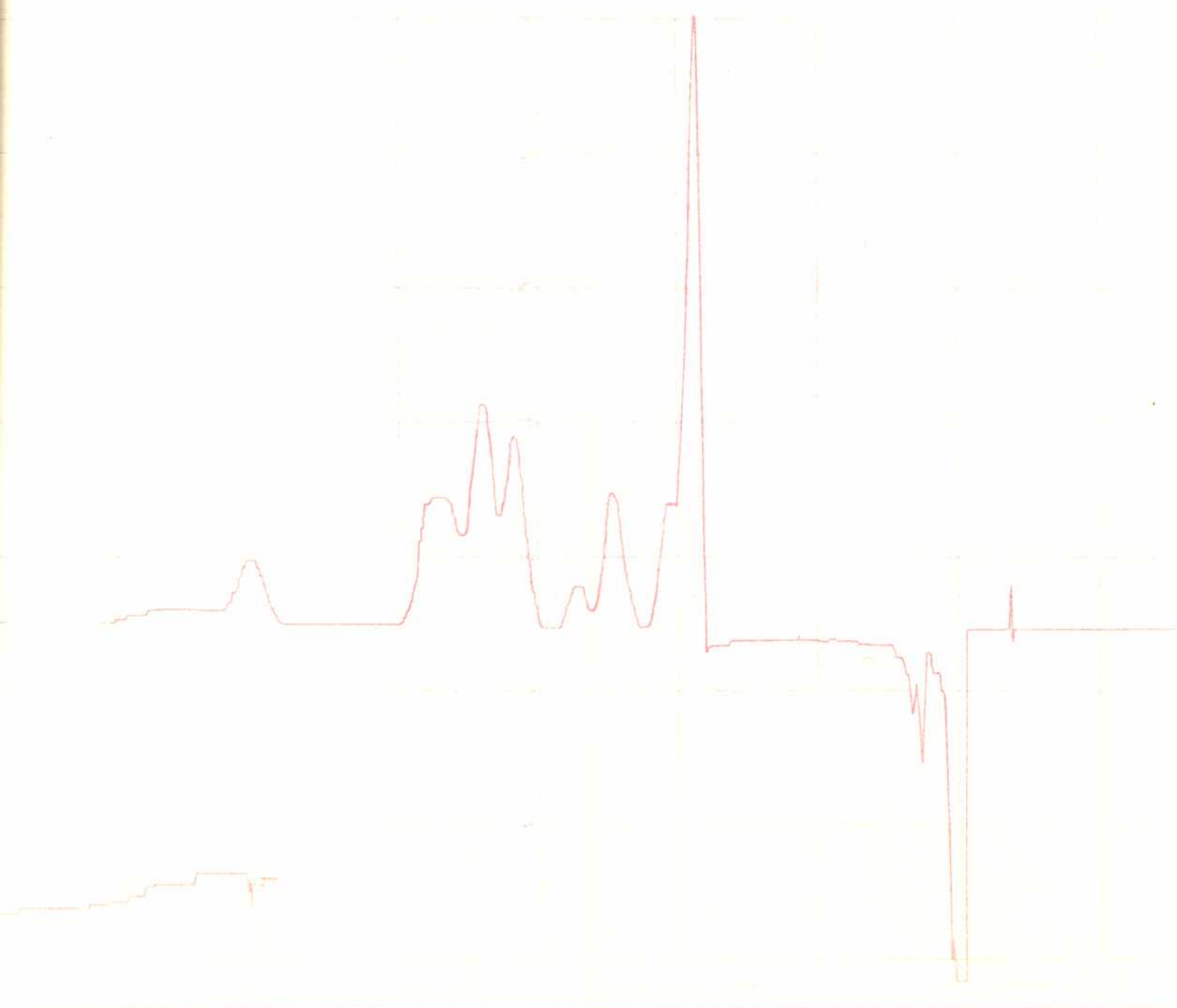




COLUMNA: R 2 m.
GAS PORTADOR: Nitrogeno
FLUJO: 16,8 ml./min.
TEMPERATURA DE COLUMNA: 194°C.
PRESION: 6,3 psi
VELOCIDAD DE REGISTRO: 1 min / 1/2 pulgada
MUESTRA: Ac. es. neneo recién destilado 2 μ l.
SENSIBILIDAD: 1



COLUMNA : R 2 m
GAS PORTADOR : Nitrogeno
FLUJO : 33 ml/min.
TEMPERATURA DE COLUMNA : 195°C
PRESION : 10 psi
VELOCIDAD DE REGISTRO : 1 min. / 1/2 pulgada
MUESTRA : Ac. esencial neneo recién destilado 5 μ l.
SENSIBILIDAD : 2



ACEITE ESENCIAL DE "NENEO"

Columna R.2m (de propileno glicol P.M 550 sobre tierra de diator-
neas;(se le denomina UCON LB - 550 - X) 10 psi, S₂, a 194° C.

Picos	Tpo R (min.)	Flujo (ml/min.)	VolR (ml N ₂)
1a.	3,9	33	130,7
2a.	4,3	"	141,9
3a.	5,1	"	168,3
4a.	5,5	"	181,5
5a.	6,5	"	214,5
6a.	6,9	"	227,7
7a.	7,6	"	250,8
8a.	10,3	"	339,9
9a.	11,2	"	369,6

ACEITE ESENCIAL DE "NENEO"

Col. R 2m. 194° C, 6,3 psi S. 1

Picos	Tpo R (min.)	Flujo (ml/min.)	Vol R (ml N ₂)
1a.	6,4	16,8	107,52
2a.	7,0	"	117,6
3a.	8,1	"	136,08
4a.	9,0	"	151,2
5a.	10,4	"	174,72
6a.	11,2	"	188,16
7a.	12,0	"	201,68
8a.	16,6	"	278,88

ACEITE ESENCIAL DE "NENEO"

Col. R 2m. 7 psi S.1

Picos	Tpo R (min.)	Flujo (ml/min.)	Vol R (ml. N ₂)
1a.	5,4	18,5	99,9
2a.	6,8	"	125,8
3a.	7,2	"	133,20
4a.	8,4	"	155,40
5a.	9,0	"	166,5
6a.	10,3	"	190,55
7a.	11,8	"	218,30
8a.	13,4	"	247,9
9a.	14,8	"	273,80

ACEITE ESENCIAL DE "NENEO"

Col. S.A.I.B. (Diacetato exaisobutirato de sacarosa, 10% sobre tierra de diatorneas) 2 x 1 m. 150° C. S.1

Picos	Tpo R (min.)	Flujo (Ml/min.)	Vol R (ml N ₂)
1a.	2,1	15,9	33,39
2a.	2,5	"	39,75
3a.	3,2	"	50,88
4a.	6,2	"	98,58

ACEITE ESENCIAL DE "NENEO"

1^a Fracción Destilación Analítica

Col. "R" 2m. 7 psi, 195° C. S. 1 18,3 ml/min. 5 l.

