

UNIVERSIDAD IBEROAMERICANA
Incorporada a la U.N.A.M.
Escuela de Ciencias Químicas

**EXTRACCION Y SEPARACION DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES
SOLUBLES DEL EUCALYPTUS CITRIODORA**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Q U I M I C O
P R E S E N T A
TERESA ALFJANDRA ALANIS UGARTE

MEXICO, D. F.

1963



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



EXTRACCION Y SEPARACION DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES
SOLUBLES DEL EUCALYPTUS CITRIODORA

TESIS PROFESIONAL

TERESA ALEJANDRA ALANIS UGARTE

México, D. F.

1968

**A mis padres
con cariño y gratitud**

A mis Abuelitos y Tios

A mis hermanos

Agradezco la cooperación prestada por el Instituto Nacional de
Investigaciones Forestales para la realización de este trabajo
asi como a los ingenieros Roberto Villaseñor Angeles
y Francisco Oliván Palasin

INDICE DE CAPITULOS

- I.- Introducción
- II.- Parte teórica
- III.- Parte experimental
- IV.- Discusión
- V.- Conclusiones
- VI.- Bibliografía

I.- INTRODUCCION

La tesis desarrollada tiene como base la posible utilización de árboles aclimatados en suelos mexicanos que puedan servir de punto de partida para alcanzar compuestos orgánicos de consumo en nuestra industria y que actualmente son productos de importación.

Es necesario comprobar si la composición química reportada para árboles que crecen en Australia, Java y Tasmania sufre variaciones al cambiar al suelo y climas de nuestro país.

El *Eucalyptus Citriodora* se encuentra perfectamente aclimatado en nuestro país en varios estados de la República. El material empleado en nuestro trabajo fué hojas de los árboles que crecen en las ciudades de Morelia y Cuernavaca.

Se presenta en esta tesis un estudio que comprende varios métodos de extracción de la esencia y para la separación de sus componentes, con el objeto de ver cual de ellos nos ofrece rendimientos mejores; tomando en cuenta el lugar de procedencia de las hojas y la estación del año en que fué hecha la cosecha.

II.- PARTE TEORICA

Al *Eucalyptus citriodora* se le conoce también con los nombres de Spotted Gum, Citron Scented Gum y Lemon-Cented Gum; pertenece a la familia de las Mirtáceas. La primera clasificación de este árbol fué hecha en 1848 (1), ahora se distinguen tres variedades de acuerdo con su composición química y se les conoce con los nombres de *E. citriodora* A., *E. citriodora* intermedia y *E. citriodora* hidrocarbonada (2).

En este trabajo nos ocuparemos solo de la variedad A, también conocida como *E. citriodora* HOCKER; este es un árbol que tiene una altura de 20 a 40 metros, por 0.6 a 1.2 metros de diámetro, su corteza es lisa y brillante en toda la superficie del tronco y se desprende en pequeñas placas; las hojas son lanceoladas pisioladas de 10 a 15 centímetros de largo, por 1 a 4 de ancho, con nervadura fina y regular; las inflorescencias terminales corimbos compuestos de 3 a 5 flores, con pedúnculos subcilíndricos de 5 a 7 milímetros; posee yemas de 7 a 8 milímetros; el fruto es forma ovoide, algunas veces presenta forma turbinada (3).

DISTRIBUCION GEOGRAFICA.

Sectores costeros, extendiéndose a 200 millas hacia el interior; se desarrolla en clima tropical y subtropical; muestra una marcada adaptabilidad a la temperatura y a las lluvias; las latitudes a las que se encuentra son 15.5 a 25.5 de norte y sur, crece en suelos de grava y en general suelos pobres pero profundos y húmedos; lo afectan las heladas.

Se encuentra perfectamente aclimatado en varios estados de la República, entre ellos: Michoacán, Morelos, Puebla, Estado de México y Distrito Federal.

COMPOSICION

La parte del árbol mas rica en esencias es la hoja, por lo que la esencia se puede obtener en toda época del año y se evita

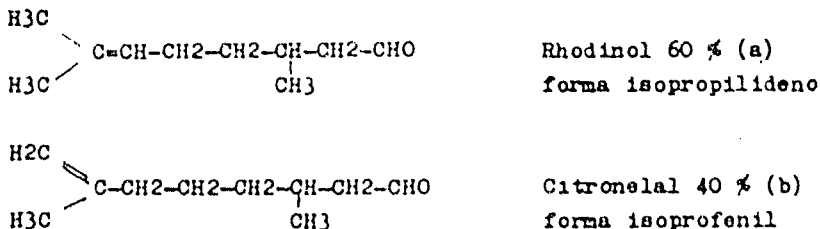
al mismo tiempo la destrucción del árbol.

Panfold y Willis dan la siguiente composición química para el E. citriodora A.

Citronelal -----	de 65 a 85 %
d, l- Citronelol -----	de 15 a 20 %
Geraniol -----	cerca de 5 %
Isopulegol -----	de 1 a 2 %

El butirato de citronelilo y el citronelato de citronelilo se encuentran presentes, pero no han sido aislados ni cuanteados por encontrarse en cantidades menores al 0.01 %, Guaiol determina do en los laboratorios del "Museum of technology and applied science" Sidney.

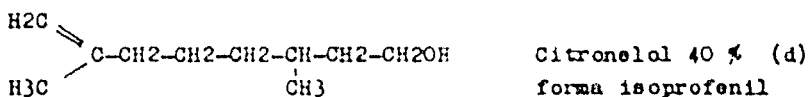
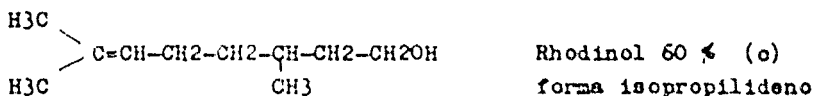
El citronelal se encuentra en la esencia mezclado con su isómero el rhodinal en las siguientes proporciones:



Estos rendimientos fueron obtenidos por Harries en los resultados de la oxidación de la mezcla con permanganato de potasio con ácido crómico y principalmente con ozono. Obteniéndose en el caso del rhodinal peróxido de metil octanal, el semialdehído del ácido beta metil adípico, metil delta 1 ciclopenten 1 - al y el metil ciclopentano 1 carboxílico; para el caso del citronelal el formaldehído y el ácido beta metil adípico (4). Estos porcentajes y composiciones fueron comprobadas, por Rupe, haciendo uso del espectro Raman para sus determinaciones, por Naves, por medio del análisis infrarrojo que demostró que la forma isopropilideno es un compuesto homogéneo (5). Fue estudiado también por Dupont, Desoout y Dilou, quienes al final de sus investigaciones indicaron que en estado de pureza el citronelal y el rhodinal son compuestos idénticos. Estos resultados fueron rebatidos, ya que el

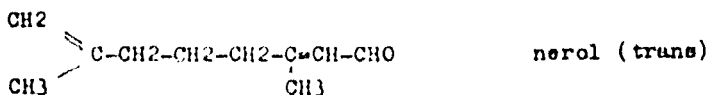
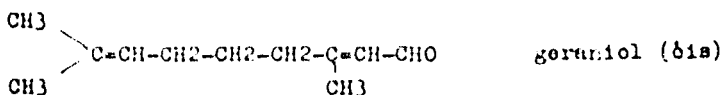
rhodinal y el citronelal fueron separados (6) de su mezcla haciendo una cromatografía en columna gas líquida de Celatom FM-73 per-silicea, obteniéndose dos picos a los 6.6 min el rhodinal y a los 9.5 min el citronelal, usando helio como corriente de gas inerte; la mezcla citronelal-trans isopulegol fueron separadas en columna gas líquida de Comoabsorb W usando también corriente de helio.

El citronelol se encuentra también mezclado con el rhodi-nol.



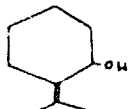
Estos rendimientos fueron dados por los productos resultan-tes de la oxidación con permanganato de potasio en ácido crómico. Los experimentos fueron hechos primeramente por Tiemann y Semmler; les siguieron Wallach (1896), Rott y Sleake (1942). Los porcenta-jes de la mezcla fueron dados por Harries y Homelmann (1908), mos-trando que por la oxidación se obtiene en el caso del rhodinal la acetona, y para el citronelal el formaldehído. El rhodinol fué -separado por Sutherland (1958) del b citronelol por repetidas des-tilaciones fraccionadas con cloruro de bencilo; en este caso la estructura isopropilideno se estabiliza con muchas dificultades.

