

Bol. inst. quím. univ. nal. autón. Méx. XIII, pág. 6-13 (1961).

SEPARACION Y DETERMINACION DE COMPUESTOS FRAGRANTES POR MEDIO DE CROMATOLOGRAFIA EN FASE GASEOSA.

G. Alvarado y A. Manjarrez.

Contribución Nº 132 del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Recibido, Diciembre 1, 1961.

Con el objeto de obtener curvas tipo y tiempos de retención de compuestos fragantes, que sirvan posteriormente para analizar aceites esenciales de plantas mexicanas, se estudiaron no sólo algunos de estos compuestos, sino distintos soportes inertes, líquidos de partición, temperaturas de separación y longitud de las columnas, hasta obtener los óptimos resultados que se encuentran en las siguientes tablas.

Columnas.

Se usaron columnas de acero inoxidable de 1.83 m. \times 6.35 mm. de diámetro exterior y 5 mm. de diámetro interior y columnas de cobre de 4 m. \times 6.35 mm. de diámetro exterior y 3.5 mm. de diámetro interior.

Soportes inertes.

Se emplearon dos soportes comúnmente usados para este objeto: celita (Columpak 32-60 mallas, Fisher Scientific) y ladrillo refractario de 32-60 mallas (Beckman Instruments). También se ensaya-

ron materiales fácilmente asequibles, como piedra pómez de 32 a 60 y de 60 a 80 mallas (vidrio volcánico de tipo riolítico)*. tezontle de 32-60 mallas (roca ígnea piroclástica de tipo basáltico, con una textura vesicular) y lava de 32-60 mallas [basalto de olivino, holocristalino (?)]. Sin embargo, ninguno de estos tres materiales dio un resultado satisfactorio como soporte inerte.

Analizando la eficiencia de los soportes con la ecuación de Van Deemter, se encontró que para el caso de la piedra pómez la eficiencia de la columna resultó muy pobre, debido a que se obtienen máximos asimétricos. A medida que se aumenta la cantidad de líquido de partición con respecto a la cantidad de soporte inerte, se disminuye la asimetría de los máximos; sin embargo, los tiempos de retención de los componentes analizados aumentaron considerablemente. En el caso del tezontle, aunque en menor grado, también se obtuvieron máximos asimétricos para los diversos componentes analizados. Cuando se usó piedra volcánica se obtuvieron máximos simétricos; sin embargo, solamente se pudo impregnar con un 10% de líquidos de partición, ya que con porcentajes mayores el líquido de partición era expulsado de la columna. Con esa impregnación no se obtuvieron buenas resoluciones al tratar de separar mezclas de compuestos fragantes.

*Líquidos de partición.***

Los tres líquidos usados como fase estacionaria fueron carbowax 4000, Silicón 710R y grasa apieción L de la Metropolitan Vickers Electrical Co.

Preparación de la carga de las columnas.

Se colocó el soporte en un matraz de 500 ml. con junta esmerilada y se impregnó con una solución del líquido en un disolvente de bajo punto de ebullición. En el caso del carbowax 400 se empleó cloruro de metileno y para el apieción y silicón, cloroformo. La cantidad de líquido añadido depende de la relación soporte-líquido

* Agradecemos al geólogo Eduardo Schmitter, del Instituto de Geología, la descripción mineralógica de estos materiales.

** Agradecemos a la Dow Química Mexicana, S. A. el donativo de unas muestras de silicón y a la National Carbon Eveready, S. A., las muestras de carbowax.

que se desee obtener. Después se evaporó totalmente el disolvente calentando al vacío mientras el matraz se hacía girar por medio de un aparato Rotavapor (W. Büchi, Flavil, Suiza). Así se obtuvo una distribución uniforme del líquido de partición sobre las partículas de soporte sólido, lo cual no se logra haciéndolo manualmente.

Para empacar la columna, se tapa un extremo con lana de vidrio, y conectando este extremo con un vibrador tipo Müller (A. G. für Chemie-Aparatbau, Zürich), se agrega la carga lentamente por el otro extremo, para obtener una distribución uniforme a través de la columna. Una vez llena ésta, se tapa el otro extremo con lana de vidrio, se enrolla en espiral y se conectan sus extremos, uno al detector y el otro a la entrada del gas. Se regula la presión del gas a la entrada del aparato por medio de un manómetro para obtener un flujo adecuado a la salida de la columna. En este trabajo se empleó helio en todas las pruebas.

Se regula la temperatura a la cual se va a trabajar, dejando estabilizar el aparato durante 2 ó 3 horas antes de introducir las muestras, que se inyectan por medio de una jeringa Beckman con capacidad de 0.05 a 0.05 cc.

COMPUESTOS ANALIZADOS

Se emplearon en total 15 compuestos, purificándose previamente cada uno por destilación, a un vacío de 4 mm. en una columna Widmer de 20 cm. de longitud.

El α -pineno que se empleó como referencia para los tiempos de retención de los demás compuestos, se obtuvo de aguarrás comercial, por destilación a una presión de 21 mm., colectando la fracción que destiló entre 54 y 56°. Esta porción de α -pineno se purificó por medio de su cloronitrito, siguiendo el método de Wallach (1), usando ácido acético glacial, nitrito de amilo y ácido clorhídrico. Se obtuvieron así unos cristales con un punto de fusión de 104-105°. Se regeneró el α -pineno puro por el método de Walach (2), con anilina, y mostró tener las constantes físicas apropiadas.

Se ensayaron tres columnas con distintos líquidos de partición, con el fin de seleccionar la columna que diera las mejores separaciones. Así se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla I).

T A B L A I

Tiempos de retención relativos al α -pineno

Columna de acero	Columna 1	Columna 2	Columna 3
SopORTE inerte	Celita	Ladrillo	Ladrillo
Líquido de partición	Carbowax 4000 al	ApieZón L al 40%	Silicón 710 R al 30%
Presión del gas a la entrada	28.5%	2.81 Kg./cm. ²	2.81 Kg./cm. ²
Flujo del gas a la salida	2.81 Kg./cm. ²		
(Con capilar Beckman N ^o 45441)	129.3 cc./min.	110.4% cc./min.	114 cc./min.
Temperatura	190°	190°	160°
Velocidad de la gráfica del registro	1.27 cm./min.	(Igual para todas las pruebas hechas)	
Coriente en el detector	250 ma.	(" " " " " ")	

Sustancia	Punto de eb. a 760 mm.*	Tiempos de retención relativos		
1.— α -Pineno	155.6°	1.00	1.00	1.00
2.—Alcohol n-octílico	194.5°	1.43	1.35	2.16
3.—Linalol	197.9°	1.33	1.10	2.55
4.—Benzoato de metilo	198.9°	2.33	1.93	3.90
5.—Acetatto de bencilo	213.5°	3.16	2.29	—
6.—Alcohol feniletílico	219.0°	5.83	2.18	4.65
7.—Acetato de terpenilo	220.0°	0.58	1.72	1.74
8.—Acetato de linalilo	220.0°	0.66	1.66	1.76
9.—Salicilato de metilo	222.0°	3.16	2.81	5.46
10.—Citronelol	222.0°	4.16	3.33	6.62
11.—Acetato de bornilo	226.7°	4.50	5.52	10.00
12.—Anetol	234.7°	1.90	1.56	7.90
13.—Acetato de cinamilo	271.0°	1.66	1.14	2.09

Volumen de retención del α -pineno = tiempo de retención \times flujo = 362.0 ml. 529.9 ml. 492.8 ml.

* Reportados en la literatura.

De los resultados obtenidos con estos tres líquidos de partición, se vio que las columnas cargadas con carbowax 4000 y silicón 710R daban los mejores resultados. Entonces se preparó en una columna de cobre de 4 m. de largo, una combinación de los dos líquidos de partición, sobre ladrillo; se llenó hasta la mitad con carbowax 4000 en una proporción de 28.5% y con silicón 710R al 28.5% la otra mitad.

Los resultados obtenidos con esta columna mixta, no empleada anteriormente, se encuentra en la Tabla II.

T A B L A I I

Tiempos de retención relativos al α -pineno en una columna compuesta, pasando las muestras primero por carbowax 4000 y luego por silicón 710R.

Columna de cobre de 4 m. de longitud.

Presión del gas a la entrada del aparato 2.81 Kg./cm.²

Flujo del gas a la salida (con capilar Beckman N^o 45401) 288 cc./min.

Temperatura 160°

Corriente en el detector 250 ma.

<i>Sustancia</i>	<i>Tiempos de retención relativos</i>
1.— α -Pineno	1.00
2.—Limoneno	1.81
3.—Acetato de linalilo	1.90
4.—Acetato de terpenilo	2.12
5.—Acetato de cinamilo	4.38
6.—Alcohol n-octílico	4.48
7.—Linalol	4.54
8.—Benzoato de metilo	6.96
9.—Anetol	8.63
10.—Terpineol	9.09
11.—Acetato de bencilo	10.09
12.—Citronelol	11.51
13.—Salicilato de metilo	12.57
14.—Acetato de bornilo	16.06
15.—Alcohol feniletílico	17.12

Los tiempos de retención de las sustancias obtenidas con la columna anterior, no son mejores que los que se encuentran en la Tabla I, por lo que se investigó el efecto que producía cambiar el

orden de los líquidos de partición, es decir, se invirtió la columna y así se obtuvieron los resultados siguientes. (Tabla III).