Picos	Tpo R (min.)	Flujo (ml/min.)	Vol. R (ml N ₂)
1a.	5,0	18,3	91,5
2a.	6,2	"	113,4
3a.	7,0	"	128,1
4a.	8,5	"	155,5
5a.	9,8	"	189,3
6a.	11,4	"	208,6
7a.	13,0	"	237,9
8a.	14,3	"	261,6

2^a Fracción Destilación Analítica

Col. "R" 2 m. 7 psi. 195° C. S.1 18,3 ml/min. 5 Adl.

Picos	Tpo. R (min.)	Flujo (ml/min.)	Vol. R (ml N ₂)
1a.	5,1	18,3	9,3
2a.	6,3	"	115,2
3a.	7,1	"	129,9
4a.	8,6	"	157,3
5a.	9,8	"	189,3
6a.	11,4	"	208,6
7a.	14,2	"	259,8
8a.	15,6	"	285,4

3^a FRACCION DESTILACION ANALITICA

Col. "R" 2 m. 7 psi. 195° C. S. 1 Flujo 18,3 ml/min.

Picos	Tpo R (min.)	Flujo (ml/min.)	Vol. R (ml N ₂)
1a.	5,2	18,3	95,1
2a.	6,6	"	120,7
3a.	7,3	"	133,5
4a.	8,5	"	155,5
5a.	9,1	"	166,5
6a.	9,8	"	189,3
7a.	13,2	"	291,5

4^a FRACCION DESTILACION ANALITICA

Col. "R" 2 m. 7 psi. 195° C. S. 1 Flujo 18,3 ml/min.

Picos	Tpo R (min)	Flujo (ml/min.)	Vol.R (ml N ₂)
1a.	5,0	18,3	91,5
2a.	6,4	"	117,1
3a.	7,0	"	128,1
4a.	8,2	"	150,06
5a.	8,8	"	161,04
6a.	9,5	"	173,8
7a.	11,3	"	206,7
8a.	13,0	"	237,9
9a.	14,3	"	261,6

5^a FRACCION DESTILACION ANALITICA

Col. "R" 2m. 7 psi. 195° C. S. 1 Flujo 18,3 ml/min.

Picos	Tpo R (min.)	Flujo (ml/min.)	Vol. R (ml N ₂)
1a.	5,2	18,3	95,1
2a.	5,6	"	102,4
3a.	6,6	"	120,7
4a.	7,2	"	131,7
5a.	8,4	"	155,7
6a.	9,0	"	164,7
7a.	9,6	"	175,6
8a.	13,0	"	237,9

7^a FRACCION DESTILACION ANALITICA

Col. "R" 2 m. 7 psi. 195° C. S.1 Flujo 18,3 ml/min.

Picos	Tpo R (min.)	Flujo (ml/min.)	Vol. R (ml N ₂)
1a.	5,2	18,3	95,1
2a.	5,6	"	102,4
3a.	6,6	"	120,7
4a.	8,3	"	151,8
5a.	8,9	"	162,8
6a.	9,5	"	173,6
7a.	13,0	"	237,9
8a.	14,2	"	259,8

8^a FRACCION DESTILACION ANALITICA

Col. "R" 2 m. 7 psi. 195° C. S.1 Flujo 18,3 ml/min.

Picos	Tpo R (min.)	Flujo (Ml/min.)	Vol. R (ml N ₂)
1a.	9,3	18,3	170,19

RESIDUO DE LA DESTILACION ANALITICA

Col. S.A.I.B. 2 x 1 m. 7 psi. 200° C. S.1.

Picos	Tpo R (min.)	Flujo (ml/min.)	Vol.R (ml N ₂)
1a.	1,9	13,3	25,27
2a.	3,1	"	41,23
3a.	3,8	"	50,54
4a.	4,3	"	57,19
5a.	6,5	"	86,45

TIEMPOS Y VOLUMENES DE RETENCION DE ALGUNOS COMPONENTES PUROS.

Col. S.A.I.B. 2 x 1 m. 150° C. S.1 3 psi - Gas N₂.

<u>PRODUCTO:</u>	<u>Tpo retención</u> (min.)	<u>Flujo</u> (ml/min.)	<u>Volumen re-</u> <u>tención</u> (ml N ₂)
p. cimeno	4,5	16,2	72,9
felandreno	3,9	15,9	62,01
citronelal	11,8	16,2	191,16
ciclohexanona	4,6	16,2	74,52
mentona	12,1	16,2	196,02
limoneno	3,7	16,1	59,57
alcanfor	13,9	16,1	223,79
d-pulegona	21,1	16,2	341,82

Col. S.A.I.B. 2 x 1 m. 200° C. S.1 3 psi - Gas N₂.

<u>PRODUCTO:</u>	<u>Tpo retención</u> (min.)	<u>Flujo</u> (ml/min.)	<u>Volumen re-</u> <u>tención</u> (ml N ₂)
d-limoneno	1,36	13,2	17,95
citronelal	3,3	13,3	43,89
alcanfor	4,3	13,3	57,19
mentona	3,3	13,2	43,56
carvona	7,1	13,2	93,72

CONCLUSIONES:

Teniendo en cuenta los resultados de la investigación química y de espectro obtenido en el infra-rojo, se confirmaría la existencia d α -pineno $V_R = 117,8$ y limoneno $V_R = 134,5$.