El geraniol comunmente es una mezcla de sus isómeros geomé-tricos (7) en él los grupos metilo y aldehído están en posición -cis y en el nerol en posición trans



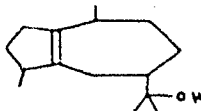
Las estructuras fueron fijadas a partir de los resultados obtenidos por ozonización.

No se sabe exactamente cómo se forma el isopulegol en la planta. Puede formarse por la enolización del citronelal durante la extracción o corrección del aceite esencial (8). Teóricamente puede existir en cuatro formas estereoisómeras, dos *levo* y dos *dextro* rotatorias debido a la existencia de dos carbonos asimétricos.



El butirato y el citronelato de citronelilo pueden ser *levo* o *dextro* rotatorios según el alcohol de que provengan.

El guaicol es un alcohol bicíclico terciario sesquiterpénico (9); su configuración está basada en los resultados de la dispersión óptica rotatoria.



A lo largo de la experimentación se verán los rendimientos obtenidos de estos compuestos notándose que varían según la época del año y el lugar de donde proceden, o sea que influyen en la composición química los factores clima y suelo.

III.- PARTE EXPERIMENTAL

Para extraer la esencia de las hojas se usaron los métodos siguientes:

1.- Destilación por arrastre de vapor de agua.- Consiste en someter a la acción del vapor de agua las partes de la planta ricas en aceite esencial, en este caso esencial. El vapor arrastra el aceite, que se separa del líquido condensado. En industria se — lleva a cabo valiéndose de alambiques y tanques florentinos. La rectificación se obtiene haciendo una destilación al vacío o bien agitando el líquido con éter y separándolo después por destilación.

Se partió de 400 gramos de hojas, obteniéndose 27 ml de aceite de color pardo verdoso y que presenta las siguientes constantes:

Densidad ----- 0.916

Índice de refracción --- 1.479 - 1.494

Solubilidad en 2 volúmenes de alcohol de 80 grados G.

2.- Método basado en la propiedad que tienen las grasas de absorber esencias.- Se funde la grasa y se introducen en ella las hojas. Se mantienen ahí durante 48 horas, haciendo un calentamiento inicial a baja temperatura y dejando reposar a temperatura ambiente el resto del tiempo. La rectificación se hace por repetidas agitaciones con éter y separando después por destilación.

A partir de 400 g de hojas se obtuvieron 9.6 ml de esencia de consistencia oleosa, color café verdoso y con las siguientes constantes:

Densidad ----- 0.832

Índice de refracción --- 1.431

3.- Por disolventes volátiles.- Aprovechando la solubilidad que tienen los aceites en el disolvente y separándolos después por — destilación.

Se probó con tres disolventes:

a) Alcohol.- La hoja finamente picada se somete a reflujo durante 48 horas, se filtra y el alcohol es separado por destilación.

La extracción fué hecha a partir de 400 g de hoja y 4 l de alcohol, obteniéndose 97 ml de esencia color verde y consistencia oleosa, presentando las siguientes constantes:

Densidad ----- 0.876
Índice de refracción -- 1.418 - 1.423

b) Hexano.- Se practica una operación similar a la anterior, -- usando hexano normal como disolvente en las siguientes proporciones: para 1 kg de hojas 10 l de hexano.

Se partió de 400 g de hoja obteniéndose 241 ml de aceite esencial de color verde y con las siguientes constantes:

Densidad ----- 0.791
Índice de refracción -- 1.425

c) Cloroformo.- Operando en la misma forma que en las extracciones anteriores, usando para la extracción las hojas a las que ya se les ha hecho la extracción con hexano, se obtienen 48 ml de un líquido muy espeso de color verde con las siguientes constantes:

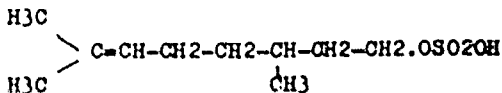
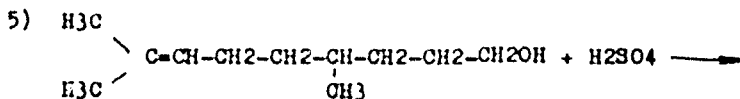
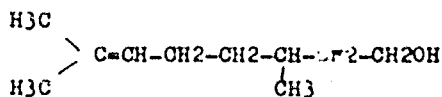
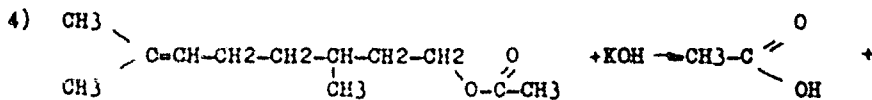
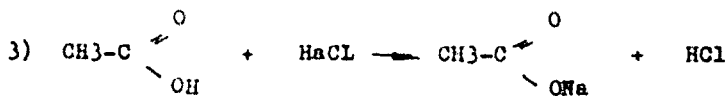
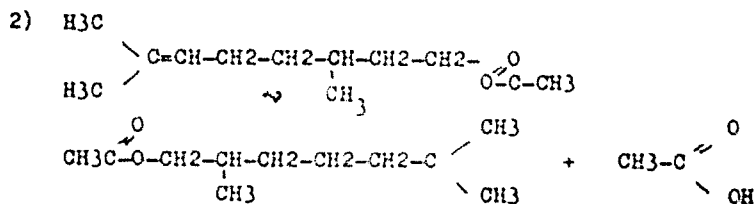
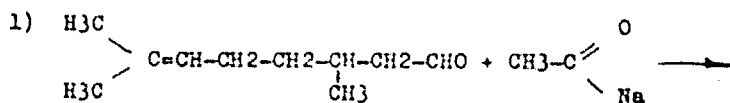
Densidad ----- 1.248
Índice de refracción -- 1.301

Para saber cual de los métodos de extracción empleados es el que nos ofrece mejores rendimientos se les hace a cada una de las esencias obtenidas una serie de análisis cuantitativos, usando los métodos siguientes:

Geraniol total.- Se designa con este nombre la cantidad de elementos acetilables presentes en la esencia como son: geraniol, nerol, citronelal - rhodinol, citronelol - rhodinol.

La determinación se hace de la siguiente manera: 10 ml de aceite esencial con 10 ml de anhídrido acético. Se calientan a baño de arena durante los horas con dos g de acetato de sodio fundido previamente. Después de enfriar se agregan 20 ml de agua y se calientan agitando fuertemente durante 20 minutos para destruir el exceso de anhídrido acético. El aceite recogido en un embudo separador se lava hasta que la reacción neutra con solución de clo

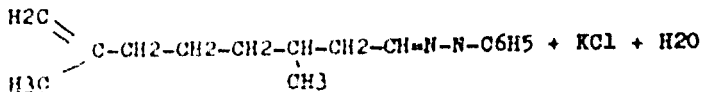
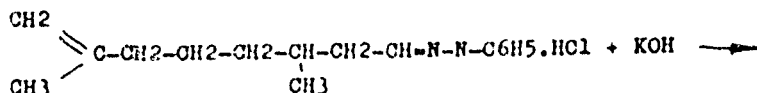
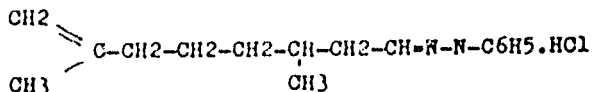
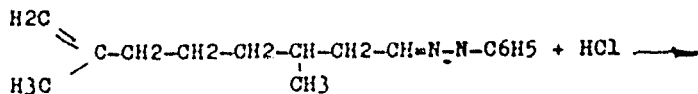
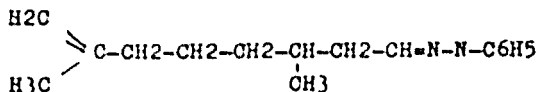
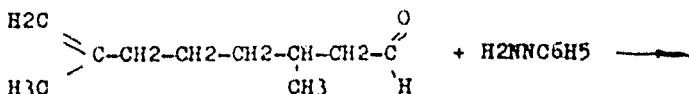
ruro de sodio. Se seca con sulfato de sodio libre de agua. El aceite exactamente neutralizado se saponifica durante una hora con 20 ml de solución KOH 0.5N y el sobrante de alcoholes se valora con ácido sulfúrico 0.5 N (10).



Determinación de citronelal.- Se determina ventajosamente por el método de Kleber. Se mezclan dos g de aceite con solución

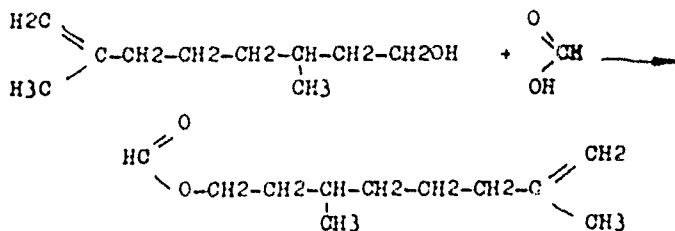
de fenil hidracina al 2 % recientemente preparado, dejando reposar durante una hora; se agregan 20 ml de HCl 0.1 N mezclando los líquidos con un balanceo suave. Después de añadir 10 ml de benceno se agita fuertemente, se separan los líquidos por medio de un embudo, se filtra; el filtrado se valora con solución de KOH 0.1 N, usando naranja de metilo como indicador. Para la determinación del valor de la solución de fenilhidracina se hace un ensayo en blanco. Si para el primer caso se requiere una cantidad A, y para el segundo una cantidad B y la muestra empleada se representa por S g y como un ml de KOH 0.1 N corresponde a 0.154 de citronelal la fórmula será: (11)

$$\frac{(A-B)0.154}{S} = \% \text{ de citronelal}$$



Determinación de citronelol.- Se sigue el método de Walbaum y Stephan. Por razones de seguridad debe destruirse el geraniol existente, se procede de la siguiente manera: 10 ml de aceite esencial se calienta hasta que hierva suavemente durante una hora a baño de arena, con un volumen doble de ácido fórmico fuerte; después de enfriar se diluye con agua y se lava hasta reacción neutra. Del éster separado y seco con sulfato de sodio se determina el índice de ester, del cual se deduce la cantidad de alcohol. El geraniol, nerol y linalool se destruyen al calentar con ácido fórmico fuerte y de esta manera se obtiene solo el ester del citronelol. Para los cálculos se emplea la siguiente fórmula en donde x representa los ml de KOH usados en la determinación del índice de ester y w el peso del ácido fórmico usado:

$$\frac{x(15.6)}{w - x(0.028)} = \% \text{ de citronelol}$$



Existen otros métodos comerciales y analíticos para hacer estas determinaciones como son: para el geraniol el método del cloruro cálcico y un método colorimétrico (12) (13); para el citronelol el método de Dupont - Labaume, el de Reclaire y Spolestra (14), el de bisulfito de Boulez y el comercial por medio del frasco de Casie y la mezcla de hidroxilamina con el aldehído, existen varios métodos colorimétricos, para el citronelol, el método del anhídrido ftálico y el del tricloruro de fósforo.

En seguida se procede a hacer el análisis elemental de cada una de las esencias obtenidas.

1.- Determinación de metales.- Se lleva la muestra a sequedad

se queda residuo se debe a la existencia de metal.

2.- Determinación de Nitrógeno.- Se hace una fusión con sodio metálico y una cantidad de muestra; se disuelve la fusión en metanol y agua; de este líquido se toman varias fracciones para las determinaciones posteriores.

Para determinación de nitrógeno se toman 5 ml de este líquido en un tubo de ensayo, se calienta con solución de sulfato ferroso y cloruro férrico, si existe nitrógeno se forma el sulfocianuro férrico de color azul de prusia.

3.- Determinación de azufre.- Se toman 5 ml del líquido obtenido de la fusión con sodio; se calienta un poco y en la parte superior del recipiente en el que se hace el ensayo se coloca un papel de acetato de plomo, la prueba resulta positiva cuando el papel es ennegrecido.

4.- Determinación de cloruros.- Se añaden a 5 ml de la fusión con Na 1 ml de solución de AgNO_3 , dando un precipitado blanco si la reacción es positiva, este precipitado ennegrece a la luz y se disuelve al agregar amoníaco.

5.- Determinación de $-\text{O}_2$.- La muestra por analizar da con benceno QP una coloración roja si existe oxígeno. Este método no ofrece la exactitud deseada, por lo que se comprueba con el siguiente: se sumergen tiras de papel filtro en una solución de sulfocianuro férrico en alcohol metílico y se secan al aire. El papel reactivo debe prepararse en el momento de emplearlo. Se vierten unas gotas de la solución que se investiga en el papel filtro, manifestándose la reacción positiva por la aparición de un color rojo vino (solución con el sulfocianuro férrico). (15).

Se determina después los grupos funcionales que existen en la esencia (16).

a) Investigación de aldehidos: Agitados con una solución de fucina decolorada (reactivo de Schiff) dan en seguida una coloración intensa.

b) Calentando con alcohol y una solución de meta fenilen diamina dan una coloración amarilla.

Investigación de alcoholes a).- Calentando a baño maría 2 ml de aceite esencial en un tubo de ensayo cerrado con un copo de algodón en el que se habrá colocado un gramo de fuccina, el algodón se tinte de rojo si existe alcohol.

Investigación de fenoles.- Los aceites volátiles que contienen fenoles agitados con una solución de NaOH o KOH disminuyen en volumen proporcionalmente a su riqueza en fenoles, por disolverse éstos en los álcalis. La solución alcalina así obtenida, acidificada, abandona el fenol reconocible por la reacción con el cloruro férrico.

Investigación de ácidos.- Se reconocen por la disminución en volumen que sufre la esencia al agitarla con leña alcalina por formarse la sal del ácido.

Investigación de Cetonas.- Reaccionan con solución de hidroxilamina dando derivados sólidos, la reacción es muy lenta y poco precisa, ya que los aldehidos también la dan.

Los resultados de estos análisis son los siguientes. Se usa la misma numeración empleada en las extracciones.

Determinaciones de geraniol total.

1.- Esencia obtenida por arrastre de vapor. Se hicieron 5 extracciones por este método y a cada una de ellas se les determinó geraniol total.

Al practicar el análisis y lavar con solución de NaCl aparece un precipitado amarillo verdoso, por lo que se filtra antes de secar con sulfato de sodio.

muestra usada	cantidad ml	ml de H ₂ SO ₄	Resultados %
1	10	23.83	46.1
2	10	21.50	41.6
3	10	24.21	46.9
4	10	23.75	44.6
5	10	22.90	44.3

2.- Esencia obtenida por absorción en grasa. Se hicieron dos extracciones en grasa, los resultados fueron:

muestra usada	cantidad ml	ml de H2SO4	Resultados %
1	10	17.5	34.9
2	10	15.8	30.6

3.- Disolventes volátiles.

a) Alcohol. Se hicieron 4 extracciones y de cada una se hizo un análisis, de la esencia rectificada y antes de rectificar. Llamaremos con números arábigos a las que no han sido rectificadas, y con romanos las rectificadas.

muestra usada	cantidad ml	ml de H2SO4	Resultados %
1	10	35.6	69.1
2	10	35.9	69.6
3	10	34.6	67.0
4	10	33.7	65.2
I	10	35.2	68.2
II	10	35.6	69.1
III	10	34.5	68.8
IV	10	33.5	64.9

b) Hexano.- Se efectuaron 6 extracciones. Se hizo a cada una esta determinación.

muestra usada	cantidad ml	ml de H2SO4	Resultados %
1	10	42.7	82.7
2	10	41.4	80.2
3	10	40.9	79.2
4	10	41.7	80.8
5	10	43	83.1
6	10	42.5	81.3

o) Cloroformo.- Se efectuaron 5 extracciones de las cuales se -
obtuvieron los resultados siguientes:

muestra usada	cantidad ml	ml de H2SO4	Resultados %
1	10	8.8	13.7
2	10	8.3	13.9
3	10	8.5	13.2
4	10	8.1	13.6
5	10	8.4	13.1

Determinación de citronelal.

1.- Por arrastre de vapor se hicieron 5 determinaciones. En la
valoración de la fenil hidracina se ocuparon 0.6 ml de NaOH.

muestra usada	cantidad g	ml de KOH	Resultados %
1	2	11	30.8
2	2	12.3	45.0
3	2	11.5	32.72
4	2	11.2	40.7
5	2	11.8	42.5

2.- Absorción con grasa. Los resultados obtenidos de las dos extracciones practicadas son:

muestra usada	cantidad g	ml de KOH	Resultados %
1	2	9.8	35.2
2	2	9.0	32.2

3.- Disolventes volátiles.

a).- Alcohol.- Se hicieron 8 determinaciones, 4 de las cuales -- fueron en la esencia rectificada y 4 sin rectificar.

muestra usada	cantidad g	ml de KOH	Resultados %
1	2	13.6	49.5
2	2	14.2	55.2
3	2	14.1	50.4
4	2	13.9	53.2
5	2	13.8	52.7
6	2	14.0	53.5
7	2	13.9	53.2
8	2	14.1	50.0

b) Hexano.- Se hicieron 6 determinaciones, obteniéndose los siguientes resultados:

muestra usada	cantidad g	ml de KOH	Resultados %
1	2	16	61.1
2	2	17.5	67.1
3	2	17.2	65.9
4	2	16.8	64.4
5	2	16.7	64.06
6	2	16.4	63.6

o)x Cloroformo.- Se hicieron 5 extracciones y los correspondientes análisis:

muestra usada	cantidad g	ml de KOH	Resultados %
1	2	5.2	9.7
2	2	5.8	12.0
3	2	4.8	8.0
4	2	5.4	11.5
5	2	5.6	11.7

Determinación de citronelol.

1.- Arrastre de vapor.- Se hicieron 5 determinaciones, obteniéndose los resultados siguientes:

muestra usada	cantidad g	ml de KOH	Resultados %
1	2	5.3	5.9
2	2	5.8	3.9
3	2	5.6	5.6
4	2	5.9	6
5	2	5.4	5.3

2.- Absorción en grasa. Fueron hechas dos determinaciones:

muestra usada	cantidad g	ml de KOH	Resultados %
1	2	1.5	0.7
2	2	1.8	1.02

3.- Extracción con disolventes:

a) Alcohol. El análisis se hizo 8 veces en la esencia rectificada y sin rectificar:

muestra usada	cantidad g	ml de KOH	Resultados %
1	2	15.3	15.9
2	2	15.8	13.9
3	2	15.6	15.6
4	2	15.4	16
I	2	15.2	15.8
II	2	15.6	15.6
III	2	15.4	16
IV	2	15.2	15.8

b) Hexano.- Se hicieron 6 determinaciones, los resultados son:

muestra usada	cantidad g	ml de KOH	Resultados %
1	2	16.4	17.2
2	2	17.1	17.55
3	2	16.8	17.1
4	2	17.0	17.4
5	2	16.7	17.0
6	2	16.8	17.1

c) Cloroformo.- Fueron hechas 5 determinaciones, los resultados son:

muestra usada	cantidad g	ml de KOH	Resultados %
1	2	0.8	0.8
2	2	0.1	0.1
3	2	0.6	0.62
4	2	0.9	0.86
5	2	0.8	0.8

Son hechos otros análisis, tomando en cuenta el lugar de procedencia de la hoja y la estación en que fué hecha la cosecha.

Partiendo de hojas obtenidas de árboles que crecen en Morelia, Mich., los resultados son los siguientes:

PRIMAVERA

	geraniol	total	citronelal	citronelol	geraniol
Arrastre de vapor	4.9	40.7	4.2	---	---
Absorción en grasas	30.6	30.2	---	---	0.4
Alcohol	67.7	52.7	15.1	---	---
Hexano	81.3	63.6	17.0	---	0.6
Cloroformo	13.1	10.1	2.5	---	0.4

VERANO

	geraniol	total	citronelal	citronelol	geraniol
Arrastre de vapor	48.9	43	4.3	---	0.9
Alcohol	69.1	55.2	14	---	---
Hexano	86.7	67	17.2	---	1.9
Cloroformo	14.1	12	1.9	---	0.2

OTOÑO

	geraniol	total	citronelal	citronelol	geraniol
Arrastre de vapor	46.0	41.6	3.9	0.5	
Alcohol	67.0	52.7	14.1	0.2	
Hexano	82.7	64.4	17.1	1.2	
Cloroformo	13.7	11.1	2.1	0.5	

INVIERNO

	geraniol	total	citronelal	citronelol	geraniol
Arrastre de vapor	40.6	31.80	6.20	2.6	
Alcohol	65.2	49.5	3.6	2.1	
Hexano	79.2	61.1	15.8	2.3	
Cloroformo	12.5	9.6	2.1	0.8	

Cuando se parte de hojas procedentes de Cuernavaca, Mor., los resultados son los siguientes:

PRIMAVERA

	geraniol	total	citronelal	citronelol	geraniol
Arrastre de vapor	44.9	40.72	4.25	---	
Absorción en grasa	34.9	33.2	1.3	0.4	
Alcohol	67.2	53.2	15.0	---	
Hexano	81.5	64.06	17.1	0.4	
Cloroformo	13.0	10.0	2.5	0.5	

VERANO

	geraniol total	citronelal	citronelol	geraniol
Arrastre de vapor	50.1	45.0	4.8	0.3
Alcohol	69.6	55.2	14.1	0.3
Hexano	86.7	67.1	17.2	2.4
Cloroformo	14.8	12.7	2.0	0.1

OTOÑO

	geraniol total	citronelal	citronelol	geraniol
Arrastre de vapor	46.8	41.9	5.3	—
Alcohol	67.2	53.2	14.0	—
Hexano	83.7	65.9	17.6	0.6
Cloroformo	13.5	11.0	2.1	0.4

INVIERNO

	geraniol total	citronelal	citronelol	geraniol
Arrastre de vapor	41.6	31.8	6.5	2.3
Alcohol	64.9	50.0	13.2	1.7
Hexano	80.2	62.8	16.5	1.1
Cloroformo	12.5	9.4	2.1	1.0

Separación.- Se practicaron diferentes métodos de separación, — con el objeto de ver cual es el que nos brinda rendimientos mejores.

Separación de aldehidos.- Se separan por repetidas agitaciones — con solución concentrada de bisulfito de sodio (50 %), añadiendo 5 ml de alcohol para acelerar la reacción. Al practicar el trata

VERANO

	geraniol total	citronelal	citronelol	geraniol
Arrastre de vapor	50.1	45.0	4.8	0.3
Alcohol	69.6	55.2	14.1	0.3
Hexano	86.7	67.1	17.2	2.4
Cloroformo	14.8	12.7	2.0	0.1

OTOÑO

	geraniol total	citronelal	citronelol	geraniol
Arrastre de vapor	46.8	41.9	5.3	—
Alcohol	67.2	53.2	14.0	—
Hexano	83.7	65.9	17.6	0.6
Cloroformo	13.5	11.0	2.1	0.4

INVIERNO

	geraniol total	citronelal	citronelol	geraniol
Arrastre de vapor	41.6	31.8	6.5	2.3
Alcohol	64.9	50.0	13.2	1.7
Hexano	80.2	62.8	16.5	1.1
Cloroformo	12.5	9.4	2.1	1.0

Separación.- Se practicaron diferentes métodos de separación, — con el objeto de ver cual es el que nos brinda rendimientos mejores.

Separación de aldehidos.- Se separan por repetidas agitaciones — con solución concentrada de bisulfito de sodio (50 %), añadiendo 5 ml de alcohol para acelerar la reacción. Al practicar el trata

miento con el bisulfito de sodio se separan una masa cristalina - que está constituida por el compuesto del aldehído con el bisulfito de sodio; esta masa se filtra y se escurre; se lava con 20 ml de alcohol y 20 ml de éter. De los aldehídos que aun quedan en solución se logra separar una pequeña parte por repetidas agitaciones por éter. Obtenidos los compuestos dobles con el bisulfito de sodio se descomponen para recuperar el aldehído calentándose suavemente con un álcali o carbonato alcalino, se extrae luego los aldehídos liberados por agitaciones con éter y separándolos - después por destilación fraccionada. Se partió de 100 ml de aceite esencial. Se trataron con 100 mililitros de solución al 50 % de bisulfito de sodio, 10 ml de alcohol etílico; la masa del compuesto bisulfito - aldehído se lava con 20 ml de alcohol y 20 ml de éter.

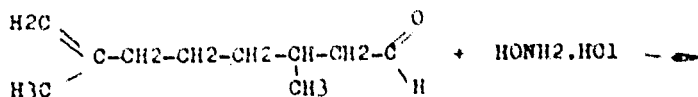
Los aldehídos que quedan en la solución son removidos con 500 ml de éter. Se añaden 50 g de carbonato de sodio con el fin de recuperar los aldehídos y son extraídos de la mezcla al agitarlos con 250 ml de éter. Se obtienen 7 ml de aldehídos en estado líquido, color amarillo y olor citronelal.

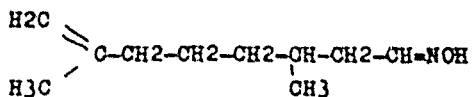
Presenta las siguientes constantes:

Densidad ----- 0.8532

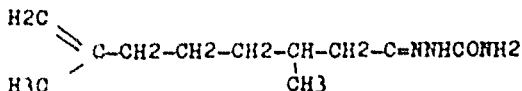
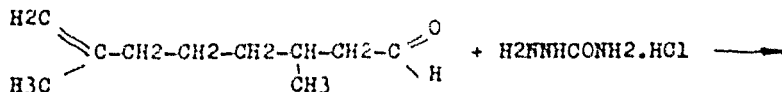
Indice de refracción -- 1.4997

La oxima se prepara según Semler; 2 ml de aldehído o sea - 1.7064 g disueltos en 5 ml de alcohol se tratan con 5 ml de solución al 50 % de clorhidrato de hidroxilamina y carbonato de sodio en agua; la mezcla queda turbia; la turbidez desaparece al añadir 2 ml de alcohol. La mezcla se calienta 20 minutos a baño maría - al cabo de los cuales se encuentra la oxima cristalizada. Se determina el punto de fusión a 130 C y a 15 mm de presión que corresponde a 658 C de presión ordinaria.

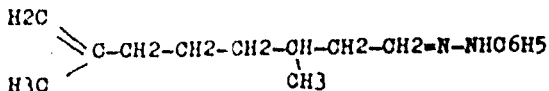
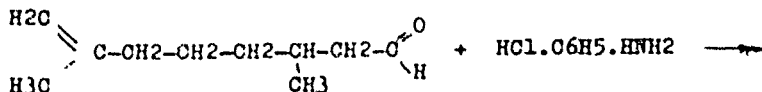




La semicarbazona se obtiene disolviendo dos gramos de clorhidrato de semicarbazida y 2 g de acetato de sodio en 10 ml de alcohol y se mezclan con dos gramos de aceite esencial disueltos en 5 ml de alcohol; se calienta 20 minutos a baño maría y la semicarbazida se recristaliza en metanol: presenta un punto de fusión de 79 C.



La fenil hidracina se prepara haciendo actuar 2 g de clorhidrato de fenil hidroxilamina con 2 g de aldehidos disueltos en 10 ml de éter. El punto de fusión es de 110 C.



Separación de geraniol.- Se basa en la propiedad que tiene el geraniol de reaccionar con el cloruro cálcico dando un compuesto sólido del cual es regenerado al disolver el compuesto en agua y de ahí extraerlo con éter.

Se parten de 100 ml de esencia con 100 g de cloruro cálcico obteniéndose 12,5 g del compuesto geraniol, cloruro cálcico; -

se disuelve 25 ml de agua y se agita con 50 ml de éter, obteniéndose 1.07 g de geraniol.

Densidad ----- 0.853

Índice de refracción -- 1.352

Separación de alcoholes.- Se aislan convirtiéndolos en ésteres - ftálicos, tribóricos o benzoicos.

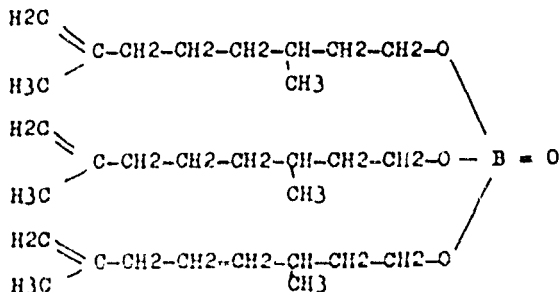
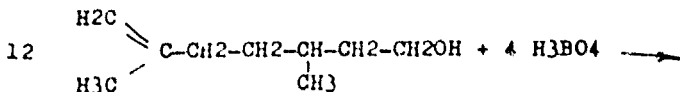
La separación de los alcoholes por el método del ácido bórico se realiza mezclando 100 ml de esencia con 50 g de ácido bórico; se calienta suavemente para llevar a cabo la esterificación eliminando por destilación los componentes que no reaccionan y se saponificando finalmente por medio de una solución de NaOH 0.5 N y con auxilio del calor los ésteres bóricos no volátiles. Se obtienen 23 g de ésteres bóricos, los cuales se purifican por recristalizaciones en benceno. De los ésteres purificados se recuperan los alcoholes por medio de una hidrólisis.

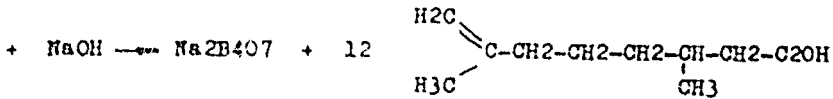
Se practicó una hidrólisis débilmente ácida con la cual no se logró la separación de los alcoholes.

Por medio de una hidrólisis débilmente alcalina calentando suavemente y agitando la mezcla posteriormente con 50 ml de éter se lograron separar 1.482 g de alcoholes, cuyas constantes son:

Densidad ----- 0.854

Índice de refracción -- 1.35



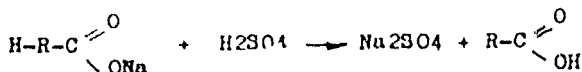
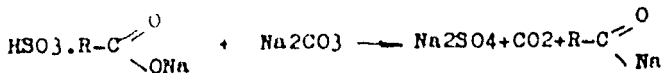
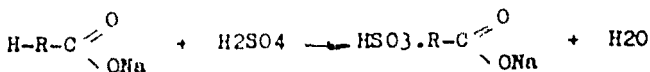
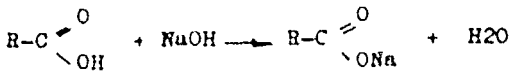


Separación de hidrocarburos (Wallach).- Se saturan 10 ml de ácido acético cristalizante con HCl y se añaden 10 ml de aceite esencial en 10 ml de ácido acético cristalizante. La formación de los derivados debe realizarse rápidamente en forma sólida. En nuestro caso la prueba resulta negativa ya que se obtiene un residuo de color amarillo y de consistencia oleosa.

Separación de ácido y fenoles.- Se diluyen 100 ml de la esencia con 200 ml de éter y se agita tres veces con 100 ml de solución 0.5 N de NaOH. Los líquidos alcalinos se libran por repetidas agitaciones con éter de las porciones de esencia que hayan podido arrastrar. De la solución así purificada se precipita mediante la adición de H2SO4 0.5 N 50 ml la mezcla de ácidos y fenoles. Después de recoger esta mezcla por agitación con éter, se trata cuidadosamente la solución etérea que así se obtiene para separar los ácidos con solución al 1 % de Na2CO3; esta solución se purifica a la vez por agitación con éter y luego se ponen los ácidos en libertad mediante 20 ml de H2SO4. Los ácidos así obtenidos pueden reconocerse por medio de sus sales argentícas.

Se obtienen 0.468 g y se encuentran muy impuros.

R = radical



La solución eterea que se había tratado con solución de Na_2CO_3 contiene los fenoles; se priva del éter y para su separación se recurre a la formación de compuestos característicos. Son muy apropiados para la separación y reconocimiento de los fenoles los compuestos benzólicos que se obtienen con facilidad mediante la reacción de Schotten Baumann (18).

El líquido de la separación de los fenoles se lleva a sequedad, quedando un residuo blanco con puntos rojos. Con 1.87 g de este residuo se hace una fusión alcalina utilizando 5 g de KOH y 5 g de NaOH; se mantiene la fusión por 30 minutos al cabo de los cuales se vierte en agua fría. El producto sólido es muy poco soluble, no hay reacción aparente. A medida que la temperatura aumenta la masa cambia rápidamente y se separa una capa móvil que flota sobre el álcali fundido; se vacía en agua fría; los álcalis se disuelven quedando un residuo que se supone sean los fenoles. Este residuo es de color blanco, da un precipitado color naranja con el cloruro férrico; se trata el residuo obtenido con agua de bromo para ver si existen dobles ligaduras; el bromo es decolorado por lo que la reacción es positiva.

Separación cromatográfica.

Se parte de aceite esencial extraído con hexano y cloroformo. A la esencia extraída con hexano se le libra de su parte sólida y se somete a defecación con Subacetato de plomo en 10 l de agua y 10 l de etanol para 1 kg de aceite esencial. Se hace la mezcla y se deja reposar durante 48 horas al cabo de las cuales se separan ambos líquidos y con la parte menos densa se procede a hacer una cromatografía.

En esta defecación no precipitan las sales inorgánicas y el líquido de la defecación presenta sus características iniciales.

La separación cromatográfica en columna se hace usando tres empaques: alúmina activada según Brookman silicagela G y tierra silícea.

Alúmina.- Se empaque una columna de 40 cm de longitud por 2.5 cm

de diámetro; se impregna con hexano y se pasan 5 ml de esencia; - los disolventes se van pasando de menor a mayor polaridad obteniéndose las siguientes fracciones: (18)

1.- Hexano.- Arrastra una fracción de color naranja; quedando - al separar el disolvente un líquido de consistencia oleosa y gran olor a citronelal; se obtienen 0.7435 g o sea el 30 % del total - de la esencia de que se partió.

A esta fracción se le hace una cromatografía en placa fina de alúmina G preparada de la siguiente manera: (20) 30 g de alúmina G con 60 ml de agua destilada; se lleva al extendedor y se aplica con uniformidad sobre placas de vidrio de 10 por 5 cm. Con objeto de activar las placas, se secan en la estufa durante 30 minutos a 120 grados.

La sustancia por separar se deposita en pequeñísima cantidad con una pipeta capilar en la parte inferior de la placa. Para revelar se pone la placa en una cubeta rectangular con tapa de vidrio. La elección de la mezcla disolvente se hace utilizando la escala eulotrópica; el eluente se deposita también con pipeta. Usando hexano como eluente se obtiene una sola mancha de color naranja. Por lo que esta fracción está compuesta de un solo constituyente que presenta las siguientes constantes:

Densidad -----	1.137
Índice de refracción ---	1.4345
Punto de fusión Oxima --	130°C a 14 mm
Punto de fusión Fenil Hidrazona -----	100°C
Punto de fusión Semicarbazona -----	79°C

2.- Benceno.- Separa un líquido amarillo verdoso de gran olor a citronelal y de consistencia oleosa. Se le hace una cromatografía en placa, obteniéndose una mancha naranja cuando se usa hexano y una mancha much más pequeña de color amarillo al usar cloroformo. Las constantes que presenta son:

Densidad -----	0.715
Índice de refracción ---	1.32

Posteriormente a esta fracción se le hará otra cromatografía.

3.- Cloroformo.- Separa un líquido amarillo oscuro; por cromatografía en placa se sabe que es una sola substancia la que se encuentra presente. Sus constantes son:

Densidad -----	0.8376
Índice de refracción --	1.4535
Punto de fusión -----	90° C a 14 mm
Punto de ebullición -----	

4.- Al pasar éter y evaporarlo no deja ningún residuo.

5.- Acetona. Arrastra un líquido amarillo naranja muy denso al efectuar una cromatografía en placa se obtiene dos manchas, una de color naranja al usar acetona como disolvente y una color amarilla usando benceno. A esta fracción se le hará posteriormente otra separación para obtener mayor pureza.

6.- Alcohol isopropílico. Al evaporarlo no queda ningún residuo.

7.- Alcohol etílico. Al separar el disolvente no deja residuo.

8.- Metanol. No deja residuo al separar el disolvente.

En la columna queda retenida toda la clorofila que contenía la esencia.

Empleando una columna similar se cromatografía la fracción - 2.

Para evitar confusiones a las fracciones obtenidas de esta cromatografía se usarán el número de la fracción de que provienen y letras que indiquen el disolvente usado.

2A.- Hexano.- Separa un líquido amarillo naranja, sus constantes son:

Densidad -----	1.137
Índice de refracción -----	1.435

Las características son similares al líquido obtenido en la fracción 1.

2B.- Usando benceno no deja residuo.

2C.- Con cloroformo se obtiene un líquido amarillo que por la cromatografía en placa demuestra que es un solo componente; pre-

presenta las siguientes constantes:

Densidad	—————	1.123
Índice de refracción	———	1.41

Los restantes disolventes de la tabla electrópica no dejan residuo. La columna queda completamente blanca.

Se parte de la fracción 5 para hacer otra cromatografía.

5A.- El hexano al evaporar no deja residuo.

5B.- Al emplear benceno no deja residuo.

5C.- Con cloroformo se obtiene un líquido amarillo pálido; por medio de una cromatografía en placa se obtiene una sola mancha; - presenta las siguientes constantes:

Densidad	—————	0.86
Índice de refracción	———	1.456

5D.- Con éter no se obtiene residuo.

5E.- Con acetona queda un líquido amarillo naranja que por cromatografía en placa revela una sola substancia que presenta las siguientes constantes:

Densidad	—————	1.139
Índice de refracción	———	1.432
Punto de fusión	Oxina —————	130°C a 14 mm
	Fenil Hidrazona —	100°C
	Semicarbazona ——	78°C

Con el resto de disolventes no se obtiene residuo.

Se usan columnas como las descritas para el caso de la alúmina. La columna se empaca teniendo la mitad de la columna con hexano y añadiendo la sílicagela G. Se pasan 3 ml de esencia obteniéndose las siguientes fracciones:

1.- Hexano no deja residuo.

2.- Con benceno se obtiene un líquido amarillo que, al efectuar una cromatografía en placa no revelan dos manchas, una amarilla — empleando benceno y otra amarilla pálida utilizando acetona. Presenta las siguientes constantes:

Densidad _____ 1.14
Indice de refracción _____ 1.438

3.- Con cloroformo se obtiene un líquido amarillo que por que en la placa se obtiene una sola mancha al usar cloroformo:

Densidad _____ 0.85
Indice de refracción _____ 1.45

4.- Acetato de etilo. Arrastra la clorofila. Al hacer la cromatografía en placa se obtienen tres manchas, una de color verde y dos más pequeñas de colores amarillos. De esta fracción se hará - después otra separación.

Con el resto de los disolventes no se obtiene residuo.

1a.- Con hexano no se obtiene residuo.

1b.- Con benceno se obtiene un líquido amarillo que en la placa - revela una sola mancha de color amarillo y las siguientes constantes:

Densidad _____ 0.877
Indice de refracción _____ 1.539

1c.- Con cloroformo no deja residuo.

1d.- Con acetona obtenemos un líquido amarillo que solo da una - mancha en la placa y que presenta las siguientes constantes:

Densidad _____ 0.862
Indice de refracción _____ 1.47

Con el resto de los disolventes no se obtiene residuo.

4a.- Con hexano no se obtiene ningún residuo.

4b.- Se obtiene un líquido amarillo empleando benceno y en muy - poca cantidad, su índice de refracción es 1.54

4c.- Con cloroformo no se obtiene residuo.

4d.- Con acetona se obtiene una pequeña cantidad de líquido co- - lor amarillo, con un índice de refracción de 1.478

Tierra silicea.

Preparando la columna de igual manera que cuando se usó - alúmina. Se obtiene las siguientes fracciones:

- 1.- Hexano, no deja residuo.
- 2.- Con benceno se obtiene un líquido amarillo pálido; en la placa solo se obtiene una mancha. A partir de 3 ml se obtuvieron -- 0.43 g de esta fracción.
- 3.- Cloroformo. La columna se limpia al añadir este disolvente.

De la extracción con cloroformo se hace una defecación con subacetato de plomo preparado como se indicó anteriormente y dejando reposar 48 horas, al cabo de los cuales se obtiene una masa sólida de color verde en la parte inferior del recipiente y un líquido amarillo en la parte superior; se separan dichas capas con la capa superior se hace una destilación para separar el alcohol que contiene la solución y con el residuo de esta destilación se hace una cromatografía usando alúmina activada como empaque de la columna.

Se obtienen las siguientes fracciones; partiendo de 3 ml.

Se usa numeración romana para evitar confusiones.

I.- Hexano.- Se obtiene un líquido espeso de color amarillo y olor a citronelal, en la placa aparece solo una mancha y presenta las siguientes constantes:

Densidad -----	0.85
Indice de refracción -----	1.492

II.- Benceno. Se obtiene un líquido color naranja con cristales en forma de prisma en suspensión. Al efectuar la cromatografía en placa se obtienen dos manchas, una de color café y otra más pequeña de color naranja. Se separan los cristales del líquido y se purifican disolviendo en cloroformo y purificando en metanol. Se obtuvieron 0.00297 g de este producto.

3.- Cloroformo. Se obtienen sólidos color amarillo café que cristalizan en forma de prismas rectangulares. Se obtienen 0.00513 g purificados de igual manera que en el caso anterior.

4.- Con eter no deja ningún residuo.

5.- Acetona. Se obtiene un líquido amarillo, presenta un indice de refracción de 1.493.

El resto de los disolventes no dejan residuo después de evaporarlos.

A los cristales obtenidos se les hace un análisis elemental resultando que poseen carbón, hidrógeno y oxígeno; por el análisis funcional se sabe que es un compuesto aromático que posee grupo OH y dobles ligaduras. Estas determinaciones se hicieron con los métodos señalados anteriormente.

Presentan un punto de fusión ----- 90°C
Densidad ----- 0.9068

Por estos resultados se deduce que este compuesto es el guyol reportado por el "Museum of Technology and Applied Science" - Sidney.

La parte sólida separada del aceite esencial obtenido por extracción por hexano se purifica al lavar varias veces con hexano, disolviendo en cloroformo y recristalizando en metanol. El producto puro es de color amarillo; presenta formas de agujas; al practicársele el análisis elemental se encontró que existen carbón, hidrógeno y oxígeno; en estado de pureza presenta un PF de -192°C .

De 400 g de hojas se obtiene 4.5 g de este producto en forma impura; al purificar se obtienen cantidades que varían de 1 a 2.3 g.

Por los análisis infrarrojos y ultravioletas⁺ se llega al conocimiento de que el mencionado producto natural es una nueva flavona, cuya estructura no ha sido determinada y que puede ser tema de trabajos posteriores.

Análisis por calcinación: 70.68 % C ; 6.18 % H; 23.28 % O.

La fórmula mínima de este compuesto es $(\text{C}_4 \text{H}_4 \text{O})_n$.

El peso molecular es⁺

El PF es de 192°C

+ Hecho amablemente por el Sr. Doctor Pierre Crabbé del departamento de investigaciones de los laboratorios Syntex.

+ Según el doctor Frank Pasher, Dipl-Chem y E. Pasher, Dipl Chem Mikroanalytisches Laboratorium. - Bonn Alemania.

DISCUSION

1.- Se practicó la extracción por cuatro métodos diferentes con el objeto de conocer cual de ellos nos proporciona mejores rendimientos.

Las extracciones se hicieron tomando en cuenta el lugar de procedencia de la hoja y la estación del año en que se hizo la cosecha.

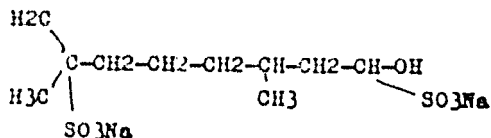
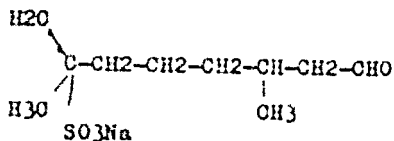
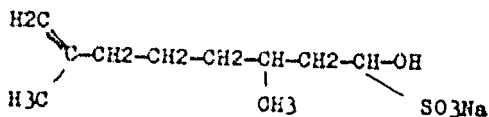
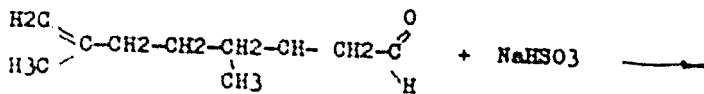
- a) La destilación por arrastre de vapor se efectúa industrialmente en Tasmania, Australia y Java pero los rendimientos obtenidos son bajos y por consiguientes las pérdidas altas.
- b) Usando el método de absorción en grasa que industrialmente es usado en Francia, los resultados obtenidos no fueron satisfactorios.
- c) Empleando alcohol como disolvente el rendimiento obtenido es más elevado que con los métodos anteriores.
- d) Al usar la doble extracción hexano - cloroformo los rendimientos aumentan; esto se debe a que se logra un margen de polaridad más amplio que permite extraer compuestos más o menos polares, haciendo de esta manera una extracción más completa.

Lo que queda demostrado ampliamente en las tablas de los resultados de los análisis efectuados.

Usando este método se logra la extracción de una nueva flavona y del gungol que no se logran extraer por los demás métodos aplicados.

2.- Separaciones

- a) En la separación de los aldehidos por el método de bisulfito de sodio los rendimientos son bajos debido a que se pueden obtener tres compuestos de adición del citronelal con el bisulfito de sodio, de los cuales solo uno logra regenerar el aldehido original.



El rhodinal reacciona con el bisulfito de sodio formando un compuesto sulfonado que queda en la solución y del que no se puede regenerar el aldehído original (6).

b) En la separación de alcoholes se presenta la dificultad de que con los reactivos usados para la formación de los ésteres reaccionan los alcoholes secundarios y terciarios aunque a una velocidad de reacción diferente. Es necesario calcular la cantidad de reactivo que debe emplearse para separar la cantidad de alcoholes primarios deseada.

Empleando este método se logra separar el 8.7 % de los alcoholes presentes.

c) En la separación de ácidos y fenoles, más que la separación propiamente dicha se logró solamente una comprobación de la existencia de los fenoles.

3.- La defecación tiene por objeto separar la parte inorgánica de la esencia. En el caso de la extracción con hexano esta operación puede omitirse ya que al efectuarla no se logra precipitación.

En la extracción hecha con cloroformo esta operación es indispensable.

4.- Separación cromatográfica. En las cromatografías sin placa no se hizo el revelado de sustancias en particular debido a que todas las sustancias presentes posean una coloración diferente - y pueden por ello determinarse con facilidad.

Extracción con hexano:

a).- Usando alúmina activada según Brockmans se logra una separación superior a las obtenidas anteriormente.

En la fracción 1 se obtiene la mezcla rhodinal-citronelal-trans isopulegol, obteniéndose el 24.78 % del aldehído presente.

En la fracción 3 se obtiene la mezcla citronelol-geraniol - separándose el 13 % del alcohol existente.

En las fracciones 2 y 5 se obtiene una mezcla que se logra separar por cromatografías posteriores usando alúmina como soporte. Se obtienen al terminar dichas cromatografías los siguientes datos en peso:

Mezcla rhodinal- citronelal- isopulegol -----	59.2 %
Mezcla citronelol-rhodinol-geraniol -----	15.4 %

La alúmina activada cede una parte del citronelal existente a isopulegol (6).

La mezcla citronelal-rhodinol-isopulegol es difícil de separar; solo se logra por los métodos señalados en la parte teórica.

b) Usando silicagela G. Con solo dos cromatografías y usando solo dos disolventes, se logra la separación de los grupos señalados anteriormente.

La columna de silicagela G cede menor cantidad de citronelal a isopulegol. Las fracciones obtenidas usando este soporte - presentan coloración menos intensa y dan constantes más cercanas -

a las reportadas por la mezcla. Por cientos en peso:

Mezcla rhodinal-citronelal-isopulegol	60.4 %
Mezcla rhodinal-citronelol	14.7 %

c).- Con tierra silicea no se logra una separación adecuada ya - que ésta no logra retener la clorofila.

d).- Utilizando alúmina Brookman o tierra silicea se logra una se paración de 13.3 % de la mezcla rhodinal-citronelal-isopulegol en la primera fracción. Las fracciones restantes se obtiene el gua- yol en muy pequeña cantidad: 0.03 g a partir de 400 g de hoja.

CONCLUSIONES.

- 1.- El método de extracción más conveniente es el que usa hexano y cloroformo.
- 2.- El mayor rendimiento empleando la extracción anterior, se logra con la hoja cosechada en el verano y el menor con la hoja cosechada en el invierno.
- 3.- La separación que ofrece mejores rendimientos es la — cromatográfica.
- 4.- De las separaciones cromatográficas ofrece mayores ventajas la silicagela G.
- 5.- Se logró la separación de una nueva flavona, (la número 18)

Análisis por calcinación: 70.68 % C ; 6.18 % H ; 23.28 % O

Su fórmula mínima es: $(C_{44}H_{40}O)_n$

Su peso molecular es :

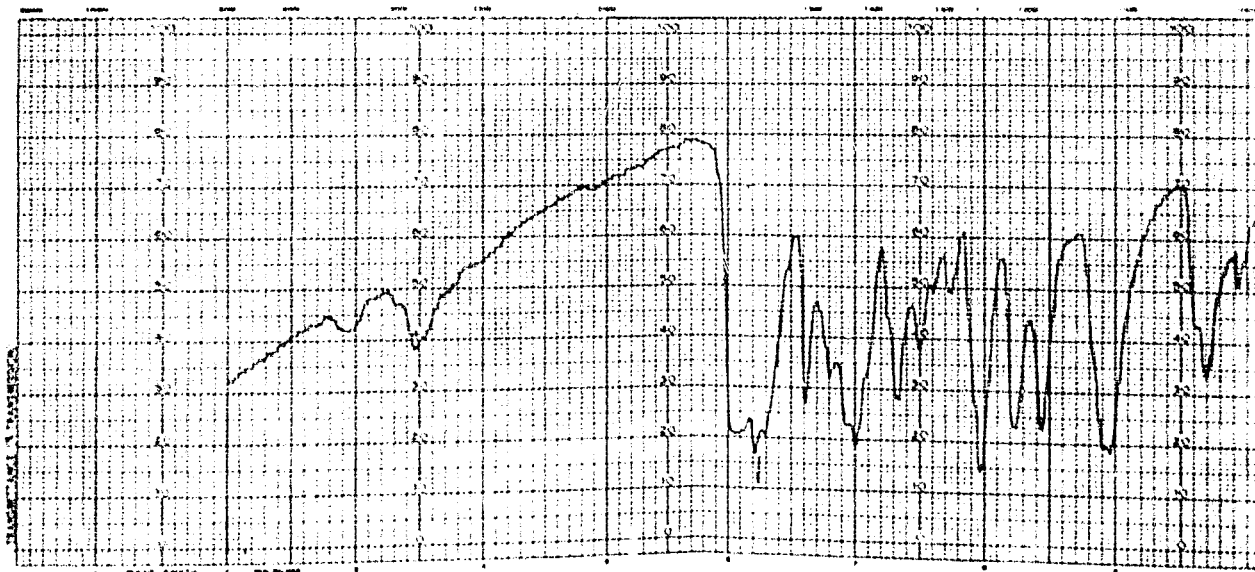
BIBLIOGRAFIA

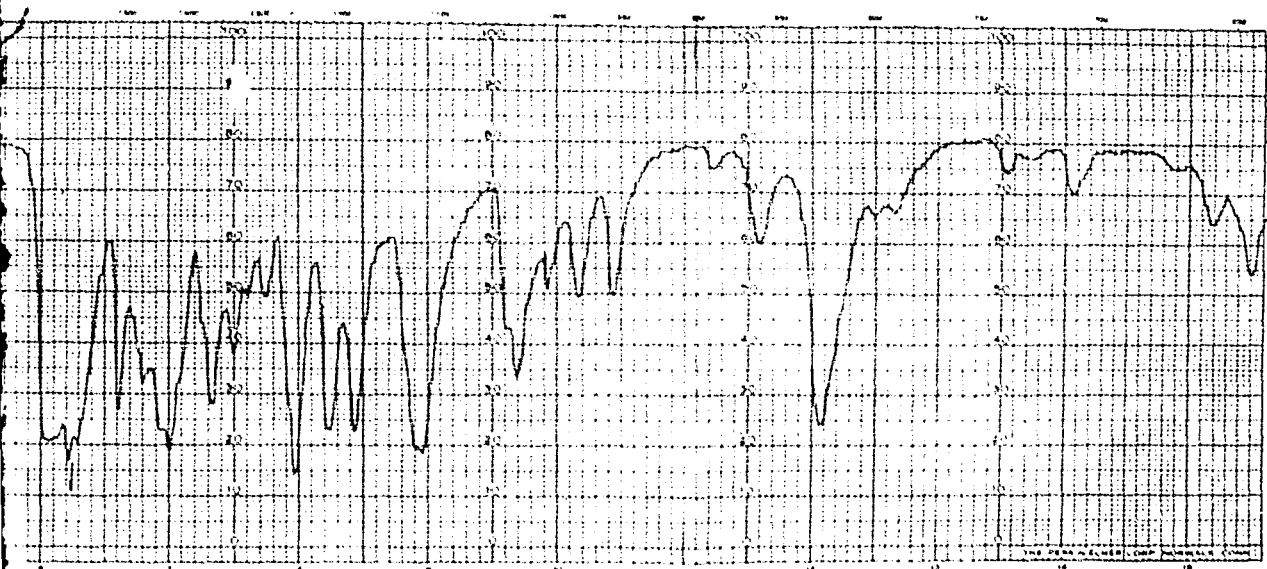
- 1.- Journal of an Expedition into the Interior or Tropical Australia. London, 1848.- pág. 235
- 2.- Penfold & Willis.- The Eucalypts. Interscience Publishers Inc. New York, 1960
- 3.- El Eucalipto en la Repoblación Forestal. F. A O. 1960.
- 4.- Sir John Simonsen.- The Terpenes.- Cambridge at the University Press.- 1957 . pág. 71, 91, 27, 38, 83, 100, 289.
- 5.- P. de Mayo.- The Chemistry of the Natural Products. Interscience Publishers Inc. New York 1959.- Volume III.- pág. 27, 38, 71, 83, 91, 100.
- 6.- Journal of Organic Chemistry.- Diciembre de 1961.- Volumen XVI.- pág. 3072.
- 7.- Carl R. Noller.- Chemistry of Organic Compounds.- W. B. — Sanders Co. 1952.- pág. 41
- 8.- E. Guenther.- The Essentials Oils.- Van Nostrand Co. Inc. New York, 1952.- Volúmenes I y II.- pág. 33, 118, 121, 173, 188, 202, 334.
- 9.- Chemical and Pharmaceutical Bulletin.- Published by the — Pharmaceutical Society of Japan.
- 10.- Dr. Franz Ullmann.- Enciclopedia de Química Industrial.- Barcelona 1931.- Volumen V.- Pág. 167.
- 11.- The Essential Oil Subcommittee of the Birtirls Society of Public Analyst.- 1932.- Reporte 10
- 12.- Andrew & Wanlenton.- A Course in Food Analysis.- John Wiley & Sons Inc. New York
- 13.- S. Strigor.- An Leitung Zur Organischen Qualitativen Analyse 3a. Edición.- Berlín, 1939.

- 14.- Dr. Jeans D'Ans.- Métodos de Análisis Químico Industrial. Editorial Labor, S. A., 1950.
- 15.- H. Lieb y W. Schoniger.- Ediciones Aguilar.- Madrid, 1955 pág. 206.
- 16.- Víctor Villavechia.- Tratado de Química Analítica aplicada.
- 17.- Fieser and Fieser.- Química Orgánica.- Editorial Grijalbo, 1960.- pág. 542, 757
- 18.- E. Lederer.- Chromatographie in Chemie Organique et Biologique.- Volumen 1.-
- 19.- E. Sthal.- Comunicación II.- Chemiker-Zeitung, 1958.- pág. 82, 323.
- 20.- G. Vavon, R. Delou y N. Lazac'h.- Manipulaciones en Química Orgánica.- Masson et Cie. Edditeurs, 1946
- 21.- Donald J. Cram.- Organic Chemistry.- Mc Graw Hill Book Co., 1959.- pág. 1956.
- 22.- S. M. Mc Elwain.- La Caracterización de los Compuestos Orgánicos.- Ediciones Aguilar.- Madrid, 1953.-
- 23.- Analytical Chemistry.- Marzo, Junio, julio, Agosto y Noviembre de 1962.
- 24.- Hugh C. Muldoon & M. I. Blake.- Systematic Organic Chemistry Theory and Applications.- Mc Graw Hill Book Co. Inc., 1957.- pág. 574, 579
- 25.- R. T. Morrison & R. N. Boyd.- Organic Chemistry.- Allyn - & Bacon Inc.- Boston, 1960.- pág. 550.
- 26.- J. Bryant Conant & Harold Blott.- The Chemistry of Organic Compounds.- The Mac Millan Co.- New York, 1959.- pág. 550
- 27.- Louise Kelley.- Organic Chemistry.- Mc Graw Hill Book Co. Inc., 1957.
- 28.- Grignard, Depont et Louquin.- Traité de Chimie Organique
- 29.- Tholan Labarde.- Citralos, Iononas y Productos Análogos. - Vitamina A.- Toxis.- 1957.

- 30.- Virginia Melo Ruiz.- Obtención de Citral a y b a Partir de Té Limón y Citral g a Partir de Aceite de Limón.- Tesis - 1952.-
- 31.- Julio Beltanona y Senabaldi.- Proyecto para la Instalación de una Destilería de Aceite Esencial de una Nueva Variedad de Eucalyptus.- Tesis, 1928
- 32.- Nomenclature for Terpene Hydrocarbons.- A Report of the — Nomenclature Comitee of the Division of Organic Chemistry.- American Chemical Society, 1955.
- 33.- Chemical Abstracts.- Arnal y Hejno 501078, 1956
- 34.- E. Gidmezter y Hoffman.- 2a. Edición, 1913 Volumen I pág 408, 420, 58, 590.
- 35.- Parry.- The Chemistry of Essential Oils in Perfumes.- D. Van Nostrand.- L. T. D. London, 1948, Volúmenes I y II.
- 36.- W. A. Poucher.- Perfumes, Cosmetics and Soaps.- D. Van — Nostrand.- New York, 1942.
The Science and Art of Perfumery Mc Graw Hill Book Co. Inc., 1945.
- 37.- Josef Srauz.- Perfumes sintéticos.- Madrid, 1951
- 38.- H. García Arnoz.- Esencias Naturales.- Aguilar S, A.
Madrid, 1953.- pag. 6, 94, 105, 110, 132, 213, 173, 280,
- 39.- R. L. Gatterfoss.- Formulary of Perfumes and Cosmetics.- Chemical Publishing Co. New York.- pág. 138.
- 40.- T. Boudiri.- Introduction a L'Etude des Perfums.- Masson et Cie. Editeurs, 1960.
- 41.- Bedouklean Poul Z.- Perfumes Synthetics.
- 42.- Pinder A.- The Chemistry of the Terpenes.

10000





ELECTRO M...
 MICENTER M...
 INDICATORS...
 WASTEWATER...

THE PERMAMETER CORP. BOSTON, MASS.
 14 18

BINDER 6 A P INV 7