

INFLUENCIA DE LOS PARAMETROS DE LA CROMATOGRAFIA LIQUIDO-SOLIDO EN GEL DE SILICE SOBRE LA ISOMERIZACION DE LOS HIDROCARBUROS MONOTERPENICOS PRESENTES EN LOS ACEITES ESENCIALES DE CITRICOS

J. Pino* y D. Montalvo

Dpto. Frutas y Vegetales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de La Habana, Cuba

Recibido: 6 de febrero de 1984

ABSTRACT. During the liquid-solid chromatography of monoterpene hydrocarbon mixtures from grapefruit essential oil using silica gel as adsorbent, alterations in the composition of the mixtures were observed by means of gas-liquid chromatography. Column temperature, active sites on dried silica gel and metallic impurities were found to be responsible for a series of isomerization of some constituents. It is recommended the use of silica gel 60 extrapure with 6,2 % of water, on columns at temperature below 20 °C to avoid the isomerizations.

RESUMEN. Durante la cromatografía líquido-sólido de mezclas de hidrocarburos monoterpénicos del aceite esencial de toronja, utilizando gel de sílice como adsorbente, mediante cromatografía gas-líquido se observaron alteraciones en la composición de estas mezclas. La temperatura de la columna, los sitios activos de gel de sílice y las impurezas metálicas fueron las responsables de una serie de isomerizaciones de algunos constituyentes. El uso de gel de sílice 60 extrapuro con 6,2 % de agua en una columna a temperatura inferior a 20 °C se recomienda para evitar tales isomerizaciones.

INTRODUCCION

Los aceites esenciales de cítricos son mezclas complejas de constituyentes que comprenden una alta proporción de hidrocarburos monoterpénicos y derivados oxigenados de los mismos. Por tal razón, se requiere el empleo de técnicas de separación eficientes para lograr una buena identificación y cuantificación de los constituyentes.

El análisis por cromatografía gas-líquido (CGL) resulta la técnica más adecuada para el estudio de los aceites esenciales y aromas naturales. Sin embargo, en ocasiones esta técnica falla, pues no se logra una separación completa de todos los constituyentes presentes, apareciendo en un mismo pico cromatográfico más de uno; en algunos casos hasta hidrocarburos y derivados oxigenados.

Para evitar esta dificultad, es práctica común el prefractionamiento por cromatografía líquido-sólido (CLS)

en columna, generalmente con gel de sílice como adsorbente¹⁻⁶.

La mayoría de los trabajos publicados se contradicen acerca de las isomerizaciones observadas en los hidrocarburos monoterpénicos y en las formas de prevenir tales alteraciones. En general, se atribuye al sabineno, α - γ -pineno, α -felandreno y α -terpineno, como los más reactivos con la formación de productos de isomerización, tales como α - y δ -terpineno, terpinoleno, α - γ -felandreno, limoneno y p-cimeno⁶.

Para el análisis de los aceites esenciales y fracciones aromáticas de los cítricos, por tanto, se necesitan las condiciones cromatográficas adecuadas que eviten alteraciones en estos hidrocarburos monoterpénicos y para lograr dicho objetivo en este trabajo se estudiaron tres parámetros: temperatura de la columna, contenido de agua o actividad y contenido de impurezas de gel de sílice utilizando como muestra patrón el aceite de toronja, en cuya composición están presentes los hidro-

*Dirección actual: Dpto. de Aromas, Inst. de Invest. para la Industria Alimenticia, Km 31/2 Ave. Rancho Boyeros, Cerro, Ciudad de La Habana, Cuba.

carburos monoterpénicos: α -pineno, sabineno, mirceno y limoneno.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó aceite de toronja exprimido en frío, producido en un combinado citrícola.