El otro pico de $V_R = 107$ podría corresponder al β -pineno. Se infiere también la existencia a partir del limoneno de 3 componentes más volátiles y 5 más pesados entre los que hay un compuesto carboníli de $V_R = 170$.

ESPECTROSCOPIA INFRA-ROJA

Los espectros infra-rojos se han obtenido en un espectrómetro de doble haz Infracord de Perkin - Elmer Co. y se ha barrido la zona entre 2,5 y 15 μ ($4.000 - 670 \text{ cm}^{-1}$).

La resina "neneo" se disolvió en tetracloruro de carbono. Con la solución se llenó una celda para líquidos fija de 97 μ de espesor y se compensó el doble haz con una celda apareada con $\text{Cl}_4 \text{ C}$.

El aceite esencial se barrió directamente y para ello se esparció entre dos ventanas de cloruro de sodio.

Del espectro de la resina puede inducirse la existencia de grupos $-\text{CH}_2-$ y $-\text{CH}_3$; $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{C}$ y $\text{C}-\text{O}$, debido a la presencia de las bandas de vibración de estiramiento en 3,43 y 3,50 μ ; 5,80 y 6,00 μ y la serie de bandas escalonadas entre 7,7 y 8,5 μ con máximos en 8,12 μ indicadoras de la presencia de ésteres.

Del espectro del aceite libre de carbonílicos se induce la ausencia de los grupos funcionales orgánicos ya citados, con excepción de los grupos $-\text{CH}_2-$ y $-\text{CH}_3$ ya que continúan observándose las bandas de vibración de estiramiento y de torsión (3,4 μ y 6,9 μ) y las vibraciones de esqueleto (12,8 μ).

Presenta bandas:

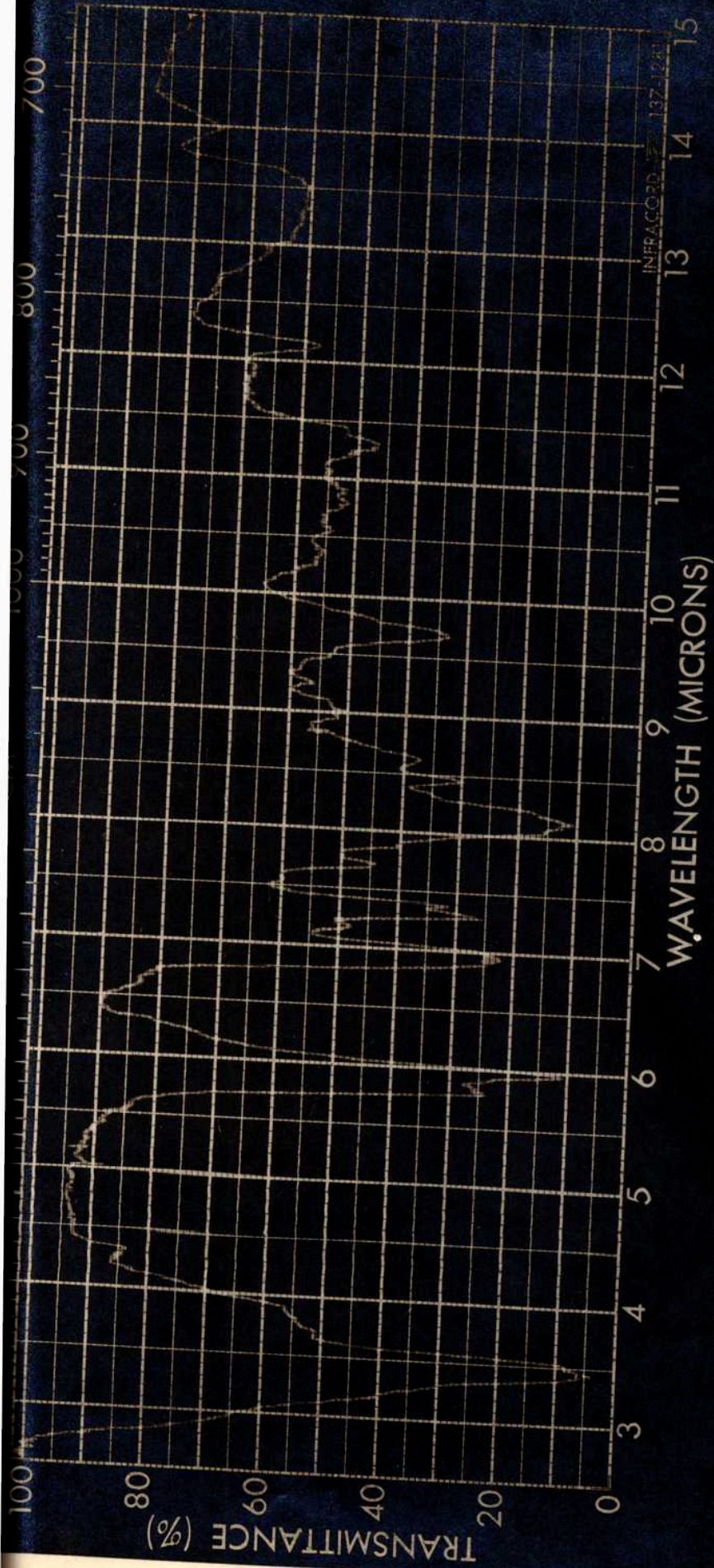
- | | | |
|----------------------|-------------------------|---|
| 1º Neta larga | a 3000 cm^{-1} | (semejante al α y β pineno). |
| 2º pequeña | a 1650 cm^{-1} | (" " " " ") |
| 3º neta (doble pico) | a 1450 cm^{-1} | (" " " " ") |
| 4º neta (doble) | a 1350 cm^{-1} | (" " " " ") |
| 5a. pequeña | a 1200 cm^{-1} | (" " " " ") |
| 6a. neta mediana | a 1160 cm^{-1} | (" " " " ") |
| 7a. mediana | a 1025 cm^{-1} | (" al α pineno y limoneno), no en β pineno. |
| 8a. pequeña | a 990 cm^{-1} | (semejante al mirceno). |
| 9a. mediana | a 950 cm^{-1} | (" al α y β pineno) |
| 10a. mediana | a 875 cm^{-1} | (" " " " ") |

lla. mediana larga a 780 cm^{-1} (semejante al α pineno, inflexión invertida con respecto al α pineno, en el β a 870 cm^{-1})
12a. mediana pequeña a 730 cm^{-1} (semejante β -pineno, no en α -pineno).

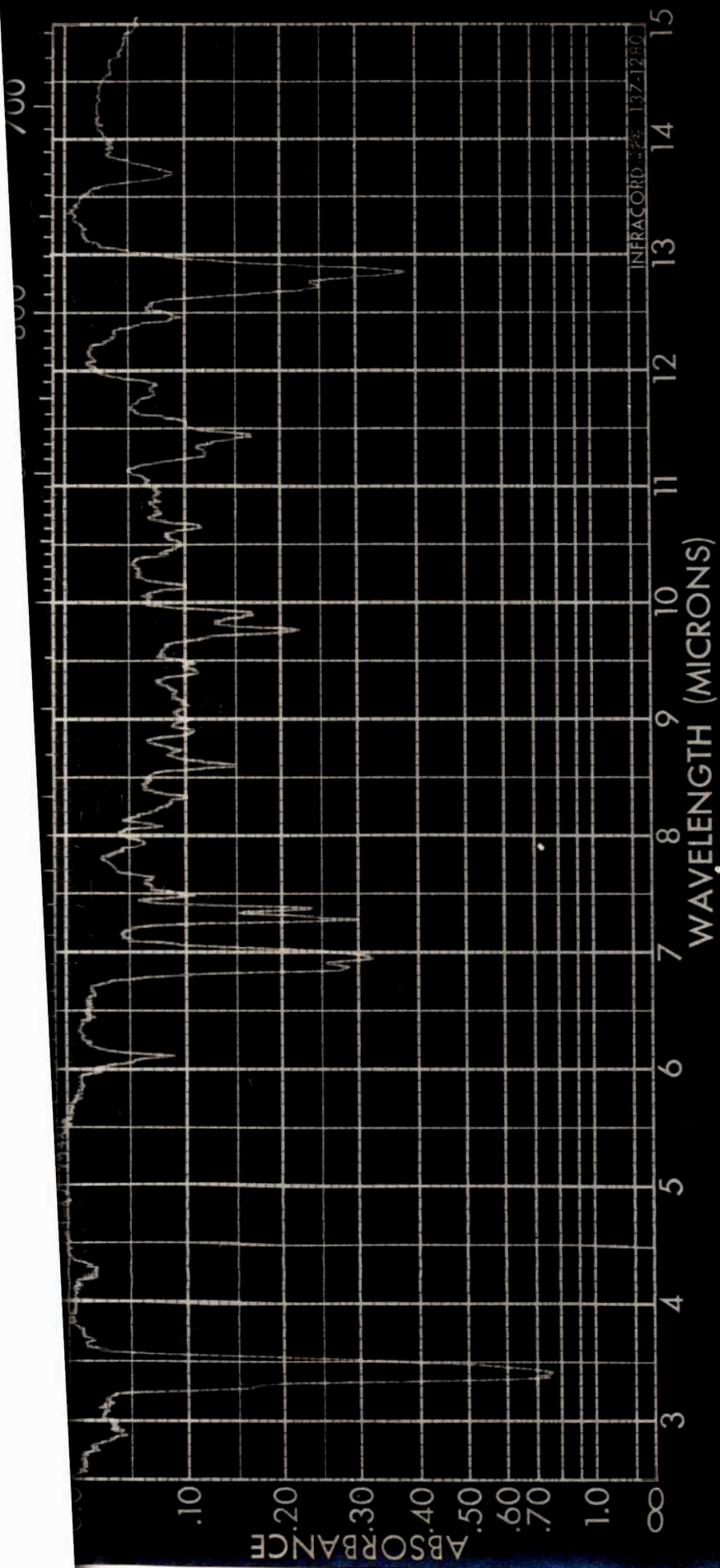
Espectro infra-rojo FRACCION 8a. DESTILACION ANALITICA.

Corresponde a compuesto oxigenado - carbonílico (banda a 1730 cm^{-1}),
terpénico (banda a 850 cm^{-1}) y la banda a 3500 cm^{-1} (alcohólico?).

Conclusiones: Probable mezcla de α -pineno, β -pineno, limoneno y quizás mirceno.

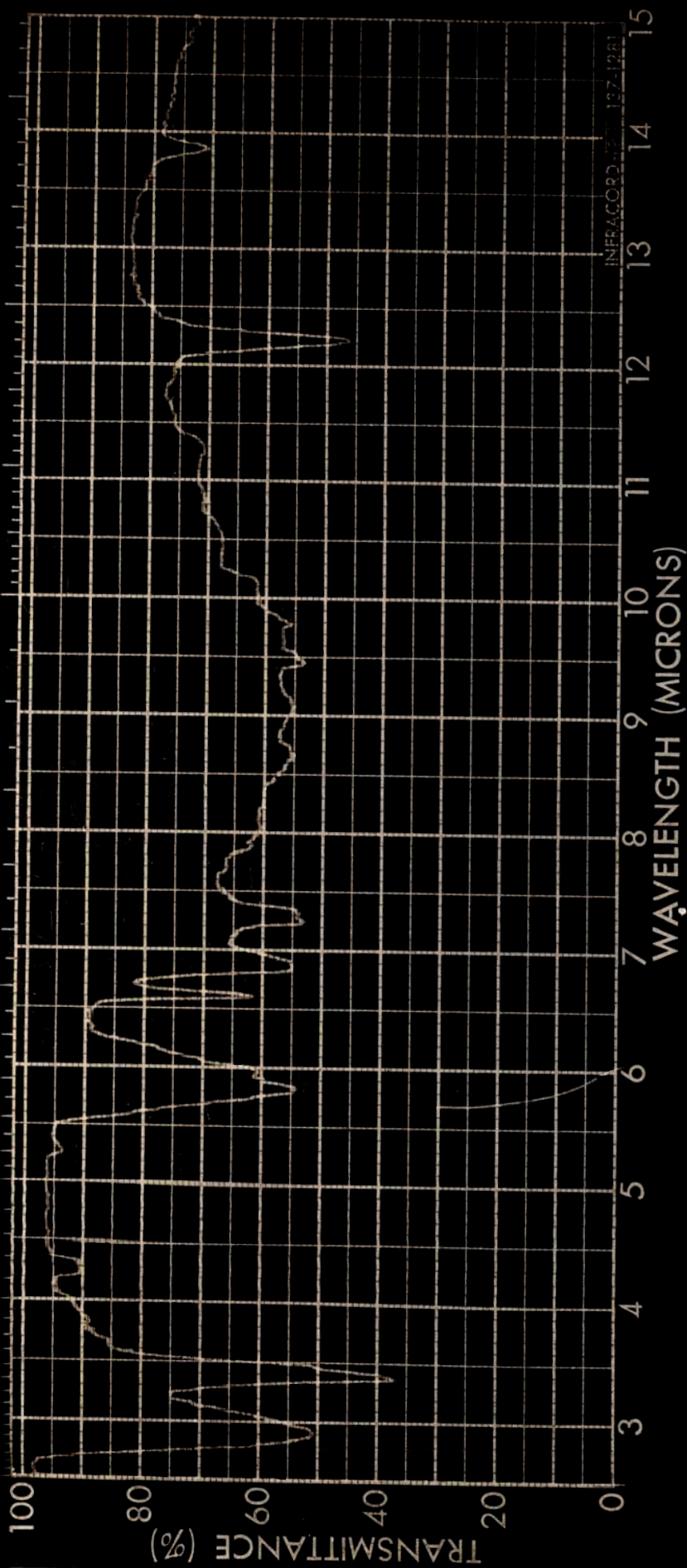


SPECTRUM NO. _____		SPECTRUM NO. _____	
SAMPLE RESINA _____		SAMPLE _____	
"NENE" _____		1. _____	
_____		2. _____	
_____		DATE _____	
THICKNESS _____		OPERATOR _____	
ORIGIN _____		REMARKS _____	
PURITY SOL. Cl_4C _____		_____	
PHASE 97μ _____		_____	
_____		_____	



SPECTRUM NO. _____
SAMPLE _____

SPECTRUM NO. _____	ORIGIN <u>De Mont.</u>	LEGEND _____	REMARKS _____
SAMPLE <u>Ac. Es. Neneo</u>	PURITY _____	1. _____	<u>Embe. de Na.</u>
<u>LIQ. DE CUBENILLOS</u>	PHASE <u>liquida.</u>	2. _____	_____
_____	THICKNESS _____	DATE <u>5-1-61</u>	_____
_____	_____	OPERATOR <u>Linne</u>	_____



SPECTRUM NO. _____
 SAMPLE _____

SPECTRUM NO. _____	ORIGIN _____	LEGEND _____	REMARKS _____
SAMPLE 8 th FRACTION DES- TILLATION ANAL AC. ES. NENEO	PURITY _____	1. _____	_____
_____	PHASE <i>liquid</i>	2. _____	_____
_____	THICKNESS _____	DATE <i>3-10-61</i>	_____
_____	_____	OPERATOR <i>[Signature]</i>	_____

B) Determinaciones químicas.

	pág.
Separación de productos carbonílicos:	79
Investigación de los aldehidos y cetona:	80
Investigación de hidrocarburos terpénicos:	83

B) Determinaciones Químicas.

Se hicieron determinaciones de índice de ácido, índice de ester y de saponificación antes y después de acetilar siguiendo las técnicas transcriptas en la pág.: observándose que no existen ácidos libres, no se saponifica, ni acetila.

Separación de productos carbonílicos: Aldehidos y Cetonas.

Método por absorción.

Está basado en la propiedad general de los aldehidos y cetonas que forman compuestos de adición con el sulfito y el bisulfito de acuerdo a las siguientes reacciones:

- 1) $R-CH=O + SO_3HNa \rightarrow R-CH(OH)SO_3HNa$
- 2) $R-CH=O + SO_2Na_2 + H_2O \rightarrow R-CH(OH)SO_3Na + NaOH$

Estos derivados son luego descompuestos por acción de los ácidos minerales o bien de los alcalis, dejando en libertad el aldehido o cetona, que después puede ser identificado.

Sobre 10 ml de la esencia entera se efectuó la absorción de los aldehidos y cetonas con solución saturada de bisulfito de sodio, calentado a intervalos sobre baño maría y agitando, se enfrió y se separó la parte no absorbida con éter. A la parte que reacciona se le agregó álcali hasta reacción alcalina y se extrajo luego con éter etílico. Se eliminó el éter y se efectuaron las reacciones de investigación de aldehidos y cetonas.

La parte de la esencia no absorbida por el SO_2Na_2 se trató con solución saturada de sulfito de sodio, se pone en libertad $NaOH$ que debe ser neutralizado para completar la reacción, tiene la ventaja este método sobre el anterior que puede controlarse la reacción usando fenolftaleína. De tiempo en tiempo se neutralizó el álcali producido con solución de ácido acético hasta no más color. Se dejó 15 minutos en el agua hirviendo asegurándose así que la reacción había terminado.

Luego se procedió a liberar los aldehidos y cetonas y extracción con éter para su posterior identificación.

INVESTIGACION DE LOS ALDEHIDOS Y CETONAS SEPARADAS

Numerosas son las reacciones que conducen a derivados de estos importantes componentes.

En el presente trabajo los aldehidos y cetonas presentes se investigaron por formación de las 2-4dinitrofenilhidrazonas y de las semicarbozonas correspondientes:

a) Precipitación de los aldehidos y cetonas con 2-4 dinitrofenilhidracina.

Técnica.

Método de Shriner y Fuson: reactivo: Se hace una pasta con 0,4 g de 2-4 dinitrofenilhidracina y 2 ml de SO_4H_2 concentrado 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.

Se disuelve el producto carbonílico en etanol (0,5 g del primero para 20 ml del segundo) y 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 por una noche. Excepcionalmente es necesario calentar a reflujo por unos minutos. Al enfriar separa el derivado. Se recrystaliza de alcohol etílico, libre de aldehidos, acetato de etilo, ácido acético, etc. (en frío o en caliente).

Las determinaciones se efectuaron sobre el extracto carbonílico extraído con bisulfito y sulfito dando los siguientes resultados:

Cetona: 2-4 dinitrofenilhidrazona P.F. 128-230.

Aldehido: 2-4 dinitrofenilhidrazona derivado:

Derivado amarillo pardo: P.F. 194°C

Derivado rojo: P.F. 18°C

Índice de refracción de la cetona: 1,4680, olor típico del neneo.

b) Precipitación de los aldehidos y cetonas con clorhidrato de semicarbazida.

Técnica.

"A una solución acuosa de clorhidrato de semicarbazida se agrega un equivalente molar de acetato de sodio y a la solución resultante se agrega algo menos del equivalente molar del compuesto carbonílico. Puede ser necesario agregar algo de alcohol para obtener solución límpida. La semicarbazona generalmente cristaliza después de algunos minutos de temperatura ambiente, aunque a veces puede ser necesario mayor tiempo y calentar. Se debe luego recrystalizar de un disolvente adecuado: agua, alcohol o cetona".

Los resultados obtenidos trabajando sobre el extracto carbonílico extraído con bisulfito y sulfito son:

Cetona: semicarbazona P.F. 238°C.

Aldehido semicarbazona P.F. 274°C con descomposición.

Aislación y separación de los aldehidos y cetonas contenidas en el residuo de la destilación en columna.

Para separar los compuestos carbonílicos de los aceites esenciales es de suma utilidad el uso del reactivo Girard T. ya que permite aislarlos como hidrazonas solubles en agua. También este reactivo es útil para separar entre sí cetonas de aldehidos y como hidrazona asociada con ioduro mercurico determinando su temperatura de fusión, disponiendo así de un dato más que puede conducir a su identificación.

Técnica.

Se disuelve la muestra en etanol absoluto y se agrega un diez por ciento de este (en peso) de ácido acético glacial y luego un ligero exceso (sobre la cantidad estequiométrica) del reactivo Girard T. purificado. Se calienta a reflujo por una y media hora. Se enfría y vuelca sobre hielo machacado y agua, que contenga suficiente carbonato sódico en solución como para neutralizar 9/10 del ácido acético presente.

La concentración final del alcohol en la mezcla no será mayor del 10%. Se extraen los componentes no carbonílicos (no reaccionantes) con éter etílico, quedando en solución las hidrazonas. Para separar las cetonas se lleva la solución de las hidrazonas a acidez normal con ácido mineral y después de 1 h. a temperatura ambiente, se recupera la cetona por extracción con éter. Se recomienda usar etanol absoluto.

Preparación del compuesto con I₂ Hg asociado.

A la solución acuosa de la hidrazona obtenida con reactivo Girard T., se agrega solución acuosa al uno por ciento de ioduro mercurico (que contenga 2% de ioduro de potasio). Precipita rápidamente un compuesto insoluble, blanco o amarillo claro. Se sigue agregando sol de I₂ Hg en tanto haya precipitación.

Se deja luego ~~de separar~~ separar el agua sobrenadante, se lava dos o tres veces con agua destilada y elimina el exceso de ésta por filtración por succión y deja secar en un desecador. Cuando está bien seco se determina el punto de fusión. Los compuestos alifáticos dan un precipitado que se adhiere a las paredes del vaso, en tales casos, después de lavar con agua conviene disolver en pequeño volumen de alcohol, calentando suavemente y provocar luego por enfriamiento la reprecipitación.

Se separaron los aldehidos y cetonas del residuo de la destilación en columna siguiendo la técnica descripta anteriormente utilizando: 1 ml del residuo de la destilación + 5 ml alcohol absoluto + 0,5 ml acético glacial + Girard T. en exceso.

Una vez preparadas las hidrazonas con el reactivo Girard T. se liberaron las cetonas con ácido mineral, se extrajeron y luego se prepararon con ellas las 2-4 dinitrofenilhidrazonas.

Con las hidrazonas no lábiles a los ácidos minerales que corresponden a los aldehidos el compuesto con I₂Hg asociado.

Los resultados obtenidos son:

- 1) 2-4 dinitrofenilhidrazonas de la cetona P.F. 98°C.
- 2) Complejo Girard T I₂Hg del aldehido P.F. 127°C (color parduzco).

También se preparó la 2-4 dinitrofenilhidrazona de la cetona obtenida por oxidación de la fracción 2 de la destilación: P.F. 108-110°C (1a crist.)

P.F. 126 (2a ")

P.F. 128 (3a ")

Componente carbonílico de la fracción 8^o de la destilación analítica (esta fracción en la cromatografía gaseosa dio un solo pico VR=170,5). La 2-4 dinitrofenilhidrazona dio P.F. 100°C.

Conclusiones: Se trataría de una cetona tipo ciclohexanona de acuerdo al espectro obtenido en el ultravioleta de la 2-4 dinitrofenilhidrazona, es de temperatura de fusión baja.

Existe también otra cetona en la fracción 8a de la destilación que sería alifática por las dificultades en recrystalizar la 2-4 dinitrofenilhidrazona y semicarbazona. La 2-4 dinitrofenilhidrazona dio P.F. 100°C.

También se presenta una cetona pesada en el residuo de la destilación de P.F. 98°C, posiblemente la misma que pasó en la fracción 8a que se interrumpió la destilación. Por el espectro de la 2-4 dinitrofenilhidrazona sería una del tipo alifático.

INVESTIGACION DE HIDROCARBUROS TERPENICOS

Sobre las fracciones 1 y 2 de la segunda destilación del aceite esencial de neneo se intentó reconocer la presencia de estos hidrocarburos por la formación de distintos derivados.

& pineno

De acuerdo con su temperatura de destilación $60,5^{\circ}$ a 30 mm de Hg debería hallarse en las primeras fracciones.

Se preparó su nitrosocloruro siguiendo el método de Wallach modificado por el Dr. Adolfo Montes

Técnica (40)

Se mezclan 1 ml de hidrocarburo y 2-3ml de ácido acético glacial, se enfría con hielo y se deja que la masa solidifique. Se agrega gota a gota, agitando y enfriando, nitrito de amilo, en cantidad igual a la del ácido acético, en esta última operación emplear de 10 a 15 minutos. Se deja 10 minutos en hielo y se agrega agitando 0,5 ml de ClH concentrado, hasta que aparezca precipitado y luego un ligero exceso. Dejar en frío durante 15 minutos y filtrar. Se recrystaliza disolviendo el precipitado en pequeño volumen de CHCl_3 frío precipitando con algunas gotas de metanol.

La determinación se efectuó sobre las fracciones 1 y 2. De ambas fracciones se obtuvo un sólido, que en el caso de la fracción 1 dada la cantidad mínima no fue posible recrystalizar.

Los puntos de fusión de los nitrosocloruros obtenidos para las dos fracciones osciló entre 65° - 75°C .

Conversión de & pineno en Sobrerol

Técnica de Herderson, Stevenson y Spatbrun (41)

50 gramos de muestra son oxidadas con 350 gramos de acetato mercurico disuelto en 1500 cc. de agua. Después de varios días de agitación, las soluciones son filtradas, y el filtrado se extrae totalmente con cloroformo.

El extracto cloroformico después de ser lavado con carbonato de sodio acuoso y secado sobre carbonato de potasio anhidro es calentado hasta que el cloroformo es expelido y el residuo marrón viscoso que solidifica dejándolo estar es purificado por repetidas cristalizaciones de benceno. En cada caso el producto que se obtiene es la modificación inactiva del sobrerol P.F. 131°C .

Los ensayos se realizaron sobre la fracción 2 obteniéndose un producto de punto de fusión: 125° - 130°C .

Pineno

El pineno fue investigado también en la fracción 2 por transformación en ácido norpinico.

Técnica: Oxidación a ácido norpinico (42)

Se prepara en caliente solución de 7 grs de KNO_3 , 1,2g de KCH_3 y 100ml agua; se deja enfriar. Agregar de una vez 3 g de pineno (o fracción problema), se agita y mantiene por debajo de 30°C durante 5 horas. Se filtra y concentra al tercio; agregar 1,55 g de sulfato de sodio. El norpinato de potasio cristaliza. Se libera de líquido por succión, disuelve en agua y trata con solución diluida de ácido sulfúrico hasta neutralizar el álcali y extrae el ácido con éter.

Se evapora éste y recristaliza de benceno. Agujas p.F. 126-127. En la práctica se siguió la técnica antes descripta; se obtuvo un precipitado (infima cantidad) correspondiente posiblemente al norpinato de potasio.

La solución separada por succión que posiblemente contenía otros componentes oxidados, se trató con ácido sulfúrico al 20 % hasta neutralizar el álcali, se hicieron extracciones con éter, el extracto etéreo se pasó a un vasito de precipitados. Se evaporó el éter y luego se procedió a determinar el equivalente de neutralización del residuo de ácido obtenido.

El residuo ácido unavez pesado se disolvió en 1ml de alcohol neutralizado y se titulaba con solución de NaOH 0,1N.

Peso del ácido : 0,0287 g.

Alcali gastado: 0,4 ml NaOH 0,1N $f=0,9143$

Equivalente de neutralización: 784,75.

Conclusiones: Se trataría de & y pineno.

RESUMEN DE LAS CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DE LA
OLEOGOMORESINA DEL MULINUM SPINOSUM "NENEO"

Antecedentes

Lugar de origen: Zapala (Cauquenes)

Epoca de recolección: enero de 1960

Método de obtención: exudado provocado por cortes en el tronco.

Caracteres físicos

Caracteres organolépticos

Aspecto: opaco y consistencia pastosa

Color: ambar

Olor: fuertemente aromático

Partición de la oleogomoresina en: goma, resina y aceite esencial.

Se partió de 108,15 grs de muestra, obteniéndose:

Goma: 5 g - 4,62%

Sol. éter de petróleo: 72,3 g (66,95%).

Resina

Sol. alcohol etílico: 15,8 g (14,62%).

Aceite esencial: 16,5 cm³ (12,84%).

GOMA: Se hicieron ensayos cualitativos de identificación con resultados negativos.

Carece de adhesividad en suspensión acuosa.

Rf(glúcidos): 0,22. Posiblemente arabinos.

RESINA:

Determinaciones

Solubilidad en distintos solventes: acetona, etanol, butanol, acetato de butilo, Toluol, glicerina, etc.

Punto de ablandamiento: 45°C.

Índice de ácido: 124,5

Índice de éster: 70,6

Índice de iodo: 97,78

Viscosidad: L-M Gardner-Holdt a 25°C equivale a 3,00-3,20 poises

Índice de refracción: 1,502 a 1,505

Espectro infrarojo: revela presencia de ácidos, ésteres, grupos carbonílicos.

Presencia de compuestos carbonílicos: 2,4-dinitrofenilhidrazona P.F. 182°C.

Ensayos de aplicación en barniz: La parte soluble en éter de petróleo mezclada con partes iguales de esencia de trementina se comporta como un barniz de secado lento que da capa brillante que queda bien adherido a la madera. La oleogomoresina tal cual no da resultado.

Aceite esencial:

Aspecto: producto oleoso, límpido.

Color: amarillo muy pálido recién destilado.

Olor: suigeneris.

Determinaciones

Peso específico: a 14,5°C = 0,8407 $\frac{g}{cm^3}$

Índice de refracción:

Poder rotatorio:

Cromatografía en columna, por desplazamiento, para separar los hidrocarburos terpénicos del aceite esencial liberado de carbonílicos. No dio resultado.

Destilación analítica al vacío: se separaron 8 fracciones y 1 residuo, se constató por cromatografía gaseosa que estaban constituidas por mezclas.

Cromatografía en placa de ácido silícico: se constató la presencia de carbonílicos.

Espectrofotometría ultravioleta: ligera inflexión en 265mμ.

Cromatografía en fase gaseosa

A) Columna R de 2 m (de polipropileno glicol. P.M.v550 sobre tierra de diatomeas; se le denomina UCON LB - 550 - X.

Se cromatografiaron usando esta base fija y N₂ como gas a 195°C y flujo 18,3 ml/min., las fracciones de la destilación analítica, obteniéndose hasta nueve componentes.

B) Columna SAIB (diacetato exaisobutirato de sacarosa, 10% sobre tierra de diatomeas) de 2 m, se usó a 150°C con gas N₂ y flujo 16,2 ml/min.

