

Tesis de Posgrado

Estudio de la composición del aceite esencial y resinoide de la *Adesmia boronioides* Hooker (Paramela)

Peltz, Leonor

1962

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:

Peltz, Leonor. (1962). Estudio de la composición del aceite esencial y resinoide de la *Adesmia boronioides* Hooker (Paramela). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1111_Peltz.pdf

Cita tipo Chicago:

Peltz, Leonor. "Estudio de la composición del aceite esencial y resinoide de la *Adesmia boronioides* Hooker (Paramela)". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1962.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1111_Peltz.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Estudio de la composición del aceite
esencial y resinoide de la
Adesmia boronioides Hooker
(Parmelia)

Leonor Peltz

Tesis presentada para optar al título de
Doctor en Química

1 9 6 2

TESIS 1111

J 20 19

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Estudio de la composición del aceite
esencial y resinoido de la
Adesmia boronioides Hooker.
(Paramela)

Leonor Peltz

Resumen de Tesis presentado para optar al título de
Doctor en Química

R. de Tesis: 1111

ADESMIA BORONICIDES HOOKER

(FARAMELA)

UBICACIÓN EN LA SISTEMÁTICA:

Clase: Dicotiledóneas; sub-clase: Arquiclamídeas; orden: Rosales; familia: Leguminosas; sub-familia: Papilionoideas; tribu: Soforeas.

FITOGEOGRAFÍA: Se trata de un género exclusivamente sudamericano, que comprende más de 120 especies; su utilización está aún poco estudiada, la mayoría son forrajeras, las leñosas dan leña de bastante valor. No se conocen especies tóxicas y ninguna se cultiva.

OBTENCIÓN DEL MATERIAL: Este arbusto, común en la Patagonia, fué facilitado por la Dirección de Parques Nacionales.

DETERMINACIONES ANALÍTICAS EN EL MATERIAL VEGETAL:

Agua: en hojas: 11,3% en ramas: 12,5%

Rendimiento de los extractos en los distintos disolventes:

Hojas: extracto etéreo: 3,2%; extracto alcohólico: 25,3%; extracto alcohólico secado a vacío y 40°: 23,0%

Ramas: extracto alcohólico: 12,0%

Por consiguiente, estimándose el extracto etéreo de poco valor, se procedió a la obtención del resinoide de hojas y de ramas, por separado, con alcohol y a reflujo.

CERAS: de hojas: 16,17%; de ramas: 11,92%

ESENCIA: (obtenida por arrastre con vapor de agua) de hojas 2,52%; ramas: 1,01%

RESIDUOS ETÉREOS: de hojas 39,64%; de ramas 4,94%

ESTUDIO DEL RESINOIDE DE HOJAS Y DE RAMAS:

ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN EN EL ULTRAVIOLETA: se efectuó con soluciones 1% de resinoide en alcohol libre de aldehídos, obteniéndose para ramas los siguientes máximos y mínimos: Long. de onda en μ 250...E.0,62 (mínimo) y long. de onda en μ 270...E.0,70 (máximo). Para el resinoide de hojas no se ha observado extinciones máximas o mínimas.

SUSTANCIA FENÓLICA: Dada la anterior curva de absorción hemos procedido a la separación de la sustancia fenólica en resinoide de ramas: 10,13%, de la cual se efectuó una cromatografía monodimensional en placa, cuya resolución indica la presencia de por lo menos dos fenoles y la posibilidad de presen-

cia de polifenoles.

INDICES DE ACIDO, ESTER Y SAPONIFICACION: (promedio de 4 determinaciones)

	I.A	I.E.	I.S.
Hojas	38,79	5,85	44,65
Ramas	17,08	82,77	99,86

ESTUDIO DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y DE RAMAS:

En ambos casos se trata de fluidos lípidos, ligeramente viscosos, de color a frutos maduros, más penetrantes para la esencia de ramas, y de color pardo rojizo.

<u>PESO ESPECIFICO:</u> a 20°C.	Hojas:..1,0031	Ramas:..0,9785
<u>INDICE DE REFRACCION:</u> n_D^{20}	" 1,49305	" 1,49255
<u>INDICE DE ACIDO:</u>	" 44,21	" 39,97
<u>INDICE DE ESTER:</u>	" 79,34	" 84,62
<u>INDICE DE SAPONIFICACION:</u>	" 123,55	" 124,63

CROMATOGRAFIA GASEOSA: Se observó poca resolución para hojas y ramas en conjunto.

ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA: Se observó para ambos aceites esenciales un máximo para long. de onda 235 mu.

ALCOHOLES:

	Índice de éster	% OH alcohólico
Hojas	135,36	4,48
Ramas	159,79	4,71

ACIDOS LIBRES: Por observación microscópica se encontró ác. propiónico en su mayor parte y ácido isobutírico en menor cantidad, para ambas esencias.

COMPUESTOS CARBONILICOS: Se obtuvieron las 2-4dinitrofenilhidrazonas, de color rojizo y P.F. 142° para hojas y 142/3° para ramas, de los cuales se hizo las curvas de absorción en el ultravioleta. Se procedió a separar los compuestos carbonílicos con sulfito de sodio y nuevamente se obtuvieron los 2-4 dinitroderivados, de los cuales se efectuó una absorción en el ultravioleta y una separación cromatográfica en placa. Se obtuvo asimismo, las semicarbazonas para hojas, cuyo P.F. es 145°C.

Padrino de Tesis

Dr. L. A. MONTES

Mi más profundo y sincero agradecimiento al Dr. A.L.Montes, quien hizo posible este trabajo. Asimismo, dejo constancia de que su libro "Analítica de los Productos Aromáticos", fué una constante guía, de inestimable valor.

Agradezco así también a todos aquellos que en una u otra forma colaboraron para llevar a feliz término esta tesis, con especial mención al Dr. Molfino y a la Lic. A. Vázquez.-

A MIS PADRES

F. O. y B. A.
INDICE GENERAL

I.- INTRODUCCIÓN:

1º) Clasificación de los productos aromáticos.....pág.	1
2º) Métodos de extracción de las sust. aromáticas.....	2
3º) Composición de los aceites esenciales.....	2
3º) Usos de los aceites esenciales.....	4
4º) Los aceites esenciales en la Argentina.....	4
5º) Explotación industrial.....	5

II.- ANTECEDENTES BOTÁNICOS:

1º) Ubicación en la sistemática.....	6
2º) Fitogeografía del género.....	6
3º) Descripción botánica.....	7
4º) Usos.....	8

III.- PARTE EXPERIMENTAL 10

A) Estudio del Resinoide.....	11
B) Estudio del aceite esencial.....	31

IV.- RESUMEN Y CONCLUSIONES..... 55

V.- BIBLIOGRAFIA..... 56

E.F.N.B.A.

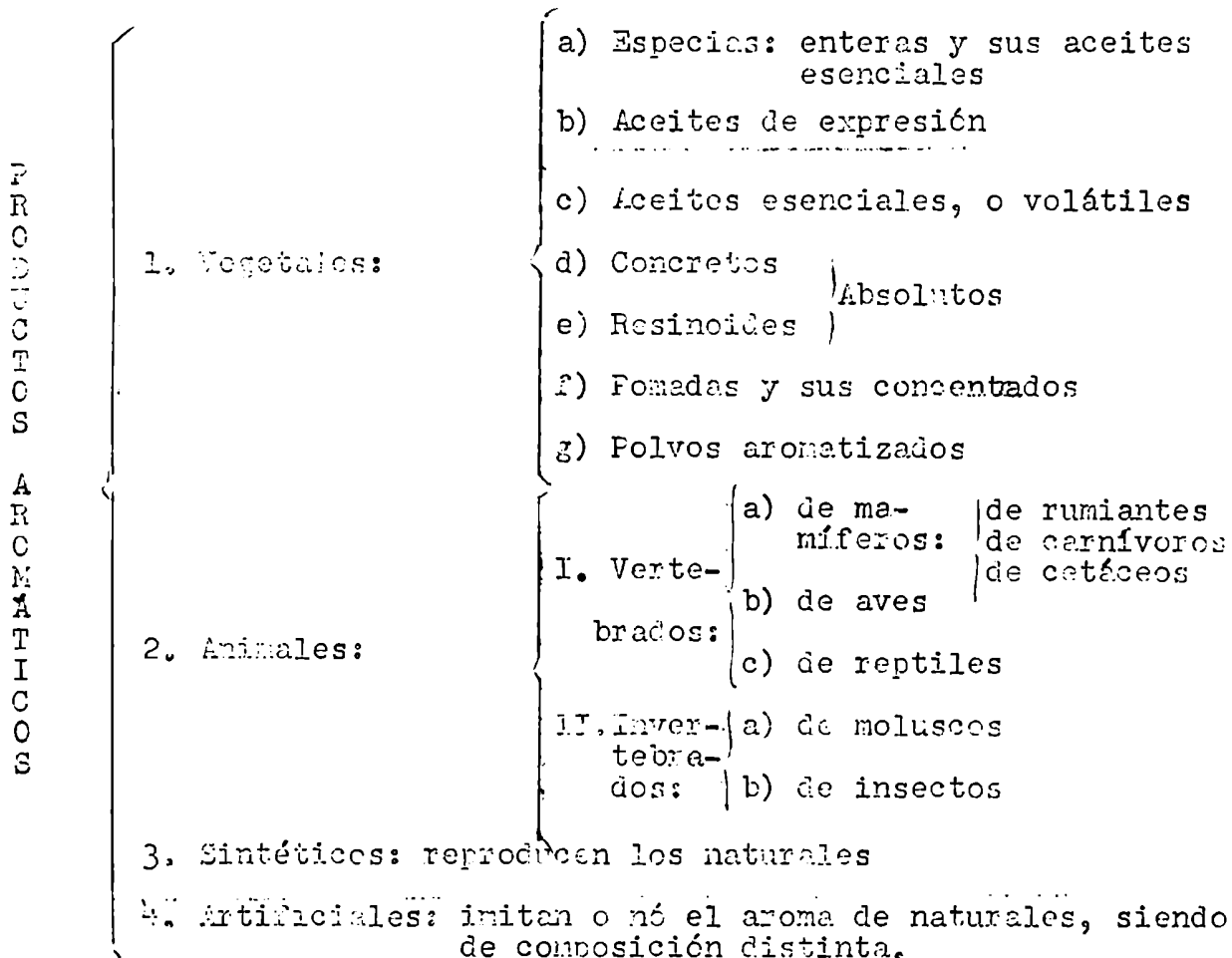
CLASIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS AROMÁTICOS

Bajo el nombre de productos aromáticos se agrupa un enorme número de sustancias de naturaleza química compleja, capaces de provocar en el sentido del olfato sensaciones agradables, ejerciendo, como así también, acciones sobre el gusto, vinculadas con aquella.

Tal es así, que encuentran aplicación en perfumería, cosmética, condimento de alimentos, elaboración de bebidas, productos medicinales, confituras, jabonería, etc.

Su clasificación ha sido encarada con distintos criterios, según su composición, la parte del vegetal del que se obtiene, la familia botánica que les corresponde, etc.

Una clasificación general, basada en su origen, métodos de obtención o uso, sería la siguiente (1)



P
R
O
D
U
C
T
O
S

A
R
O
M
Á
T
I
C
O
S

- 5. Derivados:
 - Perfumes complejos
 - Aguas de Colonia y agua florida
 - Liciones
 - Licores
- 6. Accesorios: Fijadores: naturales, sintéticos y artificiales.

MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE LAS SUBSTANCIAS AROMÁTICAS

Dado que el rendimiento de sustancias aromáticas y sus características variarán según el método empleado, se opta por una clasificación de los mismos:

- 1. Métodos por extracción (2)
 - a) mediante esponja,
 - b) a la escudilla,
 - c) con prensas
- 2. Por destilación mediante vapor de agua (3)
 - a) destilación en agua
 - b) destilación mediante agua y vapor
 - c) destilación por arrastre con vapor de agua.
- Extracción mediante disolventes volátiles que nos permiten:
 - a) concretos (de vegetales frescos) y b) resinoideas (de vegetales secos)
- 4. Extracción mediante sustancias grasas (4) (5)
 - a) "enfleurage" en frío
 - b) "enfleurage" en caliente o por digestión
- 5. Otros Métodos:
 - a) Método neumático de Fiver (6)
 - b) Método de Verley (7)
 - c) Otros métodos de patente alemana (8) con anhídrido carbónico líquido.

COMPOSICIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

La composición de los aceites esenciales es compleja; por afinidades físicas se agrupan sustancias químicamente diferentes y en ca-

da tipo se hallan representadas las distintas funciones: hidrocarburos saturados y no saturados, alcoholes primarios, secundarios y terciarios, aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres, éteres óxidos, fenoles, lactonas, etc.

A los componentes conocidos, se los puede agrupar como sigue:

1) los componentes terpénicos: siendo los más importantes y característicos los: acíclicos o cíclicos, monoterpénicos, sesquiterpénicos y diterpénicos, mono o bicíclico; por ejemplo: limoneno, pineno, canfenc, geraniol, citral, linalol, citronelas, cineol, mentol, mentona, carvona, alcanfor, vetiverol, santalol, cedrol, cedreno, etc.

2) los componentes de núcleo bencénico: muy importantes y predominantes para algunos aceites esenciales (por ejemplo en la canela, tomillo, anís etc.), como ser: benzaldehído, vainillina, piperonal, timol, anetol, eugenol, p-cimeno, ácido benzoico, ácido cinámico, etc.

3) los componentes alifáticos de cadena recta: que en general son componentes menores, siendo particularmente importantes los ácidos; por ejemplo: fórmico, acético, isovaleriánico, caproico, caprílico, etc. aldehído decílico, metilnonilcetona, metilheptenona, etc.

4) los componentes sulfurados, nitrogenados y heterocíclicos: así como también los aún no identificados; entre ellos: isocianato de alilo (componente principal del aceite esencial de mostaza), los alil sulfuros (aceite esencial de ajos), sulfuro de butilo y propenilo, sulfuro dicrotílico, antranilato de metilo, indol, furfural, etc.

USOS DE LOS ACEITES ESENCIALES

En la antigüedad, los aceites esenciales fueron usados en la vida religiosa, por distintos pueblos, y en numerosos preparados. También en la misma época eran muy estimados como antisépticos por los egipcios, griegos y romanos. El valor como tales, ha sido confirmado experimentalmente para algunos de ellos por sus componentes preponderantes, (9) como el de la canela por el cinamaldehído; el de clavos por el eugenol; el eucalipto, el timol, el isocianato de alilo y los aceites esenciales que los contienen.

No sólo los usan en Farmacología como antisépticos, sino también presentan otras propiedades: estimulantes, antineurálgicos, antiespasmódicos, vermífugos, etc.

Algunos componentes han encontrado aplicaciones especiales, como en el caso del alcanfor, usado en el extremo oriente para obtener el mejor negro de humo para preparar la tinta china, y en el mundo moderno, como plastificante en la fabricación de películas cinematográficas.

Asimismo, se los usa en perfumería, cosmética, licorería, confituras, jabones, etc.

LOS ACEITES ESENCIALES EN LA REPÚBLICA ARGENTINA

Posibilidades de cultivo:(10) Por sus regiones fitogeográficas de climas variados, crece en la República Argentina, numerosas plantas aromáticas nativas, poco estudiadas aún, salvo unas pocas, que en épocas distintas despertaron el interés de investigadores.

Especialmente aptas para el cultivo, se consideran: Misiones (lemongrass, eucalipto citriodora, vetiver, citronela, mentas etc.) Corrientes y Entre Ríos (especialmente para Rutáceas), Córdoba y San Luis (peperina, poleo, yerbabuena, tomillo, chinchilla, etc.), Salta y Jujuy (alpa mato y horco molle) Río Negro y Mendoza (lavanda, euca-

liptus globulus y menta piperita). También en la Provincia de Buenos Aires se ha ensayado con resultado, el cultivo de diversas plantas aromáticas (salvia, ajeno, tomillo, perejil, apio, lavanda, menta japonesa, etc. y una planta productora de alcanfor: albahaca alcanforera). En el Bolsón (Prov. de Río Negro) se han efectuado con todo éxito, desde hace dos años, plantaciones de lúpulo.

Se ha hecho un estudio experimental de adaptación y rendimiento en aceites esenciales de diversos vegetales, para la zona de Concordia (prov. de Entre Ríos) (11), recomendándose el cultivo y explotación de: malvarosa, vetiver, dedrón de la India y verbena, romero, orégano, tomillo, etc., y numerosas especies florales.

Explotación industrial: (12) La explotación nacional, se ha desarrollado muy lentamente. En el año 1941 fué tan sólo de 11.284 kg., contra una importación de 102.866 kg., cantidad inferior con respecto a otros años anteriores a la Segunda Guerra Mundial, puesto que en 1937 habíase importado 190.940 kg. y en 1938 178.332 kg. (13)

En los últimos años, impulsada por las dificultades de importación, toma incremento esta industria, y en 1947 la producción sobrepasa las 40 toneladas, en 1953 de 78 a 88 toneladas y para el ejercicio 1959/1960 un total aproximado de 200 toneladas es estimado.

Actualmente, y conforme a datos de reparticiones oficiales, ha ido disminuyendo, hasta anularse para algunos renglones, la importación de aceites esenciales, como así son numerosas las compañías comerciales e industriales que ubicadas en la Capital Federal, Mendoza, Corrientes, Misiones, Buenos Aires, Entre Ríos, Río Negro, etc. trabajan aceites esenciales nacionales.

DATOS BOTANICOS DE LA ADESMIA BORONICOIDES

UBICACION EN LA SISTEMATICA:

CLASE:	Dicotiledóneas
SUB-CLASE:	Arquiclamídeas
ORDEN:	Rosales
FAMILIA:	Leguminosas
SUB-FAMILIA:	Papilionoideas
TRIBU:	Soforeas (+)

(+) A. Engler y K. Prantl (14), la ubican como pertinente al género Patagonium, dentro de la sub-tribu de las Hedysareas, mientras que en la obra de Burkart (15), se encuentra ubicada como Soforeas, debido a los estambres libres, que les da un carácter de jerarquía superior, y a la forma del fruto (parecido al de Aeschynomene, razón de su encasillamiento en las Hedysareas).

En la tribu de las Soforeas, puede aceptarse la sub-tribu Patagoniinae Taubert, para Adesmia.

FITOGEOGRAFIA DEL GENERO:

Género exclusivamente sudamericano, comprende más de 120 especies.

El mayor número de ellas se encuentra en el centro de Chile y sur y oeste de la Argentina; desde allí irradia al área marcada por los valles andinos, hasta Bolivia y sur del Perú, hacia el centro y este argentino y más allá, llega un pequeño número de especies (Córdoba, Buenos Aires, Mesopotamia Argentina, Uruguay, sur del Brasil).

Según un catálogo, Burkart 1939, c, se han citado más de ochenta especies para la Flora argentina, y aunque esta cifra requiera una revisión, demuestra que este género es el más numeroso de las leguminosas argentinas.

DESCRIPCION BOTANICA:

Se trata de una planta sufrutescente quebradiza, muy glabra, de tallo de 30 a 40 cm., poco leñoso, articulado y con muchas glándulas a modo de verrugas que segregan una resina amarilla.

Sus ramas son ascendentes, cilíndricas, del grueso de una pluma de cuervo y de 18 a 23 cm. de largo.

Sus hojas miden de 3 a 5 cm. de largo, con grueso pecíolo y 10 a 15 pares de hojuelas alternas u opuestas, orbiculares trasaovadas, de 2 a 5 mm. de largo, groseramente dentadas, amarillentas, coriáceas y con glándulas gruesas en las márgenes (16), estípulas algo aparentes, cortas, casi abrazadoras, estipelas ausentes. Racimos laterales y terminales obtusos (17) de 7 a 10 cm. de largo, algo vellosos, hacia arriba y compuesto de flores cortamente oblongas, pedicelos más cortos que el cáliz, que es ancho y campanulado con 5 dientes o lóbulos y cortamente quinquéfido, algo pubescente y tres veces más corto que el estandarte, que es muy glabro.

Legumbre amplamente oval, muy comprimida, compuesta de tres artículos algo separados unos de otros y punteada de gruesas glándulas negruzcas.

Ecológicamente, son criófilas y mesófilas y numerosas especies son xerófilas.

Por lo demás, la utilización de las numerosas especies de Adesmia, está aún poco estudiada. La mayoría son forrajeras; los ejemplares se ven a menudo mutilados por el ganado y no hay ninguna constancia de especies tóxicas. Hasta las espinosas son, en parte, forraje de cabras.

Las especies leñosas, inclusive las en cojín, dan leña de bastante valor, dadas las regiones semidesérticas donde prosperan (18).

Ninguna especie se cultiva.



PARTE EXPERIMENTAL

A: Estudio del resinoide de hojas y ramas de la Adesmia
boronicides (paramela)..... 11

B: Estudio del aceite esencial de hojas y de ramas de
la Adesmia boronicides..... 31

ESTUDIO DEL RESINOIDE DE HOJAS Y DE RAMAS DE LA ADESMIA

BORONIOIDES (PARANELA)

1º)	Obtención del material.....	12
2º)	Determinación de agua.....	12
3º)	Extracción del resinoide.....	12
4º)	Ceras.....	13
5º)	Absolutos.....	13
6º)	Esencia.....	14
7º)	Espectrofotometría.....	15
8º)	Absorción en el u.v. de sol. de resinoide.....	19
9º)	Cromatografía.....	22
10º)	Cromatografía monodimensional en placa de los compuestos fenólicos.....	28
11º)	Índice de ácido.....	29
12º)	Índice de éster.....	29
13º)	Índice de saponificación.....	29

OBTENCIÓN DEL MATERIAL:

Para la realización del presente trabajo, se utilizó el material facilitado por la Dirección de Parques Nacionales, correspondiente a la especie Adesmia boronioides Hooker, conocida comunmente con el nombre de "paramela"(19) y cuyo nombre araucano es el de "yaqneu".

Se trata de un arbusto glutinoso inerte, común en la Patagonia, conocido localmente como de valor medicinal; es utilizado para vías respiratorias, como saumerio, y también como agente digestivo.

DETERMINACIÓN DE AGUA:

Para la determinación de agua en el material vegetal, se utilizó el aparato de Bidwell y Sterling (20), donde la muestra es destilada con un líquido inmiscible en agua (tolueno saturado con agua).

Este aparato posee una trampa especial que colecta y mide el agua condensada y donde el disolvente rebalsa y vuelve al destilador.

Valor obtenido para hojas:	11,3 %
Valor obtenido para ramas:	12,5 %

EXTRACCIÓN DEL RESINOIDE:

Con el propósito de extraer los principios aromáticos del material vegetal, se ha procedido al cálculo del rendimiento en distintos disolventes, como ser: alcohol etílico y éter de petróleo.

Valores obtenidos:

Resinoide de hojas:

Extracto etéreo (sólido pastoso, aromático de color amarillo anaranjado) 3,2%

Extracto alcoholico (sólido pastoso, aromático, de color pardo) 25,3%

secado a vacío y a 40° 23,0%

Resinoide de ramas:

Extracto alcohólico (sólido pastoso, aromático, de color pardo verdoso) 12,0%

Por consiguiente, estimándose el extracto etéreo de poco valor, se procedió, por separado, a la obtención de los extractos alcohólicos de hojas y de las ramas previamente molidas, a reflujo.

La separación del disolvente se efectuó luego del enfriamiento en heladera y posterior filtración, por destilación en columna a presión reducida.

CERAS:

Por tratamiento con alcohol etílico en caliente, se disuelven todos los componentes aromáticos de los resinoides, precipitando por enfriamiento las ceras y otros acompañantes, se filtra, retiene el precipitado, elimina el alcohol, obteniéndose:

Ceras de hojas 16,17%

Ceras de ramas 11,92%

ABSOLUTOS:

Se procede a eliminar el alcohol de los líquidos del filtrado, que aún contienen de un 50 % a un 80 % de productos cerosos solubles, que contribuyen a fijar las aromas y pigmentos. Se trata de líquidos viscosos de color pardo oscuro.

Efectuando el arrastre por vapor de agua, se separa el aceite esencial:

Esencia de hojas	2,52%
Esencia de ramas	1,01%
Residuo etéreo de hojas	39,64%
Residuo etéreo de ramas	4,94%

ESENCIA:

Una vez efectuado el arrastre con vapor de agua, se insolubilizó la esencia con cloruro de sodio y extrajo con éter etílico.

ESPECTROFOTOMETRIA: ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA

La espectrofotometría de absorción está basada en la disminución de intensidad de un rayo de luz monocromático al pasar a través de una solución, debiéndose esto fundamentalmente, a la absorción de la luz por la solución.

La propiedad que presentan ciertos compuestos orgánicos y también inorgánicos, de adsorber radiaciones de distinta longitud de onda, se debe a que poseen en su molécula grupos cromóforos (21).

La absorción se llama selectiva cuando se produce en forma más intensa en ciertas regiones del espectro. Así, la mayoría de los aceites esenciales muestran una absorción selectiva de luz ultravioleta, por lo que se los estudia en la región del espectro que va desde 4.000 Å a 2200 Å. El primero es el límite arbitrario que se confunde con la región visible; el segundo está fijado por los aparatos utilizados y la transparencia de los disolventes usados.

Cada aceite esencial, como así los componentes del mismo, presentan una absorción característica, de modo que el estudio de la curva dada por el poder de absorción respecto de las diferentes longitudes de onda, permite su identificación, como también juzgar su pureza (22) (23)

Fundamento:

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

- a) de la concentración de la solución;
- b) de la longitud del camino recorrido a través de ese medio por el rayo incidente;

c) del poder de absorción de la sustancia o solución a una determinada longitud de onda.

Las relaciones cuantitativas de estos factores están definidas en las leyes de Lambert y de Beer.

La ley de Lambert 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 (espesor de la celda, en centímetros), e I es la intensidad de luz emergente, su relación será:

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

siendo a el coeficiente de absorción.

También: $\log \frac{I_0}{I} = E = D$ extinción o densidad óptica o absorbancia del medio.

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

$a = k \cdot c$ siendo k el coeficiente de proporcionalidad.

Relacionando ambas leyes se tiene:

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

donde k es en este caso, 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 obedezcan la ley de Lambert-Beer, a cualquier dilución o espesor de capa absorbente.

Como la longitud d se expresa en centímetros, la definición de k dependerá de como se exprese la concentración c , siendo las siguientes las más comunes:

a) si c está dada en mol-gramo por litro, k se llama coeficiente molecular de absorción o extinción (ϵ);

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

c) si c se indica en gramos por 100 ml, k es $E_{1\%}^{1\text{cm}}$.

Esta última puede transformarse en el coeficiente específico multiplicando por 0,1 y k se transforma en ϵ , multiplicando por el peso molecular de la sustancia absorbente.

Como los valores de los coeficientes de extinción varían con la longitud de onda, para obtener el espectro de absorción, se construye un gráfico en que figuren valores de coeficientes de extinción como ordenadas, y las correspondientes longitudes de onda como abscisas; en la curva obtenida, los máximos indican las longitudes de onda en las cuales la sustancia presenta absorción selectiva.

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

Aparatos utilizados:

Los espectrofotómetros constan esencialmente de:

a) un prisma para dispersar la luz;

b) un sistema óptico que incluye los recipientes con la solución absorbente y con el solvente puro;

c) un sistema para comparar las intensidades (I_0) de la luz transmitida por el solvente y (I) transmitida por la solución.

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

En nuestro caso, se utilizó un Carl Zeiss PM Q II, con equipo de cuarzo, donde se mide directamente: $\log \frac{I_0}{I} = E$

Los aceites muestran una actividad variable (24), dependiendo de su composición. Se ha comprobado el fuerte poder absorbente que poseen los fenoles, sus ésteres y los aceites esenciales que los contienen, los aldehídos y cetonas y la influencia que tiene la estructura del resto de la molécula, de los núcleos bencénicos, de los derivados de alcoholes y fenoles de los 3-5 dinitrobenzoatos por la introducción de esta agrupación atómica y semicarbazonas de aldehídos y cetonas. Como así también, las 2-4 dinitrofenilhidrazonas de estos últimos.

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

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

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

ESPECTROFOTOMETRÍA - ABSORCIÓN EN EL ULTRAVIOLETA

Las determinaciones fueron efectuadas con soluciones al 1%o de resinoide en alcohol libre de aldehídos.

Se utilizó a tal efecto el espectrofotómetro de Carl Zeiss PM Q II

El estudio de la tabla de valores obtenidos, que se consigna a continuación, muestra para el resinoide de ranas, los siguientes máximos y mínimos:

Longitud de onda en μ :	250	E = 0,62 mínimo
Longitud de onda en μ :	270	E = 0,70 máximo

Para el resinoide de hojas no se observan extinciones máximas o mínimas

VALORES OBTENIDOS PARA LA ABSORCIÓN EN EL ULTRAVIOLETA
DEL RESINOIDE DE RAMAS Y HOJAS DE LA ADESMIA BORONIOIDES
 (FARAMELA)

Longitudes de onda mu (milimicras)	Extinciones ramas $\log \frac{I_0}{I} = E$	Extinciones hojas $\log \frac{I_0}{I} = E$
215	1,87	1,95
220	1,695	1,76
225	1,695	1,66
230	1,57	1,57
235	1,16	1,38
240	0,79	1,19
245	0,645	1,05
250	0,62	0,95
255	0,625	0,88
260	0,66	0,84
265	0,69	0,83
270	0,70	0,80
272	0,70	0,785
274	0,69	0,765
276	0,68	0,74
280	0,64	0,69
285	0,59	0,635
290	0,465	0,565
300	0,36	0,47
310	0,305	0,41
320	0,235	0,335
330	0,195	0,28
340	0,175	0,25
350	0,165	0,235

Curvas de absorción en el ultravioleta
solución 1‰ del resinoide de ;



CROMATOGRAFIA - EVOLUCIÓN HISTÓRICA:

Al comienzo del presente siglo (1903), el investigador ruso Tswett, desarrolló un método de absorción para la separación de pigmentos de plantas, al que denominó cromatografía, debido a las bandas coloreadas que se formaban en el adsorbente. Las obras clásicas referentes al análisis cromatográfico, lo consideran como iniciador del método (25) (26).

Previamente (1850) F.F. Runge analizó mezclas de colorantes sobre papel secante y se interesó en las posibilidades del uso del ascenso capilar de ciertas disoluciones en bloques de madera, ya que así se produce la separación de los solutos.

Goppelsroeder, discípulo de Schonbein, investigó dicha posibilidad coincidiendo sus publicaciones con las de Tswett.

Schonbein demostró que introduciendo tiras de papel en agua que contenga sales inorgánicas, avanza el frente líquido arrastrando cationes inorgánicos, los cuales se mueven independientemente, según su estado relativo de difusibilidad.

Otros investigadores extendieron los métodos cromatográficos por varios caminos, inclusive a sustancias incoloras, y si bien el término cromatografía, tal como es usado hoy, es erróneo, está bien establecido y es difícil reemplazarlo por otro más descriptivo.

Sin embargo, y a despecho de su simplicidad, es poco utilizado, hasta que recién en el año 1931, Kuhn y Lederer lo aplicaron para separar alfa y beta carotenos, recibiendo los métodos de absorción cromatográfica un notable impulso y difusión. A ello contribuyeron también los estudios sobre enzimas de Willstater y su escuela; se continuó con el estudio de otros carotenoides

(Winterstein y Karrer), se pasó al campo de las vitaminas y se incursionó en el campo de la química orgánica; se resolvieron mezclas de elementos, de iones inorgánicos y aún de isótopos.

Es extraordinaria la forma que tiene su desarrollo, siempre con una incrementada velocidad y son por fin numerosos los trabajos que periódicamente se publican en todo el mundo.

MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS:

Cromatografía en columna de fase líquida:

Adsorción	Tswett 1903
Partición	Martin y Synge 1941
Cambio iónico	varios trabajos en 1947

Cromatografía en papel:

Consden, Gordon y Martin
1944.

Cromatografía gaseosa:

Adsorción	Hesse 1942
Partición	James y Martin 1952

Todos los métodos involucran una distribución del material para ser separados entre dos fases con movimiento de una con respecto a otra. Generalmente, una fase es fija y la otra móvil. La fase fija puede ser sólida o líquida, pues de otro modo no es convenientemente fija. La fase móvil puede ser líquida o gaseosa.

CROMATOGRAFÍA EN PAPEL:

Actualmente es aún utilizada la forma descrita por Consden, Gordon y Martin (27), quienes desarrollaron este proceso al no poder separar mezclas de aminoácidos en columnas de sílica-gel.

En la celulosa del papel (papel de filtro Whatman nº 1, ya

que no todos son iguales en su eficacia), encontraron un adecuado carrier en que los aminoácidos pueden ser separados por partición directa.

La mayor ventaja respecto a la cromatografía de partición en columna es que es posible trabajar con cantidades sumamente pequeñas.

Las diferencias de velocidad de movimiento de los componentes son causadas por los distintos coeficientes de partición. La distancia recorrida por la sustancia en un cierto disolvente puede ser cuidadosamente determinada y cuando la relacionamos con la distancia recorrida por el mismo disolvente, habremos obtenido una propiedad intrínseca del mismo.

El valor R_f es la relación entre la distancia desde el punto de partida al centro de la mancha y el punto de partida al frente del disolvente.

Como es siempre mayor el recorrido del disolvente, el valor de R_f es siempre menor de 1.

CROMATOGRAFÍA EN PLACA (CHROMATOSTRIP):

Su técnica, ideada por Kirchner, Miller y Keller, consistió en cubrir con una capa finísima de adsorbente, una tira de vidrio. Luego se estaba en presencia de una tira adsorbente que se cromatografiaba tal como una tira de papel.

Sus autores la usaron con éxito para diversas sustancias; tenía el inconveniente de variar el R_f de tira en tira. Standardizado el método, se alcanzó una reproductividad de hasta cuatro unidades.

Este método fué mejorado por Montes y Labat (28)

Reitzema (29) utiliza un chromatoplate que permite alrede-

dor de cuatro cromatografías independientes a la vez, eliminando, por consiguiente, la variación de los R_f . Utiliza, asimismo, una mezcla de ácido salicílico y almidón empastados a baño María. La sílice es previamente tamizada por 200 mallas; la superficie de la placa debe ser uniforme, nunca áspera o rugosa.

El calentamiento de la placa adsorbente es la operación más importante pues es cuando se activa. Cuanto mejor se activa la sílice al vacío, mayor es el poder resolutorio de la placa.

CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA:

A pesar de que los primeros trabajos fueron hechos sobre papel, el método que desarrolló primero fué el de columna.

Fundamentalmente consta de un tubo de vidrio con un estrechamiento en un extremo, con un pequeño tapón: de lana de vidrio, papel de filtro, algodón, o un disco poroso y sobre éste el material adsorbente.

Los adsorbentes utilizados son en la mayoría de los casos óxidos, hidróxidos, sales alcalino-térreas, como así, sustancias polares.

La dificultad principal en el desarrollo de una teoría matemática del análisis cromatográfico, estriba en que la formación del cromatograma es un fenómeno dinámico durante el cual se produce una adsorción y una desorción simultáneas y continuas, alas que siguen una readsorción de la sustancia que se está separando en la columna.

El primer intento de una teoría cuantitativa para la adsorción cromatográfica se debe a Wilson (30), quien recién en el año 1940 formula una relación diferencial que rige el proceso de adsorción en una columna cromatográfica.

En 1941 Martin y Synge (31), publican una teoría de la cro-

matografía de partición que puede aplicarse a la cromatografía común, comparando la columna cromatográfica con una columna de destilación fraccionada que comprende un número de platos teóricos elementales sobre la base teórica de la inexistencia de un equilibrio en todos los puntos de la columna y considerando despreciables los efectos de difusión entre plato y plato. Meyer y Tompkins la perfeccionaron, pudiendo así prever la composición del líquido que se escurre de la columna.

La teoría de Wilson ha sido completada por Weiss (32), Offord (33), De Vault (34) y Glueckauf y sus colaboradores (35).

CROMATOGRAFÍA GASEOSA:

El principio de este método se encuentra descrito por Martin y Synge en un trabajo de introducción para otra clase de cromatografía (36). La idea del uso de una fase móvil gaseosa no fue aparentemente explotada hasta que James y Martin (37), publicaron su clásico trabajo.

Sus técnicas se encuentran en constante perfeccionamiento, habiéndose alcanzado mayor sensibilidad para mínimas cantidades de muestras (del orden de los microlitros o inferiores).

La naturaleza de la fase fija, es base para subdivisiones mayores: si se trata de un sólido (como carbón activado), el método se llama cromatografía gas-sólido. Si la fase fija es un líquido se denomina cromatografía gas-líquido o cromatografía de partición gas-líquido.

El líquido fijo es utilizado como un delgado film sobre partículas sólidas o en la pared interior de una columna capilar (38)

Los métodos empleados mas comunmente son tres, a saber: Elución, desplazamiento y análisis frontal.

Análisis frontal: la muestra pasa continuamente a través de la

columna con adsorbente. Los componentes emergen en el orden de sus afinidades relativas por el adsorbente, pero sólo el primero es separado del resto de los componentes.

Análisis por desplazamiento: la muestra es puesta sobre una terminación de columna adsorbente. Un gas carrier conteniendo el vapor de una sustancia más fuertemente adsorbible que cualquier componente de la muestra, es pasado a través de la columna. Este desplaza la muestra por el adsorbente y cada uno de los componentes tiende a separarse de los otros que son menos fuertemente adsorbidos y se ordenan en zonas bien definidas en orden de su creciente afinidad por el adsorbente y eventualmente, emergen en sucesión.

Elución: Este método involucra el constante pasaje de un gas carrier a través del sistema.

La muestra, gaseosa o líquido volátil, es introducida a este sistema, transportada sobre la columna de adsorbente. Cada componente se distribuye de una manera característica entre la fase gaseosa y la fase fija (sólida o líquida) y aquella porción que está en la fase gaseosa se mueve con el portador. Los componentes son separados y pasan desde la columna a la corriente efluyente a distintos tiempos.

El tiempo de retención t_R es un medio de determinación cualitativa y está vinculado a su temperatura de ebullición y magnitud molecular, y la altura del pico o el área encerrada es proporcional a las cantidades de sustancias que los producen.

COMPUESTOS FENÓLICOS:

De la observación de la curva de absorción, se desprende una inflexión correspondiente a fenoles, procediéndose por consiguiente, a la separación de los componentes fenólicos.

Tomar 2 g. de resinoide, disolver en éter de petróleo liviano, cuyo papel es vehiculizar la esencia, y agitar con solución acuosa al 5 % de KOH (dos porciones de 20 ml. c/u.). Separar la solución alcalina, filtrar, acidular con SO_4H_2 al 20 % y extraer con éter etílico. Secar con SO_4Na_2 anh., evaporar y pesar.

La sustancia separada corresponderá a los fenoles.

Fenoles presentes en el resinoide de ranas: 10,13%

Para el resinoide de hojas no se observa la mencionada inflexión.

CROMATOGRAFÍA MONODIMENSIONAL EN PLACA DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS:

- a) Concentración de la solución etérea: 0,3 ng/ml.
- b) Distancia cubierta por el solvente: 14,9 cm.
- c) Tiempo de desarrollo: 2 horas
- d) Solvente: acetato de etilo-éter de petróleo 60^o/70^o aprox. 3:7
- e) Reactivo: para nitroanilina diazotada

R_{fm}	R_{fa}	R_{fr}	Color de la mancha
0,745	0,75	1,37	violeta rodeada de coloración amarilla
0,53	0,555	0,98	amarillo parsuzco
0,128	0,154	0,23	amarillo
0,074	0,0765	0,13	anaranjado

(*) R_{fr} : R_f relativo al fenol (R_f -fenol: 0,54)

La fracción fenólica contendría por lo menos dos fenoles, a los que corresponderían los dos primeros datos de R_f .

Además, la primera mancha de color violeta, rodeada de una aureola amarilla, indicaría la presencia de una mezcla de fenoles. Sobre la misma línea, las manchas de R_f pequeño, podrían ser de polifenoles.

ÍNDICES DE ÁCIDO, ÉSTER Y SAPONIFICACIÓN EN LOS RESINOIDES DE RAMAS Y HOJAS:

Índice de ácido:

"Es el número de mg. de KOH necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres de 1 gramo de resinoide".

Técnica: En un erlenmeyer de boca esmerilada se disuelven 1 gramo de resinoide en 5 ml. de etanol neutralizado al rojo fenol. Se valora la acidez libre con solución acuosa 0,1N de NaOH.

$$I.A. = \frac{5,61 \times \text{ml. NaOH } 0,1N}{\text{peso del resinoide en g.}}$$

Índice de éster:

"Es el número de mg. de KOH necesarios para saponificar los ésteres de 1 gramo de resinoide"

Técnica: Luego de la valoración de la acidez libre, se procede a agregar 10 ml. de KOH 0,5N en solución alcohólica, y se calienta a reflujo durante 2 horas (en baño maría). Se enfría y valora el exceso de álcali con solución de HCl 0,5N. Se efectúa paralelamente un blanco.

$$I.E. = \frac{28,05 \times \text{ml. de KOH } 0,5N}{\text{peso del resinoide en gramos}}$$

Índice de saponificación:

"Es el número de mg. de KOH necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres y saponificar los ésteres de 1 gramo de resinoide"

$$I.S. = I.A + I.E.$$

CUADRO COMPARATIVO DE LOS DISTINTOS ÍNDICES

nº de deter- minación	I.A.		I.E.		I.S.	
	Hojas	Ramas	Hojas	Ramas	Hojas	Ramas
1	37,82	17,43	5,72	80,24	43,54	97,67
2	39,22	16,98	5,54	92,09	44,90	109,07
3	39,16	17,53	5,67	81,22	44,83	98,75
4	38,97	16,41	5,72	77,55	44,69	93,96
Promedios	38,79	17,08	5,85	82,77	44,65	99,86

ESTUDIO DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y DE RAMAS DE LA
ADESMIA BCRONIGIDES (FARAMELA)

1º)	Obtención de la esencia.....	32
2º)	Caracteres organolépticos.....	32
3º)	Peso específico.....	32
4º)	Índice de refracción.....	32
5º)	Índices de ácido, éster y saponificación.....	32
6º)	Cromatografía gaseosa del aceite de hojas y ramas.....	33
7º)	Absorc. en el u.v. de solución de aceite esencial.....	35
8º)	Determinación de alcoholes.....	37
9º)	Identificación de ácidos libres.....	38
10º)	Determinación de compuestos carbonílicos.....	39
11º)	Separación de compuestos carbonílicos.....	42
12º)	Investigación de compuestos carbonílicos.....	42
13º)	Investigación de fenoles.....	46
14º)	Identificación de ácidos esterificados.....	46
15º)	Identificación de alcoholes y/o fenoles esterificados..	47
16º)	Cromatografía gaseosa del aceite es. de hojas.....	49
17º)	Absorc. en el ultra violeta del ac. es. de hojas.....	50
18º)	Cromatografía del aceite esencial de ramas.....	52
19º)	Absorción en el u.v. del aceite esencial de ramas.....	53

OBTENCIÓN DE LA ESENCIA:

Efectuado el arrastre con vapor de agua, como se indica en la pág. 14, se procedió a insolubilizar la esencia con cloruro de sodio y extrajo con éter etílico.

Recuperado el éter, se terminó la eliminación del mismo a presión reducida.

CARACTERES ORGANOLÉPTICOS:

	HOJAS	RAMAS
Color	pardo rojizo	pardo rojizo
Olor	frutos maduros	frutos maduros más penetrantes

En ambos casos se trata de flúidos límpidos, ligeramente viscosos.

PESO ESPECÍFICO: (por duplicado) a 20°C

Hojas..... 1,0031

Ramas..... 0,9785

ÍNDICE DE REFRACCIÓN A 20°C: n_D^{20}

Se determinó con refractómetro de Abbe (39), que permite efectuar la lectura con luz blanca, puesto que dispone de un sistema compensador para obtener el dato para la línea D del espectro, en el que se suele expresar:

	Hojas	Ramas
n_D^{20}	1,49305	1,49255

ÍNDICE DE ÁCIDO: (ver pág.29)

Hojas.....44,21 Ramas.....39,97

ÍNDICE DE ÉSTER: (ver pág. 29)

Hojas.....79,34 Ramas.....84,62

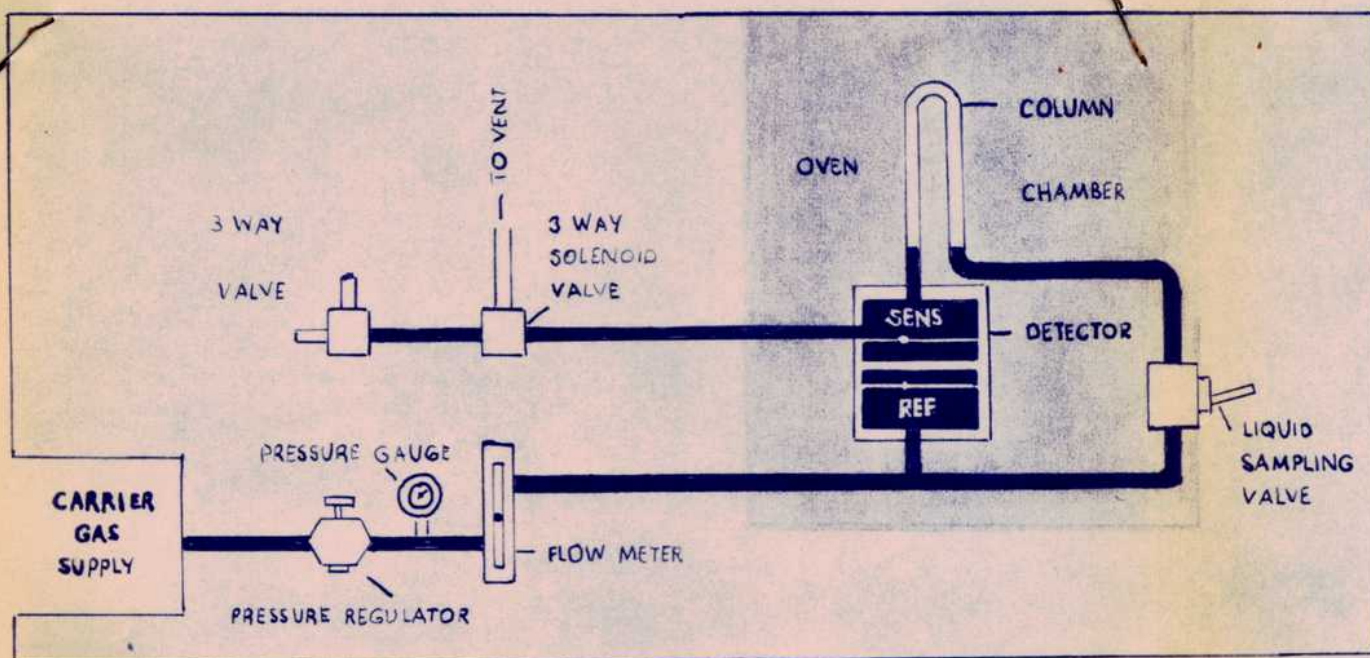
ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN: (ver pág. 29)

Hojas.....123,55 Ramas.....124,63

CROMATOGRAFÍA GASEOSA DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y DE RAMAS

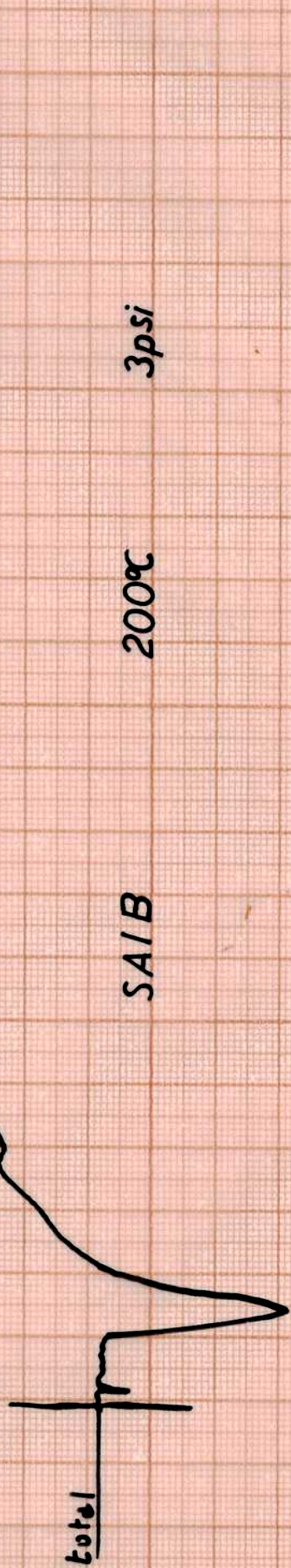
Hemos utilizado el método de elución descripto en la pág. 27, y para ello el aparato Perkin Elmer, Modelo 154 D.

Se utilizó además nitrógeno como gas eluyente y una columna SAIB (diacetato hexabutirato de sacarosa 10% sobre tierras de diatorneas).



FLOW SCHEMATIC OF MODEL 154-D VAPOR FRACTOMETER

Cromatografía gaseosa del aceite esencial de
hojas y ramas de la adesmia boronioides



SAIB

200°C

3psi

total

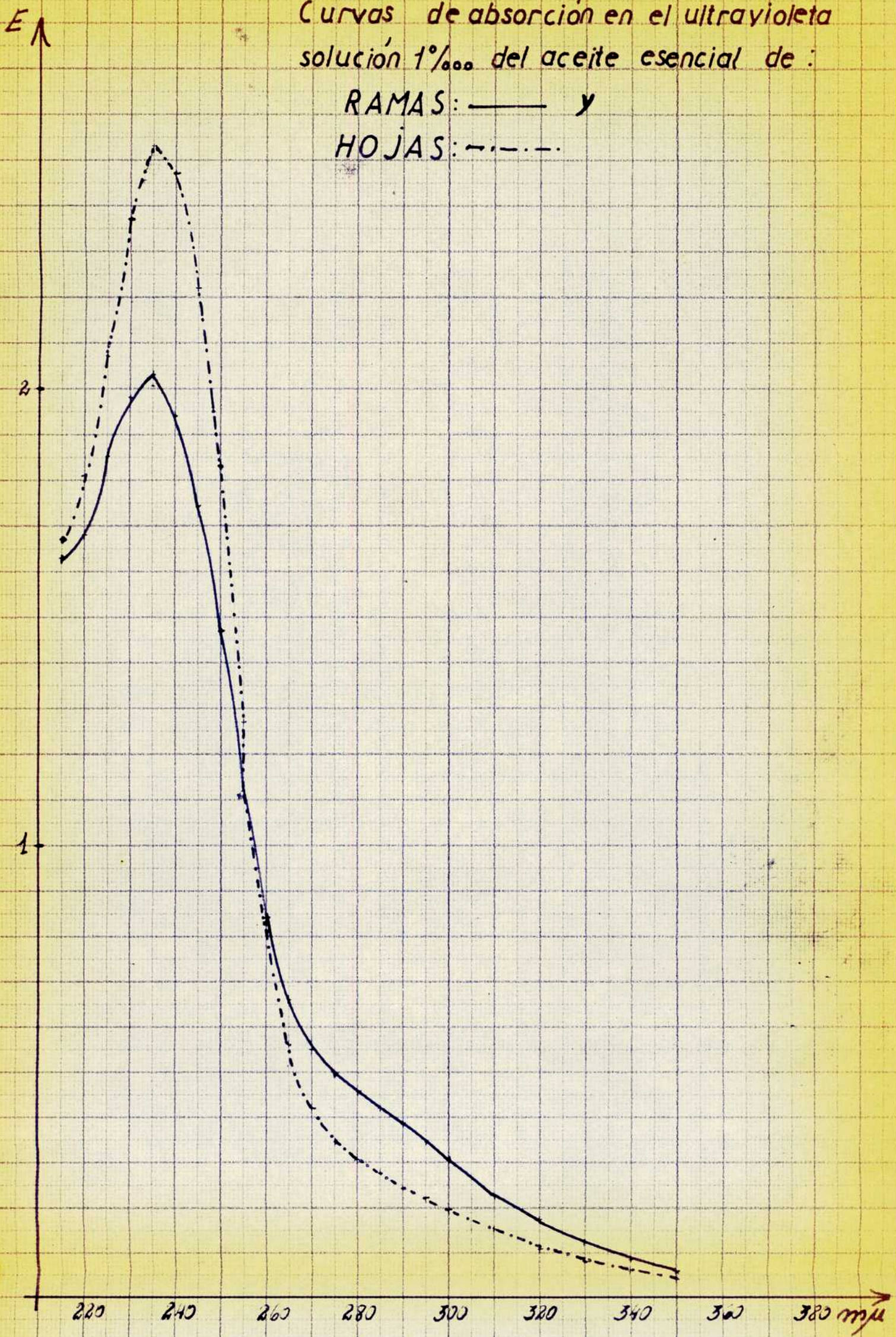
VALORES OBTENIDOS PARA LA ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA
DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y RAMAS DE LA ADESMIA BO-
NIOIDES (PARAMELA)

Longitudes de onda mu (milimicras)	Extinciones hojas $\log. \frac{I_0}{I} = E$	Extinciones ramas $\log. \frac{I_0}{I} = E$
215	1,67	1,63
220	1,81	1,68
225	2,07	1,85
230	2,37	1,98
235	2,53	2,03
240	2,47	1,94
245	2,22	1,74
250	1,83	1,47
255	1,27	1,12
260	0,83	0,84
265	0,56	0,66
270	0,42	0,55
275	0,345	0,495
280	0,305	0,455
285	0,272	0,42
290	0,243	0,385
295	0,22	0,347
300	0,195	0,305
310	0,152	0,225
320	0,117	0,172
330	0,087	0,126
340	0,060	0,085
350	0,040	0,060

Curvas de absorción en el ultravioleta
solución 1‰ del aceite esencial de :

RAMAS: — y

HOJAS: - · - · - ·



DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES:

Los alcoholes presentes en las esencias pueden ser: primarios, secundarios y/o terciarios. Son en general de aroma suave, dulce y persistente, en especial, los terpénicos y sesquiterpénicos.

El fundamento de los métodos de valoración es la esterificación mediante distintos radicales ácidos o sus derivados (anhídridos o cloruros, principalmente), variando las condiciones y el catalizador utilizado.

Para la determinación de alcoholes totales, hemos aplicado el método de acetilación descrito por Fiore y adoptado por la "Essential Oil Ass." of U.S.A.

Técnica: En un erlenmeyer con tapa esmerilada, se colocan, enfriado con hielo, 10 ml. de alcohol aislado o de aceite esencial (previamente secado con SO_4Na_2 anh.) y una vez bien frío se agregan 20 ml. de dimetil-anilina (libre de monometilanilina, susceptible de ser acetilada), se mezcla bien y agregan 8 ml. de cloruro de acetilo y 5 ml. de anhídrido acético (sirve como disolvente para evitar la cristalización de la masa reaccionante). Se enfría unos minutos y deja luego a temperatura ambiente por media hora; se sumerge en baño de agua a $40^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, por 3 horas. Luego el aceite acetilado se lava con 75 ml. de agua helada, por 3 veces y después con porciones de 25 ml. de SO_4H_2 al 5%, para eliminar la dimetil-anilina y con solución de CO_3Na_2 al 10% para eliminar el ácido y finalmente con agua destilada, hasta neutralidad. El aceite se seca con SO_4Na_2 anh. y determina su índice de éster, según el procedimiento indicado para los ésteres en la pág.29.

El resultado, cuando son varios los alcoholes presentes, se expresa como índice de éster, luego de acetilar:

$$\text{I.E. después de acetilar} = \frac{28,05 \times \text{ml.KOH } 0,5\text{N}}{\text{peso del aceite acetilado en g.}}$$

También puede expresarse en porcentaje de hidroxilo alcohólico:

$$\text{OH \%} = \frac{17 \times \text{ml. de KOH } 0,5\text{N}}{20 (\text{g. de aceite acetilado} - 0,021 \times \text{ml. KOH } 0,5\text{N})}$$

El valor 0,021 corresponde al peso que se incorpora al aceite durante la acetilación, por ml. de KOH 0,5N gastados, (es decir, peso del radical de acetilo, menos un hidrógeno que pierde el alcohol por ml. de solución 0,5N)

Valores obtenidos:

	Índice de éster	% OH alcohólico
Hojas	135,36	4,48
Ramas	159,79	4,71

IDENTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES:

Los aceites esenciales, por ser productos obtenidos por arrastre con vapor de agua, pueden poseer ácidos grasos libres hasta C₁₂.

Los más comunmente presentes en los aceites esenciales volátiles son:

- solubles en agua: fórmico, propiónico, butírico, isobutírico e isovaleriánico.
- poco solubles en agua: caproico
- insolubles en agua: cáprico y láurico (este último destila parcialmente)

Técnica: Se separan los ácidos con solución de CO₃Na₂ al 5% y se hace la observación microscópica por el método de Deniges (40

En un portaobjetos se coloca una gota de la solución de esencia a estudiar, y una gota de reactivo plata amoniacal (NO₃Ag al 3% y NH₃ hasta redisolución de precipitado)

Se deja difundir los dos líquidos. Se observa cristales bien netos, de diferentes aspectos, según el ácido de que se trate.

En nuestro caso identificamos, en su mayor parte, ácido propiónico, tanto para hojas como para ramas y en un menor porcentaje ácido isobutírico.

IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CARBONÍLICOS:

Se utilizó el método de Shriner y Fuson (41)

Técnica: Reactivo: 0,4g de sulfato de 2-4dinitrofenilhidrazina más 2 ml. de SO_4H_2 conc.. Se hace unapasta y se agregan 3 ml. agua, gota a gota, agitando hasta solución completa. A la misma aún caliente, se adicionan 10 ml. de alcohol de 95%, libre de aldehídos. Si no queda suficientemente limpia la solución, se filtra. Solución de carbonílico: 0,5g. de compuesto carbonílico se disuelven en 20 ml. de alcohol de 95% libre de aldehídos.

A la solución de carbonílico se le agrega la solución del reactivo y se deja a temperatura ambiente. En general la cristalización se produce entre 5 y 10 minutos. Si así no ocurriera se deja estar por una noche. Excepcionalmente es necesario calentar a reflujo por unos minutos. Se recristaliza de alcohol etílico o de acetato de etilo, ácido acético glacial, xileno o nitrobenzeno.

En nuestro caso se obtuvieron cristales de color rojizo, cuyos puntos de fusión correspondientes son:

Hojas..... 142°C Ramas.....142/3°C.

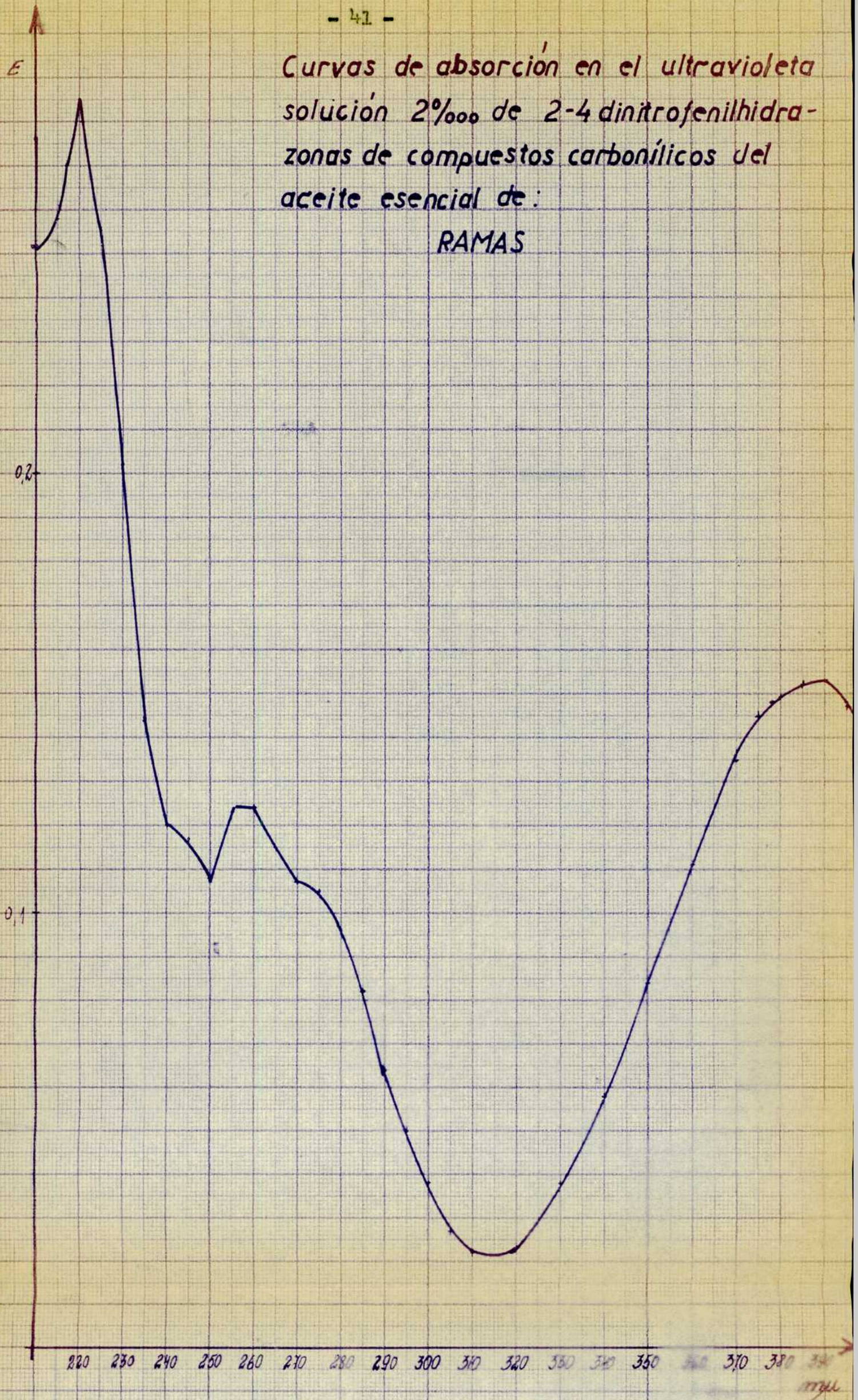
Se preparó solución alcohólica al 2‰ de los cristales de ramas para la ulterior observación al espectrofotómetro, obteniéndose los valores y curva que se consignan a continuación

VALORES OBTENIDOS PARA LA ABSORCIÓN EN EL ULTRAVIOLETA
DE DERIVADOS DE LA 2-4 dinitrofenilhidrazina DE COMPUES-
TOS CARBONILICOS DEL ACEITE ESENCIAL DE RAMAS DE LA
ADESNIA BORONICIDES (FARAMELA)

Longitudes de onda mu(milimicras)	Extinciones $\log \frac{I_p}{I} = E$
215	0,258
217	0,27
218	0,275
220	0,285
225	0,255
230	0,202
235	0,144
240	0,12
245	0,117
250	0,108
255	0,123
260	0,124
265	0,115
270	0,107
275	0,105
280	0,096
285	0,082
290	0,064
295	0,050
300	0,038
305	0,027
310	0,022
320	0,023
330	0,038
340	0,058
350	0,084
360	0,111
370	0,135
375	0,145
378	0,148
380	0,149
385	0,152
390	0,153
395	0,147
400	0,140

Curvas de absorción en el ultravioleta
solución 2‰ de 2-4 dinitrofenilhidra-
zonas de compuestos carbonílicos del
aceite esencial de:

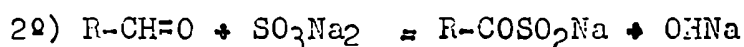
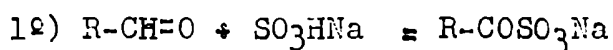
RAMAS



SEPARACIÓN DE LOS PRODUCTOS CARBONÍLICOS (ALDEHIDOS Y CETONAS):

Método por absorción:

Los aldehídos y cetonas dan compuestos de adición con el sulfito de sodio y con el bisulfito de sodio, de acuerdo a las siguientes reacciones:



Estos derivados son descompuestos por la acción de los ácidos minerales o bien por los álcalis, dejando en libertad al aldehído o cetona, que luego puede ser identificado.

En nuestro caso, hemos procedido a la absorción con sulfito neutro de sodio, en solución saturada, que pone en libertad NaOH que se neutraliza con solución de acético 10% a la fenolftaleína. Se prosigue neutralizando hasta que no hay producción de color, controlando, en esta forma, el final de reacción.

Se alcaliniza y extrae con éter etílico.

INVESTIGACIÓN DE COMPUESTOS CARBONÍLICOS:

A la sustancia así separada, se le aplicó la técnica de Schiner y Fuson, descripta en la página 39, obteniéndose cristales rojizos cuyos puntos de fusión son:

Hojas.....166°

Ramas.....163°

Se preparó una solución alcohólica de los cristales, para la ulterior observación al espectrofotómetro, obteniéndose los valores y curvas que se consignan a continuación; asimismo, hemos efectuado la separación cromatográfica en placa, de estos cristales.

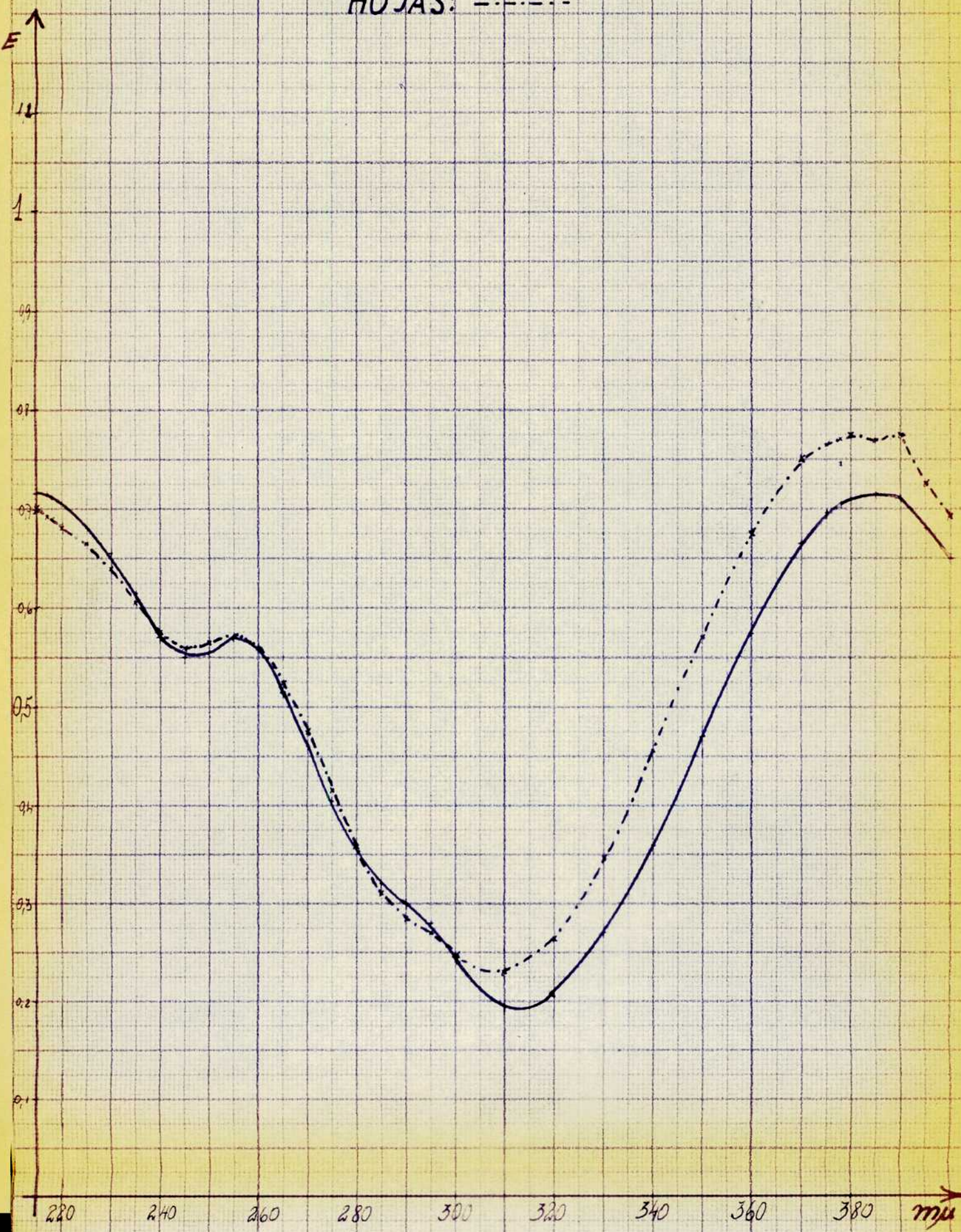
VARIACIONES EN LA ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA
DE DERIVADOS DE LA 2-4 dinitrofenilhidrazina DE COM-
PUESTOS CETONICOS DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y RA-
MAS DE LA ADELPHIA BORONICIDES (FARAMEIA)

Longitudes de onda mu (milimicras)	Extinciones Hojas $\log \frac{I_0}{I} = E$	Extinciones Ramas $\log \frac{I_0}{I} = E$
215	0,70	0,715
217	0,692	0,715
218	0,69	0,712
220	0,68	0,705
225	0,665	0,68
230	0,64	0,655
235	0,605	0,615
240	0,575	0,57
245	0,56	0,55
250	0,565	0,555
255	0,57	0,57
260	0,56	0,56
265	0,525	0,515
270	0,475	0,46
275	0,415	0,405
280	0,36	0,36
285	0,31	0,32
290	0,235	0,30
295	0,27	0,28
300	0,247	0,245
310	0,23	0,195
320	0,265	0,205
330	0,347	0,27
340	0,455	0,36
350	0,57	0,47
360	0,675	0,575
370	0,75	0,665
375	0,765	0,695
378	0,77	0,705
380	0,775	0,71
385	0,77	0,715
390	0,775	0,71
395	0,725	0,68
400	0,69	0,65

Curvas de absorción en el ultravioleta de 2-4 fenilhidrazonas de compuestos cetónicos del aceite esencial de:

RAMAS: ——— y

HOJAS: - - - - -



CROMATOGRAFÍA MONODIMENSIONAL EN PLACA DE LAS 2-4 DINITROFENIL

HIDRAZONAS:

Solvente: 30% de acetato de etilo en solvente 7

Distancia cubierta por el solvente: 15,2 cm.

R _{fm}	R _{fa}	Color de la mancha
0,869	0,901	amarillo anaranjado
0,765	0,790	amarillo pálido

OBTENCIÓN DE SEMICARBAZONAS:

Aplicando el método de Guenther (42), hemos obtenido la semicarbazida para hojas:

Técnica: A una solución de clorhidrato de semicarbazida, se agrega una cantidad equimolecular de acetato de sodio, y a esta solución se añade una cantidad ligeramente menor que la equimolecular del aldehído o cetona; agitar, suele ser necesario agregar alcohol para obtener una solución clara. (Si el compuesto carbonílico es insoluble en agua, conviene disolverlo previamente en 5 ó 10 ml. de alcohol libre de aldehídos).

En general la semicarbazona cristaliza en pocos minutos. Otras veces, tarda más tiempo. A veces requiere ser calentada. Para una purificación final, se recrystaliza de un disolvente adecuado, tal como agua, alcohol o acetona.

Hemos obtenido un precipitado blanco grisáceo de punto de fusión 145°C, para hojas.

En consecuencia, de la observación de las curvas de absorción en el ultravioleta, se desprende la existencia de cetonas que poseen una doble ligadura conjugada respecto a la función carbonílica. Las curvas de absorción en el ultravioleta de las 2-4 dinitrofenilhidrazonas, corresponderían a cetonas terpénicas.

INVESTIGACIÓN DE FENOLES:

De la sustancia fenólica, separada del resinoide de ramas, se procedió a efectuar el arrastre por vapor de agua, a efectos de obtener los fenoles aromáticos, cuyos 3-5 dinitrobenzoatos se separaron de acuerdo al método siguiente:

Técnica: Se disuelve 1 g. de cloruro de 3-5 dinitrobenzofilo (puro, en lo posible de preparación reciente), en 10 ml. de benceno, y a esa solución se le agrega el equivalente de fenol a esterificar, bien seco. Se agrega dimetilanilina y calienta suavemente. Una vez frío, se agrega un exceso de éter y se procede a lavar con ácido diluido, luego con álcali diluido y finalmente, con agua hasta neutralidad. Se evapora la solución etérea a sequedad y recristaliza de éter de petróleo, benceno u otro disolvente apropiado.

En nuestro caso hemos obtenido pequeñas placas y agujas que funden a 145°, 158° y terminan de fundir a 168°C.

De acuerdo a la cromatografía efectuada en placa (pág. 28), y a los puntos de fusión de los 3-5dinitrobenzoatos, habría:

1. Fenol cuyo $R_f = 0,53$ mancha color amarillo y P.F. 145°;
2. Isocugenol, de $R_f 0,745$, color violeta u P.F. 158°C, y presumiblemente, m-cresol, de R_f semejante al anterior, color amarillo y P.F. 168°C.

IDENTIFICACIÓN DE ÁCIDOS Y ALCOHOLES Y/O FENOLES ESTERIFICADOS:

Previamente saponificados los ésteres con KOH 0,5N. en solución alcohólica, se procedió a la identificación de los ácidos por un lado, y los alcoholes y fenoles por otro lado, de acuerdo a los métodos indicados para cada caso.

ÁCIDOS: Se determinaron por el método de Deniges descrito en la página 38, para ácidos libres. Se identificó: ácido propiónico

y ácido isobutírico, cuyas microfotografías se observan a continuación:



ALCOHOLES Y/O FENOLES: Para las hojas, hemos descartado la posibilidad de presencia de fenoles, de acuerdo a las curvas de absorción en el ultravioleta.

Para la identificación de alcoholes, hemos obtenido los 3-5 dinitroderivados y determinado sus respectivos puntos de fusión:

Hojas (placas marrones).....156^o/157^oC

Ramas (placas marrón claro).....133^oC

Consideramos entonces la posibilidad de 1/^o fenchol de P.F. 157^oC ó borneol de P.F. 156/157^o para hojas y de isoborneol, para ramas.

CROMATOGRAFÍA GASEOSA:

Respecto a la cromatografía gaseosa, podemos observar poca resolución, con un pico alto en la fracción n^o 4 de hojas, que corresponde a los ésteres; para ramas no se observa tal pico.

A continuación, se consignan los gráficos obtenidos, como así también, las curvas de absorción en el ultravioleta y cuadros de valores, para las distintas fracciones.

*Cromatografía gaseosa del aceite esencial
de hojas de la adesmia boronioides*



VALORES OBTENIDOS PARA LA ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA
DE LAS FRACCIONES DE LA CROMATOGRAFIA GASEOSA DEL ACEI
TE ESENCIAL DE HOJAS DE LA ADESMIA BCRONICIDES (PARAME
LA)

Longitudes de onda mμ (milimicras)	fracción 1* log. $\frac{I_0}{I}$ E	frac. 2* E	frac. 3* E	frac. 4* E
215	0,35		1,6	2,22
220	0,30		1,53	2,44
225	0,275		1,37	2,62
230	0,26		1,25	2,72
235	0,245		1,16	2,58
240	0,238		1,14	2,42
245	0,23		1,14	2,17
250	0,22		1,17	1,84
255	0,21		1,04	1,46
260	0,195		0,86	1,13
265	0,18		0,73	0,92
270	0,167		0,67	0,83
273	-,-,-		-,-,-	-,-,-
275	0,15		0,64	0,78
277	-,-,-		-,-,-	-,-,-
280	0,137		0,575	0,72
285	0,12		0,51	0,65
290	0,105		0,445	0,565
295	0,088		0,40	0,50
300	0,074		0,31	0,425
305	-,-,-		-,-,-	-,-,-
310	0,056		0,235	0,32
320	0,042		0,18	0,255
330	-,-,-		-,-,-	-,-,-
340	0,028		0,096	0,15
350	0,024		0,072	0,108

* Extinciones

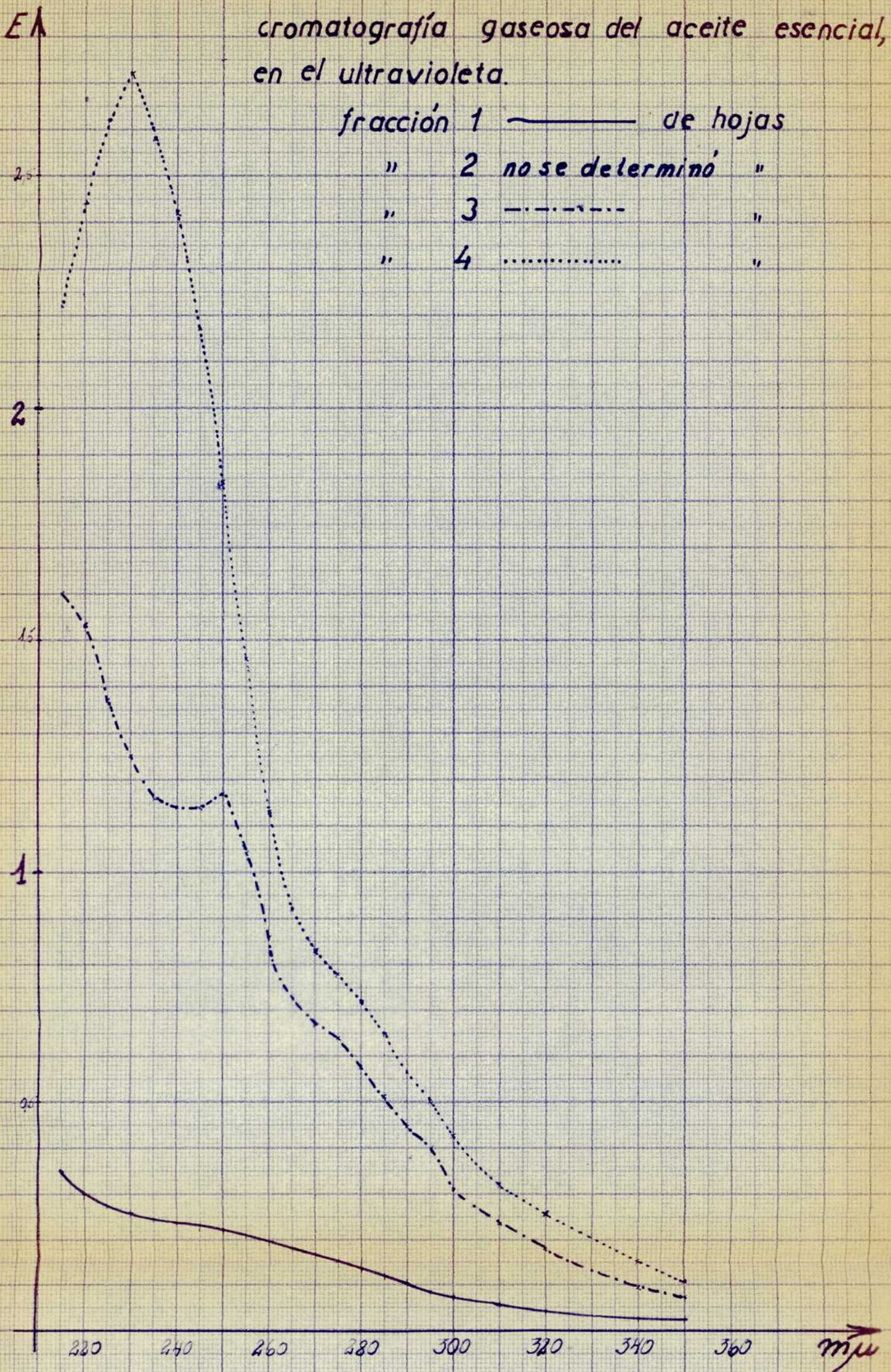
Curvas de absorción de las fracciones de la cromatografía gaseosa del aceite esencial, en el ultravioleta.

fracción 1 ————— de hojas

" 2 no se determinó "

" 3 - - - - - "

" 4 "



Cromatografía gaseosa del aceite esencial
de ramas de la adesmia boronioides



200°C

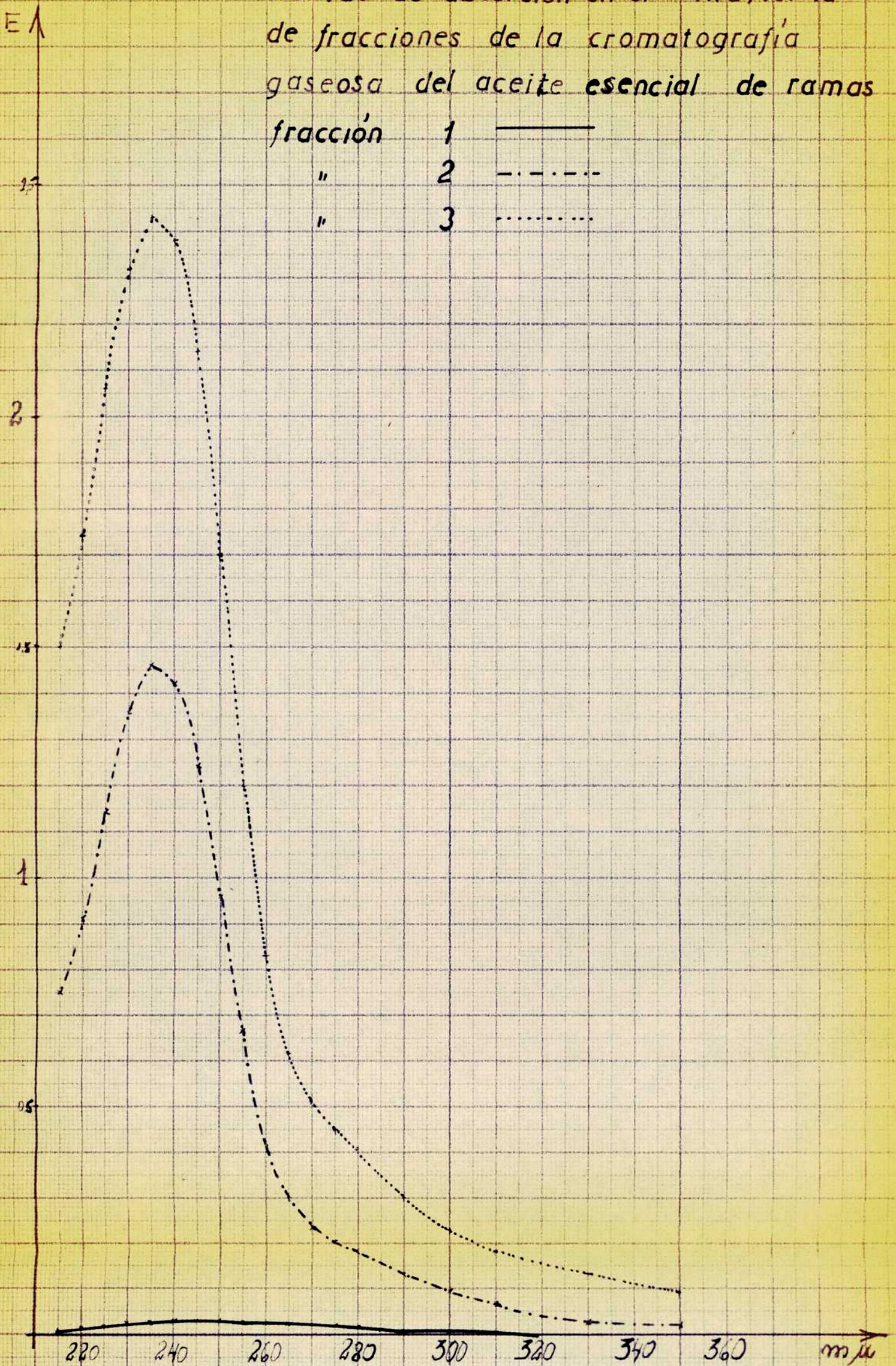
4 psi

VALORES OBTENIDOS PARA LA ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA
DE LAS FRACCIONES DE LA CROMATOGRAFIA GASEOSA DEL ACEI
TE ESENCIAL DE RAMAS DE LA ARBUSTIA BORONICIDES (PARME
LA)

Longitudes de onda mu (milimicras)	Extinciones frac.1 log. $\frac{I_0}{I} = E$	Ext. frac.2 E	Ext. frac.3 E
215	0,006	0,75	1,50
220	0,013	0,91	1,74
225	0,018	1,14	2,06
230	0,021	1,36	2,32
235	0,024	1,46	2,43
240	0,027	1,42	2,38
245	0,029	1,24	2,14
250	0,029	0,96	1,70
255	0,028	0,655	1,20
260	0,026	0,42	0,83
265	0,024	0,295	0,615
270	0,021	0,235	0,51
275	0,018	0,203	0,45
280	0,016	0,18	0,405
290	0,010	0,13	0,30
300	0,006	0,092	0,23
310	0,003	0,066	0,18
330	0,000	0,028	0,13
350	0,000	0,020	0,094

Curvas de absorción en el ultravioleta
de fracciones de la cromatografía
gaseosa del aceite esencial de ramas

fracción 1 —————
" 2 - - - - -
" 3 ······



RESUMEN Y CONCLUSIONES: Nuestro trabajo ha tenido por objeto efectuar el estudio del resincido y aceite esencial de la *Adesmia boronicoides* Hooker (paramela), no sólo desde el punto de vista científico, sino también como una contribución al conocimiento de los aceites esenciales y plantas en general, de nuestro país.

La bibliografía existente sobre este tema es muy escasa y los artículos encontrados no hacen referencia a su composición.

Hemos comenzado con una reseña y clasificación de los productos aromáticos y de los distintos grupos en que se dividen, entre los que encontramos a los aceites esenciales o volátiles.

Determinamos constantes físicas y químicas, tanto del resincido como del aceite esencial y ayudados por la espectrofotometría y cromatografía en placas y en fase gaseosa, como así también por las técnicas clásicas indicadas para cada caso, procedimos a la separación e identificación de compuestos.

Respecto a las técnicas seguidas para la identificación de compuestos, cabe señalar que en su mayoría son aplicables cuando los productos son puros o se encuentran en cantidad apreciable, por lo que se nos ha presentado muchas dificultades, ya que hemos trabajado con muy escasa cantidad de nuestro.

A pesar de ello, hemos constatado la presencia de ácidos libres y combinados, dejando asimismo constancia de puntos de fusión de derivados de cetonas, alcoholes, fenoles libres y combinados, que podrían ser aprovechados en posteriores estudios.

Teniendo en cuenta que en las zonas donde se encuentra la *Adesmia*, se la conoce como de valor medicinal, debiera encararse su estudio desde el punto de vista farmacológico, ya que desde el punto de vista de producción de compuestos no cabría su consideración.

Adolfo Fuentes

M. L. S.

BIBLIOGRAFIA:

- (1) Montes, A.L. Anal. de los productos aromáticos, p.335 (1961)
- (2) Foucher, W.A. Perfumes, cosmetics and soaps, II, p.34/38, London (1941/42)
- (3) Guenther, E. The essential oils, I, p.87/187, N.Y. (1948)
- (4) Naves, Y.R. y Mazuyer, G. Les parfums naturels, essences, concretes, resincides, huiles et pommades, p. 123/136, Paris (1942)
- (5) Guenther, E. Op. cit., I, p. 188/200
- (6) Wattiez, N. y Sternon, F. Elements de Chimie Vegetale, p. 637, Paris (1942)
- (7) Wattiez, N. y Sternon F. Op. Cit. p. 637
- (8) Foucher, W.A. Op. cit. p. 50
- (9) Sollman, T. Farmacología y sus aplicaciones a la terapéutica y a la toxicología, Salvat Ed. Bs.As. (1949)
- (10) Montes, A.L. Op. cit. p. 50
- (11) Alazraqui, J. La industria de los ac. esenciales y perfum. de plantas indígenas y cultivadas. Posibilidades y ventajas de su aplic. en la Arg. Actas y trab. del Primer Congr. de Qca., 2 (1919)
- (12) Montes, A. L. Op. cit. p. 270
- (13) Stura, A.C. Los aceites esenciales. Direc. de Inf. Públ. Miscelánea 195, Minist. de Agricultura (1945)
- (14) Taubert, A. en Engler et Prantl Pflanzen familien III, 3 p. 322 (1894)
- (15) Burkart, A. Las leguminosas arg. silv. y cultiv. p.210 (1952)
- (16) Reiche, C. Flora de Chile, II, p. 166 (1898)
- (17) Gay, C. Historia física y política de Chile, II, p.182 (1946)
- (18) Burkart, A. Op. cit. p. 215
- (19) Burkart, A. Op. cit. p. 215
- (20) Montes, A.L. Op. cit. p. 349
- (21) Montes, A.L. Op. cit. p. 68
- (22) Morton, R.A. Perf. Ess. Rec. 20, p. 358 (1929)
- (23) Van Os, D. y Dykstra, K.D., J Pharm. Chim. 25 p. 437/501 (1937)

- (24) Montes, A.L. Op. cit. p.65
- (25) Strain, H.H. Chromatographic Adsorption Analysis N.Y. Interscience Publishers Inc. 1942
- (26) Zechmeister y Chelnokyl. Principles and Practice of Chromatography London Chapman y Hall N.Y. (1943)
- (27) Condon, R. Gordon, A.H. y Martin, A. J.P. Biochem 38 p.224 (1944)
- (28) Montes, A.L. y Labat, J.A. Asoc. Quím. 41 p.166 (1953)
- (29) Reitzema Ann. Chem. 26 p.960 (1954)
- (30) Wilson, J.N. J. Am. Chem. Soc. 62 p. 1583 (1940)
- (31) Martin, A.J.F. y Synge, R.L.M. Biochem J. 35 1358 (1941)
- (32) Weiss, J. Jour. Chem. Soc. Part. II p. 297 (1943)
- (33) Offord, A.C. y Weiss, J. Nature 155 p. 725 (1945)
- (34) De Vault, J. J. Am. Chem. Soc. 65 p. 532 (1945)
- (35) Glueckauf, E. Nature 156 p. 205 (1945)
- (36) Martin, A.J.F. y Synge. Op. cit.
- (37) James y Martin, A.J.F. J. Biochem. 50 p. 679-90 (1952)
- (38) Peacock, R.L. Principles and practice of gas chromatography N. Y. 1959
- (39) Villavecchia, V. Qca. Analítica II, p. 648 (1949)
- (40) Grignard, V. Dupont, G. y Locquin, R. Traité de Chimie Organique IX p.14 (1939)
- (41) Guenther, E. Op. cit. II p. 812
- (42) Guenther, E. Op. cit. II p. 818