El análisis por CGL se realizó en un equipo Chrom 4 con detector de ionización por llama con las condiciones siguientes: columnas de acero inoxidable de 2,5 m x 3 mm d.i., rellenas con Chromosorb W (silanizado, 80 a 100 mesh) impregnado con PEG 20 M al 10 %. La temperatura del inyector fue de 200 °C y la del horno de 80 a 210 °C a 6 °C/min, e isotérmico a 210 °C durante 15 min. El flujo del gas portador argón fue de 30 mL/min. El análisis cuantitativo se realizó por cálculo del porcentaje de áreas medidas por triangulación gráfica. Como concentración de referencia de cada hidrocarburo se determinó el porcentaje de cada uno a partir del total de la fracción de hidrocarburos monoterpénicos determinada por CGL del aceite esencial.

Para la separación por CGL se empleó una columna (30 cm x 1,5 cm d.i.) con camiseta refrigerada conteniendo una mezcla de 10 g de gel de sílice en hexano. En cada variante se eluyó 1 g de aceite esencial con 100 mL de hexano bidestilado. El solvente de la fracción eluida fue eliminado en un evaporador rotatorio a 10 mm Hg y la fracción concentrada se enrasó a 4 mL con el mismo solvente. Se emplearon dos tipos de adsorbentes: gel de sílice 60 (Merck, 0,3 % Fe) y gel de sílice 60 extrapuro (Merck, 0,002 % Fe; Cu y Zn) ambas de 70 a 230 mesh. Los dos tipos de adsorbentes se experimentaron en forma anhidra (actividad I), con 6,2 de agua (actividad III) y 9,3 % de agua (actividad IV). Para el gel de sílice 60 extrapuro con actividad III se realizaron experiencias a 10; 20 y 30 °C.

RESULTADOS Y DISCUSION

La influencia del parámetro temperatura de la columna se estudió para tres temperaturas, determinándose las concentraciones relativas de los distintos componentes de la fracción de hidrocarburos monoterpénicos antes y después que el aceite esencial fue eluido por la columna cromatográfica rellena con gel de sílice 60 extrapuro de actividad III; estos resultados se presentan en la Tabla I. Como referencia para estas experiencias se mezcló 1 g de aceite esencial con 100 mL de hexano y se concentró de forma similar a las fracciones eluidas. Con el fin de conocer si ocurrieron cambios durante la evaporación del solvente, se diluyó 1 g de aceite esencial a 4 mL con hexano y se compararon los resultados del análisis por CGL con la referencia anterior, determinándose diferencias menores de 0,2 %, lo que indica que no hay afectación por el procedimiento de concentración.

TABLA I
Influencia de la temperatura de la columna sobre los hidrocarburos monoterpénicos del aceite esencial de toronja (%)*

Constituyente	REF	Temperatura (°C)		
		10	20	30
α -pineno	3,8	3,8	3,7	2,5
sabineno	2,4	2,4	2,3	2,1
mirceno	22,3	22,4	22,5	22,9
Limoneno	71,5	71,4	71,5	72,5

*Columna de gel de sílice 60 extrapuro (Merck) y actividad III

En la Tabla I se observa que las temperaturas de 10 y 20 °C no causan alteraciones en la composición química, mientras que realizando la separación cromatográfica a 30 °C ocurrieron cambios significativos en los hidrocarburos monoterpénicos analizados con la disminución de la concentración de α -pineno y sabineno y el consiguiente aumento de los picos cromatográficos asignados al mirceno y limoneno. Otros productos de isomerización no fueron detectados por las altas concentraciones de los dos últimos hidrocarburos mencionados que enmascaran la presencia de otros.

La influencia del contenido de impurezas metálicas se estudió con 2 grados de pureza de gel de sílice 60 y experimentando en un caso con 2 y en otro con 3 grados de actividad. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla II, donde se observa que el adsorbente anhidro (actividad I) causa alteraciones en todos los casos, aunque son menos significativos empleando gel de sílice 60 extrapuro. Con contenidos de agua 6,2 y 9,3 % (actividades III y IV respectivamente), el gel de sílice con mayor grado de pureza no causa alteración en la composición de hidrocarburos monoterpénicos del aceite esencial. Sin embargo, con el gel de sílice 60, de mayor contenido de impurezas metálicas, aun se producen cambios en la fracción de hidrocarburos monoterpénicos. Así se confirma que las impurezas metálicas en el adsorbente provocan un efecto catalítico en las isomerizaciones observadas, al menos en concentraciones iguales o superiores a 0,03 % Fe.