Se hizo un cromatograma tal cual obteniéndose 4 picos y residuo destilación 5 componentes.

Espectro infrarrojo libre de carbonílicos: predominio de hidrocarburos terpénicos.

Componentes identificados:

Hidrocarburos: α pineno pineno, limoneno, mirreno.

Compuestos carbonílicos: existen los siguientes compuestos no identificados:

Cetona: 2-4 dinitrofenilhidrazona P.F. 128 - 130

semicarbazona P.F. 238°C

Aldehído: 2-4 dinitrofenilhidrazona: a) derivado rojo P.F. 181°C.

b) derivado amarillo pardo P.F. 194°C.

semicarbazona P.F. 274°C con descomposición.

Oxidación fracción 2 dest. analítica: P.F. 108 - 110°C (1ra cristalización)

P.F. 126°C (2da ")

P.F. 128°C (3ra ")

Fracción 8° destilación analítica: 2-4 dinitrofenilhidrazona P.F. 100°C.

Residuo destilación en columna: a) 2-4 dinitrofenilhidrazona de la cetona P.F. 98°

b) Complejo Girard T I₂Hg del aldehído P.F. 127°C
(color parduzco).

CONCLUSIONES

El estudio realizado ha permitido establecer la composición de la oleogomoresina en lo que se refiere a la proporción de goma, aceite esencial y resina propiamente dicha.

Se han determinado las características físicas y químicas de cada uno de estos componentes y tratado de identificar los componentes particulares del aceite esencial, que pertenecen al grupo de los hidrocarburos terpénicos en su mayor parte con una pequeña proporción de componentes carbonílicos. La proximidad de temperatura de ebullición y peso molecular de los componentes no ha permitido que pudieran ser separados por destilación analítica, ni por cromatografía de ácido silícico por desplazamiento; tampoco la cromatografía en fase gaseosa permitió una neta separación de esos componentes. La combinación de esta última técnica con determinaciones de orden químico más el espectro obtenido en el infrarojo, condujeron a la identificación de algunos hidrocarburos terpénicos (α pineno, β pineno, limoneno y posiblemente miroeno). Los derivados obtenidos de los componentes carbonílicos aislados, sea por vía física (dest. anal. y cromatografía) y química (reactivo Girard T para fraccionar cetonas y aldehídos), aunque no han permitido una identificación neta por falta de datos tabulados de componentes típicos de esencias, han permitido establecer sus características que facilitarán su ulterior identificación.-

Adolfo L. Fontes

invernes

BIBLIOGRAFIA

- (1) Gay Claudio - Historia de Chilo(Botánica) Tomo III,MDCCCLVII.
- (2) Boeloke O. - Revista de Investigaciones Agrícolas,Tomo XI-Es.As.1957,Nº
- (3) Engler A. und R.Prantl - Die Naturlichen Pflanzenfamilien,III,8(1898),13
- (4) Pardo Luis L. - Administración Nacional de Bosques , Mayo 1960.
- (5) Terradas A.Carlos - Dirección de Cultivos Especiales(Ministerio de Agricultura de la Nación)Enero 1950.
- (6) Dupont G;Grionard V.- Tratado de Química Orgánica,Tomo XVI,pág.547 y siguientes.
- (7) Keyes - Ind.Eng.Chemistry 1925 - 17 - 558.
- (8) Dupont G;Grionard V. - Obra citada,pág 620 y siguientes.
- (9) Dupont G;Grionard V. - Obra citada,pág 624 - 625.
- (10) C.L.Mantell - The water soluble Gums, N.York 1947.
- (11) F.H.Harves - Vegetable Gums and Resins.
- (12) Favoraky y Lebedeva Bull Soc.Chim.1939,vol 6,1330.
- (13) Montes Adolfo Leandro - Analítica de los productos aromáticos,1961,Vol Introducción.
- (14) Guenther E.: "The Essential Oils",pág 54.
- (15) Huntress E and Mulliken S. - Identification of Pure Organic Compounds: order 1. pág 573(1941)
- (16) Guenther E. - Obra citada,pág 62.
- (17) Guenther E. - Obra citada,pág.41.
- (18) Guenther E. - Obra citada,pág 27.
- (19) Guenther E. - Obra citada,pág 66.
- (20) Finnemore - Essential Oils,pág 47.
- (21) Lederer Edgar y Lederer Michael - Chromatography a review of principles applications,1953.
- (22) Cramer Friedrich - Cromatografía sobre papel,1958,pág 16.
- (23) Morton R.A. - Perf.Ess.Rec. 20,358 y siguientes(1929).
- (24) Montes Adolfo L. - Obra citada,pág 65 y siguientes.
- (25) Jacobs M.B.Jaffel - Ind.Eng.Chem.Anal.Ed. 3,210 - 12 - 1931.
- (26) Cramer Friedrich - Obra citada pág.88.
- (27) LABORATORIUMI FELSZERELESEK GYARA - BUDAPEST IX,LILION U. 46.
- (28) Montes Adolfo L. - Obra citada,pág 156.
- (29) Montes Adolfo L. - Obra citada,pág 158.
- (30) Di Noia E. - Tesis(Estudio analítico de resinas sintéticas)pág 88 y sig
- (31) Mantell C.L. - The Technology of Natural Resins (1942)

- (32) Shriner, Fuson - The systematic Identif. of Org. Compounds 3d-ed. pág 17
- (33) Gallardo Isabel F. - (Tesis) pág 46 y siguientes.
- (34) Montes Adolfo L. - Obra citada, pág 150.
- (35) Montes Adolfo L. - Obra citada, pág 62.
- (36) Montes Adolfo L. - Obra citada, pág 173.
- (37) Montes Adolfo L. - Obra citada, pág 235.
- (38) Montes Adolfo L. - Obra citada, pág 237.
- (39) Montes Adolfo L. y Wiernik Miguel - Anales de la Asociación Química
Argentina, Tomo 48, pág 163 a 168,
Año 1960.
- (40) Montes Adolfo L. - Obra citada, pág 246.
- (41) Henderson et Agnew J - Chem. Soc. London (1909) 95-1465.
- (42) Gallardo Isabel F. - (Tesis) pág. 41

- - - - -