

**PRINCIPALES COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL  
DE HOJAS DE AGUACATE.**

**Tesis**

**que para obtener el título de**

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**presenta**

**MARIA DE LA SOLEDAD LOZANO VAQUERO**

**ante la**

**ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS QUIMICAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**INSTITUTO MEXICANO DE INVESTIGACIONES  
TECNOLOGICAS, A. C.**

**Sección de Ingeniería Experimental**

**México, D. F.**

**1966**



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.

PRINCIPALES COMPONENTES  
DEL ACEITE ESENCIAL DE  
HOJAS DE AGUACATE

M

86

MARIA SOLEDAD LOZANO VAQUERO

MEXICO, D. F., 1966

12835

MI CUMPLIDO AGRADECIMIENTO AL INSTITUTO MEXICANO DE INVESTIGACIONES TECNOLÓGICAS, A. C., POR LAS FACILIDADES QUE ME BRINDÓ, A TRAVÉS DE SU SECCIÓN DE INGENIERÍA EXPERIMENTAL, ASÍ COMO A TODO EL PERSONAL TÉCNICO Y ADMINISTRATIVO DEL INSTITUTO QUE CONTRIBUYÓ DIRECTA O INDIRECTAMENTE A HACER POSIBLE LA REALIZACIÓN DE ESTA TESIS.

**A mis padres con cariño y gratitud**

**A mi esposo**

**A mis hijos**

**A mis hermanos**

# C O N T E N I D O

## I. INTRODUCCION.

## II. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS.

- A. Generalidades sobre el aguacate.
- B. Aceites esenciales.
- C. Cromatografía laminar.

## III. PARTE EXPERIMENTAL.

- A. Programa de investigación.
- B. Extracción del aceite esencial.
- C. Determinación de las características del aceite esencial.
- D. Separación de los componentes por destilación fraccionada.
- E. Cromatografía laminar del aceite esencial y sus fracciones destiladas.
- F. Análisis al infrarrojo de la fracción más abundante.

## IV. DISCUSION DE RESULTADOS.

## V. APENDICE.

- A. Bibliografía.
- B. Gráficas.
- C. Tablas.

## I. INTRODUCCION.

El fruto del aguacate es muy apreciado por su sabor delicado en nuestro país y en el extranjero. El cultivo de esta planta, por ser muy productivo, ha recibido un notable incremento en algunos estados de la República en los últimos años.

La revisión bibliográfica efectuada indicó que los estudios técnicos realizados sobre esta planta son escasos, y en particular los referentes al fruto. Como una aportación al conocimiento integral del aguacate, se desarrolló el presente trabajo que consistió principalmente, en un estudio del aceite esencial de las hojas del árbol, las que en el caso particular del aguacate, lo contienen en mayor proporción que las otras partes de las plantas.

Existen diferentes razas de aguacate y entre ellas, algunas que carecen de aceite esencial o lo contienen en cantidades inapreciables. En las que lo contienen, la proporción varía aún en la misma raza con: la región de cultivo, el tipo de tierra, el clima, la época del año, el estado de las hojas, etc.

En el presente trabajo se utilizaron hojas frescas de una misma variedad, a las que se extrajo el aceite esencial por arrastre con vapor de agua. En el aceite obtenido se determinaron las constantes físicas y químicas como base de orientación a posteriores determinacio



## II. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS.

## A. GENERALIDADES SOBRE EL AGUACATE.

El aguacate es una planta originaria de América (3, 15), cuyo cultivo en la actualidad se ha extendido a muchos países de clima tropical y subtropical (16).

En la República Mexicana se cultiva en la mayoría de los estados (3, 32). Su producción alcanzó en 1959, la cifra de 102,000 toneladas. De la producción total aproximadamente un 50% se obtuvo de cuatro estados: Veracruz (14,000 toneladas), México (13,000 toneladas), Puebla (11,000 toneladas) y Michoacán (10,000 toneladas). El resto fue producido por los demás estados.

En nuestro país se cultivan generalmente aguacates de la raza mexicana, o bien, híbridos de ésta con las razas guatemalteca y antillana, que conservan muchas características de las plantas originales (31).

Para la raza mexicana la altura óptima del terreno de cultivo es de 1000 a 1900 metros sobre el nivel del mar, en clima semi-seco, con lluvias en verano y otoño, una precipitación pluvial de 800 a 1000 milímetros, temperatura semi-cálida o templada, invierno benigno, temperatura media anual de 20°C y bajas no menores de -5°C, terrenos de textura en migajones arcillo-arenosos, con buen drenaje, fertilidad alta, pH 7.0 a 7.5, sin sales, li

geramente accidentado (3).

Clasificación botánica:

Clase:	Dicotiledónea
División:	Embriofita Sifonógama
Sub-división:	Angiosperma
Familia:	Lauráceas
Género:	<u>Persea</u>
Especie:	<u>Americana</u>
Variedad:	<u>drymifolia</u>

La variedad drymifolia fue considerada en épocas anteriores, como una especie diferente de Persea, pero en la actualidad se le considera como variedad de Persea americana.

Para hacer una división dentro de las plantas del aguacate, se han considerado tres razas ecológicas, con los siguientes caracteres diferenciales respecto a las hojas:

	ANTILLANA	GUATEMALTECA	MEXICANA
Olor	Ninguno	Ninguno	Parecido al anís
Color	Verde claro	Naranja-rojizo	Verde claro a medio
Forma	Ovalada	Ovalada	Ovalada-lanceolada

El aguacate es un árbol de hoja perenne, aunque en algunas variedades, en la época de floración, queda con

pocas hojas durante un corto período de tiempo (15). Las hojas tienen formas variadas: ovales, ovadas, trasovadas, lanceoladas y elípticas, y su tamaño puede ser de 7.5 a 37.5 cm. El follaje es en general verde brillante, con los brotes de color rojizo. Las flores se presentan en panículos terminales de color verde pálido o amarillento, sin diferenciación entre cáliz y corola. El fruto presenta diferencias, de acuerdo con la raza de aguacate, en tamaño, color, textura, sabor, peso, etc.

En las tres razas se ha identificado una sustancia tóxica (1); debido a lo cual han ocurrido casos de envenenamiento en vacas, cabras, conejos y canarios que ingirieron hojas. En experiencias preliminares sobre las variedades Fuerte, Nabal y Mexicola sobre conejos, se comprobó su toxicidad, especialmente en la variedad FUERTE (8).

## B. ACEITES ESENCIALES.

Los aceites esenciales son las sustancias que constituyen el aroma de las plantas. Se les llama aceites por su aspecto oleoso, aunque no son ésteres del glicerol y ácidos grasos (20, 28).

Se consideran como subproducto del metabolismo celular, y en algunos casos, sin lugar a dudas, el resultado de procesos patológicos.

Pueden encontrarse distribuidos en toda la planta, o bien, localizados en alguna de sus partes, en especial, la flor.

Las estructuras que contienen y transportan los aceites esenciales son tanto tejidos fibrovasculares como teji

dos fundamentales. De acuerdo con su origen, los receptáculos pueden ser: intracelulares, si se originaron de una sola célula; estructuras vasculares, originadas por la absorción de paredes celulares adyacentes y fusión de las celdillas para formar un conducto; o bien, espacios intercelulares formados ya sea por lisis celular o por un proceso esquizogónico (28).

Los aceites esenciales tienen en la planta funciones variadas, que no han sido bien estudiadas aún (20, 28). Sirven para atraer o repeler a los insectos y como protección contra algunas enfermedades; regulan la transpiración y protegen a la planta de los cambios bruscos de temperatura. Probablemente tengan alguna intervención en la reproducción de la planta, pues en el período de fecundación disminuye su contenido.

#### 1. Composición de los aceites esenciales (12, 20, 28, 19).

Los aceites esenciales están formados por mezclas complejas de compuestos cíclicos, alicíclicos, aromáticos y heterocíclicos. Pueden clasificarse en general dentro de los siguientes grupos:

1. - Terpenos
2. - Compuestos aromáticos
3. - Compuestos que contienen azufre y nitrógeno.
4. - Compuestos misceláneos.

En general los terpenos y sus derivados oxigenados son los componentes más abundantes de los aceites esenciales (12, 28).

Las esencias, además de tener estos compuestos volátiles, casi siempre dejan un residuo no volátil.

## 2. - Extracción de los aceites esenciales (12, 20, 29, 42, 44).

Para la extracción de los aceites esenciales existen muchas técnicas, que se aplican a cada caso, dependiendo del uso a que se destine el aceite esencial. Pueden agruparse en cuatro tipos de tratamiento: prensado, extracción con grasas, extracción con disolventes y arrastre con vapor de agua (Diagrama No. 1) (44).

Prensado. Se somete el material a una presión mecánica para extraer casi totalmente los líquidos. El producto así obtenido es una mezcla de agua, pigmentos, grasas, restos celulares, aceite esencial y otros productos. El aceite esencial así obtenido, se purifica por centrifugación, clarificación, etc. No es una técnica adecuada para análisis, siendo muy útil sin embargo para obtener esencias para alimentos.

La extracción con grasas puede hacerse en frío ("enfleurage") o en caliente (maceración). Consiste fundamentalmente en poner el material al que se va a extraer el aceite esencial, en contacto más o menos prolongado con grasas calientes o frías. Después de un tiempo conveniente se separan el material y la grasa, y a esta última se le extraen las esencias por tratamiento con alcohol etílico. Esta técnica fue muy usada en perfumería, pero ha caído en desuso, aunque todavía se utiliza ocasionalmente.

La extracción con disolventes volátiles es muy usual para trabajos analíticos, así como para obtener esencias de olor muy parecido al natural, pero que resultan de precio muy elevado. Para extraer el material, se muele éste y se pone a macerar con el disolvente elegido, que se

elimina después por destilación, que suele hacerse al vaco para evitar calentamientos excesivos.

### Extracción por arrastre con vapor de agua.

Esta técnica tiene variantes que pueden agruparse como sigue:

1. - Ebullición del material en agua.
2. - Ebullición del material en agua e inyección de vapor.
3. - Arrastre con vapor solo.

De todas estas variantes el fundamento es una difusión del aceite en agua y un arrastre del mismo con el vapor que se forma o se inyecta. La velocidad de difusión se ve favorecida con la elevación de la temperatura.

Para mejorar el rendimiento, se recomienda una molienda ligera o un desmenuzado, mantener la temperatura lo más bajo posible y usar la menor cantidad de agua en contacto con el material.

El aceite esencial así obtenido se separa del agua por ser poco soluble en ella y de diferente densidad. Para separar la pequeña porción disuelta, la solución se satura con cloruro de sodio para insolubilizar el aceite esencial, que se extrae con un disolvente volátil.

El arrastre con vapor es una de las técnicas más empleadas en la industria, por su bajo costo y facilidad de operación. Los aceites esenciales así obtenidos se destinan a usos diversos. No se recomienda para aceites con ésteres saponificables, sobre todo si se hacen rectificaciones a las fracciones destiladas.

Los rendimientos de aceite esencial varían en general de 0.1% a 3%, siendo en algunos casos menores (0.02%) y en otros mucho mayor (hasta de 20% ó más). Los rendimientos varían con la técnica de extracción, la parte usada de la planta, la planta misma y su localización geográfica (12, 20).

### 3.- Caracterización.

Después de obtenido el aceite esencial es necesario determinarle sus características físicas y químicas para orientar la investigación.

Las características físicas de más utilidad son: densidad, punto de ebullición, índice de refracción y rotación óptica (6, 12).

Las características químicas más útiles son: índice de acidez, índice de saponificación, índice de ésteres, índice de yodo e índice de metoxilo (5, 12, 39). Son también muy útiles las pruebas cualitativas coloridas (11).

### 4.- Fraccionamiento y análisis.

Para el análisis de los componentes del aceite esencial es necesario fraccionar éste; para efectuar esta operación existen diversas técnicas, basadas en la diferencia de propiedades tanto físicas como químicas de los componentes de esas mezclas.

Se pueden separar por destilación o por cristalización fraccionadas, o bien por cristalización selectiva.

Puede efectuarse por extracción en diversas condiciones (medio ácido, básico o neutro) o con diferentes di



solventes y análisis subsecuente de cada una de las fracciones obtenidas (42, 43).

En los últimos años se han desarrollado técnicas cromatográficas, cuyos resultados superan los de las anteriores. Entre éstas se recomienda la cromatografía en capa fina desarrollada especialmente para terpenos y aceites esenciales.

### C. CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.

La técnica de cromatografía en capa fina consiste en cubrir una placa de vidrio con una suspensión acuosa de una pasta formada por un adsorbente adicionado de un aglutinante, para adherirlo sobre el vidrio y dejar una capa fina de esta suspensión. En casos especiales puede añadirse a esta pasta algún reactivo ó simplemente alguna sustancia colorante o fosforescente (17, 33) para facilitar la localización de los productos en estudio. Después de colocada la capa uniforme del adsorbente, se deja secar en una superficie horizontal y después se activa cierto tiempo a temperatura adecuada. Las placas activadas deben usarse inmediatamente, o bien, conservarse en una atmósfera exenta de humedad. Para evitar que las placas absorban humedad del medio ambiente se colocan en un desecador adecuado. Si las placas tienen humedad, disminuye su actividad y su poder de separación.

Las sustancias por analizar se tratan en solución con disolventes volátiles. Sobre la placa se marca con lápiz una línea de origen a una distancia de 1 a 2 centímetros del borde, sobre la que se colocan las gotas de la solución por analizar. Para fijar la distancia a la que se desea el desarrollo de la cromatografía, se hace una incisión en la capa del adsorbente a una distancia fija que

generalmente es de 10 a 15 centímetros de la línea de origen.

Esta técnica cromatográfica es ascendente, por lo que las placas se colocan dentro de la cámara de desarrollo en forma vertical. Para obtener los mejores resultados en el desarrollo cromatográfico el ambiente de la cámara debe estar saturado del disolvente que se usa. Se recomienda para ello, cubrir las paredes de la cámara con un papel filtro bien adherido, e impregnado constantemente del disolvente.

Los compuestos cromatografiados se tratan con algunas sustancias reactivas que permiten revelar su posición; se prefiere usar aquellos reactivos que caracterizan sus grupos funcionales.

Para el caso de los aceites esenciales se recomiendan los siguientes reveladores:

1.- Acido nítrico concentrado al 15% en ácido sulfúrico concentrado, que da al calentar las placas coloración gris azulosa con todas las manchas (17).

2.- Acido sulfúrico en frío, que da coloración variada con cada una de las diferentes sustancias (17). Se usa para compuestos poco reactivos.

3.- Cloruro férrico al 5% en solución de agua metanol (1:1) para los fenoles y enoles, con los que da coloraciones características.

4.- Yodo al 0.5% en cloroformo, que da manchas café sobre fondo blanco.

5.- Vapores de yodo revelan las sustancias susceptibles de deshidratación en caliente, como manchas café (9).

6.- Solución acuosa de fluoresceína (9) al 0.05% y posterior exposición a vapores de bromo. Los compuestos con ligaduras etilénicas aparecen como manchas amarillas sobre fondo rosa.

7.- Verde de bromocresol al 0.3% en metanol al 30%, al que se han añadido 8 gotas de solución de hidróxido de sodio al 30% por 100 mililitros. Los ácidos aparecen como manchas amarillas sobre fondo azul verdoso (17).

8.- Permanganato de potasio al 0.05-0.5% en agua para revelar sustancias oxidables. Se observan manchas amarillas sobre fondo rosa primero y después fondo blanco (9).

9.- Paranitroanilina diazoada para revelar fenoles como manchas de color café (9, 21).

10.- Acido sulfanílico diazoado (21), que revela los fenoles en manchas café amarillentas en tonos pálidos. Se recomienda el uso de la paranitroanilina diazoada porque da mejores resultados.

11.- Pentacloruro de antimonio en tetracloruro de carbono al 20%, revela mono, di, sesqui, tri y politerpenos con colores intensos en la zona del gris violeta. También revela fenoles (36).

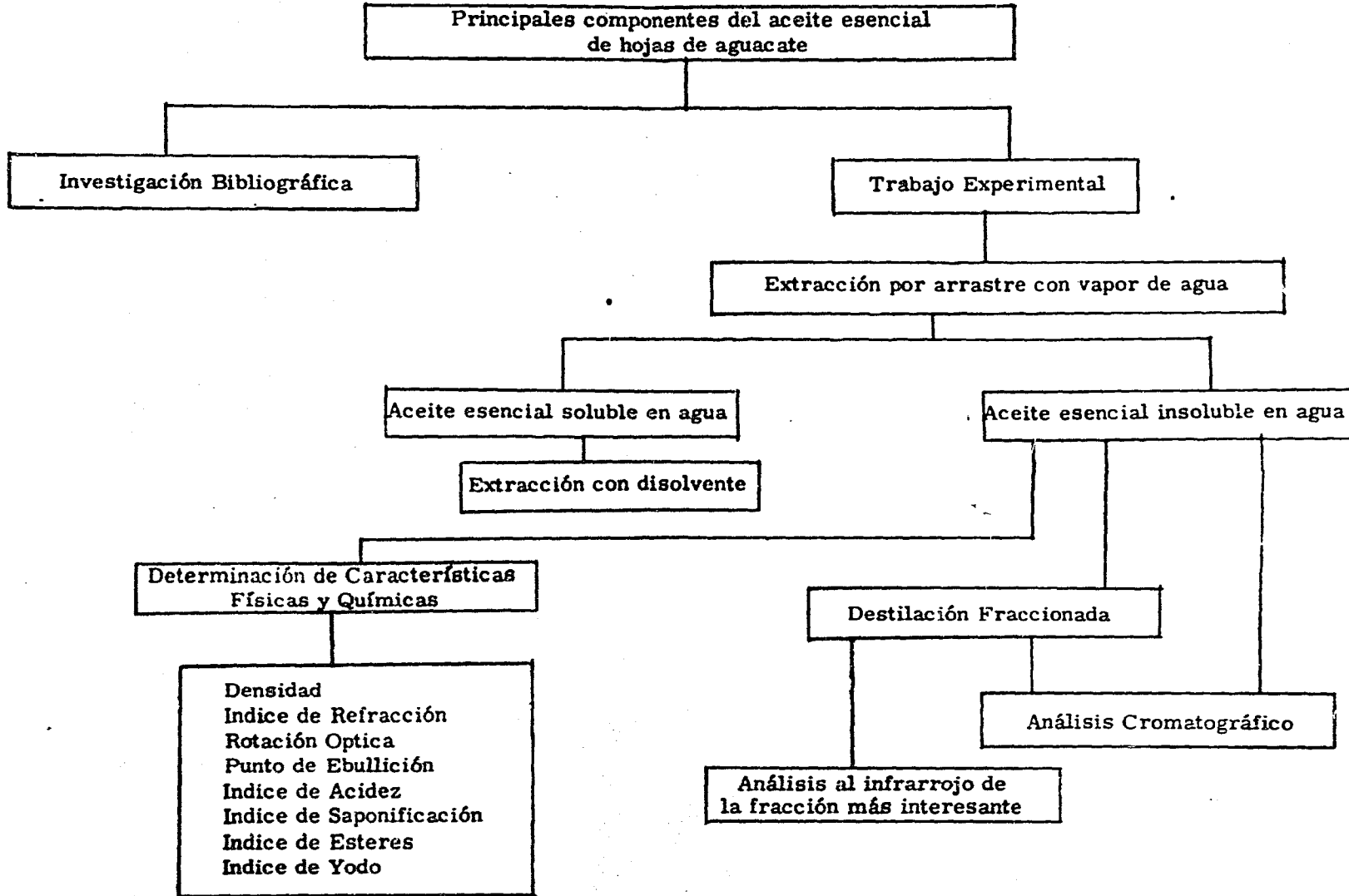
Los reveladores nos ayudan a localizar las sustancias en el desarrollo cromatográfico y algunos revelan ade

más a qué grupo de compuestos pertenecen, al evidenciar grupos funcionales de la molécula, como son el cetónico o el etéreo.

En algunos casos se recomienda el uso de la luz ultravioleta para localizar y diferenciar algunas sustancias poco reactivas, como los hidrocarburos, algunos de los cuales son sensibles a la luz sólo después de rociados con ácidos y calentados.

Las placas reveladas pueden conservarse como referencia, pues el valor de  $R_f$  observado para las sustancias caracterizadas en esa prueba puede servir como tipo de comparación para investigar e identificar las mismas sustancias en mezclas similares, si éstas se analizan en las mismas condiciones. Para ello, en la literatura se recomiendan varias técnicas: levantar la capa de adsorbente, ya sea con una cinta adhesiva o bien, con alguna resina o material plástico. También es recomendable fotografiar las placas en colores o en su defecto, dibujarlas en colores sobre papel cebolla (33).

**DIAGRAMA DEL PLAN DE INVESTIGACIÓN.**



### III. TRABAJO EXPERIMENTAL:

El aceite esencial de aguacate fue separado por arrastre con vapor de agua. Para la extracción de las hojas, el material fresco se desmenuzó en molino de cuchillas equipado con malla de retención de 3.8 centímetros. El material que no se procesó inmediatamente se conservó en bolsas de polietileno.

La extracción del aceite en todos los casos se hizo hasta agotar el material. La duración de esta operación fue aproximadamente de dos horas. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla No. 1.

El aceite esencial así obtenido se separó del agua y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El agua fue tratada con éter etílico después de saturada con cloruro de sodio. Después de evaporar el disolvente se conservaron por separado, tanto las fracciones solubles en agua, como las insolubles, en frascos ámbar de tapón esmerilado y en el refrigerador.

Las determinaciones físicas que se hicieron a las muestras fueron las siguientes:

Densidad con picnómetro, según la técnica descrita por Guenter (12). Esta determinación se hizo a 25°C.

Rotación óptica, determinada según la descripción de Guenter (12), usando un tubo de 36 milímetros, en lu-

gar de 100 milímetros, por la cantidad reducida de algunas muestras.

Índice de refracción (12). Se determinó en un refractómetro de Abbe a 25°C.

Punto de ebullición (5). Se empleó la microtécnica de Cheronis, ya que sólo se disponía de pequeñas cantidades de muestra. Para esta determinación se usó un pequeño tubo con una campanita capilar y unas gotas de aceite, que se introdujo junto al bulbo de un termómetro en un baño de aceite. El punto de ebullición se tomó por calentamiento lento hasta aparición de burbujeo intenso; la flama se retiró cuando el líquido penetró a la campanita. Se usó tubo de ensaye pequeño en lugar de tubo de vidrio cerrado, para facilitar el calentamiento homogéneo del líquido.

Obtenidas las características físicas, se determinaron las características químicas, que orientaron la investigación, al eliminar o confirmar la presencia de algunos grupos funcionales dentro de los componentes del aceite esencial. Las más útiles fueron los índices de acidez, éster, yodo y metoxilo. Los índices de acidez, de éster y de yodo se hicieron según los métodos descritos por Guenter (12) para aceites esenciales. Se hicieron también unas pruebas a la gota para identificación de aldehidos y metil cetonas (11).

Los resultados de las características físicas y químicas, así como de las pruebas cualitativas, se encuentran en la tabla No. 2.

Determinadas sus constantes, se procedió a separar los componentes del aceite por destilación fraccionada, misma que se llevó a cabo usando una columna de destila-



ción al vacío (Todd Precision Fractionation Assembly). Los resultados obtenidos se encuentran en la Gráfica No. 1.

Las fracciones obtenidas en la destilación fueron marcadas en forma progresiva de I a V. El análisis cualitativo de las fracciones III y IV no reveló la presencia ni de azufre ni de nitrógeno, por lo cual se reunieron y en la mezcla se determinó únicamente carbono, hidrógeno y oxígeno. Se obtuvo el siguiente resultado:

Carbono	80.69%
Hidrógeno	8.55%
Oxígeno	10.75%

La fórmula mínima correspondiente a un compuesto con tal análisis elemental es:  $C_{10}H_{13}O$ .

Se comprobó cualitativamente la presencia de grupos metoxilo en la muestra de aceite y después se efectuó una determinación cuantitativa del mismo. El resultado fue de 17.4% de metoxilo. Las técnicas seguidas están descritas en las referencias (8) y (7).

Después de estos análisis preliminares no procedió al análisis cromatográfico de las muestras y sus fracciones destiladas. Se usó la técnica de cromatografía en placa.

Las primeras placas se hicieron para probar el adsorbente más conveniente para el aceite en estudio. Como se consideraba que en este aceite esencial podrían encontrarse anetol, safrol, eugenol y aldehído cinámico, se emplearon muestras de estos compuestos como testigos en las primeras placas cromatográficas que se desarro-

llaron. Como disolvente de desarrollo se usó acetato de etilo al 15% en hexano, poniendo en el origen 10 microlitros de cada solución por desarrollar. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla No. 3.

Las siguientes pruebas fueron de tiempo y temperatura de activación de las placas, así como mezclas variables de disolventes para el desarrollo. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla No. 4.

Ya determinados los factores más convenientes de activación y desarrollo se procedió a elegir los reveladores más adecuados. Este grupo de reveladores se formó de aquellos que en la literatura se mencionan para los compuestos que se supongan en el aceite esencial de hojas de aguacate. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla No. 5.

Al consultar el Beilstein, se encontró que el compuesto que mejor correspondía a las características organolépticas, físicas y químicas del supuesto compuesto de fórmula  $C_{10}H_{16}O$  era el estragol cuyo olor recuerda al del anís como el del compuesto que analizamos.

Para comprobar si se trataba de esta sustancia se hicieron estudios cromatográficos, tanto de las fracciones destiladas como del producto original, comparándolas simultáneamente con estragol sintético. En estas pruebas se encontró de inmediato una gran coincidencia entre los valores de  $R_f$  de las manchas reveladas, de su coloración con los reveladores empleados y de su abundancia en el aceite y en la fracción analizada.

Se hicieron además curvas en el espectro infrarrojo tanto de la fracción IV de la destilación como del estragol

testigo, dando ambos productos curvas idénticas. Figuras 1 y 2.

#### IV. DISCUSION DE RESULTADOS.

Los resultados de la extracción del aceite esencial, como puede verse en la Tabla 1, varían principalmente en contenido, con el tipo de hoja tratado, ya que en algunos casos a pesar de tener un grado de humedad parecido no se obtuvo un rendimiento igual.

La muestra No. 1 presenta una diferencia marcada con las demás debido en parte a su distinta procedencia, el material se secó parcialmente en la transportación y además, después de molidas, las hojas se conservaron en bolsas de polietileno, por varios días, antes de ser extraídas.

El rendimiento en todos los casos fue aproximadamente de 1%, que es parecido al rendimiento general que se menciona en la literatura (12) para aceites esenciales en materias vegetales.

El olor de los aceites esenciales obtenidos, excepto la muestra No. 1, es muy similar y anisado, aunque tiene ligeras variantes de uno a otro.

Las características, tanto físicas como químicas, de los aceites esenciales obtenidos por arrastre con vapor y de las fracciones insolubles en agua, fueron determinadas a los aceites esenciales después de secados sobre sulfato de sodio anhidro.

Las características de los aceites (Tabla 2), son similares y en algunos casos iguales.

La densidad en todos los casos es ligeramente menor que la del agua, lo que puede indicar presencia de compuestos oxigenados en proporción considerable, ya que los hidrocarburos terpénicos presentan densidades menores a la del agua.

Excepción hecha de la muestra No. 1, todas las demás tienen índice de refracción muy semejante. Este índice de refracción está dentro de límites más ó menos amplios de muy diferentes compuestos oxigenados presentes en los aceites esenciales.

La rotación óptica es casi nula y si se tiene en cuenta el error de la determinación, puede considerarse como cero, lo que indica ausencia de compuestos ópticamente activos, excepto en la muestra No. 1, que los puede contener en pequeñas cantidades.

El punto de ebullición es muy parecido en todos los casos y en algunos es igual.

Siendo las características de las cinco muestras muy semejantes, hacen suponer que se trata del mismo aceite esencial, con variaciones mínimas en su composición.

Las características químicas revelan que los aceites esenciales no contienen ácidos libres ni esterificados. En cambio, por los índices de yodo, contienen sustancias con ligaduras etilénicas.

Por las reacciones coloridas puede deducirse que no contienen aldehidos ni metil cetonas en cantidades aprecia

bles. Debido a esto, como al aceite se le suponen sustancias con oxígeno, se pensó en la posible presencia de éteres. Para probarlo se hizo un análisis cualitativo de grupos alcoholilo (metoxilo y etoxilo), que resultó positiva. Se hizo después la determinación cuantitativa, resultando 17.4% de metoxilo. Partiendo de este dato, si se considera un metoxilo por molécula de terpeno, se obtiene un 80.5% de sustancia metoxilada en el aceite esencial. Este dato coincide en forma aproximada con una parte de la curva de destilación que puede considerarse como formada por sustancias con un metoxilo, de la fracción II a la fracción V (82.6%).

Determinadas las características del aceite esencial, se hizo una destilación fraccionada del mismo. Resultaron de la destilación, como puede verse en la gráfica No. 1, cinco fracciones. La destilación se llevó a cabo a una presión de 2 milímetros de mercurio y las fracciones fueron colectadas en una gama de temperaturas de 56°C a 72°C. La fracción más abundante fue la IV, con un punto de ebullición de 70°C a la presión mencionada.

El análisis cuantitativo elemental efectuado en las fracciones III y IV reunidas dio los siguientes resultados:

Carbono	80.69%
Hidrógeno	0.55%
Oxígeno	10.75%

Su fórmula mínima corresponde a  $C_{10}H_{13}O$ .

Por sus características se consideró que podría tra

tarse del estragol cuya fórmula es:



Como puede verse en la tabla siguiente, las características del estragol son bastante cercanas a las del aceite y la fracción IV de la destilación.

	Punto de ebullición a 760 mm de mercurio	Índice de refracción	Densidad
Estragol	213-215°C	1.51372 <sup>22</sup>	0.9600 <sup>25°</sup>
Aceite aguacate	211.73°C	1.5152 <sup>25</sup>	0.9542 <sup>25°</sup>
Fracción IV	213.82°C	1.5189 <sup>25</sup>	-

Para corregir los puntos de ebullición se usó la fórmula siguiente (14):

$$\Delta t = \frac{(273.1 + t) (2.8808 - \log p)}{f + 0.15 (2.8808 - \log p)}$$



$P$  = presión de trabajo en mm de mercurio

$\phi$  = entropía de vaporización a 760 milímetros, valor observado en tablas.

$t$  = temperatura en  $^{\circ}\text{C}$ , observada en la destilación.

Se adiciona el valor de  $\Delta t$  a la temperatura observada a la presión de destilación para obtener el punto de ebullición a 760 milímetros de mercurio.

Ya obtenidos estos datos se procedió a las pruebas preliminares en la cromatografía laminar.

Las primeras pruebas efectuadas sirvieron para seleccionar cuál de los dos adsorbentes utilizados daba mejores resultados. Se usaron como adsorbentes de prueba gel de sílice y alúmina, previamente adicionados del sulfato de calcio, para adherirlos a la placa de vidrio. Se hicieron los desarrollos con muestras de anetol, safrol, eugenol, aldehído cinámico, mezcla de estos cuatro y además con el aceite de aguacate.

Para estos análisis cromatográficos se obtuvieron muestras de anetol, safrol, aldehído cinámico, eugenol, estragol y aceite esencial de estragón de diferentes casas comerciales. Las cuatro primeras se purificaron por destilación, pero en el caso del safrol no se mejoró su calidad, ya que este producto no se puede vender puro en nuestro país. Por esta razón no se utilizó en todas las pruebas. El estragol se obtuvo muy puro y el aceite de estragón es una mezcla natural cuyo principal componente es el estragol, por lo cual se usó sin destilación previa.

Las cinco primeras sustancias forman parte de un gran número de aceites esenciales como puede verse a continuación:

Esencia	Estragol	Anetol	Safrol	Eugenol	Aldehido Cinámico
Anís estrellado	+	+	+90%	-	-
Anís	+	+	-	-	-
Hinojo	+	+	-	-	-
Sasafrás	-	-	+	+	-
Alcanfor	-	-	+	+	-
Nuez moscada	-	-	+	+	-
Canela	-	-	+	+	+
Laurel de California	-	-	+	+	-
Mirra	-	-	-	+	+

En las pruebas preliminares de cromatografía en capa fina el adsorbente que dio mejor resultado fue la gel de sílice. Se consideró para la elección el poder de separación del adsorbente en cuanto a número de manchas diferenciadas y las distancias entre éstas. Se seleccionó la gel de sílice, por lo que se utilizó en todos los trabajos posteriores. Los resultados de la selección pueden ver-

se en la Tabla No. 3.

En la literatura se recomienda activar las placas a temperaturas entre  $100^{\circ}\text{C}$  y  $140^{\circ}\text{C}$  y tiempos de media a cuatro horas, en general. En la práctica se probaron tiempos de 1, 2 y 3 horas a temperaturas de  $110^{\circ}\text{C}$  y  $130^{\circ}\text{C}$ . En la tabla No. 4 se observan los resultados de estas pruebas, así como los correspondientes a dos mezclas de éter etílico y hexano. Estos resultados se emplearon para encontrar la de polaridad más adecuada a las sustancias en estudio.

Los desarrollos en éter etílico al 20% en hexano resultaron mejores que al 30%, ya que en el primer caso se tiene una buena resolución sin que las sustancias más polares lleguen al borde del desarrollo, como sucede en el segundo caso.

La activación de las placas durante 60 minutos da una separación clara tanto a  $110^{\circ}\text{C}$  como a  $130^{\circ}\text{C}$ , concluyéndose que la de  $110^{\circ}\text{C}$  resulta suficiente para las sustancias en estudio y es innecesaria la elevación a  $130^{\circ}\text{C}$  para obtener resultados similares. Las placas activadas por tiempos más prolongados separan mal los productos, llevándolos demasiado lejos del origen y con poca distancia entre unos y otros.

Todas las observaciones fueron hechas con la misma cantidad de muestra y con el mismo revelador, para poderlas comparar entre sí.

El paso siguiente fue la elección de los reveladores más adecuados. La elección se hizo entre aquéllos que cita la literatura (9, 17, 21, 36) para los aceites esenciales y terpenos.

Los reveladores que mejores resultados dieron (Tabla No. 5), en cuanto a número de manchas y diferenciación, fueron el ácido sulfúrico concentrado y el cloruro férrico. Estos reveladores dan coloraciones diferentes con cada una de las manchas desarrolladas, en forma muy bien diferenciada y definida.

El ácido nítrico en ácido sulfúrico, ambos concentrados, da también buenos resultados en cuanto al número de manchas que revela, pero no da coloraciones, simplemente carboniza las sustancias presentándolas como manchas oscuras. Esta mezcla dio buenos resultados para revelar los hidrocarburos que contiene el aceite esencial de aguacate, según se verá más adelante.

La paranitroanilina diazoada reveló también un número considerable de sustancias y dio en tonalidades de café a amarillo con poca diferencia de colores.

Los demás reveladores dieron resultados poco satisfactorios, ya sea por el escaso número de manchas que revelaban o por la poca diferenciación de las mismas.

El pentacloruro de antimonio se probó en una placa desarrollada en hexano solamente, ya que es un revelador de terpenos en general, aunque también revela fenoles. Da buenos resultados, pero no diferencia bien qué tipo de terpeno es el revelado.

Las primeras placas se dejaron desarrollar a 16,5 centímetros del origen, pero se obtuvieron variaciones considerables en el tiempo de desarrollo, por lo que se redujo esta distancia a 10 centímetros, como lo cita la literatura (9, 17, 21, 33, 36).

Determinados los factores más adecuados de trabajo en las placas (adsorbente, tiempo de activación, reveladores), se procedió al análisis cromatográfico tanto de los testigos como del producto y sus fracciones destiladas.

Se comenzó el análisis determinando la concentración más adecuada del aceite esencial de aguacate, teniendo en cuenta que se aplicaban cantidades de 10 microlitros en el origen de la placa. Como se observa en la tabla 6, las concentraciones de 15 a 20% de aceite esencial en hexano dan buenos resultados, pero cabe mencionar que las manchas del 20% fueron demasiado extendidas, especialmente la última, que resultó demasiado grande. La concentración del 10% es buena, pero no se pudo apreciar la segunda de las siete manchas debido probablemente a que en esta concentración total, la concentración parcial de esta sustancia es demasiado baja. Puede decirse entonces que una concentración de 15% es aceptable para el aceite esencial de aguacate.

Las primeras pruebas que se hicieron fueron con aceite esencial de estragón, usando varias diluciones del mismo y corriendo simultáneamente el aceite esencial de aguacate, anetol y eugenol (tabla No. 7). Se hicieron cromatografías tanto en hexano como en éter etílico en hexano. El resultado de estas pruebas descartó la posibilidad de la presencia de anetol en el aceite esencial de aguacate, ya que la mancha de anetol y la correspondiente en  $R_f$  para la muestra del aceite de aguacate presentan al revelarlas coloraciones completamente diferentes. En cambio, en el caso del eugenol, la mancha de éste y la correspondiente en  $R_f$  del aguacate, no presentan una clara diferencia ni en coloración ni en tonalidad.

Por otra parte, según puede observarse en la tabla

7 y en las figuras 3 y 4, la muestra de aceite de aguacate presenta algunas manchas similares en  $R_f$  y coloración a las del aceite de estragón, como son las manchas tercera, cuarta y séptima con valores de  $R_f$  .17, .23, .74 en el aguacate y .17, .25, y .71 en el estragón. En especial, la mancha más grande y con valor de  $R_f$  del orden de .70 es muy similar en ambos aceites esenciales y corresponde al compuesto de fórmula mínima  $C_{10}H_{13}O$  denominado estragol. La dilución al 10% del aceite dio los mejores resultados.

Se probaron después diluciones de 5, 10 y 15% tanto del aceite de aguacate como de los testigos. Se hicieron de sarrollos en éter etílico y en hexano usando como revelado res cloruro férrico y ácido sulfúrico (tablas 8 a 10).

En todas las diluciones el aceite esencial de aguacate presentó una mancha exactamente igual a la del estragol, como puede verse en las tablas 8 y 10 y las figuras 3 y 4. Vuelven a observarse en el estragón y el aceite de aguacate manchas iguales en coloración y valor de  $R_f$ , que posiblemente correspondan a una sustancia común a ambos. Las muestras de estragol como puede verse presentan algunas impurezas.

En la tabla No. 9 se observan los desarrollos de dilu ciones al 5, 10 y 15% en hexano. Se observa una mancha de origen y una mancha extendida del estragol, que avanza poco.

La muestra de aceite esencial de aguacate presenta dos manchas visibles de hidrocarburos, más perceptibles en las diluciones de 10 y 15% (figura 5) con el revelador de yodo en cloroformo y menos notables con otros reveladores. El estragón también presenta manchas de sus hidrocarburos.

En pruebas preliminares el aceite de aguacate presentó tres hidrocarburos, uno de los cuales es visible a la luz ultravioleta después de tratado con ácido y calor.

Para terminar se hicieron análisis cromatográficos tanto de la muestra original de aceite de aguacate como de las fracciones destiladas del mismo (figuras 6 y 7). En todos los casos apareció la mancha del estragol con otras manchas menos notables. En la fracción IV se encontró un hidrocarburo y el otro hidrocarburo en las fracciones I a III.

Para verificar la presencia del estragol en la fracción IV se hizo un análisis en el espectro infrarrojo, resultando las curvas del testigo (figura 1) y la de la fracción (figura 2) similares.

## V. CONCLUSIONES.



1. - El componente más abundante del aceite esencial de hojas de aguacate es el estragol.

2. - Contiene además otras 9 sustancias, tres de las cuales son hidrocarburos y las otras seis compuestos oxigenados no identificados.

3. - La técnica de cromatografía en capa fina dio resultados satisfactorios para la separación de los diversos componentes del aceite esencial.

4. - El adsorbente del gel de sílice resultó el más apropiado, dentro de los que se probaron.

5. - El hexano con 20% de éter etílico dio una buena separación de compuestos oxigenados.

6. - Los reveladores más adecuados para los compuestos oxigenados fueron en este caso particular el cloruro férrico y el ácido sulfúrico.

7. - Para los hidrocarburos son buenos reveladores el yodo en cloroformo, el ácido nítrico en ácido sulfúrico y el permanganato de potasio en agua.

**BIBLIOGRAFIA:**

1. - Appleman, D.  
Preliminary Report of Toxicity of Avocado Leaves  
Calif. Avocado Soc. Los Angeles, Calif. 1944.
2. - Applewhite, T. H.; Diamond, M. J. y Goldblatt, L. A.  
Chromatostrip Analysis of Fatty Acid Derivatives  
Jour. of Am. O. Chem. Soc. 38 609 (1961).
3. - Brom Rojas, E. y Carvalho, F.  
El Aguacate. Primera parte.  
Boletín 346 Secretaría de Agricultura y Ganadería  
Junio (1961) México.
4. - Bryant, L. H.  
Circular Chromatography of Terpenes on Adsorbent  
Coated Glass  
Nature 175-566 (1955) Chem. Abs. 49 14 658d (1955).
5. - Cheronis, N. D.  
Micro and Semimicro Methods  
Interscience Publishers Inc. Nueva York, 1954.
6. - Cheronis, N. D.  
Semimicro Experimental Organic Chemistry  
Hadrian Press, Inc. Nueva York, 1960.

- 7.- Clavet E. E., y Monte, E. L.  
Aplicación de la Cromatografía al estudio de los Aceites Esenciales  
Anales. Asoc. Quím. Argentina 41 99 (1953).  
Chem. Abst. 48 4778 a (1954).
- 8.- Coit, J. E.  
Avocado Leaves Dangerous Food for Livestock  
Calif. Avocado Soc. Los Angeles, Calif. 1943.
- 9.- Demole, E.  
Application de la microchromatographie d'Adsorption sur Couches Minces  
Jour. of Chromatog. 1 24 (1958).
- 10.- Dhont, J. H. y J. de Rooy  
Chromatographic Behaviour of 2, 4 dinitrophenil hydrazones on chromatoplates  
Analyst 86, 74 (1961).
- 11.- Feigl, F.  
Spot Test II Organic Application  
Elsevier Publishing Company, Nueva York, 1954.
- 12.- Guenther, E.  
The Essential Oils Vols. I-II-IV  
D. Van Nostrand Co. Inc. Nueva York, 1950.
- 13.- Heftmann, E.  
Chromatography  
Reinhold Publishing Corporation  
Nueva York, 1961.

- 14.- Hodgman, C. D.  
Handbook of Chemistry and Physics  
Chemical Rubber Publishing Co.  
Ohio, 1944.
- 15.- Hodgsom, R. W.  
The Avocado. A Gift from the Middle Americas  
Ec. Bot. 4 253 (1950).
- 16.- Hume, E. P.  
Growing Avocados in Puerto Rico •  
Fed. Exp. Station in Puerto Rico, U. S. Dept. of  
Agr., Feb. 1951.
- 17.- Kirchner, J. G., Miller, J. M. and Keller, G. J.  
Separation and Identification of Some Terpenes by  
a New Chromatographic Technique  
Anal. Chem. 23 420 (1951).
- 18.- Kirchner, J. G. and Miller, J. M.  
Preparation of Terpenless Essential Oils  
Ind. Eng. Chem. 44 318 (1952).
- 19.- Kirchner, J. G. and Miller, J. M.  
Citrus Flavoring, Volatile Oils Constituents of  
Grapefruit Juice  
J. Agr. Food Chem. 1 512 (1953) Chem. Abst.  
47 8924g (1953).
- 20.- Kirk, R. E. and Othmer, D. T.  
Encyclopedia of Chemical Technology, Vols. 6, 9,  
10, 13.  
The Interscience Encyclopedia Inc., Nueva York,  
1952.

- 21.- Lavat, J. y Montes A. L.  
Aplicación de la Cromatografía al Estudio de los Aceites esenciales. Uso de Tiras en la Resolución de Mezclas.  
Anales Asoc. Quím. Argentina 41 166 (1953) Chem. Abst. 48 3637f (1954).
- 22.- Lederer, E. and Lederer, M.  
Chromatography  
Elsevier Publishing Company, 1957.
- 23.- Miller J. M. y Kirchner, J. G.  
Some Improvements in chromatographic technique for terpenes.  
Anal. Chem. 24 1480 (1952), Chem. Abs. 46 11050e (1952).
- 24.- Miller, J. M. y Kirchner, J. G.  
Chromatostrip for Identifying Constituents of Essential Oils  
Anal. Chem. 25 1107 (1953).
- 25.- Miller, J. M. y Kirchner, J. G.  
Apparatus for the preparation of chromatostrips.  
Anal. Chem. 26 2002 (1954).
- 26.- Montes, Adolfo L.  
Aplicación de la cromatografía al estudio de aceites esenciales.  
Anales Asoc. Quím. Argentina 40 273 (1953).  
Chem. Abs. 47 5631i (1953).

- 27.- Parfs, R. R. y Godon, M.  
Analyse des huiles essentielles par chromatographie  
sur papier et sur plaques. Application a quelques  
Essences officinales.  
Ann. Pharm. Franc 19 86-93 (1961)  
Chem. Abs. 55 26363 g (1961).
28. Parry, E. J.  
The Chemistry of essential oils and artificial  
perfumes.  
Vol. II, Scott Greenwood and Son,  
Londres, 1922, 4-Ed.
- 29.- Pinder, A. R.  
The Chemistry of the Terpenes.  
Chapman & Hall Ltd. Londres, 1960.
- 30.- Polonsky, J.  
Techniques Chromatographiques  
Applications a l'etude des substances naturelles.  
Parfum. Cosmet. Savons 4 308 (1961).
- 31.- Quintanar, F.  
El Aguacate  
Imprenta Guadalajara  
Querétaro, Qro. 1951.
- 32.- Reitsema, R. H.  
Characterization of essential oils  
Mentha Genus Oils  
J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed. 43 414 (1954)

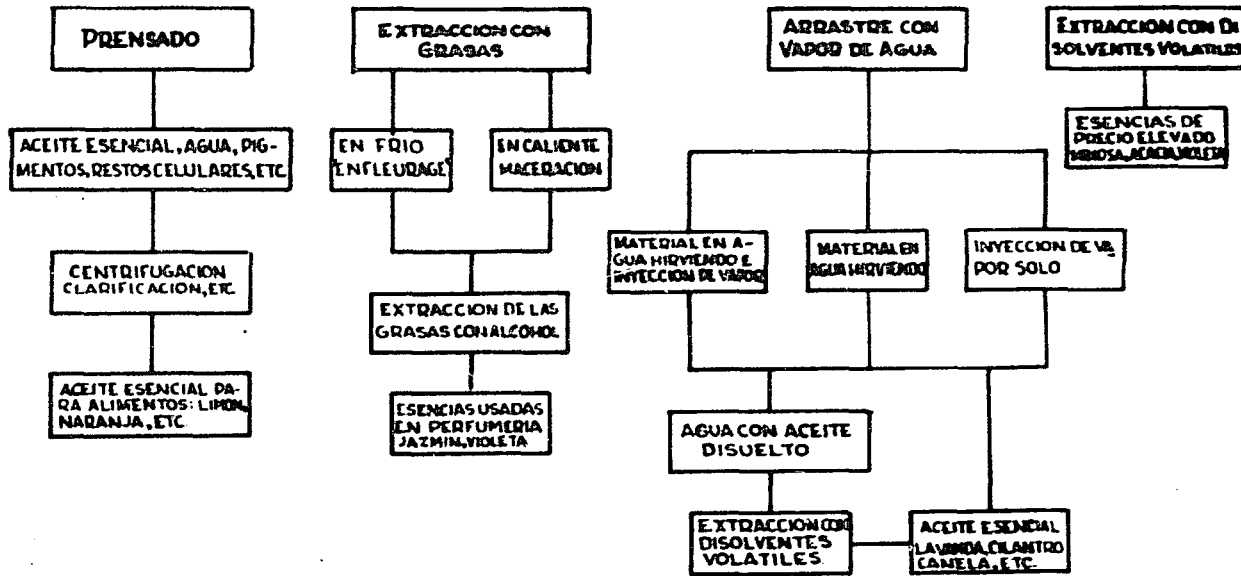
33. - Reitsema, R. H.  
Characterization of Essential Oils by Chromatography  
Anal. Chem. 26 960 (1954).
34. - Schweis H.  
Terpenless Oils for improving perfumes  
Parfum. Cosmet Savons 4 232 (1961)  
Chem. Abs. 55 149b (1961).
35. - Stahl, E., Schröter G., Kraft, G. y Renz, R.  
Dünnschicht-Chromatographie  
Pharm. 11, 633 (1956).
36. - Stahl, E.  
Dünnschicht-Chromatographie II. Standardisierung  
Sichtbarmachung, Dokumentation und Anwendung  
Chem. Ztg. 82 323 (1958).
37. - Stahl E.  
Dünnschicht-Chromatographie, eine Adsorption  
Chromatographische Schnell-methode, mit besonderer  
Beruck sichtigung der Untersuchung von lipiden  
Fette Seifen, Anstrichmittel 60 1027 (1958).
38. - Stahl, E.  
Dünnschicht Chromatographie  
Arch. Pharm. 292 411 (1959).
39. - T. A. P. P. I.  
T209m-45.
40. - Varma, K. C., Burt, J. B. y Schwating, S. E.  
Chromatographic Analysis of Some Terpenes  
J. Am. Pharm. Assoc. 41 318 (1952).



- 41.- Weissberger, A. y Proskauer, E. S.  
Organic solvents, 24a. Ed.  
Interscience Publishers, Inc. Nueva York, 1955.
- 42.- Wattiez, N. y Sternon, F.  
Eléments de chimie végétale.  
Masson et Cie. 2a. Edición. París, 1942.
- 43.- White, L. J. y Eiserle, R. J.  
Essential Oils. Perfume and Flavoring Materials  
Ind. Eng. Chem. 53 421 (1961) Chem. Abs. 55  
16 916 de (1961).
- 44.- Wollish, E. G., Schmall, M., Hawrylyshyn, M.  
Thin-Layer Chromatography. Recent Developments  
in Equipment and Applications.  
Anal. Chem. 33 1138 (1961).

# DIAGRAMA No. 1

## TECNICAS DE OBTENCION DE ACEITES ESENCIALES



GRAFICA No. 1  
 CURVA DE LA DESTILACION DE 25 M.L. DE ACEITE  
 ESENCIAL DE HOJAS DE AGUACATE ETO A 2 M.M.Hg.

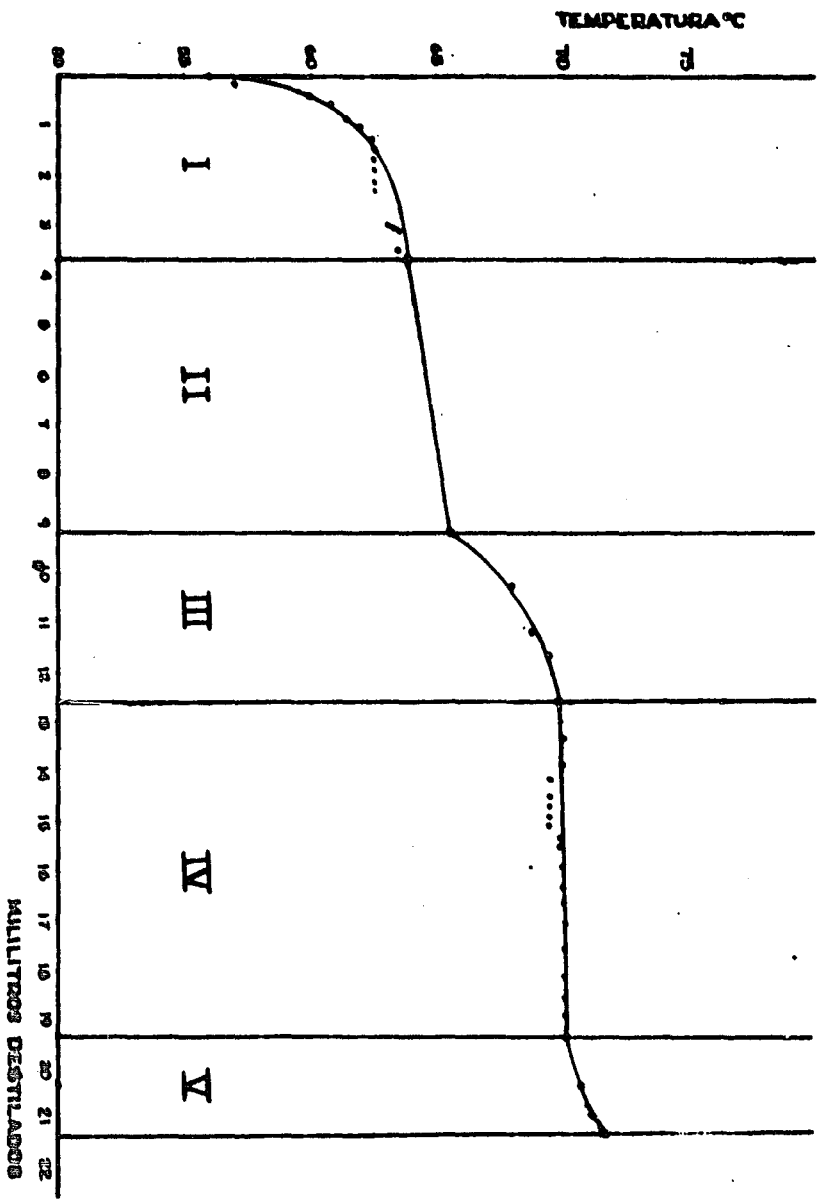


TABLA 1

CONTENIDO DE ACEITE ESENCIAL EN HOJAS DE AGUACATE (PERSEA AMERICANA).

Muestra	Procedencia	Humedad	Peso de la muestra Kg		Aceite esencial obtenido, ml		Rendimiento
		% Base húmeda	Húmeda	Base seca	Húmedo	Secado	% Base seca
1	Xahuentla, Puebla	55.5	18.0	8.465	19	15	0.177
2	San Juan del Rfo, Qro.	63.2	6.3	3.981	25	17	0.927
3	San Juan del Rfo, Qro.	73.7	15.6	4.098	70	48	1.171
4	San Juan del Rfo, Qro.	61.7	22.0	8.006	115	102	1.274
5	Distrito Federal	59.4	10.0	1.630	23	17	1.092

NOTAS:

Muestras 2 y 4 Hoja gruesa de nervadura diferenciada del resto de la hoja por coloración.

Muestra 3 Hoja delgada de nervadura igualmente coloreada.

TABLA 2

PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE AGUACATE (PERSEA AMERICANA) OBTENIDO POR ARRASTRE CON VAPOR DE AGUA.

Muestra No.	<u>Características Físicas</u>				<u>Características químicas</u>			<u>Reacciones Coloridas</u>	
	Densidad a 25°C	Índice de Refracción a 25°C	Rotación óptica a 25°C	Punto de Ebullición en °C*	Índice de Yodo	Índice de Acidez	Índice de ésteres	Aldehidos	Metilcetonas
1	0.9341	1.5042	-0.73	202	197	0.4	4.3	Ligeramente positiva	Huellas
2	0.9518	1.5132	0.00	204	172	0.1	2.4	Huellas Notables	Negativa
3	0.9505	1.5141	-0.08	202	177	0.1	0.4	Huellas	Negativa
4	0.9542	1.5152	+0.24	202	172	0.0	1.8	Huellas	Negativa
5	0.9552	1.5152	-0.10	204	172	0.1	0.1	Huellas	Negativa

\*Punto de ebullición a 585 mm. Hg.

TABLA 3

COMPARACION DE DISOLVENTES Y ADSORBENTES EMPLEADOS EN LA CROMATOGRAFIA LAMINAR DE COMPUESTOS SIMILARES AL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE AGUACATE

Soluciones al 1% de concentración.

MUESTRA	DISOLVENTE: ACETATO DE ETILO EN HEXANO						DISOLVENTE: HEXANO					
	Adsorbente: Alúmina G Revelador: Acido sulfúrico			Adsorbente: Gel de sílice G Revelador: Cloruro férrico			Adsorbente: Alúmina G Revelador: Cloruro férrico			Adsorbente: Gel de sílice G Revelador: Cloruro férrico		
	Rf x 100	Color mancha	U. V. (a)	Rf x 100	Color mancha	U. V. (a)	Rf x 100	Color mancha	U. V. (a)	Rf x 100	Color mancha	U. V. (a)
1 Aceite esencial de aguacate	52	Amarillo	(+)(b)	38	Gris oscuro	-	-	-	-	15	Morado	-
	69	Azul	-	71	Violeta	-	69	-	(+)(a)	-	-	-
	89	Café - Rojo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 Eugenol	0	-	+	42	Morado	-	0	Gris	+	12	Violeta	-
3 Anetol				70	Violeta	-				0	Morado	-
4 Aldehido cinámico				38	Azul	-				0	Morado	-
5 Safrol				70	Morado	-				18	Violeta	-
Mezcla de las fracciones II a V en proporciones iguales	0	Amarillo	+	-	-	-	0	Gris	+	0	Gris oscuro	+
	-	-	-	42	Azul	-	-	-	-	8	Gris claro	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	Azul	-
	-	-	-	73	Morado	-	-	-	-	21	Morado	-

(a)U. V. = Luz ultravioleta

(b)Manchas visibles después del calentamiento

TABLA 4

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y TIEMPO DE ACTIVACION DE PLACAS RECUBIERTAS CON UN ESPESOR DE 20 MICRAS DE GEL DE SILICE EN EL DESARROLLO CROMATOGRAFICO CON MEZCLAS DE DISOLVENTES EN DOS PROPORCIONES.

REVELADO CON CLORURO FERRICO

SOLUCIONES AL 4% DE CONCENTRACION

<u>Activación</u>		<u>Desarrollo</u>		<u>S a f r o l</u>				<u>Aldehido</u>	<u>Anetol</u>
Tiempo en Minutos	Temperatura en °C	Proporción de éter etílico en hexano	Tiempo en Minutos	<u>C o l o r M a n c h a</u>				<u>Cinámico</u>	
				Gris tenue Rf x 100	Gris Rf x 100	Gris intenso Rf x 100	Morado Rf x 100	Naranja Rf x 100	Lila Rf x 100
180	110	20%	85	32	56	66	•	58	90
180	110	30%	80	-	66	71	•	67	84
120	110	20%	85	30	56	64	•	55	86
120	110	30%	80	46	67	75	•	73	93
60	110	20%	60	20	34	46	79	42	76
60	110	30%	83	43	66	72	82	66	90
180	130	20%	66	23	49	57	80	48	89
180	130	30%	75	-	62	70	81	63	90
120	130	20%	66	22	48	56	88	50	84
120	130	30%	75	42	63	69	86	61	84
60	130	20%	75	21	41	49	81	44	80
60	130	30%	84	40	63	69	88	66	89

TABLE 5

ACCIONES DE DIVERSOS REVELADORES EN PLACAS DE GEL DE SILICE ACTIVADAS Y CON MATERIAS DE RESERVATOS ESTANCIAS

Reveladores	Acido Sulfitico	Phenaceo de Bromo (UV)	Cloruro Férrico	Distrito Fiscal Hidráulica	Acido Nitrico en Acido Sulfitico	Verde de bromo (paul)	Verques de yodo	Yodo en cloroforomo	Permanente de yodo	P-mercurialina	Acido Sulfitico	Reservato de Acido Nitrico
Rf x 100	Color	Rf x 100	Color	Rf x 100	Color	Rf x 100	Color	Rf x 100	Color	Rf x 100	Color	Rf x 100
1	Cañi Rosa	-	9	Rosa	8	Amarillo	3	-	11	9	-	9
14	Amarillo	-	14	Amarillo	-	15	15	17	-	-	13	Amarillo
-	-	-	20	Verde	20	Amarillo	-	-	-	22	15	Cañi
30	Verde	-	35	Lila	-	34	Azul	31	Cañi	30	Cañi	Amarillo
45	Cañi Naranja	-	41	Azul	-	34	-	44	37	38	-	81
51	Lila	-	51	Morado	54	Amarillo	40	54	49	50	-	79
78	Rosa	-	78	Morado	-	79	-	-	-	58	-	-
84	Amarillo	29	Rosa	38	Naranja	40	Naranja	30	Cañi	30	Cañi	30
101	Amarillo	72	Verde	82	Lila	79	Rosa-Amarillo	76	Cañi	80	Amarillo	-
102	Rosa	33	Verde	41	Gris	43	Amarillo-Naranja	46	Cañi	43	Cañi	42
15	-	18.5	18.5	18.5	18.5	18.5	18.5	18.5	18.5	18.5	18.5	18.5
70	-	80	85	70	85	85	85	85	85	85	85	85

(1) Solucion al 10% de Concentración  
 (2) Solucion al 4% de Concentración  
 (3) Solucion al 10% de Concentración



TABLA 6

ACCION DE LA CONCENTRACION DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE AGUACATE EN LA MANCHA APLICADA PARA SU DESARROLLO Y REVELADO CROMATOGRAFICO.

DESARROLLO EN GEL DE SILICE CON HEXANO-ETER ETILICO (3/2)

REVELADO CON CLORURO FERRICO.

Color Manchas	(Concentración del aceite esencial)					
	P l a c a 1			P l a c a 2		
	10%	15%	20%	10%	15%	20%
Lila	4	3	3	<u>±</u> 4	4	5
Rosa	-	9	8	-	8	8
Amarillo	13	14	14	12	14	16
Morado-Rosa	25	26	26	26	27	28
Azul pálido	34	34	35	38	37	37
Violeta	<u>±</u> 46	47	45	<u>±</u> 51	48	48
Azul oscuro	78	70	75	80	77	79

TABLA 7

RESULTADOS DEL ANALISIS CROMATOGRAFICO DE LA MUESTRA No. 4 DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE AGUACATE Y SIMILARES.

Disolvente	Revelador	M - 4 (a)		Estragón 1			Anetol (b)		Eugenol (c)		
		Rf x 100	Color	Concentración %			Color	Rf x 100	Color	Rf x 100	Color
				2	5	10					
				R f x 1 0 0							
Hexano	Acido nítrico en	0	Gris	0	0	0	Gris				
	ácido sulfúrico	14 a 43		0 a 16	0 a 21	0 a 28					
		0		-	-	-		-		-	
		9		9	7	9		-		-	
Eter etílico en hexano	Acido nítrico en	17	Gris	17	17	17	Gris	-	Gris	-	Gris
	ácido sulfúrico	21		29	27	28		-		30	
		30		-	53	55		-		-	
		39		68	65	66		70		-	
		70									
Eter etílico en hexano	Cloruro	0	Café	0	0	0	Café				
	férrico	64	Amarillo	-	59	58	Amarillo				
		0 a 11	Rosa	0	0	0	Café	-		-	
		-		-	8	9	Rosa	-		-	
Eter etílico en hexano	Cloruro	17	Amarillo	± 15	15	17	Amarillo	-		-	Morado
	férrico	23	Lila	25	25	25	Rosa	-		26	
		34	Azul	-	-	50	Rosa-naranja	-		-	
		74	Morado	71	71	71	Morado	70	Café-naranja	-	

(a) Solución al 15% de concentración de la muestra M-4 del aceite esencial de hojas de aguacate.

(b) Solución al 2% de concentración.

(c) Solución al 1% de concentración.

TABLA 3

RESULTADOS DEL ANALISIS CROMATOGRAFICO DE LA MUESTRA No. 4 DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE AGUACATE Y COMPUESTOS SIMILARES.

Disolvente	Revelador	Concen- tración %	<u>Estragón 1</u>		<u>M-4*</u>		<u>Estragón 2</u>		<u>Estragón 3</u>	
			Rf x 100	Color	Rf x 100	Color	Rf x 100	Color	Rf x 100	Color
Eter etílico en hexano	Acido sulfúrico	10	0	Café	0 a 10	Café-amarillo	-		0	Café
			7	Amarillo	18	Amarillo	10	Rosa	10	Verde
			15	Verde	24	Amarillo-verde	-		16	Rosa
			26	Rosa	36	Café-naranja	47	Azul	25	Amarillo
			78	Rojo-verde	75	Rojo-verde	74	Rojo-verde	73	Rojo-verde
Eter etílico en hexano	Cloruro ferrico	5	0	Café	0	Café	-		0	Café
			-		4	Violeta	3	Café	-	
			14	Amarillo	12	Amarillo	14	Morado-gris	12	Amarillo
			24	Rosa	25	Lila	-		24	Lila
			34	Azul	35	Azul	-		36	Azul
			-		45	Morado	-		-	
		73	Morado	72	Morado	72	Morado	73	Morado	
Eter etílico en hexano	Acido sulfúrico con calentamiento	5	0		2		3		0	
			12		12		13		12	
			23	Gris	25	Gris	22	Gris	24	Gris
			36		36		-		36	
			-	Azuloso	47	Azuloso	-	Azuloso	-	Azuloso
			75		75		74		73	

NOTA: (\*) Aceite esencial de hojas de aguacate, muestra M-4.

Tabla 5

RESULTADOS DEL ANALISIS CROMATOGRAFICO DE LA MUESTRA N.º 4 DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE AGUACATE Y COMPUESTOS SIMILARES.

Disolvente	Revelador	Conven- tional %	Barrido 1		M.º		Barrido 2		Barrido 3	
			Rf a 100	Color	Rf a 100	Color	Rf a 100	Color	Rf a 100	Color
Hexano	Yodo		0 a 31		0 a 30		0 a 30		0 a 31	
	en cloroformo	5	-	Amarillo	-	Amarillo	-	Amarillo	90	Amarillo
Hexano	Acido nítrico		0 a 25		0 a 20		0 a 25		0 a 20	
	en ácido sulfúrico	5		Grís	-	Grís	-	Grís	60	Grís
Hexano	Permanganato de potasio		0 a 31		0 a 31		0 a 32		0 a 33	
		5	-	Café- amarillo	-	Café- amarillo	-	Café- amarillo	60	amarillo
Hexano	Acido sulfúrico	10	0	Café	-	-	-	-	-	-
			25	Rojo	24	Rojo	24	Rojo	23	Rojo
			60	Café-naranja	-	-	-	-	50	Café-naranja
Hexano	Yodo				0		0		0	
	en cloroformo	10			19 a 55	Café	10 a 60	Café	16 a 30	Café
Hexano	Acido nítrico				0		0		0	
	en ácido sulfúrico	10			16 a 40	Grís	16 a 47	Grís	17 a 44	Grís
					60		-		60	
					-		-		67	
Hexano	Yodo				0		0		0	
	en cloroformo	10			10 a 34	Café	10 a 64	Café	10 a 67	Café
					60		-		70	
					85		-		80	
Hexano	Acido nítrico				0		0		0	
	en ácido sulfúrico	10			11 a 40	Negro	11 a 60	Negro	11 a 52	Negro
					70		-		71	
					-		-		83	

NOTA: (0) Aceite esencial de hojas de aguacate, muestra M-4

TAHIA 10

RESULTADOS DEL ANALISIS CRIMATOGRAFICO DE LA MUESTRA Nº 1 DEL SUSTRATO ESENCIAL DE HOJAS DE AGUACATE Y COMPUESTOS SIMILARES.

Concentración %	Disolvente	Revelador	Esipación 1		M-19		Esipación 2		Esipación 3	
			Rf x 100	Color	Rf x 100	Color	Rf x 100	Color	Rf x 100	Color
10	Eter etílico en hexano	Acido sulfúrico	5	Amarillo	4	Café-verde	0	Café	-	-
			11	Rosa	14	Amarillo	14	Verde	30	Naranja
			30	Rosa	30	Violeta	30	Amarillo	32	Rosa
			-	-	40	Café-naranja	41	Café-naranja	-	-
			-	-	51	Lila	-	-	-	-
			-	-	-	-	-	-	-	-
			81	Rojo	78	Rojo	79	Rojo	88	Rojo
15	Eter etílico en hexano	Acido sulfúrico	8	Amarillo	3	Café-verde	0	Café	-	-
			21	Rosa	13	Amarillo	13	Verde	-	-
			40	Rosa	31	Violeta	33	Amarillo	-	-
			-	-	48	Café-naranja	49	Café-naranja	-	-
			-	-	54	Lila	-	-	-	-
			-	-	74	Amarillo	80	-	-	-
			87	Rojo	88	Rojo	91	Rojo	-	-
10	Eter etílico en hexano	Cloruro férrico	0	Café	0	Café	0	Café	-	-
			-	-	4	Rosa	-	-	3	Lila
			-	-	14	Amarillo	13	Amarillo	-	-
			20	Gris-violeta	20	Pardo	21	Rosa	18	Gris
			-	-	29	Lila	30	Lila	-	-
			-	-	41	Azul	41	Azul	-	-
			-	-	51	Morado	-	-	59	Morado
77	Morado	78	Morado	77	Morado	80	Morado			
15	Eter etílico en hexano	Cloruro férrico	0	Café	0	Café	0	Café	-	-
			-	-	4	Rosa	-	-	-	-
			-	-	13	Amarillo	13	Amarillo	-	-
			22	Gris-violeta	18	Pardo	20	Rosa	-	-
			-	-	28	Lila	28	Lila	-	-
			-	-	38	Azul	39	Azul	-	-
			-	-	50	Morado	-	-	-	-
82	Morado	82	Morado	80	Morado	-	-			

NOTA: (0) Aceite esencial de hojas de aguacate, muestra M-4

TABLA 11

RESULTADOS DEL ANALISIS CROMATOGRAFICO DE LAS FRACCIONES DESTILADAS DE LA MUESTRA No. 4  
DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE AGUACATE.

Disolvente	Revelador	Color mancha	R f x 1 0 0				
			I	II	III	IV	V
Hexano	Yodo en cloroformo	Amarillo	15 a 45	23 a 80	21 a 89	20 a 75	19 a 88
Hexano	Permanganato de potasio	Amarillo	0 a 57 75	10 a 87 -	10 a 80 -	9 a 87 -	9 a 87 -
Eter etílico en hexano	Cloruro ferrico	Azul	5	6	7	6	3
		Naranja	-	-	-	-	9
		Amarillo	13	14	14	13	14
		Gris	-	19	-	-	-
		Rosa	-	27	-	-	-
		Azul-pálido	-	-	-	-	47
		Azul	-	-	-	55	-
		Morado	54	-	-	-	59
Morado-azul	81	89	88	87	88		
Eter etílico en hexano	Acido nítrico en ácido sulfúrico		4	4	3	3	3
			12	12	11	11	11
		Gris azuloso	25	26	-	-	25
			-	-	-	-	36
			-	-	-	42	46
		83	84	83	83	82	

TABLA 12

RESULTADOS DEL ANALISIS CROMATOGRAFICO DE LAS FRACCIONES DESTILADAS DE LA MUESTRA  
No. 4 DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE AGUACATE, USANDO ESTRAGOL COMO TESTIGO.

Disolvente	Revelador	Color Mancha	R	f	x	1	0	0
			I	II	III	IV	Estragol 4	
Hexano	Yodo en cloroformo	Amarillo	10 a 43	6 a 45	6 a 41	8 a 41	8 a 40	
			73	72	70	64	-	
Hexano	Permanganato de potasio	Amarillo	0 a 40	0 a 48	0 a 43	0 a 46	0 a 48	
			75	-	-	73	-	
Eter etílico en hexano	Acido Sulfúrico	Café	4	4	4	4	-	
		Amarillo	13	14	13	14	-	
		Naranja	21	-	-	-	20	
		Rosa	-	-	-	-	32	
		Verde	85	84	82	84	86	
Eter etílico en hexano	Cloruro férico	Lila	-	-	-	-	2	
		Café	5	4	3	3	-	
		Amarillo	12	15	12	11	-	
		Gris	-	-	-	-	18	
		Morado	-	-	-	45	-	
		Morado	55	-	-	-	59	
		Morado	81	80	80	77	80	

FIGURA 1

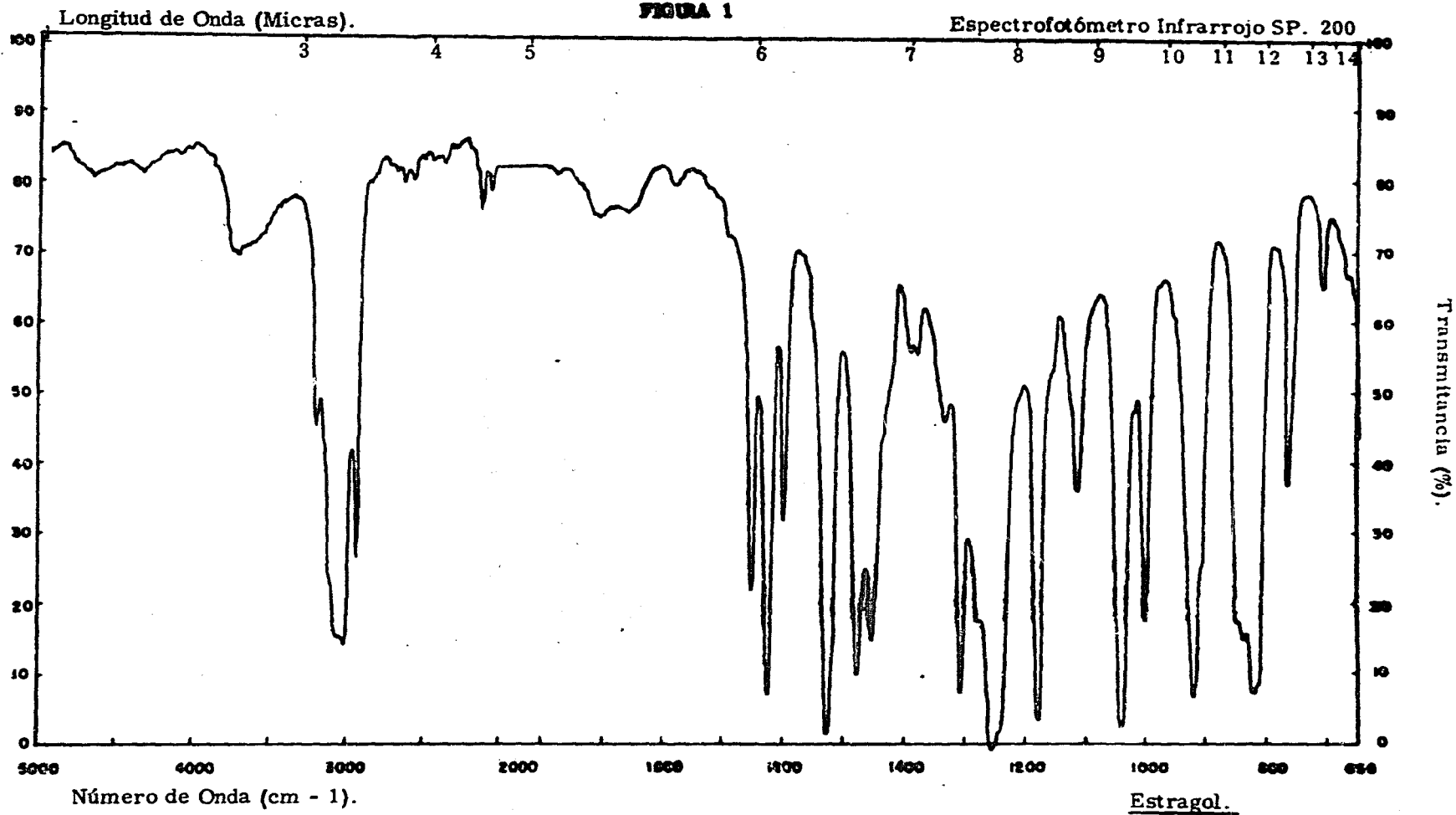




FIGURA 2

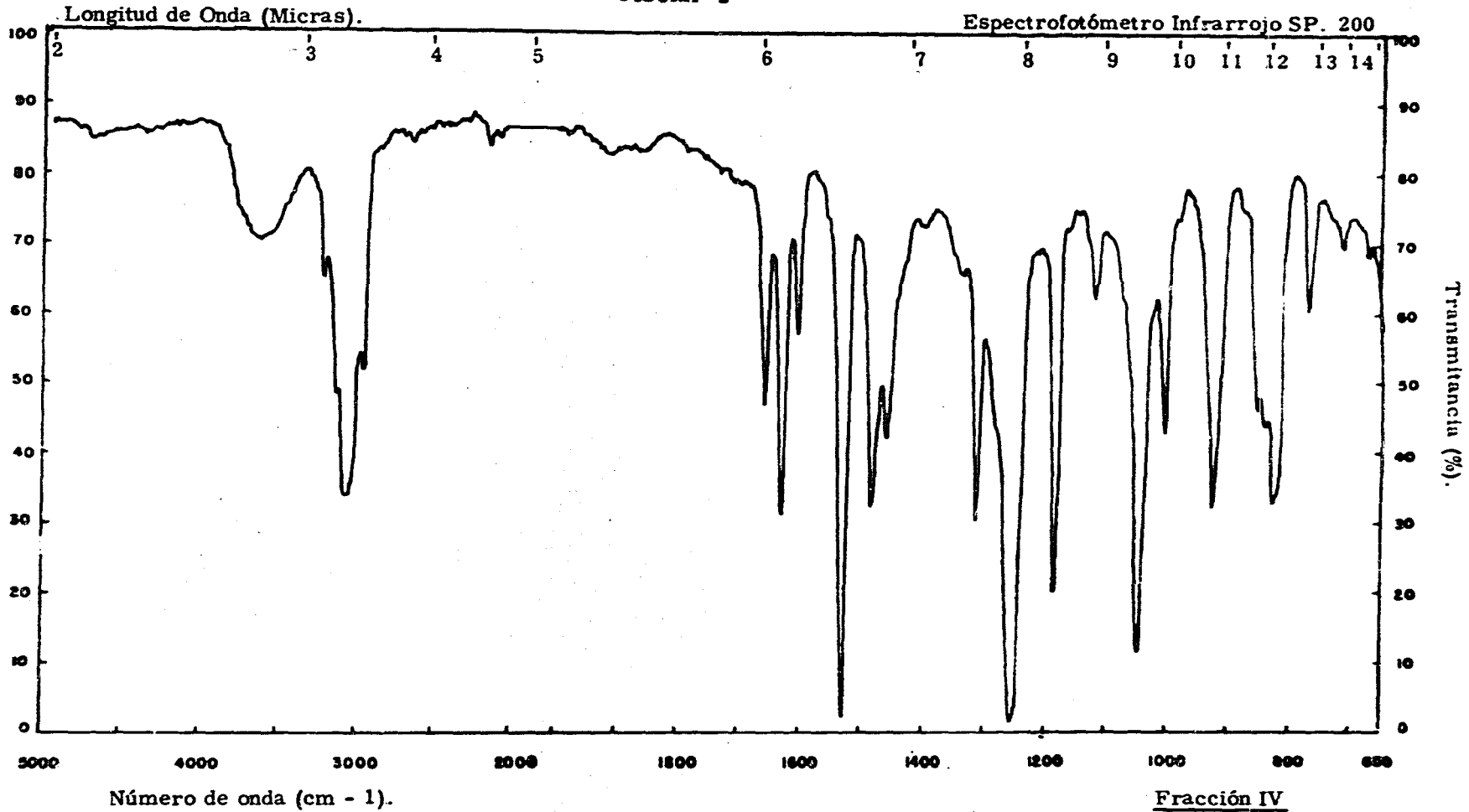




Figura 3

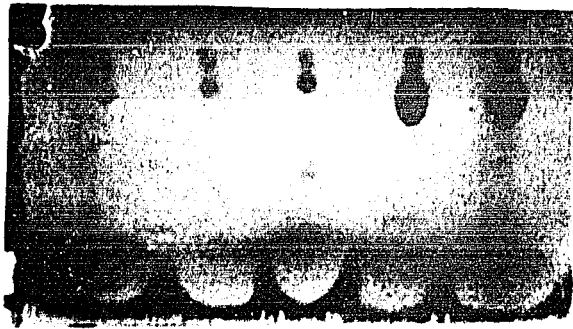


Figura 4

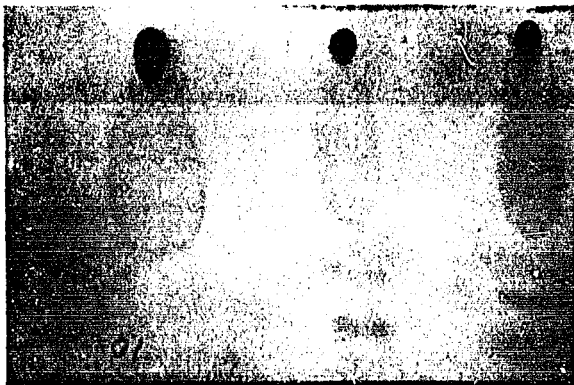


Figura 5

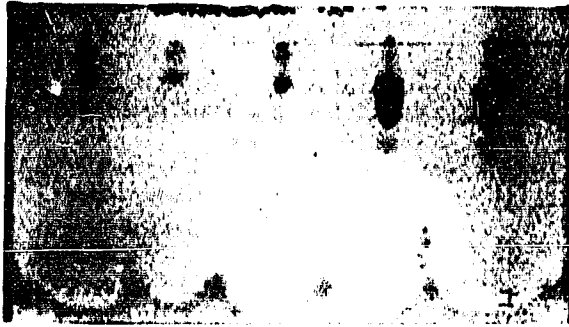


Figura 3

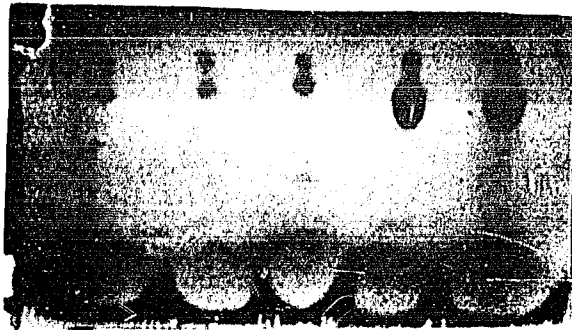


Figura 4



Figura 5

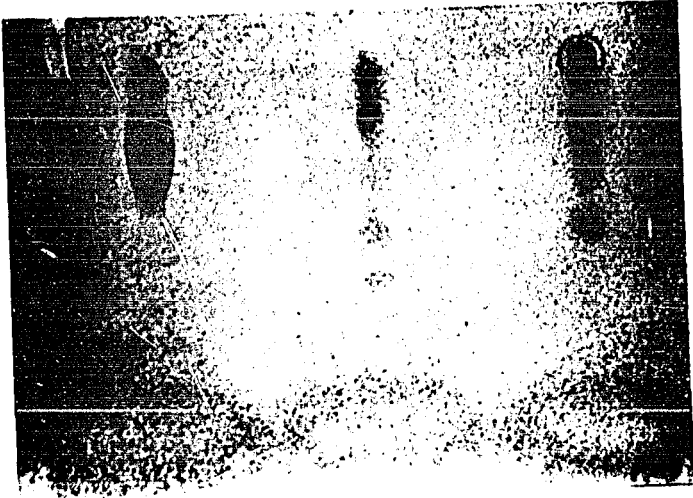


FIGURA 6



FIGURA 7