TABLA II
Influencia del contenido de impurezas metálicas y de agua sobre los hidrocarburos monoterpénicos del aceite esencial de toronja (%)

Constituyente	REF	gel de sílice 60		gel de sílice 60 extrapuro		
		I	III	I	III	IV
α -pineno	3,8	2,6	3,1	3,2	3,8	3,8
sabineno	2,4	1,4	1,6	1,9	2,4	2,3
mirceno	22,3	22,0	22,0	21,9	22,4	22,5
limoneno	71,5	73,9	73,0	73,0	71,4	71,4

El efecto del parámetro contenido de agua del adsorbente se estudió para tres niveles como se muestra en la Tabla II. En la misma se observa que niveles superiores al 6,2 % en el gel de sílice 60 extrapuro no causan alteraciones detectables en la fracción de hidrocarburos monoterpénicos analizada. De acuerdo a estos resultados, puede afirmarse que la adición de sustancias orgánicas, tales como PEG o Emulphor O, para prevenir las isomerizaciones¹⁻³, no es necesaria y así se evitan los problemas secundarios que acarrea el arrastre de estas sustancias durante la separación cromatográfica.

Otros autores^{8,9} han empleado niveles de agua superiores al 6,2 %. Un fraccionamiento eficiente de una mezcla compleja de compuestos terpénicos requiere que el contenido de agua sea lo más bajo posible siempre que la composición de la mezcla lo permita.

CONCLUSIONES

Se recomienda que para el análisis de aceites esenciales y fracciones aromáticas de cítricos se realice la separación por cromatografía líquido-sólida de columna con gel de sílice 60 extrapuro de actividad III y a temperaturas de 10 a 20 °C con lo que se obtendrán resultados más exactos de la composición original del aceite esencial.

BIBLIOGRAFIA

1. Kugler A. and Kóvats E. *Helv. Chim. Acta* 46, 1480, 1963.
2. Hefendehl F. *Arch. Pharm.* 300, 438, 1967.
3. Tápanes R., Pérez J. y Fanghanel E. *Revista CENIC Ciencias Físicas* 3, 1, 1971.
4. Scheffer J. and Svendsen A. *J. Chromatog.* 115, 607, 1985.

5. Snyder L. *Chromatography*, Heftmann E. (ed.) Van Nostrand Reinhold Co., N. York, p. 54, 1975.
6. Scheffer J., Koedam A. and Baerheim A. *Chromatography* 9, 425, 1975.
7. Correa M. Tesis de Diploma, Univ. de La Habana, 1982.
8. Nickerson G. and Likens S. *J. Chromatog.* 21, 1, 1966.
9. Loev B. and Coodman M. *Chem. Ind.* 2026, 1967.



SISTEMA DE PRODUCCION DE OZONO CON FINES TERAPEUTICOS

El sistema de producción de ozono con sus correspondientes accesorios para el tratamiento de pacientes aquejados de diversas enfermedades tales como: úlceras, trastornos vasculares, etcétera consiste en un equipo generador de ozono (ozonizador), así como de accesorios que permiten la realización de la ozonoterapia en sus diversas formas, lo que convierte al mismo en un equipo muy versátil.

CARACTERISTICAS TECNICAS

OZONIZADOR

Producción de ozono: regulable a concentraciones entre 2 y 100 mg/L.

Consumo de electricidad: 0,3 kWh max

Enfriamiento: por aire

Consumo de oxígeno: en dependencia del tratamiento

Dimensiones: (400 x 400 x 800) mm

ACCESORIOS

- Botas plásticas especiales, con entrada y salida de ozono.
- Cápsulas con entrada y salida de ozono.
- Reactor para la preparación de disolución acuosa de ozono.

EXPORTADO POR:
EXPORTED BY:

mediCuba

PRODUCIDO POR:
PRODUCED BY:

