

Tesis de Posgrado

Características y composición del aceite esencial de "Schinus crenatus" de Isla Victoria, Parque Nacional Nahuel Huapí (Neuquén)

García Padrón, Margarita Caridad

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:

García Padrón, Margarita Caridad. (1961). Características y composición del aceite esencial de "Schinus crenatus" de Isla Victoria, Parque Nacional Nahuel Huapí (Neuquén). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1098_GarciaPadron.pdf

Cita tipo Chicago:

García Padrón, Margarita Caridad. "Características y composición del aceite esencial de "Schinus crenatus" de Isla Victoria, Parque Nacional Nahuel Huapí (Neuquén)". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1961.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1098_GarciaPadron.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

Características y composición del aceite esencial
de SCHINUS CRENATUS de Isla Victoria, Parque Na-
cional Nahuel Huapí (Neuquén).

MARGARITA CARIDAD GARCIA PADRON

RESUMEN DE TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL

TITULO DE DOCTORA EN QUIMICA

A Ñ O 1 9 6 1

B. de Tesis: 1961

El propósito de este trabajo experimental ha sido contribuir al conocimiento de la composición química y características físicas y aromáticas de los aceites esenciales de plantas autóctonas.

En este caso particular nos hemos ocupado separadamente de los aceites de hojas y ramas de un arbolillo que crece indígena en la zona del Parque Nacional Nahuel Huapí.

Su clasificación botánica es la siguiente:

Familia: ANACARDIACEAE

TRIBU: RHOIDEAE

Género: SCHINUS.

Especie: SCHINUS CRENATUS.

Se le conoce vulgarmente con el nombre de "laura".

Después de hacer un comentario general sobre los aceites esenciales, sus aplicaciones, compleja composición, métodos de extracción y la importancia y desarrollo que van adquiriendo en nuestro país, pasamos a reseñar las normas o directivas que conviene seguir en la investigación de estas sustancias, mencionando los métodos clásicos de separación así como los más modernos, y los medios de lograr la identificación de componentes.

Carecemos de antecedentes bibliográficos sobre nuestras esencias, no obstante hemos encontrado trabajos sobre otras plantas de la misma familia.

El material usado se recolectó durante el mes de Febrero de 1960, se dejó secar al aire y fué enviado por la dirección del Parque Nacional Nahuel Huapí en la cantidad de 20 Kg. Hojas y ramas se trataron separadamente para obtener sus aceites esenciales. Las primeras, una vez trituradas a mano, se destilaron con vapor de agua a presión. Sobre el destilado se efectuaron varios extractos etéreos. Estos extractos reunidos, se concentraron obteniéndose un producto con bastante resina. Se procedió a su purificación sometiéndolo a destilación con vapor de agua en equipo a reflujo y trampa graduada del tipo adoptado por la A.O.A.C. de

E.E.U.U. obteniéndose 8,4 ml. de esencia de hojas. Rendimiento: 0,18 ml. de esencia % g de hojas. Las ramas, molidas mecánicamente, fueron luego arrastradas con vapor de agua recogiendo 4,7 ml. de esencia en trampa tipo A.O.A.C. de E.E.U.U.- Rendimiento: 0,26 ml. % g.

DETERMINACIONES FISICAS Y QUIMICAS SOBRE ESENCIA DE HOJAS.-

- 1) Peso específico a 15,5° C : 0,9686 g/ml.
- 2) Índice de refracción a 13° C: 1.5030.
- 3) Índice de ácido: 13,05.
- 4) Índice de éster: 99.91.
- 5) Índice de saponificación: 112.96.
- 6) Curvas de absorción en el ultravioleta de:
 - a) esencia entera de hojas.
 - b) esencia de hojas libre de ácidos y fenoles.
- 7) Cromatografía sobre placas de vidrio recubiertas con sílice y almidón.

SEPARACIONES E IDENTIFICACIONES SOBRE ESENCIA DE HOJAS.-

Sobre 2 ml. de esencia (1,9372 g) se siguió la marcha analítica de Wattiez y Sternon (modificada convenientemente) que permitió separar los siguientes componentes:

- 1) ácidos grasos libres: 9.81 %.

Con ellos se prepararon sus ésteres metílicos para un estudio posterior por cromatografía gaseosa.

- 2) Fenoles: 8,19 % . Su 35 dinitrobenzoato dió P F: 108° C (indicaría o-etil-fenol).

- 3) Esencia libre de ácidos y fenoles: 80,81 %.

Se le determinó la curva de absorción en el ultravioleta.

Extracción de carbonílicos con Girard T.- A partir de la esencia libre de ácidos y fenoles por absorción con el reactivo Girard T, que permite separar grandes y pequeñísimas cantidades de componentes carbonílicos de productos naturales. Permite además separar carbonílicos entre sí

(aldehidos y cetonas) y aún cetonas entre sí.

4) Aldehidos: Asociación de la hidrazona con I_2Hg dió PF: 138°C.

5) Cetonas: Se recuperaron por hidrólisis de las hidrazonas.

Su semicarbazona no pudo obtenerse.

Su 24 dinitrofenilhidrazona de color rojo tiene PF: 150°C y un índice de refracción a 20°: 1.5150.- Esto indicaría posibles aromáticos o terpénicos.

6) No absorbidos por Girard T: 9.04 %.

7) Alcoholes: Sobre el no-reaccionante con Girard T:

1) 3-5 dinitrobenzoatos; PF: 101-102°

2) I_R a 20° : 1.5010.-

DETERMINACIONES FISICAS Y QUIMICAS SOBRE ESENCIA DE RAMAS.-

1) peso específico a 15,5°C: 0.9099 g/ml.

2) índice de refracción a 13° C: 1.4930.

3) índice de ácido: 8.07

4) índice de éster: 51.56

5) índice de saponificación: 59.63.

6) curvas de absorción en el ultravioleta de esencia de ramas, entera.

7) Cromatografía sobre placas de vidrio recubiertas con sílice y almidón.

SEPARACIONES E IDENTIFICACIONES SOBRE ESENCIA DE RAMAS.-

Sobre 2 ml. se siguió la misma marcha que para esencia de hojas separándose:

1) ácidos grasos libres: 6.06 %.

2) fenoles en pequeñísima cantidad.

Sólo pudo hacerse cromatografía en placas.

3) Esencia libre de ácidos y fenoles: 89.98 %.

Extracción de carbonílicos con Girard P.

4) Aldehidos: Complejo Girard P + I_2Hg ; PF: 127° C.

5) Cetonas: semicarbazona; PF: 220° C.

2-4 dinitrofenilhidrazona; **PF**: 90-93° C.

y curvas de absorción en el ultravioleta.

6) Alcoholes: 3-5 dinitrobenzoato de **PF**: 91-92° C.

CROMATOGRAFIA GASEOSA.-

Se hicieron varias inyecciones de 5 y 10 ml. de esencia de hojas y ramas usando la columna SAIB de 2 m, a temperaturas de 150 y 200° C. La observación detallada de los cromatogramas y los valores de tiempos de retención y volúmenes de retención para cada pico, así como las 2 - 4 dinitrofenilhidrazonas obtenidas con algunas de las fracciones entrampadas ayudó a esclarecer algo el problema. Más hubiera podido lograrse si se dispusiese de gran variedad de sustancias de tipo para obtener sus datos de retención en las condiciones de trabajo especificadas.

CONCLUSION.-

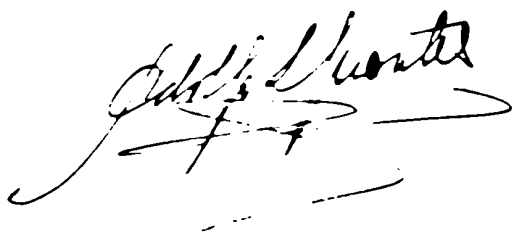
De un examen final de los datos obtenidos con las fracciones separadas en la marcha analítica y los hallados por vía cromatográfica gaseosa se deducen como componentes probables de la esencia de hojas:

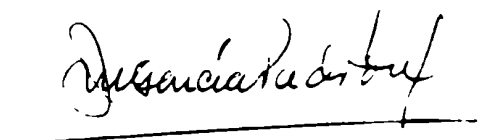
- 1) El orto-etil-fenol.
- 2) Alcohol tujílico

Para esencia de ramas:

- 3) β - santonona
- 4) metil - n - nonil - cetona
- 5) alcohol d-iso- tujílico.

Una mejor y más segura identificación de los componentes se hubiera conseguido con una mayor cantidad de muestra.





FCEN-BA.

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Características y composición del aceite esencial
de "Schinus crenatus" de Isla Victoria,
Parque Nacional Nahuel Huapí (Neuquén)

Margarita Caridad García Padrón

Tesis presentada para optar al
Título de Doctora en Química

AÑO 1961

TESIS 1098

UNIVERSIDAD

PADRINO DE TESIS

Dr. Adolfo L. Montes. Profesor Titular,
Cátedra de Bromatología y Análisis in-
dustriales.

1950

DEDICADA:

A la memoria de mi querido abuelito el
Dr. Ricardo Padrón Vidal.

Mi profundo y sincero agradecimiento al Dr. Adolfo L. Montes, Profesor Titular de la Cátedra de Bromatología y Análisis Industriales, quién con su amabilidad y paciencia características dirigió desinteresadamente el presente trabajo, poniendo a mi disposición su valiosa experiencia de hábil, sabio y generoso investigador.-

Su Tesis de Profesor Adjunto "Productos Aromáticos", así como su libro "Análítica de los Productos Aromáticos" fueron para mí, guías de inestimable valor.-

FOYBA

AGRADECIMIENTOS:

Mi gratitud al Profesor José F. Molfino, Director del Instituto de Botánica y Farmacología y del Departamento de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de Buenos Aires, quién tuvo la gentileza de facilitarme la clasificación botánica de la planta, así como material bibliográfico sobre la misma.-

PROPOSITO DE LA INVESTIGACION

El propósito de este trabajo experimental ha sido contribuir al conocimiento de la composición química y características físicas y aromáticas de los aceites esenciales de plantas autóctonas. En este caso particular, el obtenido de hojas y ramas de un arbolillo de hojas verde claro, suave y gratamente aromáticas, con pequeños frutos de color violáceo, que crece indígena en la zona del Parque Nacional del Nahuel Huapí.-

El *Schinus crenatus*, conocido allí con el nombre de "laura". En esta región se lo encuentra en abundancia por ejemplo en la parte occidental de la Isla Victoria y en el camino de Bariloche a El Bolsón, en el faldeo que desciende desde la ruta en el Cañadón de la Mosca hacia el valle inferior.-

--oOo--

LOS ACEITES ESENCIALES

Pocas sustancias han despertado quizá tanto interés en todos los tiempos como los aceites esenciales.-

Obsequio de Dios a la naturaleza, tornan más grata la vida del hombre deleitándolo con la fragancia de sus aromas y la variedad de gustos que confieren a muchas clases de productos manufacturados.-

Considerados en la antigüedad como artículo lujoso, dedicado especialmente a las divinidades, constituyen en nuestra avanzada civilización una necesidad más del hombre moderno.-

De vastísima aplicación hoy día, contribuyen a nuestra salud y bienestar. Se utilizan en muy variados productos tales como: antisépticos, analgésicos, sedantes, estimulantes, digestivos, odorizantes y desodorizantes, así como en cosmética y perfumería, y en algunos productos industriales (gomas, látex) con diversos fines (alcanfor como plastificante).-

Sus notables propiedades, capaces de manifestarse intensamente en ínfimas cantidades de sustancia, los hicieron objeto de general estima, y excitaron la curiosidad de numerosos científicos, que con entusiasmo encomiable, consagraron sus conocimientos y esfuerzos al estudio de su composición. Tan laboriosa y difícil tarea, contribuyó grandemente al desarrollo de la Química Orgánica, por la imperiosa necesidad de buscar, medios cada vez más eficaces de separación e identificación de componentes, manteniendo los métodos clásicos en constante evolución y perfeccionamiento, y logrando encontrar otros nuevos.-

Los aceites esenciales, sustancias fácilmente volátiles, que se extraen de las flores, hojas, frutos, raíces y otras partes de muchas plantas, son en su mayoría mezclas muy complejas. En su composición, dilucidada en parte a través de varias décadas de intenso trabajo, por varios investigadores, entran constituyentes de muy diversa estructura química.

mica, que en líneas generales es posible clasificar en:

- 1) Terpenos
- 2) Derivados bencénicos
- 3) Compuestos alifáticos
- 4) Compuestos diversos incluyendo heterociclos y algunos componen
tes nitrogenados y azufrados.-

De todos éstos, los terpenos carecen de valor desde el punto de vista aromático. Son hidrocarburos que se oxidan y polimerizan con facilidad modificando desagradablemente el aroma (1). Un menor contenido en terpenos y mayor proporción de componentes oxigenados se traducirán en una mejor calidad y elevado precio, para una determinada esencia. Para muchos países la obtención de esencias constituye una industria interesante, particularmente en Francia, Italia, España, Turquía, etc.-

Los métodos de extracción varían de una planta a otra y a veces también de un país a otro, pero fundamentalmente son los siguientes:

1) Por expresión:

- a) a esponja
- b) escudilla
- c) con prensas

2) Por destilación mediante vapor de agua

3) Extracción con disolventes volátiles

4) Extracción mediante sustancias grasas (enfleurage)

Para detalles sobre cada uno de estos métodos consultar la biblio
grafía que se recomienda al final (2) (3) y (4).-

En nuestro país es una industria relativamente reciente y de lento desarrollo. Quizá años atrás, las entidades nacionales no se preocu
paron suficientemente por impulsar la explotación de las riquezas de nuestro suelo, aunque, la Dirección de cultivos especiales del Ministe
rio de Agricultura y Ganadería de la Nación se ocupó en algunas oportu

nidades de ensayar cultivos de diversas plantas aromáticas, en distintos lugares de la República, con el fin de determinar, que zonas podrían resultar más aptas para ciertas especies. Contaron para ello con la labor desinteresada del Dr. A. L. Montes y colaboradores quienes determinaron las características y composición de muchas de las esencias obtenidas.-

Estos estudios que comprenden varios aspectos: botánico, químico y económico se están organizando debidamente en la actualidad bajo los auspicios del INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) que va ocupando en estas tareas a prestigiosos investigadores.-

También recientemente se ha creado la Sociedad Argentina para la Investigación de Productos Aromáticos, lo que dice mucho del entusiasmo y espíritu de desarrollo que anima a los hombres de nuestros días, y que ha de redundar en beneficio del prestigio del país y del progreso dentro del mismo.-

Estadísticas sobre la producción actual de Aceites Esenciales en la República Argentina pueden consultarse en la bibliografía al final (5).-

En la misma obra se informa ampliamente a cerca de la bibliografía nacional existente sobre el tema.-

ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

Una infructífera búsqueda de antecedentes sobre la esencia de *Schinus crenatus*, que sirviera como elemento de juicio para decidir la aceptabilidad de nuestros resultados, nos enfrentó con un factor adverso: la imposibilidad de confrontar a posteriori nuestro trabajo con el de otros investigadores.--

Sin embargo, hemos constatado, que la familia de las anacardiáceas no ha sido totalmente olvidada por los estudiosos. Algunos han dedicado su atención a diversas especies.--

Podemos citar el trabajo existente sobre esencia de *Schinus molle* (6)(7)(8)(9)(10)(11). Disponemos de información tanto de los aceites de bayas y hojas, que se han investigado separadamente, como de una mezcla de ambos.--

Hemos encontrado además, un estudio a cerca de la exudación resinosa de *Pistacia lentiscus* L (oil of mastic) (12)(13)(14).--

De todas ellas se conocen sus propiedades físicas y en parte su composición.--

La bibliografía sobre la planta y familia a que pertenecen las esencias a estudiar aquí, es escasa y nos fuera proporcionada gentilmente por el Profesor J. M. Molfino, actual Director del Instituto de Botánica y Farmacología y del Departamento de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires.--

Por tratarse de un extracto transcribiremos textualmente la parte que interesa, con la intención manifiesta de contribuir a su divulgación para un mejor conocimiento de las anacardiáceas. (15).--

CLASIFICACION Y DESCRIPCION BOTANICAS

Las esencias en estudio se obtuvieron de hojas y ramas de árboles especialmente enviados por la Dirección del Parque Nacional Nahuel Huapi en Bariloche provincia de Neuquén.-

Su clasificación botánica facilitada por atención del Profesor J. M. Molfino es la siguiente:

FAMILIA : AHACARDIAGEAE.

TRIBU : Rhoideae.

GENERO : Schinus.

ESPECIE : Schinus crenatus.

Las Anacardiáceas (15) son árboles o arbustos que poseen jugos gomosos o lecherosinosos frecuentemente venenosos o cáusticos.-

SCHINUS GRENATUS (Phil, Engler)

Arbusto o arbolito de 2-4 m. de altura. Ramas cortas. cenicientas. Hojas semicoriáceas, glabras, brillantes en el haz, con pecíolo canaliculado por encima de 6-15 mm. de largo, y lámina elíptica aguda en el ápice y atenuada en la base, entera o crenada en la parte superior del margen, con nervadura central prominente y nervaduras laterales inmersas; de 20-45 mm. de longitud por 15-25 mm. de anchura.-

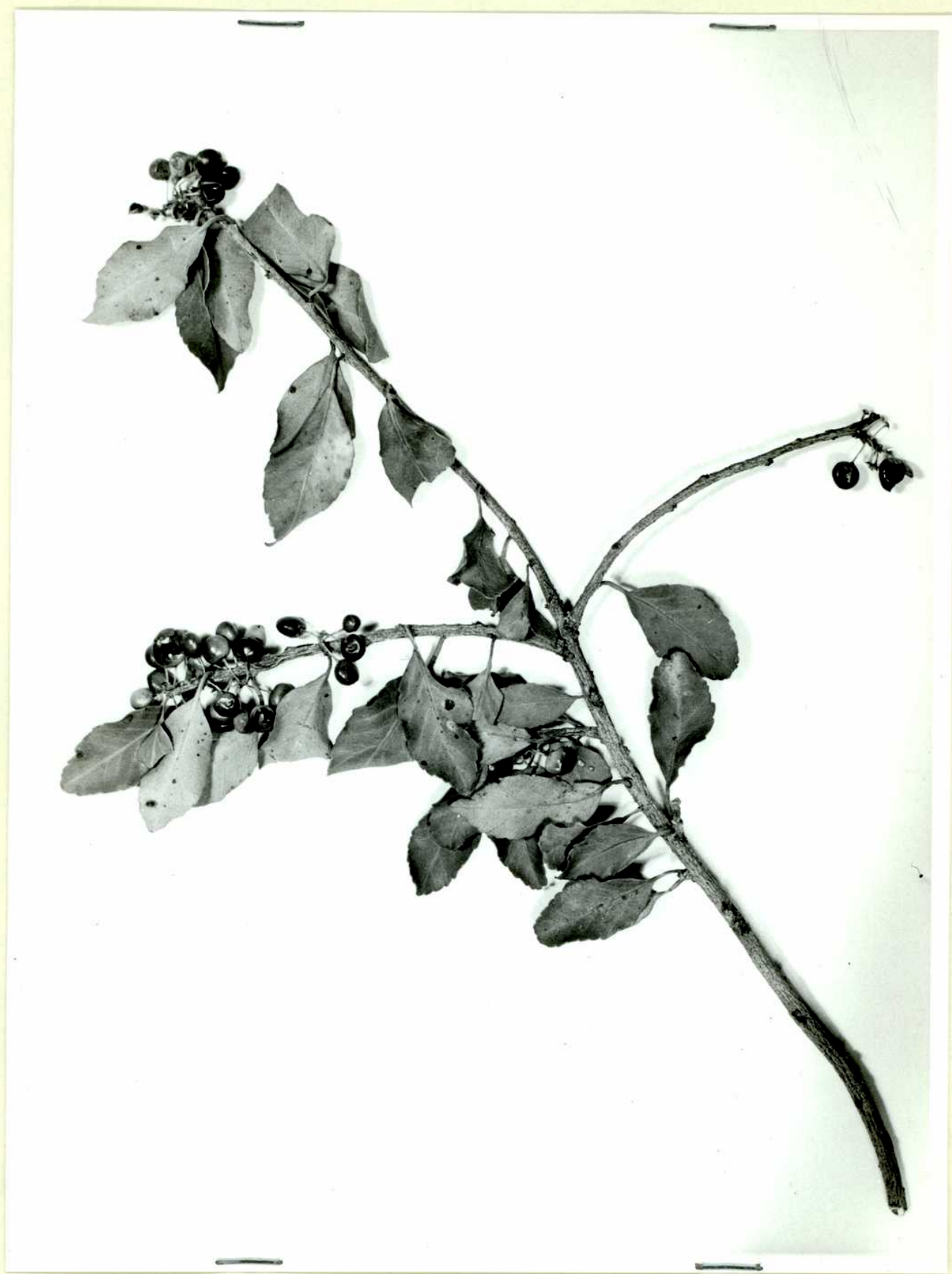
Racimos de 10-25 mm. de longitud. Lóbulos del cáliz ovalados, de 0,5 mm. de largo.-

Pétalos oblongos, de 2-2,5 mm. de longitud por 1mm. de anchura.-

Flores masculinas con estambres de 1-2 mm. de largo provistos de anteras semiorbiculares.-

Flores femeninas con estambres reducidos y ovario subgloboso, con estilo muy corto y estigma capitado, trilobado.-

Drupas globosas de color castaño de 5mm. de diámetro.-





DISTRIBUCION GEOGRAFICA.- (15)

En las montañas, desde Talca a Valdivia en Chile y desde Neuquén al norte del Chubut en la República Argentina.-

USOS DE LAS ANACARDIACEAS.- (15)

Esta familia posee una serie bastante numerosa de especies útiles. Unas dan frutos comestibles como el "marañón" (*ANACARDIUM OCCIDENTALE* L), el "mango" (*MANGIFERA INDICA* L) y el "pistacho" (*PISTACIA VERA* L).-

Otras se emplean en medicina como el *Rhus* aromática Ait y el *Rhus toxicodendron* L, el *semeocarpus anacardium* L.-

Otras se utilizan con fines industriales, ya su resina para la fabricación de barnices (*Rhus vernicefera* Caud, *Pistacia lentiscus* L, etc.) ya sus contenidos tánicos como curtientes o su madera para construcciones diversas.-

En la República Argentina, se explotan intensamente los quebrachos colorados (*Schinopsis Lorentzii* Eng y *Schinopsis Balansae* Eng); el primero para la fabricación de postes y durmientes, mientras el segundo se usa sobre todo para la extracción de tanino. Con los mismos fines se explotan en menor escala el *Astronium Balansae* y *Astronium urundeuva* y en Chile *Lithraea cáustica* H et A.-

Además en el Norte de Chile y de la Argentina se cultiva el "mango". Como especies ornamentales y para sombra, se cultiva también el *Schinus molle* variedad *areira* (L) y más raramente la *Lithraea molleoides*.-

DIRECTIVAS PARA EMPRENDER LA INVESTIGACION

Todo trabajo de investigación debe ser planeado con criterio para evitar esfuerzos inútiles que se traducirán con desventajas económicas en pérdidas de tiempo, muestra y reactivos.-

Una primera orientación se hace en base a antecedentes bibliográficos y a la cantidad de esencia obtenida. Es, este último, un factor limitante de las posibilidades del examen analítico, que paso a paso es tará condicionado a ella. Muy difícil resulta la tarea, si se trata de un aceite esencial aún no estudiado, multiplicándose los inconvenientes si se dispone de una muestra exigua. En tal caso no puede pretenderse mucho. Quedará abierto un capítulo con poderosos interrogantes y el deseo tácito de que otros investigadores, puedan, más adelante, en condiciones más favorables, proseguirlo, para ir iluminando las sombras de duda y acrecentando los primitivos conocimientos.-

Mas esperanzas habrá si puede contarse con material abundante y se encuentran antecedentes en la literatura.-

Ante todo, es fundamental, asegurarse de la pureza del aceite esencial a estudiar. Si su origen es dudoso, carecería de sentido deter minar sus características y tratar de identificar componentes.-

En cuanto las plantas llegan al laboratorio, se someten a una rigurosa selección, previa a la destilación, Ello evitará la posibilidad de contaminaciones y adulteraciones con materiales extraños.-

Reunir la mayor información posible a cerca de las plantas, es de la mayor importancia, en razón de que la composición y calidad del aceite varían con numerosos factores. Se consignará pues en el trabajo, el lugar de crecimiento, altitud, clima, naturaleza del suelo y grado de madurez del vegetal. También interesa saber si el aceite esencial proviene de plantas frescas, marchitas o secadas al aire.-

Estudiando la composición del aceite extraído en diferentes etapas del desarrollo de la planta, puede determinarse, que momento es más oportuno para la cosecha, a fin de obtener un producto rico en determi nados componentes.-

El tratamiento a que se somete el vegetal durante el período comprendido entre el corte y la destilación, merece especial atención. U na vez cortadas las plantas, comienzan a tener lugar la oxidación y re sinificación de las esencias.-

Vo. Recnenberg (23) que ha estudiado profundamente estos cambios nos dice textualmente:

"Algunas plantas frescas o partes, con un alto contenido en agua (rosas, tanaceto, raíz de cálamo aromático, etc.) pierden mucho de su aceite esencial por secado al aire, otras muy poco. Esta pérdida es ocasionada por evaporación, oxidación, resinificación y otras acciones químicas. Contrariamente a lo que se espera, la evaporación, parece aquí jugar un papel subordinado a la oxidación y resinificación.-

La evaporación del aceite volátil, a través de los tejidos de la planta, no puede tener lugar sin antes ser llevado a la superficie por hidrodifusión con agua, que es el medio transportador".-

La mayor pérdida del aceite esencial ocurre al triturar la planta antes de la destilación. Mediante la trituración (24) se liberan los aceites esenciales de las glándulas o sacos que los contienen, quedando expuestos a las acciones descritas, mientras que, cuando la planta está intacta, el aceite va pasando al exterior por procesos de hidrodifusión que son muy lentos y ocurren aún a menor velocidad en plantas secas, precisamente porque falta el agua.-

Destilando la planta fresca, lo cual no siempre es posible, se podrían evitar estas pérdidas y habría un mayor rendimiento, pero de este modo es difícil y lenta una extracción completa.-

En base a las consideraciones precedentes se comprende por qué algunas plantas deben secarse al sol, siendo además variable el tiempo de exposición a él, desde un día a meses. Otras deben secarse a la sombra y almacenarse y finalmente las hay que deben ser destiladas inmediatamente después de su corte.-

Si se trata de establecer la composición de un producto explotable comercialmente, conviene, según aconsejan los expertos (25), hacer la destilación en escala comercial porque un aceite destilado en el la

boratorio a partir del vegetal puede no representar el del comercio.-

Con todos estos datos, se procede a determinar las propiedades físicas y químicas generales, y se comparan los valores obtenidos con los que da la bibliografía para aceites puros normales. Si se observaran desviaciones notables, se interrumpe la investigación. Es probable que el aceite se haya producido normalmente o haya sufrido contaminaciones. Si, por el contrario, existe una concordancia aceptable entre los pares de valores a comparar, se prosigue la investigación con el fin de descubrir tantos constituyentes como sea posible.-

Aquí, el químico se enfrenta con un arduo problema, separar gran diversidad de compuestos cuya única relación entre ellos es su volatilidad y su origen común.-

No pueden darse métodos de estudio aplicables con igual éxito a distintos aceites, pero puede recomendarse un esquema general a seguir (26) muy útil. Las modificaciones que en cada caso convengan las hará el investigador según su criterio.-

Es ideal poder disponer de una buena cantidad de aceite esencial que permita hacer un fraccionamiento para luego estudiar cada fracción separadamente. En este sentido puede decirse que se ha aplicado con éxito la destilación analítica. Las condiciones en que debe efectuarse dependen de la composición química de la esencia y de la proporción relativa de los componentes. Destilando a presión normal, la elevación de temperatura puede provocar modificaciones. Destilando a presión reducida, se obtienen fracciones más acordes con la real composición de la esencia.-

La columna que se utiliza está constituida por la superposición de platos y el proceso que tiene lugar en cada uno, representa una destilación simple. El vapor que supera un plato pasa al siguiente donde vuelve a sufrir otra destilación, enriqueciéndose en cada paso (27) en el

producto más volátil y liberándose de los componentes de menor volatilidad que refluyen. A mayor número de platos, mayor enriquecimiento en el componente más volátil. El inconveniente reside en la formación de azeotropos.-

Para aplicar esta técnica se requieren columnas eficientes y por lo menos un litro de esencia.-

En estas condiciones puede lograrse la identificación de componentes que están en menor proporción.-

Actualmente, el progreso científico, que en otros países va alcanzando niveles insospechados, nos provee nuevos métodos de estudio, técnicas que se van perfeccionando día a día y prometen resultados sorprendentes, en casos, en que la exiguidad de muestra impediría cualquier intento por otro camino.-

Una de esas técnicas, es precisamente la cromatografía gaseosa, que se trae ahora a colación, con el objeto de establecer algunas comparaciones con la destilación analítica (28). Ambos procesos, dependen de la distribución repetida entre 2 fases, una de las cuales es gaseosa.- Pero el principio básico de separación es más eficiente en la cromatografía gaseosa. Una columna muy buena para fraccionamiento podría tener cientos de platos teóricos, las columnas para cromatografía gaseosa pueden tener eficiencias de miles de platos teóricos. Más adelante, en la parte correspondiente al trabajo de cromatografía en fase gaseosa nos extenderemos más. Por ahora se deja sentado que una gran ventaja de la cromatografía gaseosa reside en el empleo de muestra en cantidades del orden de los microlitros.-

Siguiendo ahora con una sistemática general en el análisis de los aceites esenciales diremos que: lo primero que se hace es eliminar ácidos, fenoles y compuestos carbonílicos antes de proceder al fraccionamiento.-

Los ácidos se eliminan siempre. Los fenoles y carbonílicos, si están en muy pequeña cantidad, se separan luego del fraccionamiento, de las fracciones enriquecidas en ellos.-

Los sólidos, como el mentol y alcanfor, pueden separarse de la esencia entera en su mayor parte, por enfriamiento y centrifugación completando la eliminación después del fraccionamiento del mismo modo en las fracciones resultantes. Este material se suma al anterior. La esencia libre de ácidos, fenoles y carbonílicos se fracciona, obteniéndose una primera fracción constituida principalmente por terpenos. Habrá luego una fracción intermedia seguida por una segunda fracción rica en componentes oxigenados. Finalmente otra fracción intermedia y una tercera que contendrá los constituyentes sesquiterpénicos. En el residuo de destilación quedarán productos de polimerización y compuestos de alto punto de ebullición, como azulenos y ceras (29). Las ceras tienden a fijar compuestos volátiles, de modo que si están presentes en cantidad apreciable será necesario liberarlas de los mismos, sea por destilación con vapor o algún otro medio adecuado.-

Si la esencia es rica en ésteres, se hace un fraccionamiento y posterior saponificación del éster obtenido para det sus propiedades. Si por el contrario hay indicio previo de bajo porcentaje de ésteres se saponifica primero y fracciona después.-

El tratamiento directo de las fracciones con diversos reactivos para identificación puede ocasionar cambios drásticos en la composición dando lugar a la formación de nuevos compuestos químicos no originalmente presentes como tales en el aceite esencial. Pueden ocurrir reordenamientos intra y extra moleculares así como degradaciones y deshidrataciones. Todas estas posibilidades deben tenerse en cuenta al evaluar los resultados finales de la investigación.-

La identificación de constituyentes individuales que han sido se-

parados y purificados puede lograrse por:

1) Determinación de propiedades físicas:

Punto de fusión

Punto de ebullición

Peso específico

Índice de refracción

Poder rotatorio

Solubilidad en alcohol de distintas concentraciones.-

2) Preparación de derivados, preferentemente compuestos sólidos de punto de fusión definido, susceptibles de purificación por re-cristalización.-

Puede asegurarse haber identificado un componente, si al mezclar el derivado obtenido con el correspondiente a una muestra de constitución y pureza conocidas no se observa depresión en el Punto de fusión.-

En otros casos pueden usarse para identificación compuestos obtenidos por oxidación, reducción o condensación.-

Si además interesa establecer fórmulas empíricas se determina el porcentaje de C e H por combustión.-

Puede det el Peso molecular por crioscopia, etc.-

--oOo--

ANTECEDENTES DEL MATERIAL USADO
EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL

RENDIMIENTO.-

Como materia prima se utilizaron 20 kg. de plantas secas, recolectadas durante el mes de Febrero de 1960 y enviadas por la Dirección del Parque Nacional Nahuel Huapí (Neuquén).-

Cuidadosamente se separaron hojas, ramas y frutos entre sí y de algunas plantas extrañas para evitar contaminaciones y asegurar la genuinidad del material botánico.-

Para el presente trabajo se emplearon hojas y ramas separadamente.-

EXTRACCION DE LA ESENCIA DE HOJAS

Las hojas una vez trituradas a mano, se destilaron con agua y vapor a presión en autoclave, modelo vertical de 30 cm. de diámetro y 60 cm. de profundidad.-

En dos operaciones de destilación se recogieron aproximadamente 5 litros de destilado, que en porciones de alrededor de 1 litro, se fué saturando con sal común, y agotando con éter en un embudo separador.-

Los extractos etéreos reunidos en un balón, se destilaron para eliminar la mayor parte del éter, hasta reducir el volumen a un 50 ml, que se secaron con SO_4Na_2 anhidro. La eliminación completa del éter, se logró por posterior aspiración al vacío, manteniendo la solución etérea en un Erlenmeyer sobre un baño maría a 40° - 50° C, y finalmente con la bomba de vacío, sin calentamiento.-

El extracto concentrado obtenido resultó muy oscuro, debido posiblemente a resinas, presentes como impurezas, por lo cual fué necesario proceder a su purificación destilándolo con vapor de agua a reflujo y trampa graduada del tipo adoptado por la A.O.A.C. de E.E.U.U.(15). El rendimiento en esencia se calculó aparte destilando 585,83 g. de hojas en balón de 5 litros con refrigerante a reflujo y trampa colectora standar (arriba citada). Se recogió solamente 1,1 ml de esencia lo que significa un rendimiento muy pobre de 0,18%.-

La esencia obtenida por este medio, sumada a la anterior totalizó la cantidad de 8,4 ml.-

EXTRACCION DE LA ESENCIA DE RAMAS.-

Se seleccionaron las ramas más jóvenes. Una vez molidas mecánicamente, se sometieron a destilación directa con agua, en la misma forma que las hojas utilizadas para calcular el rendimiento. Con 1794,37 g. de ramas molidas se obtuvieron 4.7 ml de esencia.-

Rendimiento: 0,26 ml %.-

BREVE COMENTARIO SOBRE EL METODO DE EXTRACCION UTILIZADO.- (17)

El tratamiento a que se somete la planta por destilación con vapor de agua es el que ofrece más garantías en el sentido de obtener un aceite similar al existente en la planta de origen.-

La mayoría de los aceites destilan a tas. comprendidas entre 150° y 300° C, temperatura suficiente como para ocasionar la destrucción de sustancias lábiles, y resinificación de ciertos componentes. Usando vapor, las sustancias volátiles son arrastradas a menos de 100° C y los riesgos disminuyen enormemente. Sin embargo, no puede asegurarse que el aceite destilado y el existente en la planta, sean idénticos por la posibilidad de conversión de unos compuestos en otros con propiedades similares. Por acción del vapor puede tener lugar la formación de productos de deshidratación de hidratos de carbono, como el furfural; hidrólisis de ésteres originándose nuevos ácidos y alcoholes; y pérdida de agua de los alcoholes. También los compuestos nitrogenados suelen tener origen secundario.-

Todos estos cambios en la composición se revelan por la pérdida de delicados matices en el aroma.-

--oOo--

DETERMINACION DE AGUA EN LAS HOJAS.- METODO DEAN-STARK.-

24.986 g. de hojas se destilaron con toluene saturado con agua sobre baño de aceite a 115-120° C. En la trampa graduada Dean-Stark se recogieron 3.4 ml de H₂O lo que significa un contenido en agua de 13,60%.

HUMEDAD REMANENTE EN LAS HOJAS : 13.60%

--oOo--

DETERMINACIONES FISICAS

ESENCIA DE HOJAS.-

ASPECTO: producto oleoso

COLOR: ámbar, transparente

OLOR: muy agradable, pronunciado, característico

PESO ESPECIFICO a 15° 5 C: 0,9686 g/ml

Propiedad importante, frecuentemente divulgada en la literatura, que permite establecer criterios sobre el grado de pureza, calidad y composición de un aceite esencial.-

La determinación según la Farmacopea de Estados Unidos se hace a 25°/25° C y según la británica a 15,5°/15,5° C.-

El método del picnómetro exacto y rápido no ha podido utilizarse debido a la exigua cantidad de muestra disponible. Por ello, se procedió a pesar un mililitro de aceite a la t^a arriba indicada.-

El valor del peso específico para aceites esenciales varía entre aproximadamente 0,840 y 1,188. Suele ser (18) mayor que 1 para los aceites ricos en componentes aromáticos nitrogenados y azufrados y próximo a 0,840 para los ricos en hidrocarburos monoterpénicos.-

INDICE DE REFRACCION a 13° C: 1.5030

En general se acostumbra a determinarlo a 20° C. Si el material es sólido a esa temperatura, como por ejemplo el aceite esencial de rosa, se trabaja a una temperatura más alta y luego se aplica un factor de corrección.-

Bosart (19) estableció los factores de corrección por grado para alrededor de un centenar de aceites esenciales. En el caso del aceite esencial de schinus crenatus, no tabulado, pueden obtenerse resul-

tados aproximadamente correctos aplicando el factor 0,00045 por grado de temperatura. El valor anteriormente expresado se transformará así en:

I_R a 20° C: 1.4998.-

Se utilizó el refractómetro de ABBE con un rango de 1,3-1,7. Puede en él hacerse la lectura con luz natural o artificial. No requiere luz monocromática ni cámara oscura, debido a un sistema óptico de compensación que impide la dispersión de la luz.-

PODER ROTATORIO.-

La mayoría de los aceites esenciales poseen actividad óptica dextrógira o levógira desviando el plano de polarización de la luz hacia la derecha o izquierda respectivamente. La desviación se mide en un polarímetro. Se emplea comúnmente el tipo lippich y como fuente de luz monocromática una lámpara de vapor de sodio.-

Debe trabajarse en condiciones standard, dado que la actividad óptica varía con el espesor de líquido atravesado por la luz, la longitud de onda y la temperatura; factores éstos, extrínsecos a la naturaleza del aceite esencial cuya rotación óptica depende de sus componentes.-

Las normas oficiales americanas especifican para la t^a de 25° C. y un tubo de 10 cm. de longitud. En el caso de aceites esenciales las variaciones de la rotación óptica con la t^a son muy pequeñas, salvo excepciones como los aceites de citrus. En cuanto a la longitud del tubo no siempre puede ser de 10 cm. Hay aceites demasiado oscuros como para poder así hacer una determinación exacta. Se usan entonces tubos de 5 cm. ó aún de 2,5 cm. Por el contrario, para aceites poco coloreados y de escasa actividad óptica se utilizan tubos más largos de hasta 20 cm. de longitud. Para expresar el resultado se multiplica o divide por el factor apropiado.-

Antes de proceder a la determinación se seca el aceite con sulfato de sodio anhidro y se filtra por filtro seco.-

Si se trata de un producto sólido se lo disuelve en alcohol absoluto, cloroformo u otro disolvente inactivo. La rotación específica de la solución será:

$$\left[\alpha \right]_D^{t^\circ} = \frac{100 \&}{l \cdot p \cdot d} = \frac{100 \&}{l \cdot c}$$

d= densidad de la solución a t° C.

p= concentración en 100 g. de la solución

c= " " " 100 ml " " "

SOLUBILIDAD.-

Valiosa determinación de orden práctico que permite descubrir el agregado de adulterantes, apreciar el contenido en terpenos y agua y comprobar su genuinidad.-

Como la solubilidad varía con la temperatura, es necesario trabajar en condiciones standard.-

Para estos ensayos, se usa en general alcohol diluído, de distintas concentraciones. Con diversos fines se emplean otros solventes, como S2C para detectar agua; hidróxido de potasio para fenoles y busulfito de sodio para aldehídos.-

Puede comprobarse que los aceites más ricos en compuestos oxigenados son más fácilmente solubles en alcohol diluído que los aceites ricos en terpenos. Por el agregado de adulterantes la solubilidad disminuye (aceites fijos, glicerina, ésteres de glicerina, etc.). Salvo excepciones, como ciertos constituyentes oxigenados sesquiterpénicos relativamente insolubles (cedrol, santalol, etc.).-

La solubilidad también disminuye con el tiempo, debido a polimerización, principalmente en aceites que contienen grandes cantidades de terpenos fácilmente resinificables. Favorecen la resinificación: la luz,

el aire, el agua.-

RESIDUO DE EVAPORACION.-

Dará indicios de adulteración. Un valor bajo puede significar agregado de sustancias volátiles y un valor alto el agregado de sustancias de alto punto de ebullición. Orienta además sobre el grado de polimerización de la esencia, de si está adicionada de aceites fijos, resinas, sesquiterpenos, ésteres (ftalatos).-

Observar la consistencia en caliente y en frío. Un experto sacará mucho provecho si va olfateando el aroma durante la evaporación. La determinación no es fácil, se trata de sustancias muy complejas. A veces es prácticamente imposible llegar a peso constante, porque las ceras fijan en parte los constituyentes más volátiles.-

TEMPERATURA DE SOLIDIFICACION.-

Dado que los aceites esenciales son mezclas complejas, interesa más este dato que la temperatura de fusión.-

Si el componente principal de la esencia es cristalizable, su proporción está relacionada con la t^a de solidificación.-

La esencia, previamente secada con SO_4Na_2 anhidro, se sobreenfría hasta comienzo de cristalización, provocando un desprendimiento de calor. Luego la temperatura aumenta hasta hacerse estacionaria por un tiempo. Esta temperatura es la que se toma como punto de congelación o solidificación.-

--oOo--

ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA (20) (21) (22)

Muy útil para caracterizar esencias enteras, revelar alteraciones eliminando componentes, identificar componentes y aún valorarlos.-

Su fundamento es el siguiente: cuando un rayo de luz monocromático atraviesa una solución, su intensidad disminuye debido fundamentalmente

a la absorción de luz por la solución. Esta propiedad de absorber radiaciones de distinta longitud de onda, la manifiestan diversas sustancias (orgánicas e inorgánicas) que poseen grupos cromóforos (en un sentido amplio del término). Son funciones y agrupaciones cromóforas en el ultravioleta: la doble ligadura etilénica, las dobles ligaduras conjugadas, las funciones ácido, éster, aldehído, cetona, fenol y eter - fenol; los núcleos bencénicos, nafténicos, etc.-

La reducción en la intensidad del rayo de luz que atraviesa una solución de estas sustancias, es función de:

- 1) concentración de la sustancia en la solución
- 2) longitud recorrida por el rayo a través de la solución
- 3) poder de absorción de la solución a una determinada longitud de onda.-

Estos factores se relacionan cuantitativamente mediante las leyes de Lambert y de Beer.-

La ley de Lambert vincula la intensidad inicial y final de la radiación con la distancia atravesada.-

Establece que si I_0 es la intensidad de la luz incidente, de una determinada longitud de onda, que penetra en un medio absorbente homogéneo de espesor d , será I de intensidad de la luz emergente; y su relación será:

$$\text{Log } \frac{I_0}{I} = a \cdot d \quad ; \quad a = \text{Coeficiente de absorción}$$

También:

$$\text{Log } \frac{I_0}{I} = D = E \quad ; \quad \text{extinción, densidad óptica ó absor-} \\ \text{bancia del medio.-}$$

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

$$a = k \cdot c \quad ;$$

donde: k = coeficiente de proporcionalidad

c = Concentración de la sustancia en g/ml ó en g/l en un disolvente transparente (libre de absorbentes).-

Relacionando ambas leyes se tiene:

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

donde: d = espesor de la capa de solución de sustancia absorbente en cm. de allí resulta:

$$k = \frac{D}{c \cdot d} = \frac{E}{c \cdot d}$$

k es pues, 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 obedecen las leyes de Lambert y de Beer a cualquier dilución o espesor de la capa absorbente. La definición de k depende de cómo se exprese la concentración:

- 1) - k = coeficiente específico de absorción o extinción, para c en g/l
- 2) - k = coeficiente molecular de absorción o extinción, para c en mol gramo/l
- 3) - k = $E \frac{1\%}{1\text{cm}}$ si c se da en g% ml.-

Esta última puede transformarse en el coeficiente específico multiplicado por 0,1 y se transforma en E multiplicando por el peso molecular de la sustancia absorbente:

$$E_m = E \frac{1\%}{1\text{cm}} \cdot \frac{M}{10}$$

Cada aceite esencial presenta una absorción característica en la región ultravioleta del espectro; absorción que es más intensa en ciertas regiones del mismo (absorción selectiva). En esto se basa precisamente la identificación.-

Para el presente trabajo se utilizó un espectrofotómetro ultravioleta modelo Carl Zeiss con equipo de cuarzo y fuente luminosa (lámpara de Hidrógeno) cuyo funcionamiento es: un rayo de fuente continua de luz

ultravioleta produce un espectro en haces monocromático mediante un prisma. Se efectúa el pasaje de un haz, de longitud de onda dada, 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 indica directamente $\frac{I_0}{I}$.-

Estas medidas se repiten para cada longitud de onda deseada obteniéndose así los datos para la curva de absorción.-

La elección del disolvente es muy importante. Debe presentar una absorción mínima en la región del espectro que se elige para el estudio. Se prepararon soluciones en alcohol absoluto al 1:10.000 de esencia entera de hojas y esencia libre de ácidos y fenoles.-

Las soluciones deben ser muy diluídas porque los aceites esenciales tienen en su composición sustancias con gran capacidad de absorción para las radiaciones ultravioleta.-

Interesa además el espesor, dado que la absorción depende de él. Se usaron cubetas de 1cm. de ancho y como blanco (fondo de absorción) alcohol absoluto.-

Las observaciones se hicieron en un ámbito de 220-350 m de longitud de onda.-

Para obtener el espectro de absorción se construye un gráfico con los valores correspondientes de los coeficientes de extinción para las longitudes de onda elegidas.-

Se obtiene una curva en la que los máximos indican las longitudes de onda en las cuales la sustancia presenta absorción selectiva.

GRAFICO.- Se trazó representando en ordenadas los valores de la absorbancia $E = \log \frac{I_0}{I}$ y en las abscisas las longitudes de onda correspondientes en m

SOLUCIONES EN ETANOL 1:10000

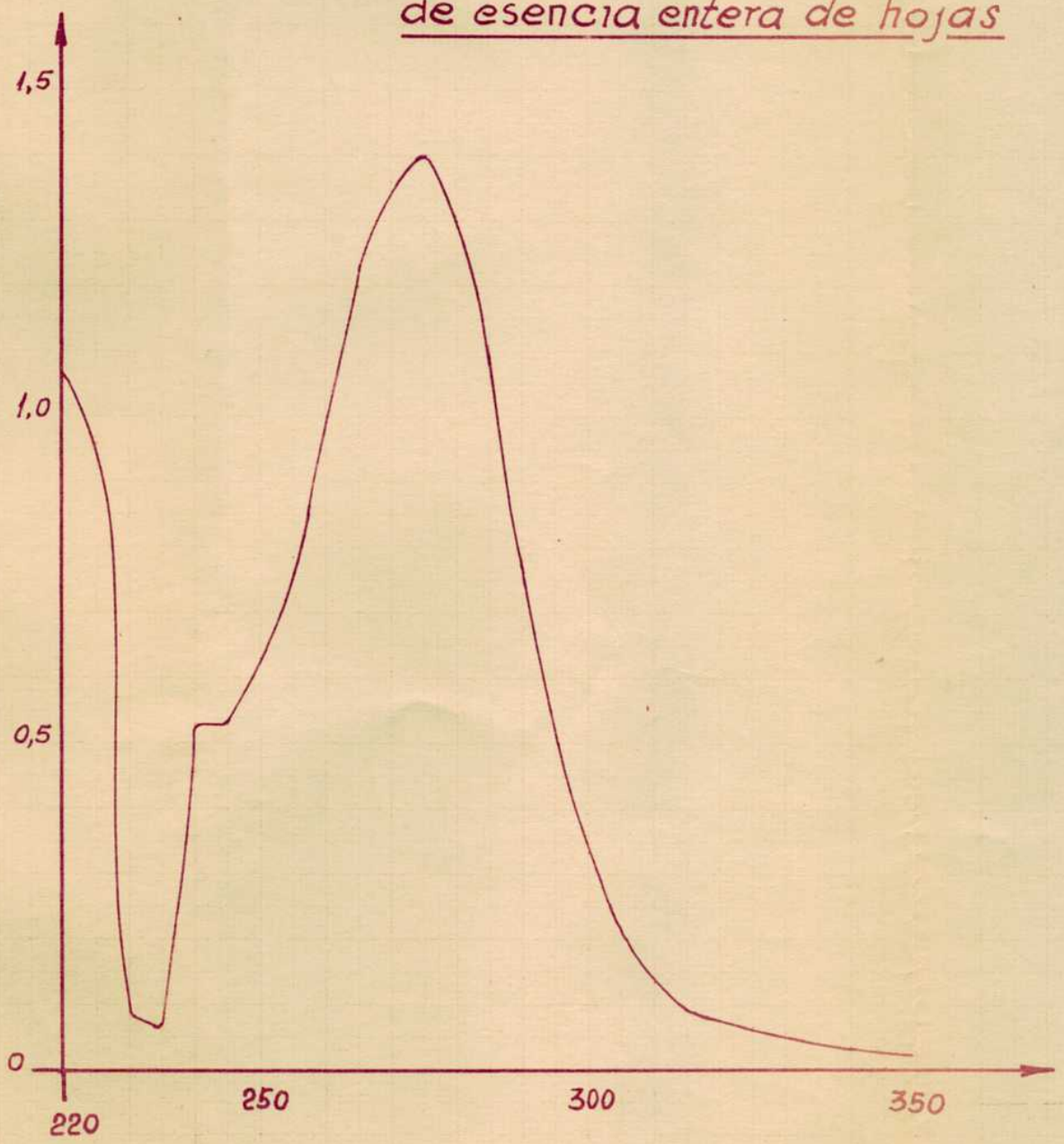
LONGITUD DE ONDA mu	EXTINCCIONES CORRESPONDIENTES Δ	
	ESENCIA DE HOJAS (entera)	ESENCIA DE HOJAS (sin áe y fenoles)
220	1.06	1.565
225	0.96	1.385
230	0.082	1.14
235	0.0643	0.84
240	0.53	0.64
245	0.53	0.54
250	0.63	0.475
255	0.785	0.438
260	0.99	0.40
265	1.20	0.375
270	1.36	0.36
272	1.40	0.357
274	1.415	0.356
276	1.40	0.351
280	1.30	0.341
285	1.075	0.32
290	0.76	0.298
295	0.515	0.275
300	0.333	0.247
305	0.21	0.213
310	0.135	0.183
315	0.092	0.164
320	0.075	0.15
325	0.056	0.14
330	0.056	0.127
340	0.036	0.102
350	0.026	0.090

COMENTARIOS.-

En la curva de esencia de hojas (entera) se observa una inflexión debida a presencia de fenol.-

En la curva de esencia de hojas libre de ácidos y fenoles se observa que no hay inflexión, precisamente debido a que desapareció el fenol.-

Curva de absorción en el ultravioleta
de esencia entera de hojas



Curva de absorción en el ultravioleta

de: Esencia de hojas sin ácidos y fenoles



CROMATOGRAFIA

La cromatografía es un método físico de separación en el cual los componentes a separar se distribuyen en 2 fases: una fase estacionaria de gran superficie y una fase móvil generalmente un fluido que percola a través del asiento estacionario (30).-

Abarca la cromatografía un conjunto de métodos que pueden parecer algo diversos y que sin embargo tienen rasgos comunes. Todos comprenden el transporte de una muestra a través de una columna o su equivalente físico (papel, strips, chromato strips).-

Debido a la retardación selectiva, ejercida por la fase estacionaria, los componentes de la muestra se mueven a través de la columna a diferentes velocidades tendiendo a separarse en "zonas" o "bandas", que es necesario aislar y caracterizar.-

Las operaciones cromatográficas pueden subdividirse de acuerdo a:

I) fases empleadas; II técnicas utilizadas.-

I.- La fase estacionaria puede ser:

- a) un sólido de propiedades adsorbentes (ADSORCION CROMATOGRÁFICA).-
- b) un líquido distribuido sobre un soporte sólido inerte con el fin de aumentar la superficie (PARTICION CROMATOGRÁFICA)

La fase móvil puede ser:

- a) un líquido
- b) un gas o vapor

Tenemos así cuatro posibles sistemas cromatográficos:

Fase estacionaria sólida	[1) Fase móvil: líquida (CROMATOGRAFIA-SOLIDO-LIQUIDO)	I
		2) Fase móvil: gas (CROMATOGRAFIA: SOLIDO-GAS)	II

Fase estacionaria líquida	[1) Fase móvil: líquida (CROMATOGRAFIA: LIQUIDO-LIQUIDO)	III
		2) Fase móvil: gas (CROMATOGRAFIA: LIQUIDO-GAS)	IV

El simposium sobre cromatografía gaseosa (fase vapor) realizado en Londres en Mayo-Junio de 1956 recomienda para esos 4 sistemas la siguiente nomenclatura: (31)

- I) L.S.C.
- II) G.S.C.
- III) L.L.C.
- IV) G.L.C.

II) De acuerdo a las técnicas.-

Cada uno de los cuatro métodos precedentemente señalados puede realizarse por 3 técnicas diferentes:

- a) Desarrollo por elución
- b) Análisis frontal
- c) Desarrollo por desplazamiento.-

La cromatografía está reemplazando a otros procesos como la destilación, extracción por partición con disolventes y cristalización fraccionada) procesos que aún conservan su valor para tratamiento de mezclas en cantidades apreciables pero que van siendo superados por los cromatográficos en el sentido de que con éstos pueden separarse eficientemente muestras muy pequeñas. Tienen además las ventajas de que el equipo de separación es simple, la operación se controla fácilmente y el tiempo requerido es menor.-

Las técnicas cromatográficas se utilizan con diversos propósitos:

Analíticos: Para identificar los constituyentes de una mezcla y aún determinarlos cuantitativamente.-

De investigación: Para determinar coeficientes de partición e isothermas de adsorción.-

Preparativos: Con el fin de aislar componentes de mezclas.-

TEORIA: La (32) teoría de la cromatografía de partición desarrollada por Martín y colaboradores (33) la considera análoga a la destilación fraccionada con reflujo total.-

Utilizando el concepto de "plato teórico" establecieron una ecuación que relaciona la velocidad de desplazamiento de una zona con el coeficiente de partición

$$R_F = \frac{A_L}{A_L + k A_S}$$

siendo: k = coeficiente de partición

A_L = área de la sección ocupada por la fase móvil

A_S = área de la sección ocupada por la fase estacionaria.-

$$R_F = \frac{\text{distancia recorrida por la zona}}{\text{distancia recorrida por el frente líquido}}$$

La cromatografía de partición difiere esencialmente de la cromatografía de adsorción.-

Para obtener valores de R_F reproducibles se recomienda (34)

- 1) La temperatura debe ser controlada dentro de $\pm 0,5^\circ$
- 2) El tiempo de revelado debe ser cte.
- 3) El papel o placa deben equilibrarse con la atmósfera de la cámara durante las 24 horas que preceden a su irrigación por el disolvente.-
- 4) Debe utilizarse una misma partida de papel o material cubriente de las placas ó strips en todas las determinaciones.-
- 5) En cada cromatograma debe revelarse una sustancia de control. Si el valor de R_F difiere del conocido en $\pm 0,02$ debe desecharse la determinación y utilizar nuevos disolventes.-

--oOo--

CROMATOGRAFIA EN PLACAS.- (CHROMATOPLATES)

Como un medio rápido de investigación preliminar, se utilizó la

cromatografía directa de aceites esenciales. Con ella se trató de obtener información sobre la cantidad y calidad de los componentes presentes en las esencias a estudiar.-

La técnica, simple y rápida, probada ya con éxito por otros investigadores (35)(36)(37)(38)(39)(40)(41)(42)(43) no fué de utilidad para el presente trabajo.-

Numerosos ensayos realizados pacientemente con la esperanza de llegar a develar siquiera en parte la incógnita dieron repetidamente resultado negativo.-

TECNICA.- Placas de vidrio de aproximadamente 20 x 11 x 0,3 cm. se recubrieron en un espesor de 0,5 mm. con una pasta a base de silicagel con teniendo un 10% de almidón como agente aglutinante.-

La sílice y el almidón que pasan por tamiz de 200 mallas, previamente mezclados en seco se empastaron con agua en frío. La cantidad de agua necesaria para dicha operación varía con el tipo de sílice posiblemente debido a la distinta capacidad adsorbente de ésta, según su grado de hidratación inicial. Luego se calentó a baño maría por 2'-3' hasta máximo espesor, diluyendo finalmente con agua hasta una viscosidad adecuada (más bien líquida; sólo controlada por nuestra experiencia) y agitando mientras se enfría. Luego se procede a extender sobre las placas.-

E. Demole (44) recomienda calentar la pasta sobre la llama de gas (no sobre baño de agua) por 2-3 minutos casi a ebullición.-

Es necesario obtener placas con recubrimiento uniforme y sin agrietamiento. Se observaron grietas con ciertos tipos de almidón y en placas con extendido defectuoso. Excelentes placas se obtuvieron con almidón de arroz de 200 mallas y usando un extendedor.-

Una vez recubiertas las placas se secan en estufa a 100-110°C por 30 minutos. Las placas así preparadas pueden guardarse indefinidamente

si se protegen de la humedad.-

Al sacarlas de la estufa se activan al vacío (0,5-1mm Hg durante 1 hora) en presencia de OHK sólido. Se rompe el vacío con aire seco y se utilizan en un período de 10 minutos.-

Las esencias a cromatografiar se disolvieron en éter etílico de manera de tener en pocas gotas 50 microgramos para c/mancha. Para depositar la solución sobre las placas marcadas se usaron tubos capilares.-

Desarrollo.-

Se colocan las placas en cubas de (35x25x6) cm. tapadas con vidrio y conteniendo 100 ml de solvente. Se sumergen 1 cm. en el líquido y mantienen casi verticales.-

Si hay buen desarrollo el solvente alcanza aproximadamente 10 cm. en treinta minutos. Luego el flujo de solvente se hace lento.-

Se sacan se marca el frente alcanzado por el líquido y se dejan secar a temperatura moderada 50-55° C.-

Como solventes para desarrollo se usaron:

- 1) Hexano + 1% de acetato de etilo
- 2) Hexano + 20% de acetato de etilo

La localización de las manchas se logra pulverizando las placas con un reactivo apropiado.-

Para identificar dobles ligaduras se usa una solución acuosa diluída de fluoresceína, exponiendo luego a la acción de vapores de bromo.-

Los compuestos que absorben el bromo más rápidamente que la fluoresceína se evidencian como manchas amarillas sobre un fondo rosado-rojizo de eosina formado por combinación de la fluoresceína con el bromo.-

Los compuestos poco reactivos pueden localizarse mediante una mezcla de SO₄H₂ y NO₃H. (45) (46).-

Para compuestos carbonílicos se utiliza el clorhidrato de 2-4 dinitro fenilhidrazina en ácido clorhídrico 2 N.

Según la naturaleza química del aldehído o cetona se forman manchas de distinto color que van de amarillo claro (fencona) a rojo oscuro (piperonal) (47). Para mayor sensibilidad pueden observarse las placas luego de calentar un poco a 110° C dado que:

- 1) si hay manchas, se oscurecen y ven mejor.
- 2) puede haber manchas que no se forman en frío y sí en caliente.
- 3) pueden ser terpenos que reaccionan en medio ácido caliente obteniéndose manchas marrón, violeta, verde, etc.
- 4) alcoholes terpénicos dan manchas marrón violáceas en caliente.

Para fenoles usamos como detector ácido sulfanílico diazoado disuelto en CO_3Na_2 de manera de obtener una solución neutra (48).

Para preparación del reactivo ver (49).

DESCRIPCION DE LOS CROMATOGRAMAS:

Se utilizaron en todos los casos soluciones etéreas en concentración tal que en cuatro gotas hubiese 50 mg.

PLACA N° 1.

2 manchas (1 de esencia hojas, otra de esencia ramas).

Disolvente: 1% acetato de etilo + hexano.

Frente alcanzado por el disolvente: 16,1 cm.

Tiempo de desarrollo: 1 h, 50 min.

Resultado: No se observó corrimiento alguno de las manchas.

PLACA N° 2.

2 manchas (esencia hojas y esencia ramas).

Disolvente: 20% acetato etilo + Hexano.

Frente alcanzado por el disolvente: 17,2 cm.

Tiempo de desarrollo: 2 h.

Resultado: Ningún corrimiento.

PLACA N° 3.

4 manchas (esencia hojas, ramas, fenoles hojas, carvacrol como testigo.)

Disolvente: 10% acetato etilo + solvente 7.

Frente alcanzado por el disolvente: 15,4

Tiempo de desarrollo: 1 h, 45 min.

Revelador: ác. sulfanílico diazoado.

Resultado: R_f (carvacrol) = 0,422

Observaciones: Las restantes manchas no corrieron.

PLACA N° 4.

Las mismas manchas que en la placa N° 3.

Disolvente: 13% acetato de etilo + solvente 7.

Frente alcanzado por el disolvente: 18,1

Tiempo de desarrollo: 2 h, 15 min.

Revelador: ácido sulfanílico diazoado.

Resultado: R_f (carvacrol) = 0,477

Observaciones: Las otras manchas no corrieron.

PLACA N° 5.

3 manchas: (fenoles hojas, eugenol, carvacrol).

Disolvente: 20% acetato de etilo + éter de petróleo.

Frente alcanzado por el disolvente: 16,8

Tiempo de desarrollo: 2 h.

Revelador: ácido sulfanílico diazoado.

Resultado: R_f eugenol = 0,238

R_f carvacrol = 0,665

Observaciones: Los fenoles de la esencia de **hojas** no corrieron.

PLACA N° 6.

2 manchas: fenoles hojas y eugenol.

Disolvente: 20% acetato etilo + solvente 7

Frente alcanzado por el disolvente: 16,3

Tiempo de desarrollo: 2 h.

Revelador: idem placa N° 3.

Resultado: R_f (eugenol) = 0,368

Observaciones: Sólo corrió el eugenol.

PLACA N° 7.

3 manchas: esencia hojas, fenoles hojas, eugenol.

Disolvente: 30% acetato de etilo + éter de petróleo.

Frente alcanzado por el disolvente: 16,3

Tiempo de desarrollo: 2 h.

Revelador: idem placa N° 3.

Resultado: R_f eugenol = 0,694

Observaciones: Sólo corrió el eugenol.

PLACA N° 8.

3 manchas: fenoles hojas, eugenol, carvacrol.

Disolvente: 30% acetato de etilo + éter de petróleo.

Frente alcanzado por el disolvente: 15,9

Tiempo de desarrollo: 2 h.

Revelador: idem placa N° 3.

Resultado: R_f eugenol = 0,694

R_f carvacrol = 0,850

PLACA N° 9.

2 manchas: esencia hojas, esencia ramas.

Disolvente: 20% acetato de etilo + éter de petróleo.

Resultado: No hubo desarrollo.

COMENTARIO:

Abandonamos la técnica al observar que no podíamos obtener dato alguno para el material objeto de estudio. En todos los casos en que se usaron testigos, se observó desarrollo y pudieron medirse los R_f correspondientes.

DETERMINACIONES QUIMICAS

ESENCIA DE HOJAS

Estas determinaciones nos servirán juntamente con las físicas para caracterizar el aceite en estudio y constituyen el primer paso en el examen de un aceite desconocido.-

Suelen determinarse:

1) índice de ácido 2) índice de éster 3) índice de saponificación
4) índice de carbonilos 5) contenido en fenoles (por absorción con álcali 6) alcoholes libres etc.-

Por la escasez de muestra sólo han podido determinarse los tres primeros. Se han seguido las técnicas descritas por Guenther E. vol I.

INDICE DE ACIDO: 13.05

"Número de mg de hidróxido de potasio requeridos para neutralizar los ácidos libres de 1 g de aceite esencial".-

La acidez libre dá generalmente un valor bajo. Valores altos pueden deberse a agregado de ácidos libres o formación de los mismos por oxidación de aldehídos o hidrólisis de ésteres.-

Para la determinación es necesario emplear álcalis diluídos porque muchos de los ésteres constituyentes del aceite esencial son susceptibles de sufrir una saponificación por efecto de los álcalis fuertes, aún en frío. Además si el porcentaje de fenoles es alto, éstos pueden reaccionar con los hidróxidos alcalinos.-

PROCEDIMIENTO EMPLEADO:

Un mililitro de muestra previamente utilizado para la determinación del peso específico se aprovechó para obtener este dato. Una vez trasvasado cuantitativamente a un Erlenmeyer de 125 ml de capacidad se disolvió con 15 ml de alcohol neutro de 95% y 3 gotas de rojo fenol al 1%. Los ácidos libres se titularon con NaOH 0,1N acuoso, agregándolo uni-

formemente y agitando continuamente el contenido del Erlenmeyer hasta un color rojo persistente por 10 segundos.-

Se gastaron 2,15 ml de OHNa 0,1 N $fc = 1,048$

$$I \text{ ácido} = \frac{5,61 \times 1,048 \times 2,15}{0,9686} = 13,05$$

INDICE DE ESTER: 99,91

"número de mg de OHK necesarios para saponificar los ésteres presentes en 1g de aceite".-

El aroma particular de los aceites esenciales se debe en gran parte a los ésteres siendo éstos sus componentes más preciados. La mayoría son ésteres monobásicos.-

Cuando se trata de esencias cuyos ésteres son desconocidos es muy conveniente hacer uso del índice de éster ya que no hace falta conocer ningún peso molecular para calcularlo. Después el índice de éster puede convertirse fácilmente en "por ciento" de éster mediante una fórmula que se detallará, si el radical ácido del éster es monobásico.-

PROCEDIMIENTO EMPLEADO.-

La determinación se realizó a continuación de la de índice de ácido, sobre el mismo material. Una vez neutralizada la acidez libre de la esencia se agregaron 10cc de OHNa 0,5 N alcohólico exactamente medidos con bureta. Se calentó en baño maría a reflujo por 3 horas. Se dejó enfriar durante 15 minutos y se tituló el exceso de álcali con ClH 0,5N y rojo fenol como indicador. Se efectuó paralelamente un ensayo en blanco. Antes de valorar el exceso de álcali, se diluyó el producto por ser demasiado oscuro.-

Ensayo en blanco: 9,3ml de ClH 0,5N $fc = 1.0455$

Esencia de hojas: 6,0 " " " " " "

$$I \text{ éster} = \frac{28.05 \times 1.0455 (9.3 - 6.0)}{0.9686} = 99.91$$

INDICE DE SAPONIFICACION: 112.96

Calculado en base a:

Iácido + Iéster = Isaponificación
-

La determinación hubiera podido efectuarse separadamente pero no podía desaprovecharse material.-

Por la misma razón no se obtuvieron otros índices que resultarían muy útiles.-

--oOo--

RESUMEN DE LAS PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS
QUE FUE POSIBLE DETERMINAR SOBRE ESENCIA HOJAS

ASPECTO: producto oleoso

COLOR: ámbar, transparente

OLOR: muy agradable, pronunciado, característico

P. ESPECIFICO a 15,5°C: 0,9686 g/ml

I. REFRACCION a 13°C: 1,5030

I. REFRACCION a 20° : 1,4998 (aplicando factor de corrección por grado)

I. ACIDO : 13,05

I. ESTER : 99,91

I. SAPONIFICACION : 112,96

--oOo--

AISLAMIENTO, DOSAJE E INVESTIGACION
DE LOS COMPONENTES PRINCIPALES

Hemos seguido, en líneas generales, la marcha analítica de Wattiez y Sternon (50), modificada.-

Para la marcha analítica se usaron 2 ml de esencia de hojas (nos referiremos aparte a la esencia de ramas) disueltos en éter de petróleo (5 ml).-

El éter de petróleo tiene como fin "vehicular" la esencia para favorecer los distintos tratamientos a que luego se somete.-

MARCHA ANALITICA SEGUIDA.-

a) Aislamiento de los ácidos grasos libres:

Primero se extrajeron los ácidos grasos libres juntamente con los fenoles mediante hidróxido de potasio 0,5 N acuoso. En las soluciones acuosas reunidas quedaron separados los ácidos grasos como sales potásicas y los fenoles como fenatos de potasio. Por acidificación con SO_4H_2 10% se liberaron ácidos y fenoles que se extrajeron con éter etílico. El tratamiento ulterior de esta capa etérea con CO_3Na_2 5% conduce a la retención de los ácidos en la capa acuosa, como sales sódicas. Se acidifica esta capa acuosa nuevamente con SO_4H_2 10% para liberar los ácidos grasos que se extraen con éter etílico por 3 veces el cual se evapora después de lavar con agua hasta neutralidad y secar con SO_4Na_2 anhidro. El residuo contiene los ácidos grasos libres.-

Vaso	: 45,1137	En 1.9372 g esencia	----	0,1901g ácidos grasos
Vaso + ácidos:	<u>45,3038</u>	" 100 "	"	----9,81 " " "
ácidos:	0,1901			

ACIDOS GRASOS: 9,81%

PREPARACION DE LOS ESTERES METILICOS.-

Con los ácidos grasos libres se procedió a preparar los ésteres metálicos del siguiente modo:

En un baloncillo se disuelven los ácidos grasos en metanol puro(5ml) y se agregan 2 gotas de SO₄H₂ concentrado. Se calienta a reflujo por 2 horas. Una vez frío se agrega agua salada y extraen con éter etílico los ésteres metílicos formados, lavando la capa etérea con agua salada, dos veces. Se seca con SO₄Na₂ anhidro y evapora el éter.-

Los ésteres metílicos así preparados se guardaron para su posterior estudio por cromatografía gaseosa.-

b) Aislamiento de fenoles.-

La capa etérea conteniendo los fenoles (ver cuadro sinóptico), se trató con SO₄H₂ 10%, y agua abundante. Se evaporó el éter.-

Vaso	: 35,9575	en 1,9372 g esencia	---	0,1588 g	fenoles
Vaso + fenoles:	<u>36,1163</u>	" 100 "	"	---	8,19 "
	0,1588				"

FENOLES: 8,19%

ASPECTO : Sólido

COLOR : Pardo

OLOR : Balsámico

REFRACCION : no fué posible determinarlo ni por calentamiento.-

DERIVADOS : se prepararon los 3-5 dinitrobenzoatos. Se obtuvieron cristales bien formados en forma de agujas finas dispuestas como formando rosetas. Se determinó el Punto de fusión mediante el KOFLER.-

P.F. de 3-5 Dinitrobenzoatos de fenoles: 108°C, corresponde según las tablas (51) al ORTO-ETIL-FENOL.-

c) Obtención de la esencia libre de ácidos y fenoles.-

La esencia libre de ácidos y fenoles se obtiene por evaporación del éter

de petróleo en que se había disuelto la esencia entera y una vez separada la capa acuosa que contenía los ácidos y fenoles.-

ESENCIA LIBRE DE ACIDOS Y FENOLES.-

Vaso	:	32,4968	En 1,9372 g	esencia	---	1,5656	es. sin ác. y fen.
Vaso + esencia:		<u>34,0624</u>	" 100 "	"	---	80,81	" " " "
		1,5656					

ESENCIA LIBRE DE ACIDOS Y FENOLES: 80,81%

ASPECTO: Oleoso

COLOR: Amarillo limón

OLOR: muy agradable

ESPECTRO DE ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA: Ver en la parte de Determinaciones físicas. (pág.:)

d) Extracción de compuestos carbonílicos.-

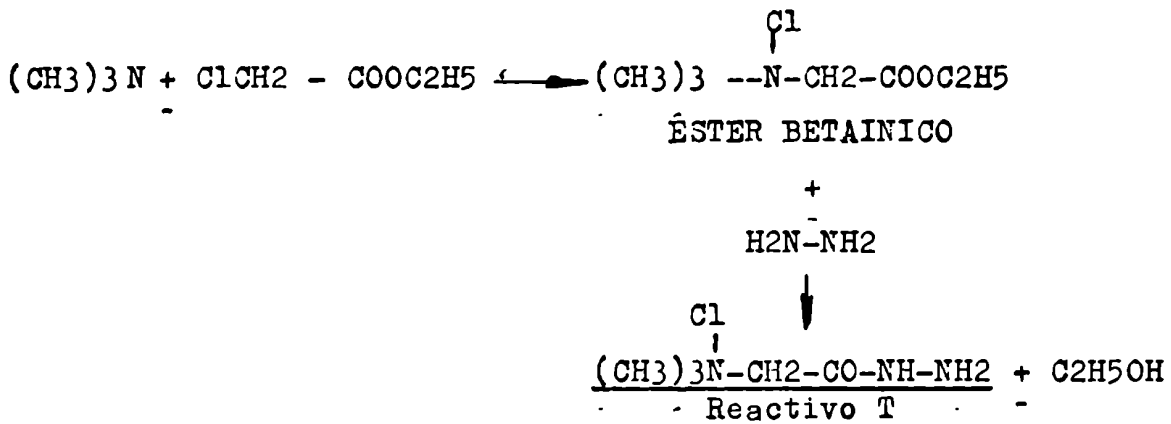
Método Girard T: (Girard P).-

Este método permite la separación de grandes y pequeñas cantidades (aún trazas) de compuestos carbonílicos de varios productos naturales tales como las esencias (52) (53).-

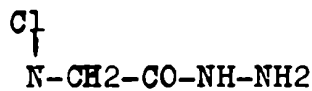
Los reactivos Girard T y Girard P son muy higroscópicos (54), pero, no obstante, su empleo con el objeto de aislar y purificar compuestos carbonílicos es muy ventajoso y de alguna aplicación industrial (55). Bajo el punto de vista de su composición química son hidrazidas con función amonio cuaternaria.-

Girard y Sandulesco (56) investigaron sales de amonio cuaternarias de hidrazidas y las emplearon exitosamente para preparar hidrazonas solubles en agua de compuestos carbonílicos pudiendo así separar éstos de otros acompañantes insolubles en agua.-

El reactivo T: cloruro de trimetilamonio acetohidrazida, puede prepararse tratando la hidradina hidratada con ésteres betaínicos



Reemplazando la trimetilamina por piridina se obtiene el Reactivo P que es el cloruro de piridiniumacetohidrazide:



El Reactivo P se mantiene largo tiempo sin deteriorarse. Sin embargo se prefiere el Reactivo T por:

- 1) es más soluble que el R. P.
- 2) permite la precipitación de productos cristalinos de adición con I_2 Hg de una solución que contiene la hidrazona del R.T.-

Con aldehídos y muchas cetonas, estos reactivos forman rápida y cuantitativamente hidrazonas muy solubles en agua y alcohol pero no en solventes orgánicos no hidroxílicos.-

Una solución acuosa de estas hidrazonas puede ser extraída con este último tipo de solventes para separar compuestos no carbonílicos insolubles en agua. En la fase acuosa permanecen las hidrazonas de aldehídos y cetonas. Estas últimas pueden ser hidrolizadas cuantitativamente por un ácido mineral diluído mientras que las aldehídicas permanecen sin descomponerse. Pueden así recuperarse las cetonas liberadas por extracción con éter.-

El método resulta ya muy ventajoso al permitir separar las cetonas no sólo de compuestos no carbonílicos sino aún de otros carbonílicos (aldehídos).-

Girard y Sandulesco observaron que la velocidad de formación de la hidrazona es función de la estructura de la cetona y establecieron un orden de reactividad decreciente. En base a la distinta reactividad es posible ya no sólo separar aldehídos y cetonas sino también separar cetonas entre sí.-

Nosotros hemos utilizado ambos reactivos.-

El Reactivo F lo usamos para absorber carbonílicos de esencia de hojas libre de ácidos y fenoles.-

PROCEDIMIENTO:

0,6ml de esencia libre de ácidos y fenoles disueltos en 5ml de alcohol absoluto se trataron con R.T. en cantidad un poco superior a la requerida estequiométricamente agregando además 0,5 ml de ácido acético glacial. Se calienta a reflujo $1\frac{1}{2}$ horas. Una vez frío se vertió en agua helada conteniendo bastante CO_3Na_2 para neutralizar los $9/10$ del ácido acético presente y en una cantidad tal que la concentración final de alcohol no excediese el 10%.-

Se tiene de este modo un pH y concentración alcohólica adecuados según aconsejan los autores del método.-

La cantidad de CO_3Na_2 (nosotros usamos al 5%) necesario para neutralizar 0,45 ml de acético se calculó aparte (9,6 ml CO_3Na_2 5%).-

La solución resultante se extrajo con éter etílico para separar los no carbonílicos. Se evaporó el éter.-

Vaso	21.5760	En	1.5656g	esencia	libre	de	ác.y	fen.-	0,1416
Vaso + no.abs.:	<u>21.7176</u>	"	100"	"	"	"	"	"	-9,04
	0.1416								

NO ABSORBIDOS POR GIRARD T: 9,04%.-

Para regenerar la cetona se llevó la solución acuosa a una concentración ácida aproximadamente normal (N) con ClH . Se dejó a temperatura ambiente por 4 horas para asegurar la hidrólisis y se recupera

ron las acetonas por extracción con éter etílico.-

CETONAS.-

1) Semicarbazona (no se obtuvo)

2) 2-4 dinitrofenilhidrazona { P.F.: 150°
COLOR : Rojo
OBSERVACION ; Posibles aromáticos o ter-
pénicos.-

3) IR a 20° C: 1,5150

ALDEHIDOS.-

En la solución acuosa, que contiene las hidrazonas de los aldehidos, se elimina el éter remanente y se ppte. con reactivo mercurio (5g I₂Hg y 10g IK en 500 ml de agua). Se obtuvo un derivado cristalino cuyo P.F es 138°C.-

e) Aislamiento de alcoholes.-

El no reaccionante con Girard T se utilizó para:

1) Preparar 3-5 dinitrobenzoatos: PF 101° - 102° C (dl-neocarvomentol).

2) IR a 20° : 1,5010

3) Se preparó una solución en éter etílico para hacer cromatografía en fase gaseosa.-

CUADRO SINOPTICO DE LA MARCHA SEGUIDA

2 ml esencia + 5 ml éter petróleo (p.e: 40-60°C)

+

20 ml KOH 0,5H acuoso (3 veces)

Capa acuosa (inferior)

Sales potásicas de ácidos grasos libres y fenatos

+
SO₄H₂ 10% y

extraer 3 veces con éter etílico

FENOLES + ACIDOS GRASOS

Redisolver en éter etílico

+
CO₃Na₂ 5%

Capa acuosa (inf)
Sales sódicas de ácidos grasos libres.

+
SO₄H₂ 10%

extraer con éter etílico lavar con agua hasta neutralidad, evaporar.-

ACIDOS GRASOS

Capa éter (sup) lavar con SO₄H₂ 10% y con agua hasta neutralidad, evaporar.-

FENOLES

capa éter de petróleo (Sup.)

+
SO₄Na₂ anhidro, filtrar, evap.

ESENCIA LIBRE DE ACIDOS Y FENOLES

+
Reactivo Girard T (esencia hojas)

Reactivo Girard P (esencia ramas)

Reaccionante (capa acuosa)

CARBONILICOS

+
hidrólisis ácida

no hidrolizables

ALDEHIDOS

hidrolizables

CETONAS

No reaccionante (capa éter)

hacer I. acetilo

Sí +
ALCOHOLES

N O T A: Esta marcha se ha seguido tanto con esencia de hojas como con esencia de ramas. La única variante se ofrece en la separación de carbonílicos.-

E S T U D I O

D E L A

E S E N C I A D E R A M A S

RESUMEN DE LAS PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS QUE

FUE POSIBLE DETERMINAR SOBRE ESENCIA RAMAS

ASPECTO: producto oleoso.

COLOR: ámbar transparente.

OLOR: muy agradable.

P.ESPECIFICO a 15°5: 0,9099 g/ml.

I. REFRACCION a 13° C: 1,4930.

I. REFRACCION a 20°:

I. ACIDO: 8,07

I. ESTER: 51,56

I. SAPONIFICACION: 59,63.

= = = = =

ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA

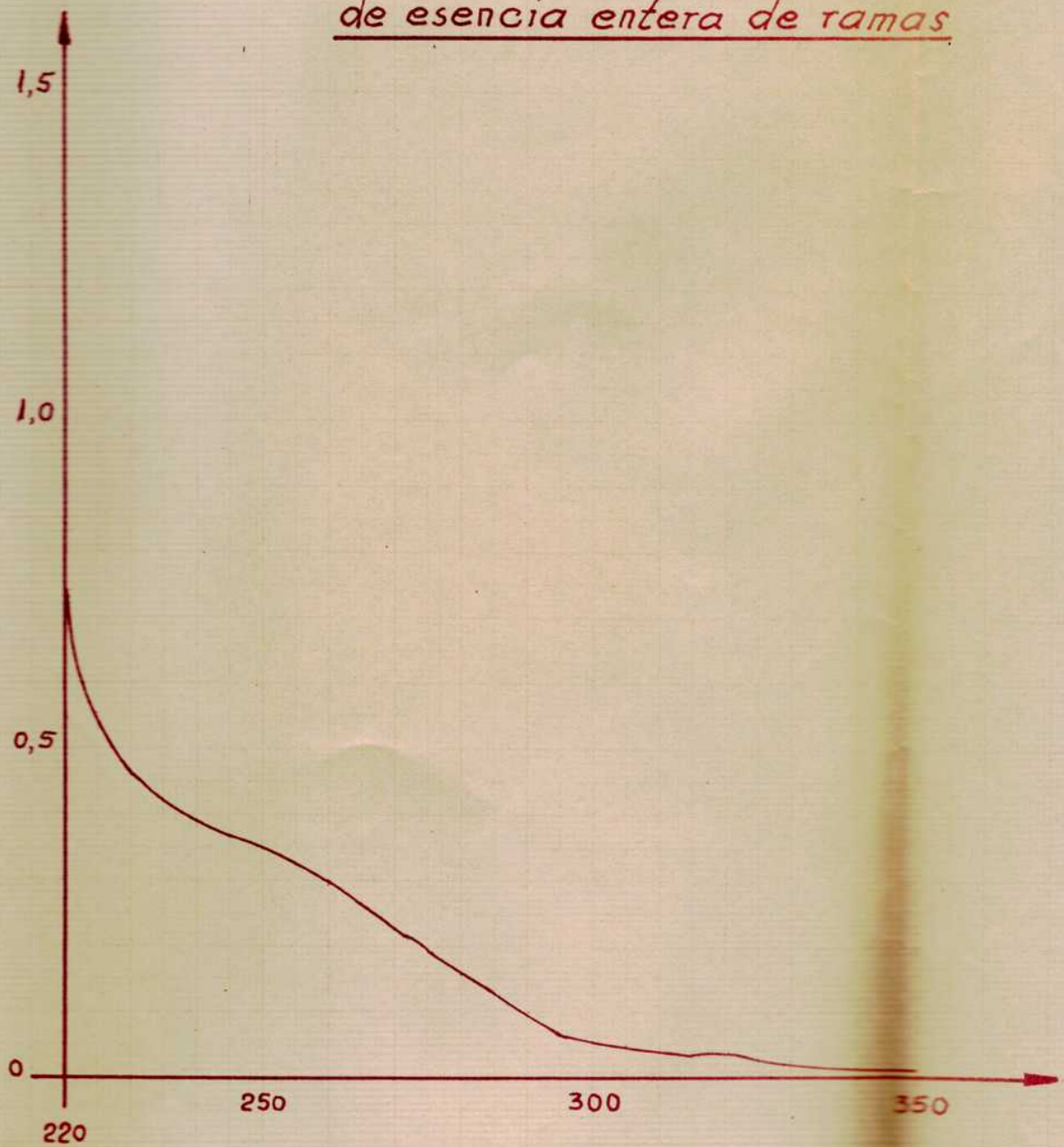
ESENCIA RAMAS

Se determinó solamente la curva de absorción en el ultravioleta para la esencia entera de ramas. Su examen indica presencia de poco fenol por lo cual no tenía objeto hacer el estudio sobre la esencia defenolada.

LONGITUD DE ONDA m μ	EXTINCCIONES ESENC. RAMAS (entera)
220	0.74
225	0.555
230	0.466
235	0.42
240	0.39
245	0.37
250	0.35
255	0.325
260	0.295
265	0.265
270	0.225
272	0.213
274	0.202
276	0.185
280	0.16
285	0.13
290	0.10
295	0.068
300	0.0585
305	0.050
310	0.041
315	0.036
320	0.037
325	0.033
330	0.028
340	0.019
350	0.012

Se trabajó con una solución en alcohol absoluto al 1:10.000.-

Curva de absorción en el ultravioleta
de esencia entera de ramas



AISLAMIENTO, DOSAJE E INVESTIGACION

DE LOS COMPONENTES PRINCIPALES.

Hemos seguido para la esencia de ramas la misma marcha analítica que para la esencia de hojas. El esquema figura en la pág.:

Se trabajó sobre 2 ml. de esencia de ramas disueltos en 5 ml. de éter de petróleo.

Fracciones obtenidas:

a) ACIDOS GRASOS LIBRES: 6,06 %.

b) FENOLES: en pequenísima cantidad.

ASPECTO: semisólido.

COLOR: pardo claro.

OLOR:

DERIVADOS: sólo fué posible preparar 305 Dinitrobenzoatos que no pudieron cristalizarse.

c) ESENCIA LIBRE DE ACIDOS Y FENOLES: 89,98 %.

ASPECTO: oleoso.

COLOR: amarillo claro.

OLOR: agradabilísimo.

ESPECTRO DE ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA: No determinado por razones antedichas (pág.

d) EXTRACCION DE COMPUESTOS CARBONILICOS.

Método Girard P:

Es esencialmente el mismo que el Girard T. (Pág.).- El reactivo ya se dió a conocer anteriormente (pág.).

OBSERVACIONES:

Como carecíamos de experiencia en el empleo del Reactivo Girard P, se utilizó primeramente para obtener derivados de compuestos conocidos puros como la fencona y acetofenona. Se siguió la técnica descrita en la pág: obteniéndose derivados bien cristalizados cuyos puntos de fusión dieron respectivamente:

DERIVADO DE LA FENCONA: P.F.: 125° C.

DERIVADO DE LA ACETOFENONA: P.F.: 121° C.

Llama la atención que sustancias tan diferentes en su estructura química den con el Reactivo P derivados de P.F. tan próximos.

Es de hacer ~~notar~~ que estos mismos compuestos dan con el Reactivo T, derivados cuyos puntos de fusión son: (62) (63)

DERIVADO DE LA FENCONA: P.F.: 96° - 100° C.

DERIVADO DE LA ACETOFENONA: P.F.: 210° C.

Con la esencia de ramas libre de ácidos y fenoles se trabajó para separar los carbonílicos mediante el Girard P:

ALDEHIDOS:

Complejo Girard P + I₂Hg.- P.F.: 127° C.

CETONAS:

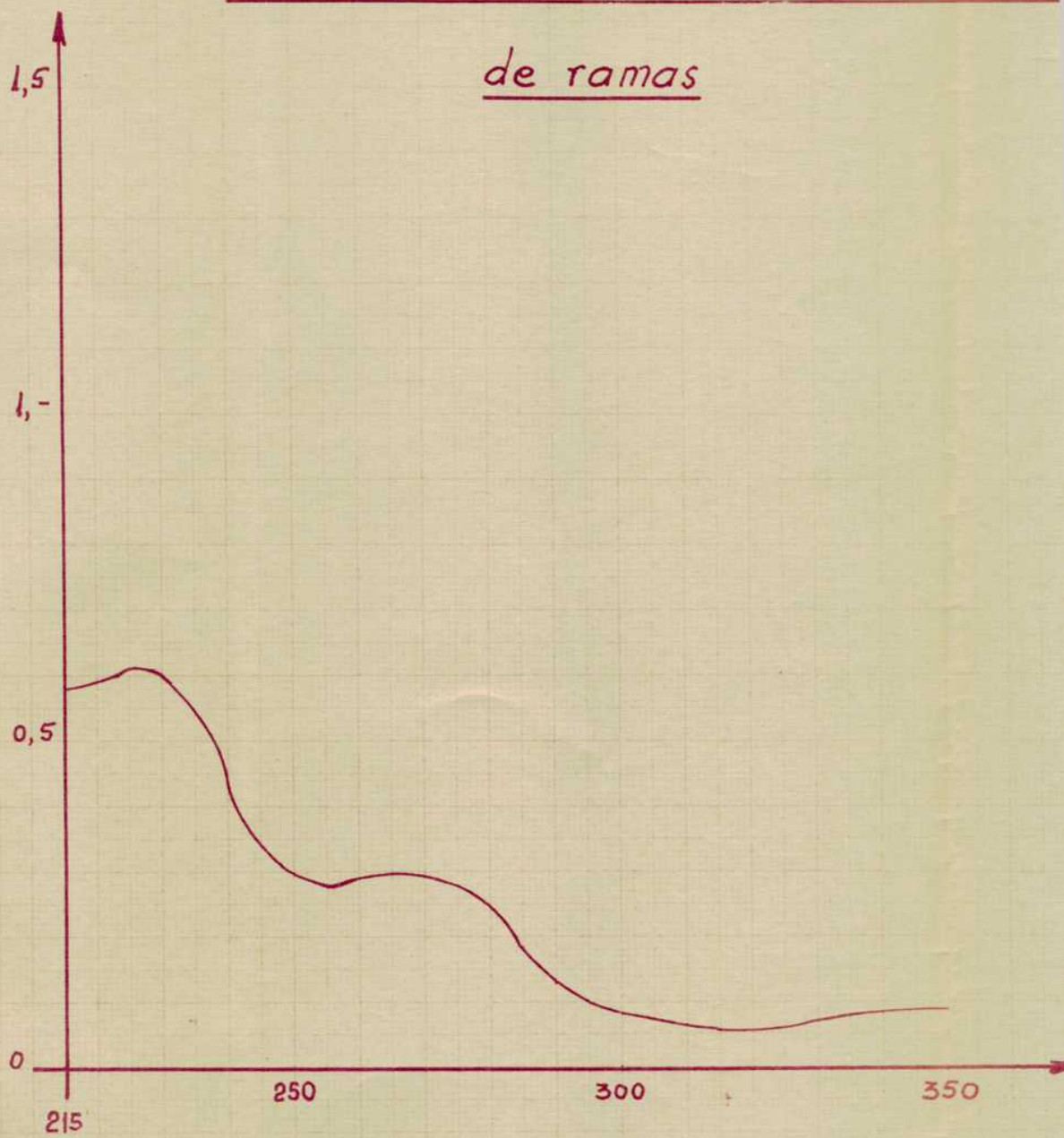
2-4 Dinitrofenilhidrazonas: P.F: 90° - 93° C.

Semicarbazona: P.F. 220° C.

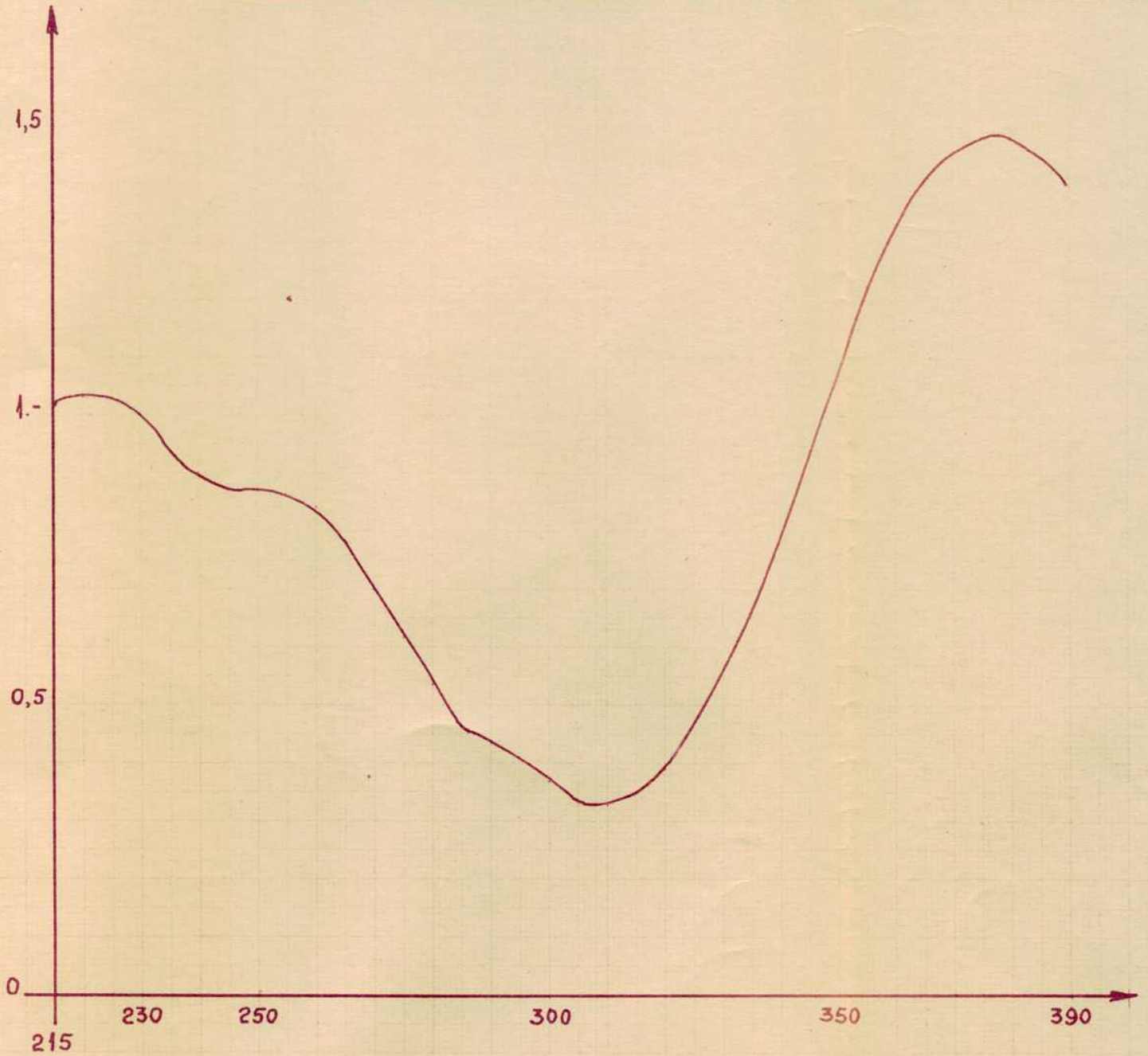
ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA

LONGITUD DE ONDA <i>mμ</i>	EXTINCCIONES CORRES- PONDIENTES A 2-4 DNFH DE CETONAS DE ESENCIA RAMAS 2 ‰.	LONGITUD DE ONDA <i>mμ</i>	EXTINCCIONES CORRESPON- DIENTES A SEMICARBAZONAS DE CETO NAS ESENCIA RAMAS 2‰.
215	1.02	215	0.58
217	1.03	220	0.585
218	1.03	225	0.61
220	1.03	230	0.60
222	1.03	235	0.54
225	1.03	240	0.435
230	1.00	245	0.34
232	0.98	250	0.293
235	0.94	255	0.28
240	0.90	260	0.29
245	0.87	265	0.30
250	0.87	270	0.293
255	0.865	275	0.28
260	0.84	280	0.243
265	0.78	285	0.183
270	0.70	290	0.13
275	0.615	295	0.10
280	0.535	300	0.084
285	0.463	305	0.073
290	0.435	310	0.065
295	0.41	315	0.058
300	0.368	320	--
305	0.335	325	--
310	0.328	330	0.070
320	0.392	340	0.080
330	0.56	350	0.084
340	0.80		
350	1.07		
360	1.32		
370	1.46		
375	1.48		
378	1.49		
380	1.48		
390	1.40		

Curva de absorción en el ultravioleta
de semicarbazonas de cetonas esencia
de ramas



Curva de absorción en el ultravioleta de
2-4 DNFH de getonas aisladas de esencia de ramas



e) ALCOHOLES

Se prepararon 3-5 DNB cuyo P.F: 91° 92° C índice que podía corresponder al alcohol fenilpropílico.

PREPARACION DE DERIVADOS

Preparación de 3-5 dinitrobenzoatos:

Los métodos de determinación de alcoholes y fenoles se basan generalmente en su esterificación.-

Cuando se trabaja con muy pequeñas cantidades de material se necesita un reactivo eficiente que pueda usarse en gran exceso, sea fácilmente eliminable y dé compuestos bien cristalizables. El cloruro de 3-5 dinitrobenzoilo reúne estas condiciones resultando muy útil (57)(58). para los tres tipos de alcoholes.-

Preparación:

1 gota o porción de la fracción fenólica o alcohólica, se adiciona de 10 ml de reactivo (1g de cloruro de 3-5 dinitro-benzoilo + 10 ml de benceno) y 1 ó 2 gotas de dimetil anilina (actúa como catalizador durante la esterificación).-

Se deja a temperatura ambiente algunas horas (con alcoholes terciarios es necesario calentar a ebullición durante $\frac{1}{2}$ hora). Se diluye la mezcla con éter etílico seco, se lava con SO_4H_2 10% (ácido diluido) luego con CO_3Na_2 5% (álcali diluido) y finalmente con agua. Se evapora la disolución etérea y se cristaliza en éter de petróleo. Una vez recristalizado, se determina el Punto de fusión.-

Como los fenoles y alcoholes polivalentes dan ésteres que generalmente son poco solubles en solventes orgánicos, en ese caso, se separa el producto por filtración después de lavar.-

SEMICARBAZONAS.-

Interesa su punto de fusión y su curva de absorción en el ultravioleta. A una solución acuosa de clorhidrato de semicarbazida (59) 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 un poco de alcohol para obtener una solución límpida.-

Generalmente los cristales se obtienen en pocos minutos a temperatura ambiente. A veces puede ser necesario calentar.-

Los cristales se recristalizan en agua, alcohol o acetona.-

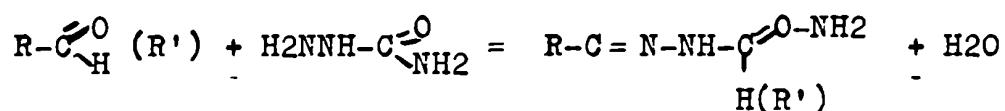
REACTIVO.-

11,2 g. de clorhidrato de semicarbazida + 12,5 g de Acetato de Sodio se disuelven en agua y completa a 100 ml.-

Técnica.-

Pequeña porción de residuo carbonílico + 2ml de alcohol libre de aldehídos + 4 ml de reactivo. Dejar cristalizar, diluir con agua, dejar por un día.-

La reacción que tiene lugar puede esquematizarse así:



2-4-DINITROFENILHIDRAZONAS.- (60)

La obtención de 2-4 dinitrofenilhidrazonas es muy útil no solo con el fin de determinar su R.F. La distinta solubilidad de las 2-4 dinitrofenilhidrazonas frente al éter de petróleo y benceno puede servir para separar mezclas de éstas en sus componentes.-

El Dr. Montes ha comprobado en varios años de fecunda labor científica que: (transcripto textualmente)

"las 2-4 dinitrofenilhidrazonas de los componentes carbonílicos alifáticos son solubles en éter de petróleo o en ligroína, las de los componentes terpénicos lo son parcialmente en ese disolvente y totalmente en mezcla de benceno y ligroína o éter de petróleo y las de los componentes aromáticos sólo escasamente en esa mezcla, siendo solubles en

benceno, a veces sólo en caliente. De modo que, mezclas de componentes alifáticos con aromáticos, o de terpénicos con aromáticos son fácilmente separables en sus componentes".-

REACTIVO (61)

0,4g de 2-4 DNFH + 2ml de SO₄H₂ conc. A esta mezcla contenida en un Erlenmeyer se agregan gota a gota y agitando 3ml de agua hasta completa disolución. A esta solución, que estará caliente, se añaden 10 ml de alcohol de 95°.-

OBTENCION DEL DERIVADO.-

El producto carbonílico se disuelve en etanol (se usan 0,5g del primero para 20ml del segundo). Se le agrega el reactivo y deja la mezcla a temperatura ambiente. Generalmente a los 5 ó 10 minutos comienza la cristalización, en caso contrario se deja toda la noche.-

--oOo--

CROMATOGRAFIA GASEOSA

Hasta aquí nos hemos enfrentado constantemente con un factor notablemente adverso: la pequeñísima cantidad de muestra disponible para dilucidar siquiera en parte la composición de un producto tan complejo.- Temíamos a cada instante efectuar nuevas determinaciones químicas o repetir otras confirmatorias por el peligro de quedarnos sin esencia. Nuestras esperanzas se cifraron entonces en la cromatografía gaseosa, técnica, que apenas nacida, interesó grandemente a numerosos científicos en diversos países, logrando así, en un corto período, amplio desarrollo. Su avance vertiginoso se debe a sus métodos de separación rápidos y seguros, fácilmente realizables con un equipo simple, requiriendo a menudo muy pequeñas cantidades de muestra, (del orden de los mg) y a la capacidad de identificación y medida de los componentes que son solamente separables con gran dificultad por otros medios.-

Por inconvenientes de diversa índole no hemos podido utilizarla en la medida de nuestros deseos, pudiendo presentar solamente unos pocos cromatogramas.-

El término cromatografía gaseosa se utiliza para todos los métodos cromatográficos en los cuales la fase móvil es un gas. Este gas (carrier) se usa para transportar y eluir la muestra que pasa a través de la columna. Las separaciones que se efectúan dependen, por tanto, de la distribución repetida de las sustancias a separar entre el gas móvil y la fase fija empaquetada en la columna (64). Esta fase fija puede ser un adsorbente (cromatografía de adsorción) o un absorbente líquido sobre un soporte inerte (cromatografía de partición gas-líquido).-

Las sustancias a ser separadas se mueven a través de la columna en la corriente de gas y para la mayoría a temperaturas inferiores a sus temperaturas críticas, de manera que son técnicamente vapores.-

El equipo que se muestra en la figura es el normalmente usado para la cromatografía gas-líquido. (Ver parte experimental).-

Una pequeña muestra (del orden de los μ l) de la sustancia a analizar se introduce en el frente final de la columna.-

Un pequeño calentador a la entrada ayuda a la vaporización de la muestra y entonces es arrastrada por el carrier.-

Los componentes de la muestra viajan a través de la columna a velocidades que varían según sus afinidades para la fase estacionaria en la columna; luego emergen separadamente de la columna en orden de afinidad creciente y se miden por detectores especiales colocados en la corriente de gas que sale de la columna.

El detector es un dispositivo que mide el cambio de composición del efluente, permitiendo apreciar las diferencias en milivoltios de conductividad entre el gas soporte y el gas mas cada fracción separada.

Hay dos tipos de detectores. El detector integral mide continuamente la muestra acumulada desde el comienzo del análisis.-

El detector diferencial mide la concentración instantánea.-

La respuesta del detector es registrada como un pico sobre una tira de papel, mientras un componente particular de la muestra emerge de la columna.-

El orden de aparición de cada componente es el de su tiempo de retención vinculado a su temperatura de ebullición y magnitud molecular.

La posición de un pico (tiempo de retención o volumen de retención) caracteriza al vapor que lo produce y el área que encierra el pico mide su concentración (en análisis por elución).-

CONDICIONES DE OPERACION.-

El método es aplicable solamente a sustancias volátiles.-

El gas elegido como fase móvil debe ser inerte con respecto a los vapores y a la fase fija.-

La fase fija debe ser relativamente no volátil a la temperatura de operación de la columna. De este modo la columna puede usarse repetidamente dando resultados reproducibles. Puede asegurarse además que cualquier fracción que quiera entramparse a la salida estará sólo muy ligeramente continuada con el vapor de la fase fija. Pero esto no significa que las sustancias de alto peso molecular son las más adecuadas para tal fin dado las de menor peso molecular son menos viscosas y por ende, de mayor poder disolvente, contribuyendo a una mayor eficiencia de separación.-

La separación depende de las diferencias de volatilidad de los varios componentes en la solución.-

El soporte sólido es normalmente un sólido poroso inerte que está recubierto con la fase líquida. Ocasionalmente se usa un sólido activo como soporte sólido para lograr efectos especiales de separación.-

Debe especificarse el rango de tamaño de las partículas porque afecta la eficiencia de la columna y la presión diferencial necesaria para lograr una velocidad de flujo dada.-

La muestra debe ser pequeña de manera que después de su introducción ocupe una pequeña sección elemental de la columna. De otro modo se obtendrán bandas de elución anchas. El total de muestra debe pasar a la columna tan rápidamente como sea posible; de otro modo, se obtendrá una resolución muy pobre.-

El poder separador de la columna depende de un número de factores incluyendo 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 separados en su solución en el solvente y el tamaño de la muestra (65).-

ANALISIS CUALITATIVO.-

Puede efectuarse comparando la posición del pico de vapor desconocido con las posiciones de picos obtenidos con vapores conocidos sobre la misma columna y en las mismas condiciones de operación. Así un vapor se identifica por medio de su volumen de retención o tiempo de retención a flujo de gas constante.-

Los volúmenes de retención son, no obstante, extremadamente sensibles a variaciones de temperatura de la columna; para un grado de diferencia en la temperatura, se ocasiona un cambio de volumen de retención del orden del 5%.-

TIEMPO DE RETENCION.- (no corregido TR) (66)

Es el tiempo requerido desde el comienzo del análisis (inyección de muestra o admisión a la columna si ésta es demorada) al máximo del pico del compuesto en consideración.-

VOLUMEN DE RETENCION.- (no corregido VR) (65)

Es el volumen de gas medido a la presión y temperatura de salida de la columna requerido para arrastrar el compuesto en consideración desde el inyector de muestra al detector. Se relaciona con la velocidad de flujo por la ecuación:

$$VR = TR \cdot FC ; \text{ donde } FC = \text{ velocidad de flujo}$$

VOLUMEN DE RETENCION CORREGIDO.- V_R^o (65)

El volumen de retención corregido por la caída de presión en la columna (esto es, la compresibilidad del gas). Es el valor limitante de VR a medida que p_i tiende a p_o .-

$$V_R = VR \left[\frac{3 \cdot (p_i/p_o)^2 - 1}{2 \cdot (p_i/p_o)^3 - 1} \right]$$

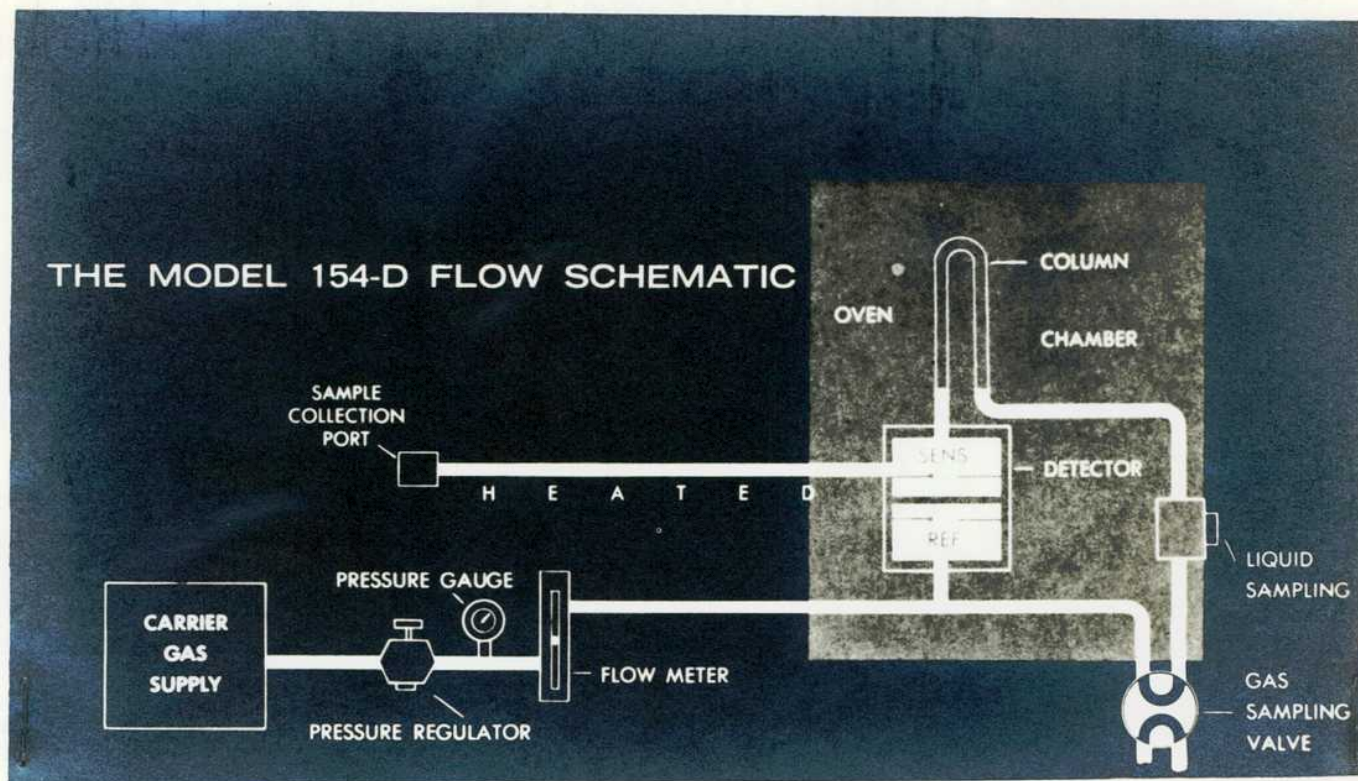
p_i = presión del carrier a la entrada

p_o = salida

—e0c—

PARTE EXPERIMENTAL

El aparato usado en las subsiguientes determinaciones es un cromatógrafo PERKIN-ELMER modelo 154-C.- Una copia esquemática del circuito se muestra en la figura.-



ACEITE ESENCIAL DE HOJAS.-

Se inyectaron con jeringa hipodérmica 10 ul de aceite esencial.-

El cromatograma N° 1 muestra ocho picos cuyos tiempos y volúmenes de retención en las condiciones que se especifican se dan en la Tabla N° 1.-

Columna : SAIB

Longitud de la columna : 2m

Temperatura : 150°C

psi : 3

flujo : 15.8 ml/min

gas carrier : N₂ (en todas las determinaciones).-

TABLA N° 1

PICO	TR (min)	VR (ml de N2)
1	-	-
2	14.1	222.8
3	16.8	265.44
4	21.8	344.4
5	-	-
6	27.3	431.3
7	-	-
8	42.8	676.24

El criterio seguido para tratar de identificar algún componente es el siguiente:

Comparación de los TR y VR de los picos obtenidos con los hallados anteriormente para sustancias tipo en las mismas condiciones.-

Tener en cuenta que los VR se relacionan con los puntos de ebullición y la magnitud molecular de los compuestos.-

Todas las fracciones se entramparon a la salida de la columna recogiéndolas sobre clorhidrato de 2-4 dinitrofenilhidrazina.-

Las fracciones 5, 6, 7 y 8 dieron reacción positiva precipitando las 2-4 dinitrofenilhidrazonas correspondientes.-

De las fracciones 5, 6 y 7 sólo podemos decir que corresponden a compuestos carbonílicos porque la cantidad de precipitado obtenido no permitió la determinación del punto de fusión.-

La fracción 8 (pico 8) dió bastante precipitado color rojo cuyo P.F. es de 165° - 205°C.-

Por la ubicación en el cromatograma (VR) corresponde a un componente carbonílico de alto punto de ebullición, aproximadamente 230° - 240° C. Por el P.F. de su 2-4 dinitrofenilhidrazona y su olor agradables

podría tratarse de una cetona sesquiterpénica lo que también se confirma si tenemos en cuenta que la 2-4 dinitrofenilhidrazona de la fracción cetónica separada en la marcha analítica tiene un índice de refracción a 20° de 1.5150, La fracción 3 (pico 3) por su ubicación en el cromatograma (VR) podría corresponder a un alcohol.-

Para la fracción alcohólica separada en la marcha analítica obtuvimos un 3-5 dinitrobenzoato de P.F: 101° C, lo que en principio nos hizo sospechar la presencia del dl-neocarvomentol.-

Observaciones posteriores nos hicieron descartar tal suposición en razón de que el dl-neocarvomentol raramente se encuentra en la naturaleza, y si aparece, está asociado a la carvona cuya presencia no hemos podido conformar en la fracción cetónica.-

En base a estas consideraciones nos inclinamos más por la suposición de que el pico 3 podría corresponder al alcohol l-tujílico cuyo P E es de 208-210°C (acorde con su VR) y cuyo 3-5 dinitrobenzoato tiene un P.F. de 106°C. La diferencia entre este P.F y el anteriormente citado de 101°C podría deberse a impurificaciones. En este cromatograma no hemos hecho más observaciones pues sólo nos interesa confirmar por cromatografía gaseosa las suposiciones derivadas de los resultados obtenidos con las fracciones separadas en la marcha analítica.-

El cromatograma N° 2 se obtuvo por inyección de 5 μ l de muestra en las mismas condiciones que el N° 1.-

En el cromatograma N° 3 nos interesan los picos 6 y 10.-

Columna : SAIB

Longitud de la columna : 2m

Temperatura : 200° C

psi : 3

Flujo 13,1 ml/min.

TABLA N° 2

PICO	TR (min)	VR (ml de N2)
6	4,4	57,64
10	9,4	123,14

Para la fracción fenólica separada en la marcha analítica se obtuvieron 3-5 dinitrobenzoatos cuyo P.F de 108° C nos hizo suponer que corresponde al orto-etil fenol.-

El examen del cromatograma N° 3 nos parece confirmar esta suposición por la ubicación del pico 10 cuyo VR es mayor que el correspondiente a los cresoles.-

No apareció ese pico a 150° C o aparece apenas una inflexión.-

La fracción 6 correspondería a alcoholes.-

ACEITE ESENCIAL DE RAMAS.-

Una primera inyección de 5 ul resultó insuficiente. Fué necesario hacer otra inyección con 10 ul de esencia.-

Puede observarse en el cromatograma N° 4 que se obtuvieron 13 picos. Los datos figuran en la tabla 3 para las siguientes condiciones:

Columna : SAIB

Longitud de la columna : 2m

Temperatura : 150°C.

psi : 3

Flujo : 16,1 ml/min.

S1

El criterio para examinar los resultados se indicó anteriormente para la esencia de hojas.-

TABLA N° 3

PICO	TR (Min)	VR (ml de N2)
1	1	16.1
2	1.6	25.76
3	2.1	33.81
4	2.3	37.03
5	3	48.3
6	3.7	59.57
7	4.65	74.86
8	6.6	106.26
9	7.4	119.14
10	13.6	218.96
11	16	257.6
12	-	-
13	20.4	328.44

Todas las fracciones entrampadas a la salida se recogieron sobre clorhidrato de 2-4 dinitrofenilhidrazina.-

Las fracciones 6, 10, 12 y 13 dieron reacción positiva. Podemos pues afirmar que corresponden a compuestos carbonílicos.-

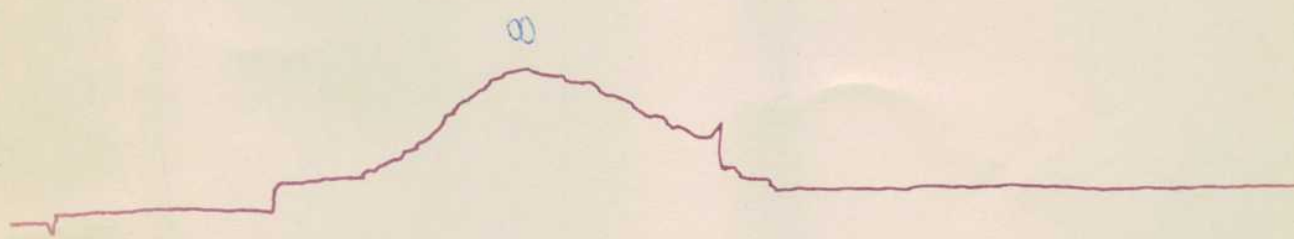
Fracción 6.-

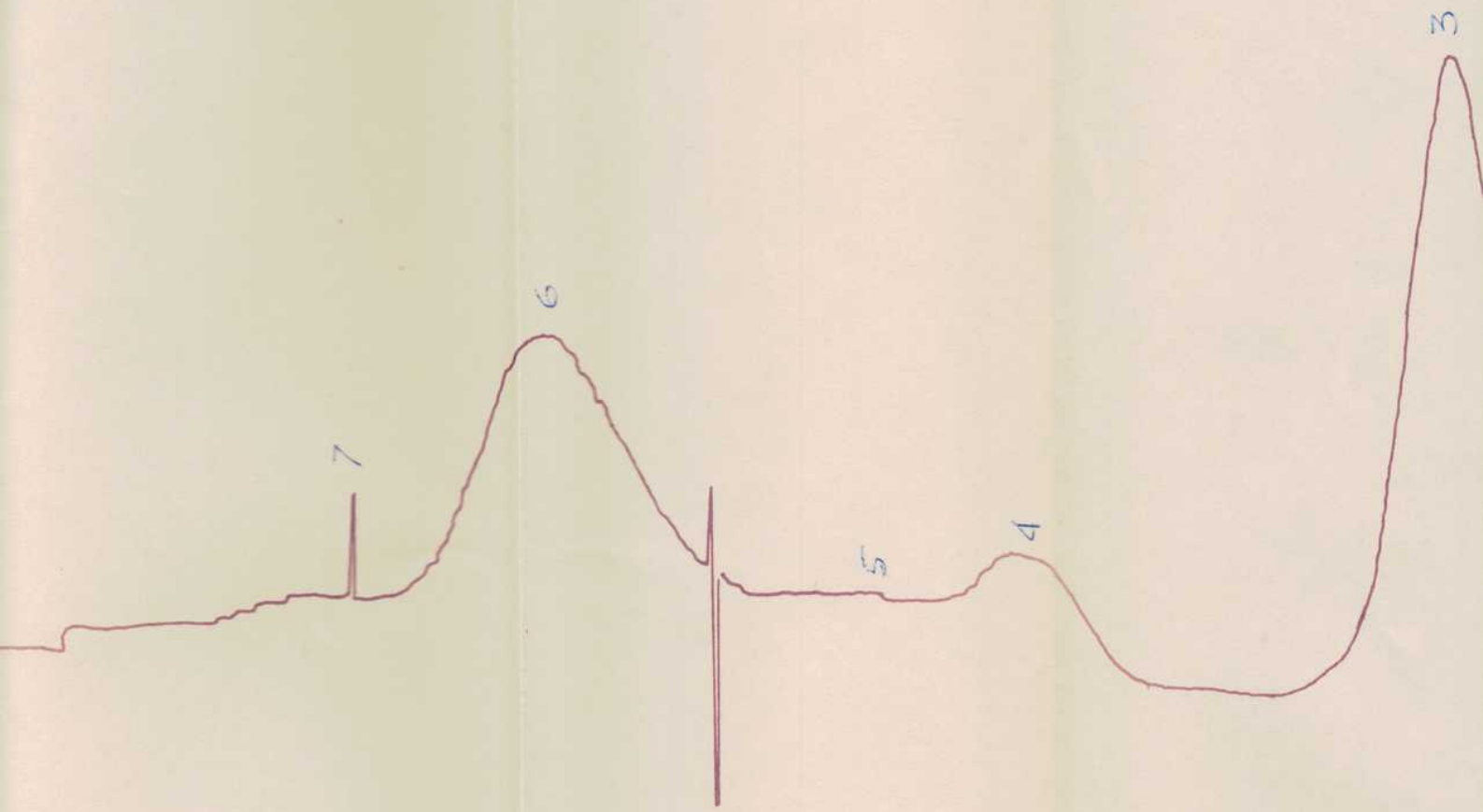
Su 2-4 dinitrofenilhidrazona dió un P.F de 107° C.

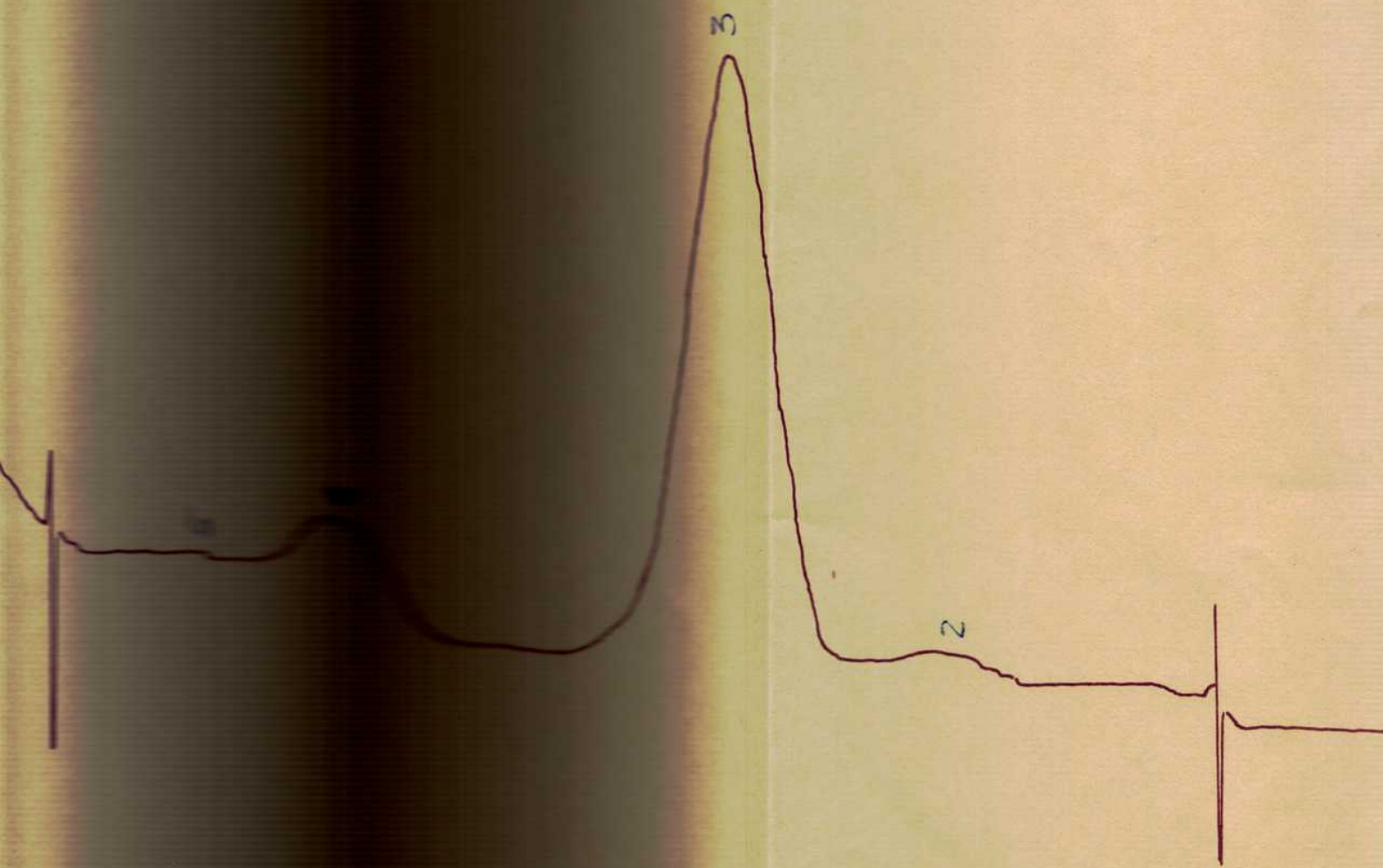
Por su ubicación en el cromatograma (VR) podría corresponder a la B - santenona de P.E : 189,5 - 190,5° C. La semicarbazona de la B-santenona tiene un P.F de 221 - 222°C que coincide con el de la semicarbazona obtenida con la fracción cetónica separada en la marcha analítica, que dió 220°C.-

Fracción 10 (pico 10)

Corresponde a un componente carbonílico que no podemos identificar porque su 2-4 dinitrofenilhidrazona se formó en tan pequeña cantidad que no fué posible determinar su P.F.-



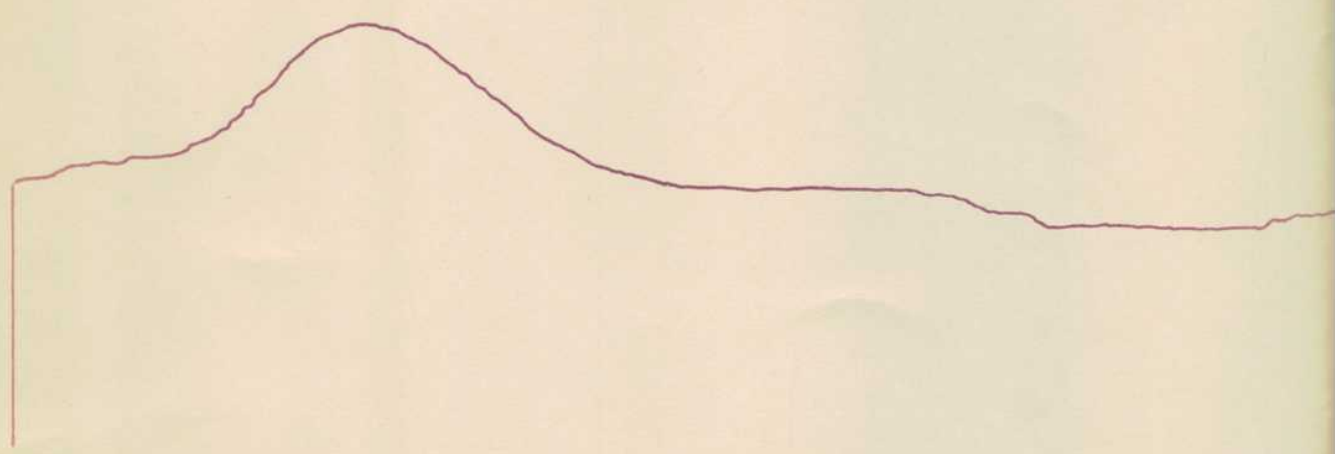


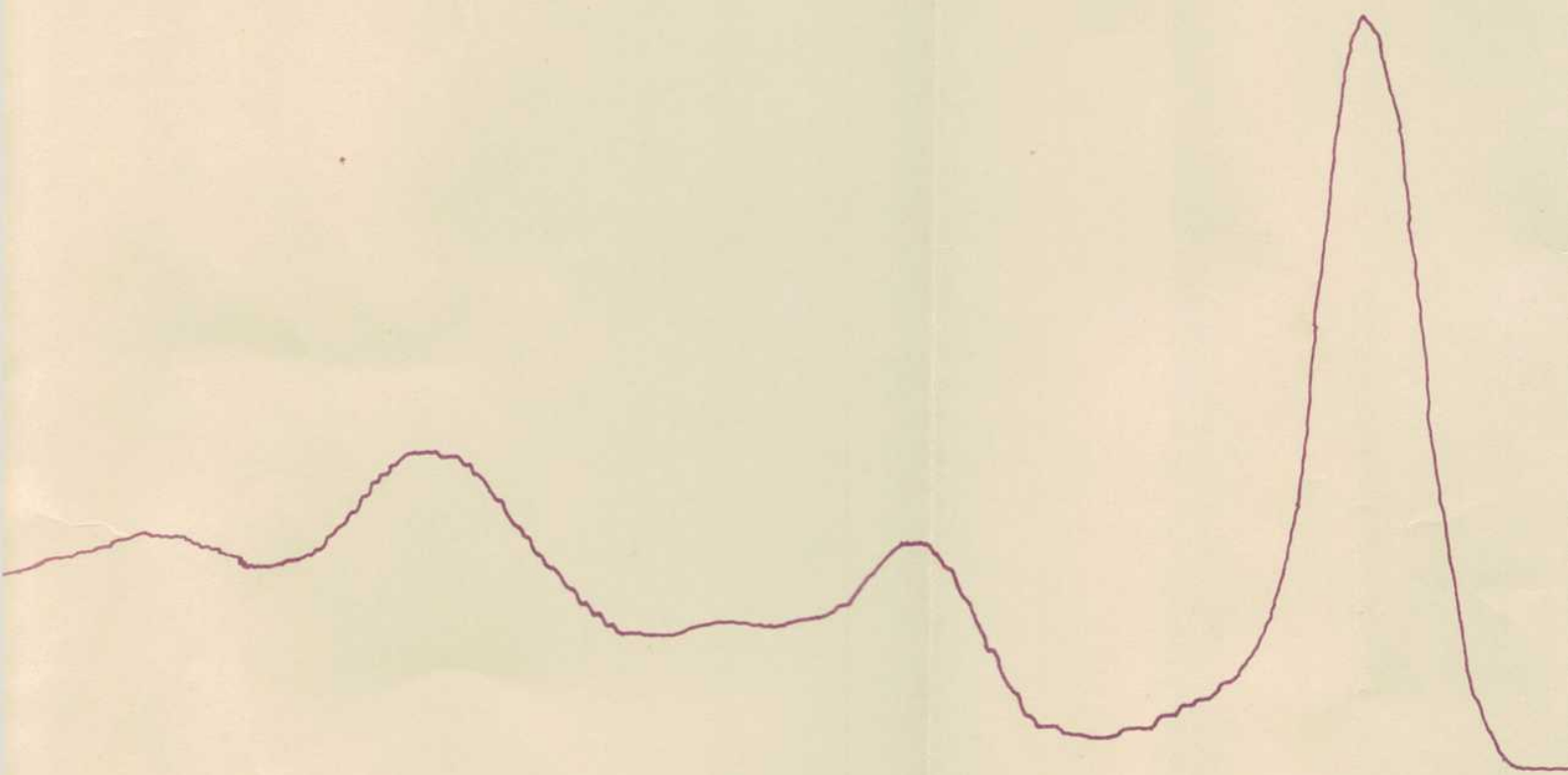




CROMATOGRAMA N° 1

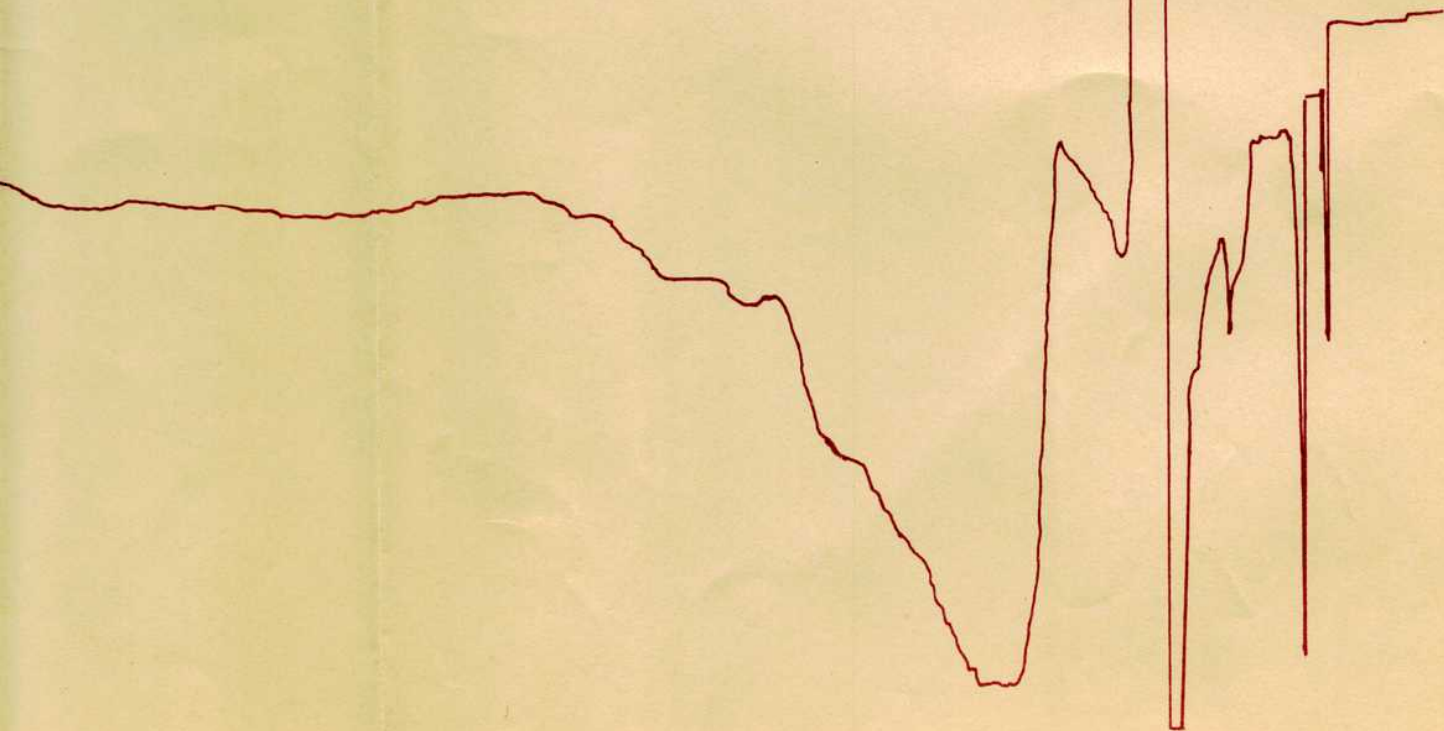
Laura hojas 10 μ l Col SAIB 2m., 150°C,
2,5 p.s.i. 15,8 ml/min. St.





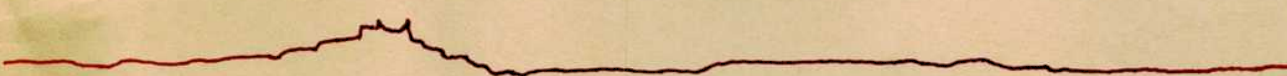
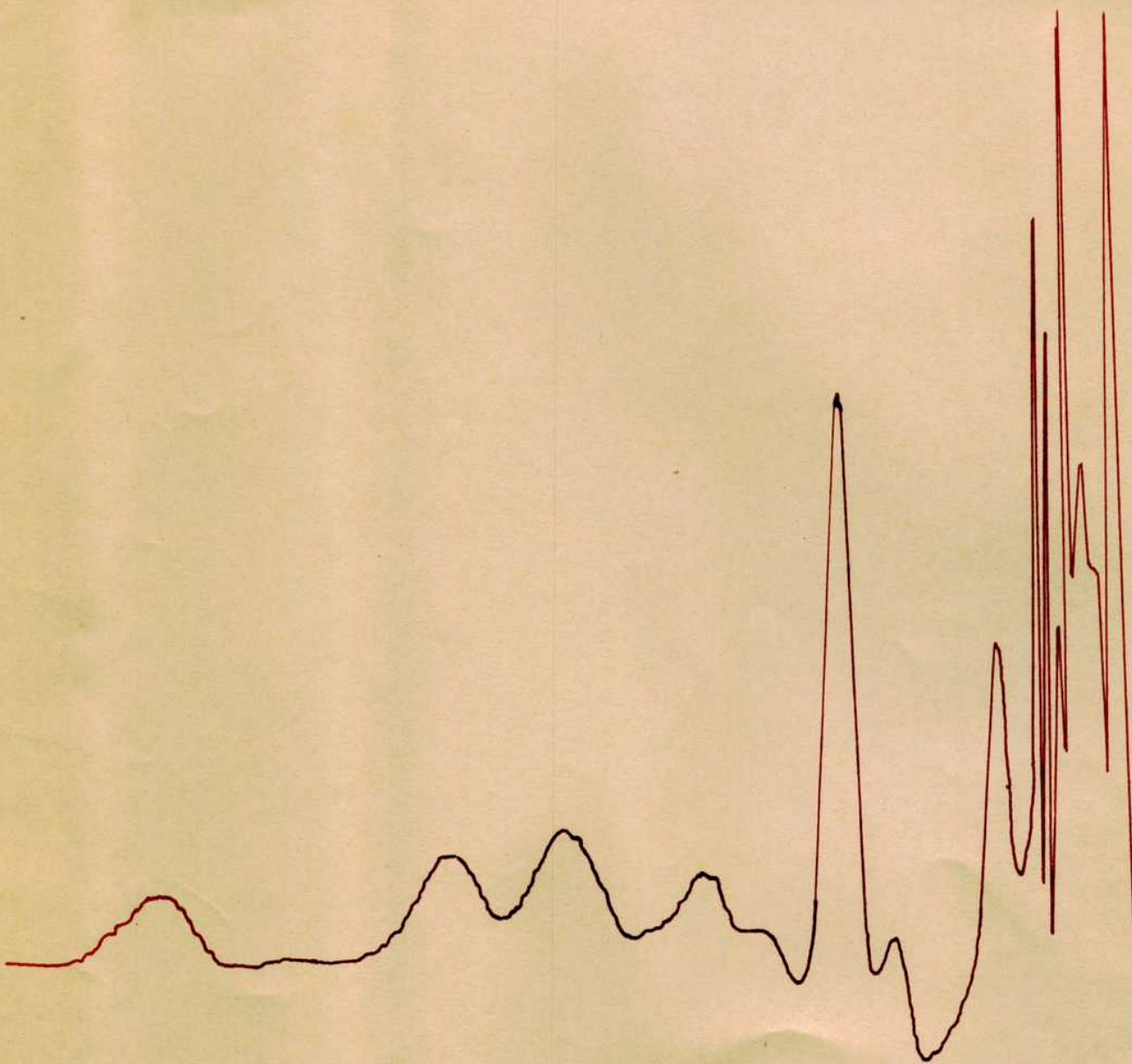
CROMATOGRAMA N°2

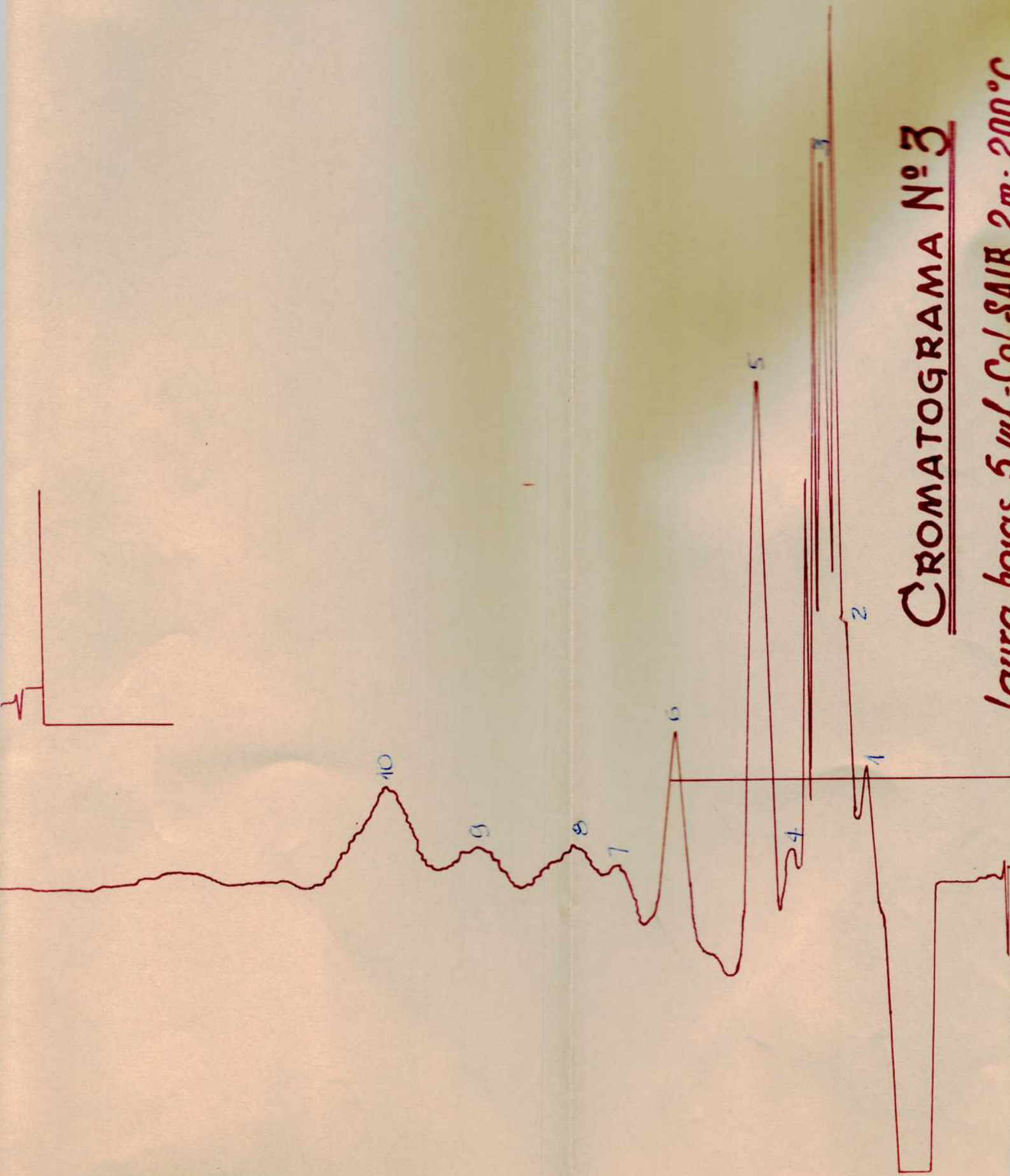
Laura hojas 5 μ l.



С. П. АМАНЖОЛДАНОВ

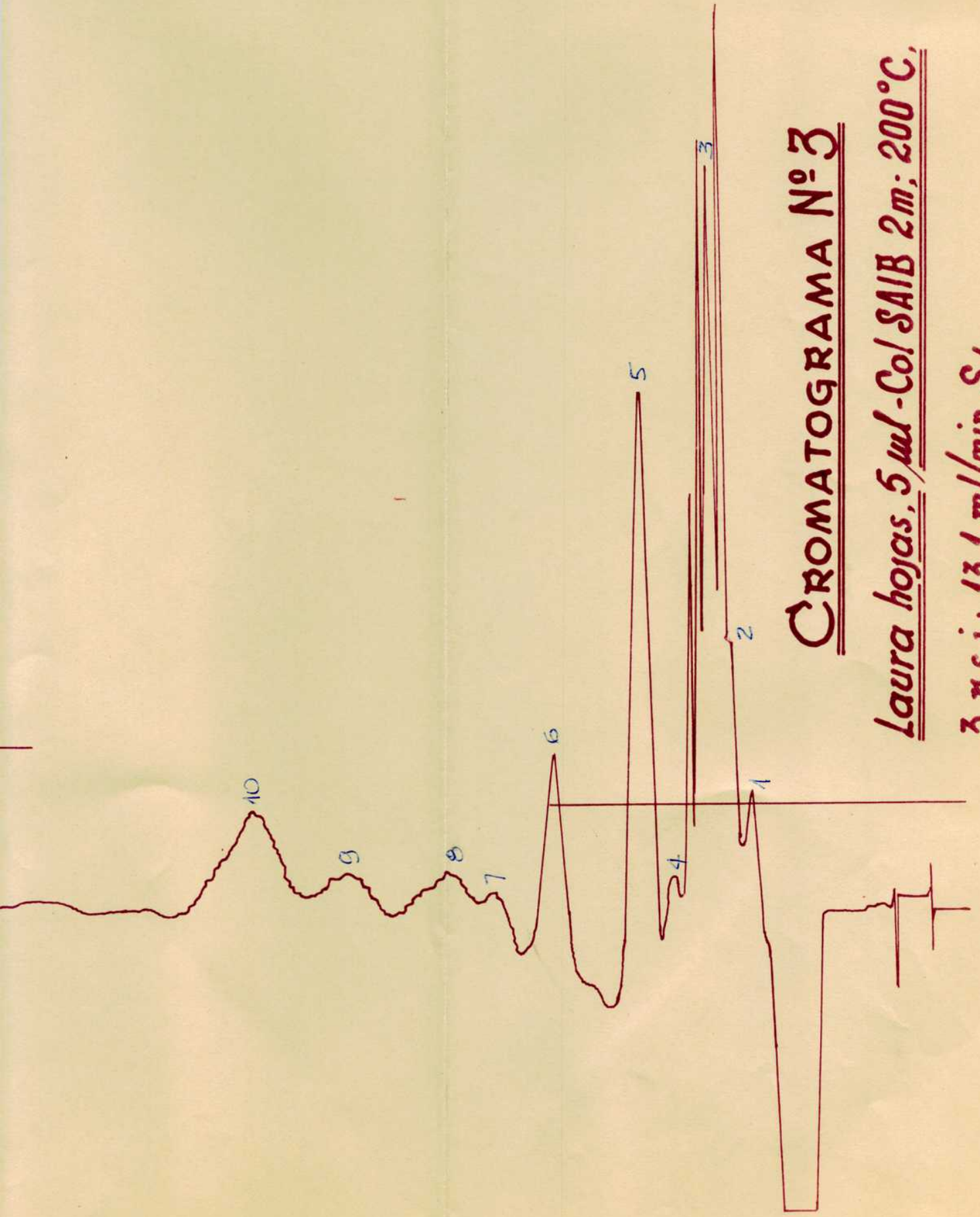
С. П. АМАНЖОЛДАНОВ





CROMATOGRAMA N° 3

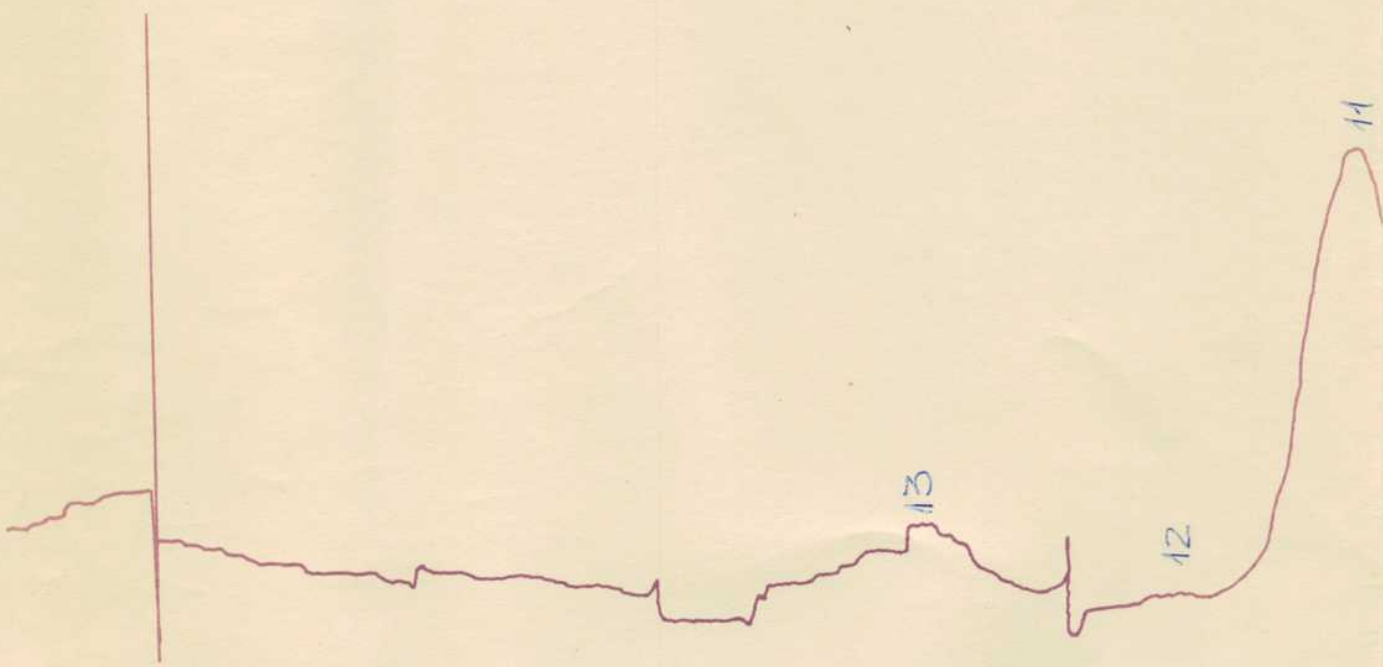
lauro bios 5 ml - Co / SAIR 2 m. 200°C

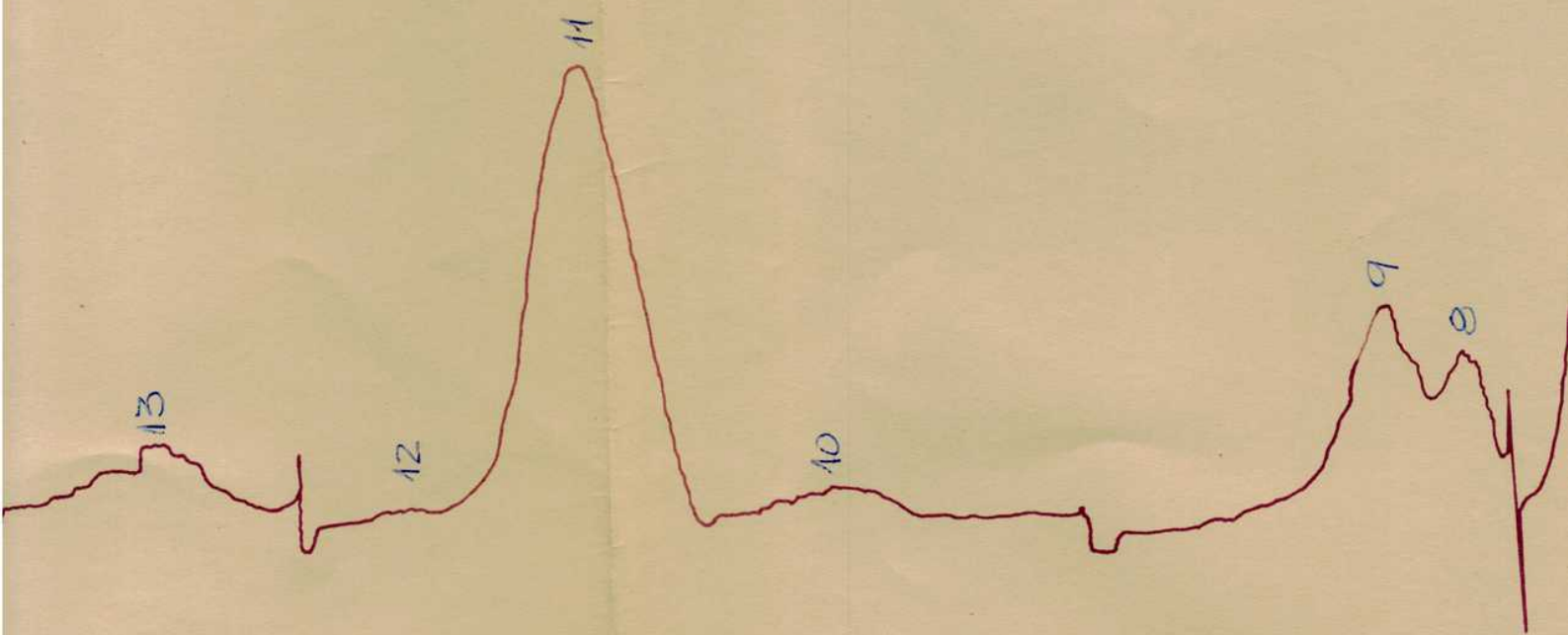


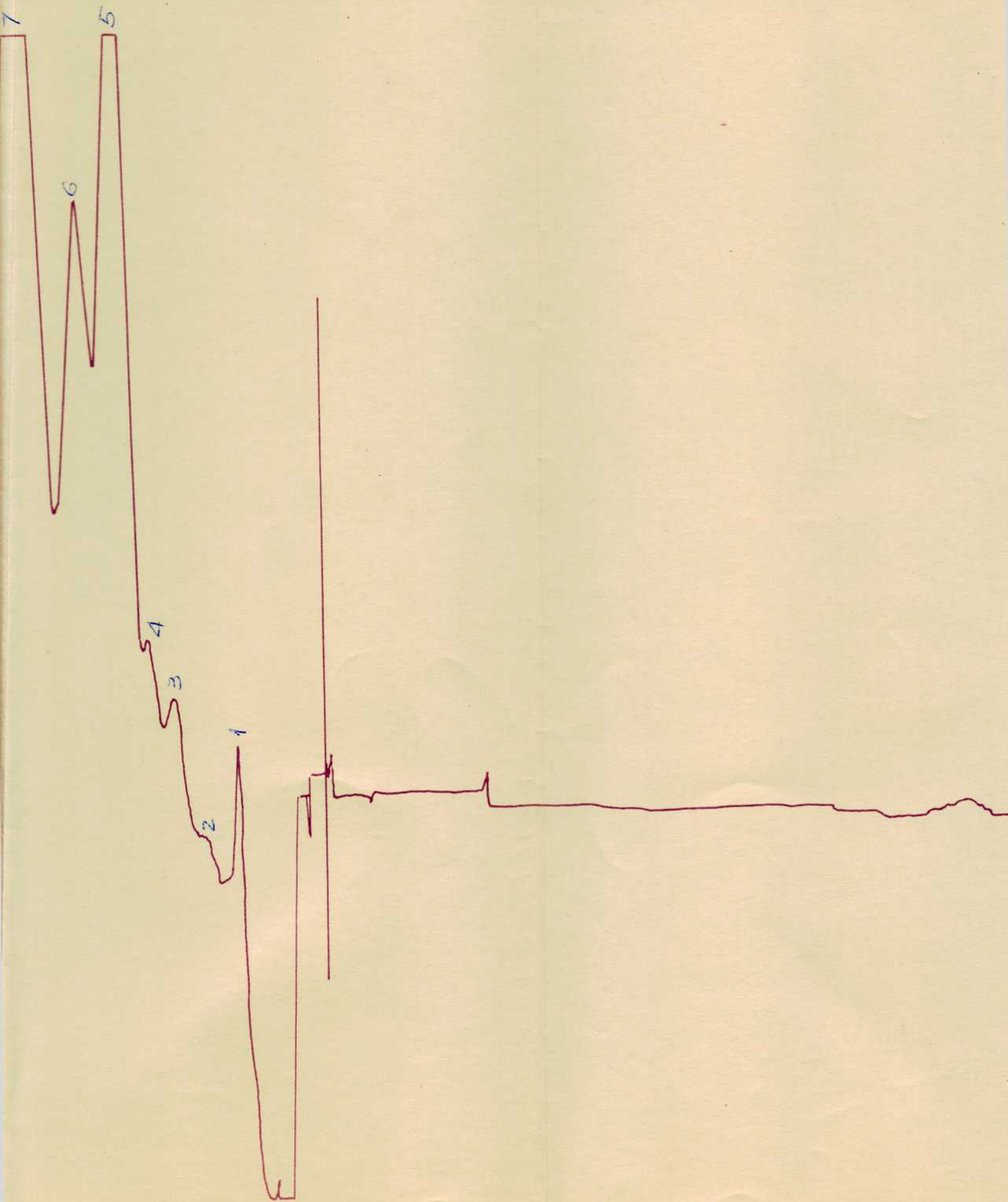
CROMATOGRAMA N° 3

Laura hojas, 5 μ l - Col SAIB 2m; 200°C,

3 p.s.i; 13,1 ml/min St.



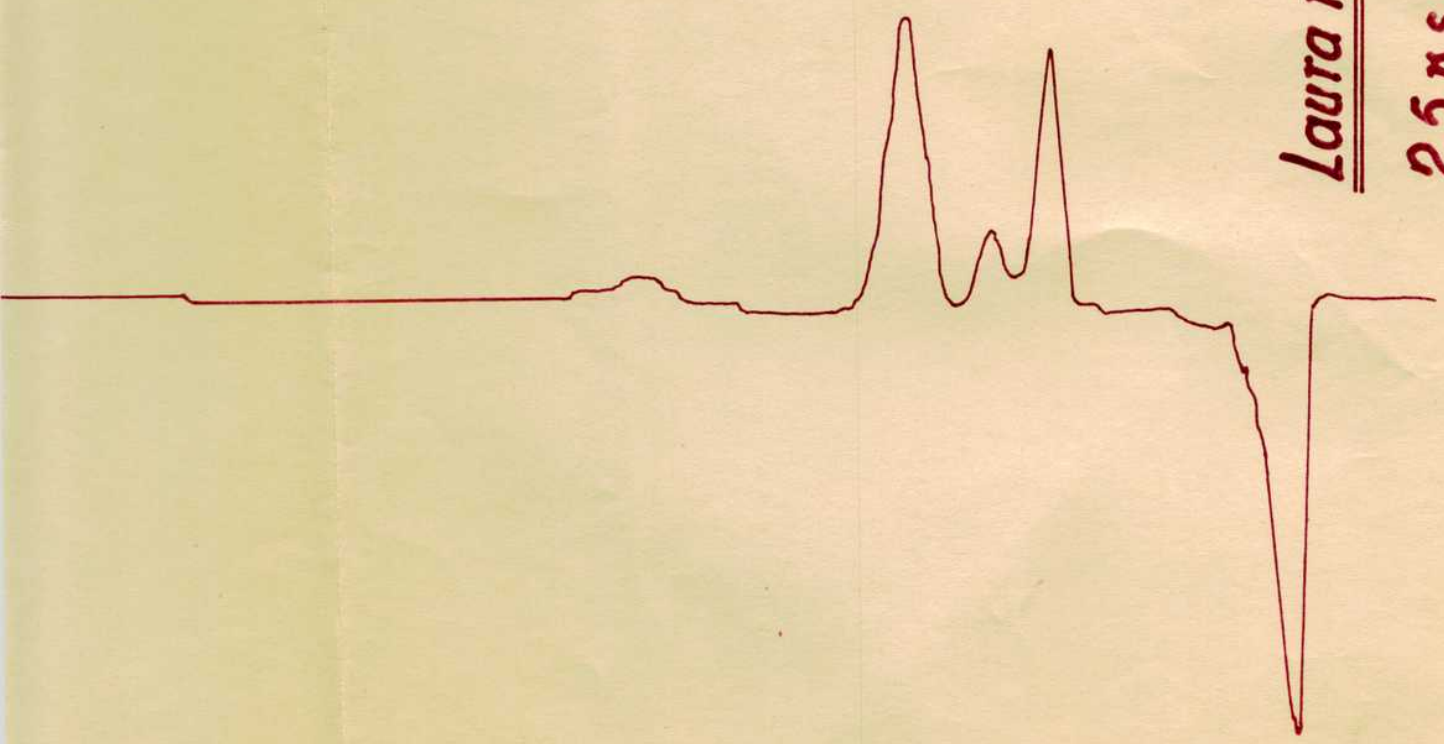




CROMATOGRAMA N° 4

Laura ramas; 5 μ l Col SAIB 2m, 150°C.

2.5 p.s.i., 16.1 ml/min.



otra cetona grasa

de la cetona grasa

olor alcohol

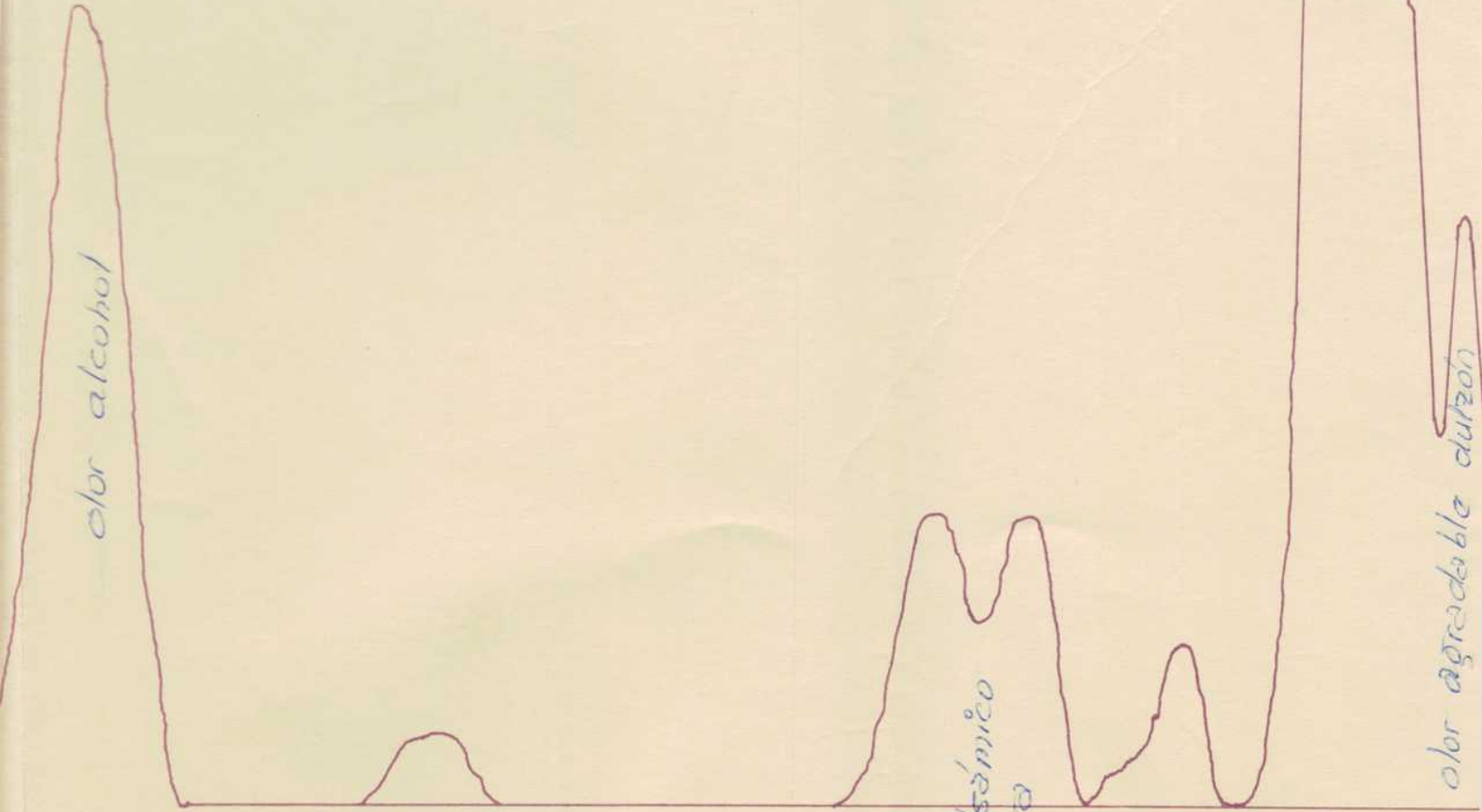
olor aldeh. gresoso

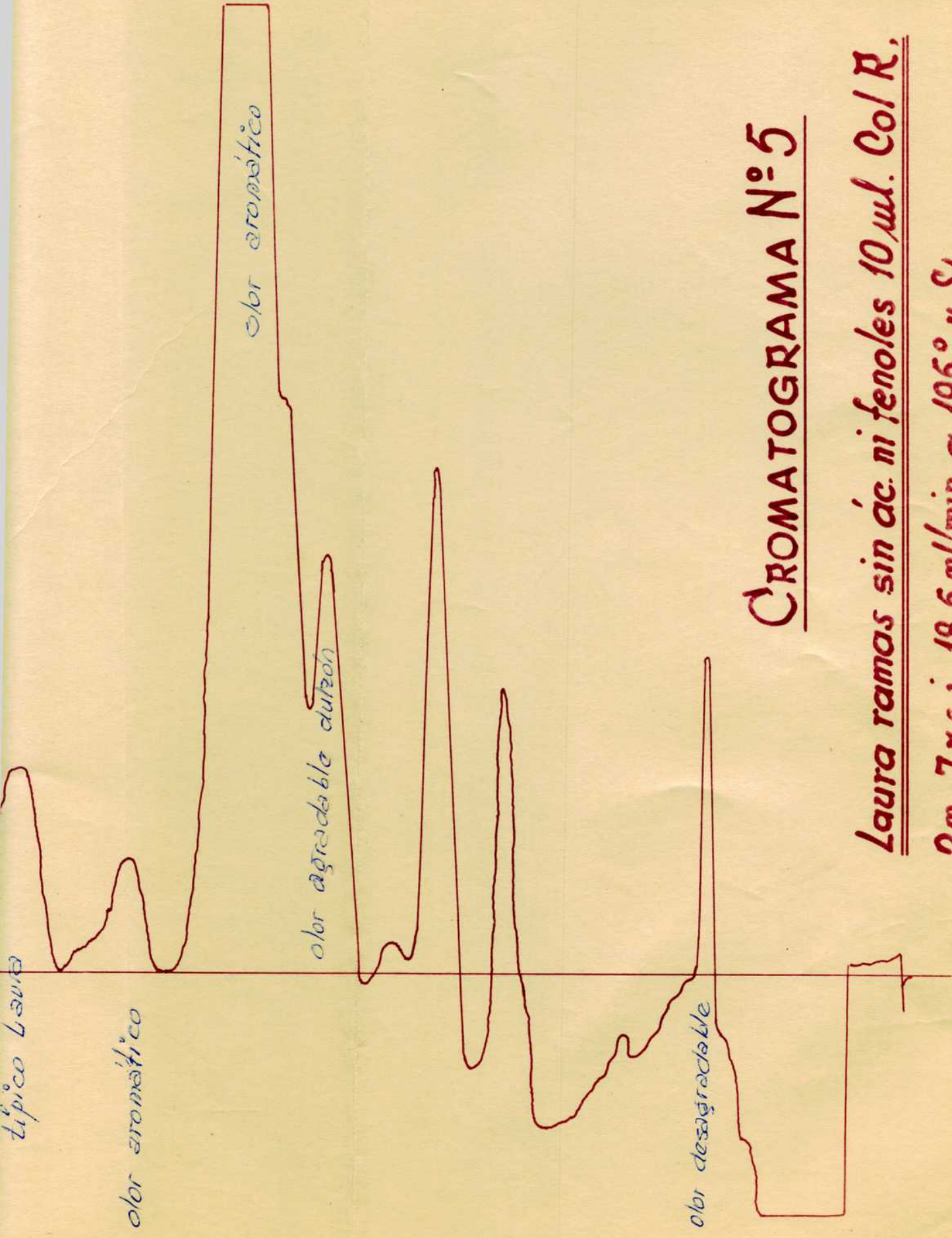
aromat. dulzón balsámico
típico Lavia

olor aromático

olor aromático

olor agradable dulzón





CROMATOGRAMA N° 5

Laura ramas sin ác. ni fenoles 10 μ l. Col R,
2m., 7 p.s.i., 18,5 ml/min. a 195° y Si.

Fracción 12 (pico 12)

Su 2-4 dinitrofenilhidrazona tiene un P.F : 56° C sin recristalizar. Por el olor y el punto de fusión de este derivado podrían ser cetonas alifáticas y por su ubicación en el cromatograma (VR) se podría suponer la metil-n-nonil-cetona cuya 2-4 dinitrofenilhidrazona tiene P.F : 63° C.-

Fracción 13 (Pico 13)

Se trata de otro componente carbonílico tipo alifático cuya 2 - 4 dinitrofenilhidrazona dió P.F : 62 sin recristalizar.-

Fracción 11 (Pico 11)

Por la ubicación en el cromatograma; P.E de 206°C a presión normal y P.F del 3-5 dinitrobenzoato : 92°C (obtenido en la separación mediante marcha analítica) podría ser el alcohol d-iso tujílico.-

Anteriormente habíamos sospechado por el P.F de 3-5 dinitrobenzoatos obtenidos con la fracción alcohólica separada en la marcha analítica la presencia de alcohol fenilpropílico pero se descartó al observar el valor del VR del pico 11.-

NOTA.-

La carencia de una amplia variedad de sustancias tipo para obtener sus cromatogramas característicos y establecer sus datos de retención, limita las posibilidades de comparación.-

RESUMEN
ESENCIA DE HOJAS

CARACTERES ORGANOLEPTICOS:

Aspecto : oleoso

Color : amarillo ámbar

Olor : muy agradable

PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS.-

Peso específico a 15,5°C : 0,9686 g/ml

Indice de refracción a 13°C : 1,5030

Indice de ácido : 13,05

Indice de éster : 99,91

Indice de saponificación : 112,96

Curvas de absorción en el ultravioleta de:

a) esencia entera de hojas.-

b) esencia de hojas libre de ácidos y fenoles.-

SEPARACIONES E IDENTIFICACIONES.-

1) Acidos grasos libres : 9,81%

2) Fenoles : 8,19%

Aspecto : sólido

Color : pardo

Olor : balsámico

Indice de refracción : no determinable

Derivados obtenidos : 3-5 dinitrobenzoatos de P.F : 108°C

3) Esencia libre de ácidos y fenoles 80,81%

Aspeco : oleoso

Color : amarillo limón

Olor : muy agradable

4) Aldehídos : (Girard T)

Asociación de la hidrazona y I2Hg de P.F : 138°C.-

5) Cetonas:

2-4 dinitrofenilhidrazona de : P.F : 150°

Color : rojo

Indice de refracción a 20°C : 1,5150

6) No absorbidos por Girar T : 9.04%

7) Alcoholes.-

3-5 dinitrobenzoatos de P.F : 101-102°C

índice de refracción a 20° : 1.5010

COMPONENTES PROBABLES

1) ORTO - ETIL - FENOL

2) ALCOHOL LEVOTUYILICO.-

--oOo--

RESUMEN
ESENCIA DE RAMAS

CARACTERES ORGANOLEPTICOS.-

Aspecto : oleoso

Color : amarillo

Olor : muy agradable con un matiz ligeramente diferente.-

PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS.-

Peso específico a 15,5°C : 0,9099 g/ml

Indice de refracción a 13° : 1,4930

Indice de ácido : 8,07

Indice de éster : 51,56

Indice de saponificación : 59,63

Curva de absorción en el ultravioleta.-

SEPARACIONES E IDENTIFICACIONES.-

1) Acidos grasos libres: 6,06%

2) Fenoles : pequeñísima cantidad

3) Esencia libre de ácidos y fenoles: 89,98%

Aspecto : oleoso

Color : amarillo claro

Olor : agradabilísimo

4) Aldehídos (Girard P)

Producto de asociación de la hidrazona y I₂Hg PF: 127°C.-

5) Cetonas

2-4 dinitrofenilhidrazona P.F: 90-93°C.-

semicarbazona P.F: 220°C.-

La curva de absorción en el ultravioleta de 2-4 dinitrofenilhidrazonas y semicarbazonas corresponde al tipo terpénico alifático.-

6) Alcoholes.-

3-5 dinitrobenzoatos de P.F : 91-92°C.-

COMPONENTES PROBABLES.-

3) B - SANTENONA

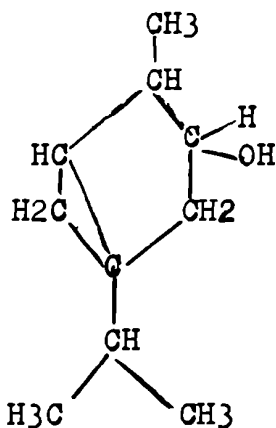
4) ALCOHOL d - iso - tujilico.-

5) METIL - N - NONIL - CETONA.-

---oOo---

ESTRUCTURA Y PROPIEDADES DE LOS COMPONENTES PROBABLES

ALCOHOL TUYILICO.- (Tanacetyl alcohol)



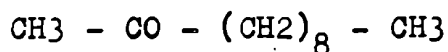
Puede existir teóricamente en ocho modificaciones ópticamente activas y cuatro compensadas externamente.-

El que se encuentra en la naturaleza consiste en una mezcla de estereoisómeros que difieren en sus propiedades físicas.-

P.M : 154,24

Los P. F de los 3-5 dinitrobenzoatos de los isómeros l y d-iso del alcohol tuyílico son respectivamente 106°C y 92°C.-

METIL - N - NONIL - CETONA.- (2 - undecanona)



Es líquida a la temperatura ambiente, su olor la asemeja a la metil-heptil-cetona.

P.M : 170,29

P.F : 12,1 - 12,7°C

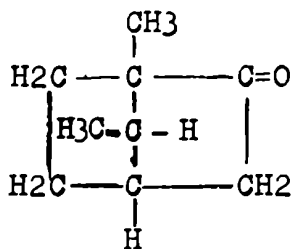
P.E a 76,6 min Hg : 230,65°C

SANTENONA (II - norcamphor)

Cetona bicíclica terpénica

P.F: 46°C

P.E: 189,5 - 190,5°C



Su semicarbazona tiene como P.F: 221 - 222°C.-

P.M : 138,20

CONCLUSIONES

Las esencias de hojas y ramas de schinus crenatus son de olor muy agradable.-

Lamentablemente la pequeña cantidad disponible para el análisis hizo muy difícil su identificación, a pesar de haberse efectuado muchas determinaciones y recurrido a instrumental moderno.-

Ha sido particularmente útil la cromatografía gaseosa para ubicar los componentes carbonílicos y determinar su volatilidad relativa con respecto a sustancias patron, así como también de los alcoholes y fenoles de esencia de hojas.-

La obtención de 2-4 dinitrofenilhidrazonas y la determinación de su aspecto de absorción en el ultravioleta ha ayudado a establecer la naturaleza química de los derivados carbonílicos.-

La preparación de los 3-5 dinitrobenzoatos de los alcoholes nos conduce a una probable identificación vinculando la volatilidad dada por la cromatografía gaseosa y otro tanto para el fenol.-

Para una identificación más segura de los componentes es innegable que se necesita una mayor cantidad de aceite esencial, máxime si se tiene en cuenta que se trata de esencias no estudiadas hasta el presente y familia botánica muy poco estudiada desde ese punto de vista.-

--oOo--

Adolfo Spontre

Susancia Padron

BIBLIOGRAFIA

- 1 - MONTES A. L.: "Analítica de los Productos Aromáticos" Ed. INTA, Bs. Aires 1961, pág. 345.-
- 2 - MONTES A. L.: obra citada, págs. 339 y sig.-
- 3 - NAVES, Yves René et MAZUYER G. : "Les parfumes naturels, essences, concretes, resinoides, huiles et pommades, París 1939 págs. 29.74.
- 4 - GUENTHER ERNEST: "The essential oils" Vol I, N. York, 1949 págs.87 a 226.-
- 5 - MONTES A. L.: Obra citada, pág. 271.-
- 6 - BANDINELLI O.: Tesis Doctoral. Fac. C.E. y Nat; U.N.B.A. 1960.-
- 7 - DAVIDSON E.: Tesis Doctoral. Fac. C.E. y Nat; U.N.B.A. 1960.-
- 8 - GUENTNER E.: obra citada Vol.II.-
- 9 - ACHILLE CREMONINI: "Investigations on the fruits of Schinus molle"
Ann Chim Applicata 18(1928) 361.-
- 10 - PERFUMERY ESSENTIAL OIL RECORD 21(1930), 154.-
- 11 - "Die Atherischen öle" 3d Ed. Vol.III, 202.-
- 12 - G. Reinbohn "Producing oils and resins in Italy".
Farbe u Lack (1938), 364
Chem Abst 32(1938) 9532
- 13 - Gildemeister and Hoffmann "Die Atherischen öle" 3d Ed. Vol.III 203
- 14 - Arch Pharm 219 (1881) 170.-
- 15 - CABRERA A. L.: "Revisión de las anacardiáceas anstroamericanas" Ex
tracto de la Revista Museo de La Plata (Nueva se-
rie) Tomo II, Secc. Botánica. págs.3-64, 1938Ed."Om"
- 16 - "Official and tentative mettrod of analysis" XXXIII pág 469/70 Stle
ed wash 1940.-
- 17 - Guenttcer: obra citada Vol.I.-
- 18 - Montes A. L.: obra citada pág.136.-
- 19 - Bosart : Perf. Ess. oil. record, 28, 95(1937).-
- 20 - Montes : obra citada.-

- 21 - Norton R. A.: Perf. Ess. oil. Record 20, 358(1929).-
- 22 - Van os. D y Dykstra K.D : T. Pharm Chim; 25,437/54 y 485/501(1937)
- 23 - Von Rechenberg: "Theorie der Gervinnung und Frennung der ätheris -
chen öle" Leipzig (1910), 279.-
- 24 - Guenther, obra citada, Vol. I.-
- 25 - " " " " "
- 26 - Montes A. L.: Obra citada pág. 266.-
- 27 - Robinson and Gilliland Practical Destilación.-
- 28 - Phillips : Gas chromatography London 1956 pág. 5 y sig.-
- 29 - Guenther, Vol. I (obra citada).-
- 30 - Kenlemans "Gas chromatography" Cap. I.-
- 31 - Inst Petroleum Rev. 10, 217(1956).-
- 32 - Lederer y Lederer - Cromatografía Ed. El Ateneo Bs. Aires 1960.-
- 33 - Martin y Lijng - Biochem J, 1941, 35, 1358.-
- 34 - Bate, Smitte, Partitrón Chromatography, Biochem Soc. Symposia 1950
Nº 3 pág. 62.-
- 35 - Kirchner y Miller : Ind. Eng. Chem 1952, 44, 318.-
- 36 - Kirchner y Miller : J. Agr. Food. Chem (1953) 1, 512;C.A,(1953) 47,
8924-g.-
- 37 - Kichner, Miller and Keller, Anal Chem (1951) 23, 420.-
- 38 - Post A. J. Soc. Cosmet. Chem (1954) 5, 23.-
- 39 - Reitsema - Anal Chem (1954) 26, 960.-
- 40 - Stahl, Schrötter, Kraft and Leuz, Die Pharmazie 11(1956) 633.-
- 41 - Labat J y Montes A. L.: Anal As.quím. Arg. 41, 166 (1953).-
- 42 - Spickett - Chem and Eng. (1957) 561.-
- 43 - Plattner, Pl A y Pfan A. S.- Helv Chim. Acta 20, 230 (1937).-
- 44 - Demole E. Chromatographie reviens - Vol I (1959) Ed. M. Lederer.-
- 45 - Kirchner y Miller : Anal chem (1953), 25, 1107.-
" " " " " (1952), 24, 1480.-

- 46 - M. ITO; S. Wakamatsu and H. Kawahara J. Chem Soc. Japan Pure Chem
sect 1954 75, 413 : C.A.; 1954, 48, 13172-d.-
- 47 - Fridman, Montes, Troparewsky. Anal Asoc. Quím. Arg. 1957, 45 N° 4,
248-64.-
- 48 - Wagner - Die Pharmazie 10(1955)302.-
- 49 - Giral y Rojahn. Productos Químicos y Farmacéuticos Vol. II, 1446(1949)
- 50 - Watteez y Sternon F.: "Elements de Chimie vegetale" París 1942, 108.
- 52 - Rev chim ind 48(1939)226.-
- 53 - Riechstoff Ind Kosmet 12(1937) 161
Ind Parfumerie 3(1948) 75
- 54 - Guenther E.: obra citada Tomo II.-
- 55 - Girard y Sandulesco : French Patent N° 767.464 Julio 18 (1934).-
- 56 - Girard y Sandulesco : Helv. Chim. Acta 19(1936) 1095.-
- 57 - Reichstein T. : Helv chim acta, 9, 799(1926).-
- 58 - Hickinbottom W.J.: Reacc de los compuestos orgánicos" pág. 109 (1950)
- 59 - Montes A. L. : Obra citada pág. 237.-
- 60 - " " " " " 235 - 236
- 61 - Shriner y Fuson : "The systematic identification of organic com-
pounds" 3d ed. N.York 1948, 171.-
- 62 - Montes y Wiernik : Anal Asoc. Quim Arg. T 48, 3, Set. 1960, 163.-
- 63 - Montes A. L. : obra citada pág. 239 (1961).-
- 64 - Phillips : Obra citada Cap. I.-
- 65 - Kenelmaus obra citada, Cap. I.-
- 66 - Johnson and Stross.- Anal Chem. 30, 10, oct. 1958, 1586-89.-

- I N D I C E -

Propósitos de la investigación	Pag. 1
Los aceites esenciales	" 2
Antecedentes bibliográficos	" 5
Clasificación y descripción botánicas	" 6
Directivas para emprender la investigación	" 9
Antecedentes del material usado	" 15
Determinaciones físicas(esencia hojas)	" 17
Espectrofotometría ultravioleta	" 20
Cromatografía	" 25
Cromatografía en placas	" 27
Determinaciones químicas(esencia hojas)	" 33
Resumen propiedades físicas y químicas	" 36
Aislamiento, dosaje e investigación de componentes principales	" 37
Cuadro sinóptico de la marcha analítica	" 43
Estudio de la esencia de ramas	" 44
Resumen propiedades físicas y químicas	" 45
Espectrofotometría ultravioleta	" 46
Aislamiento, dosaje, etc.	" 47
Espectrofotometría ultravioleta de derivados de componentes aislados	" 49
Preparación de derivados	" 51
Cromatografía gaseosa	
Parte teórica	" 54
Parte experimental	" 59
Resumen(esencia hojas)	" 65
Resumen(esencia ramas)	" 67
Estructura y propiedades de los componentes probables	" 69
Conclusiones	" 70
Bibliografía	" 71