T A B L A I I I

Tiempos de retención relativos al α -pineno, en una columna compuesta, pasando la muestra primero por el silicón 710R y luego por carbowax 4000, con las mismas condiciones de presión, temperatura y corriente que en la Tabla II.

<i>Sustancia</i>	<i>Tiempos de retención relativos</i>
1.— α -pineno	1.00
2.—Limoneno	1.66
3.—Acetato de terpenilo	1.77
4.—Alcohol n-octílico	3.35
5.—Linalol	3.66
6.—Benzoato de metilo	5.48
7.—Terpineol	7.44
8.—Anetol	7.88
9.—Acetato de bencilo	8.33
10.—Citronelol	8.77
11.—Salicilato de metilo	9.88
12.—Alcohol feniletílico	12.66
13.—Acetato de bornilo	13.77
14.—Acetato de linalilo	—
15.—Acetato de cinamilo	—

Se encontró que con esta columna los tiempos de retención disminuyen en general, y solamente en dos casos, no salieron en tiempos razonables.

Se investigó entonces la otra posibilidad, mezclando los dos líquidos de partición al 14.2% sobre el soporte ladrillo. Los resultados fueron los siguientes. (Tabla IV.)

De los tres tipos de columnas de cobre utilizadas, la última, empacada con la mezcla de los líquidos de partición, dio los mejores resultados: picos más simétricos y mayores tiempos de retención. Por lo tanto, en esta última columna se probó la separación de una mezcla de ocho sustancias, y el resultado fue bastante satisfactorio, como puede apreciarse en la gráfica. El volumen de la mezcla de sustancias

que se inyectó al aparato fue de 0.03 cc. y el volumen de cada sustancia para formar la mezcla fue de 0.005 cc.

T A B L A I V

Tiempos de retención relativos al α -pineno, en una columna empacada con una carga mixta de silicón 710R y carbowax 4000 en ladrillo. Columna de cobre de 4 m. de longitud.

Presión del gas a la entrada 2.81 Kg./cm.²

Flujo del gas a la salida (capilar N^o 45401) 217.2 cc./min.

Temperatura 160°

Corriente en el detector 250 ma.

<i>Sustancia</i>	<i>Tiempos de retención relativos</i>
1.— α -Pineno	1.00
2.—Limoneno	1.63
3.—Acetato de terpenilo	1.73
4.—Acetato de linalilo	2.98
5.—Linalol	4.32
6.—Alcohol n-octílico	4.42
7.—Acetato de bencilo	5.00
8.—Benzoato de metilo	6.44
9.—Anetol	8.26
10.—Terpineol	8.75
11.—Citronelol	11.25
12.—Salicilato de metilo	11.86
13.—Alcohol feniletílico	13.26
14.—Acetato de bornilo	15.38
15.—Acetato de cinamilo	—

CONCLUSIONES

1) Soportes inertes.

La celita (32-60 mallas) y el ladrillo refractario (32-60 mallas), impregnados con diversos porcentajes de líquidos de partición, produjeron máximos simétricos.

2) Líquidos de partición.

Ya que los compuestos fragantes tienen diversas funciones químicas

micas, no es posible encontrar líquidos de partición que sirvan para todos los casos. Así, el octoil (ftalato de octilo) podría servir para separar compuestos con anillos aromáticos. Sin embargo, no produjeron una resolución adecuada al emplear mezclas de sustancias, ya que los tiempos de retención eran semejantes.

El silicón 550 es un líquido de partición que da buenas resoluciones con sustancias oxigenadas (3); desgraciadamente a la temperatura de 190° este líquido de partición sale de la columna. A temperaturas menores los tiempos de retención de los diversos componentes de la mezcla fueron excesivamente grandes. El silicón 710R, de peso molecular más alto, es más estable a esa temperatura y dio resultados satisfactorios, como líquido de partición.

El carbowax 4000 (polietilen glicol) que se ha usado para separar terpenos (4), dio resultados satisfactorios. El carbowax 6000, por ser de más alto peso molecular, dio tiempos de retención excesivamente grandes en algunos casos.

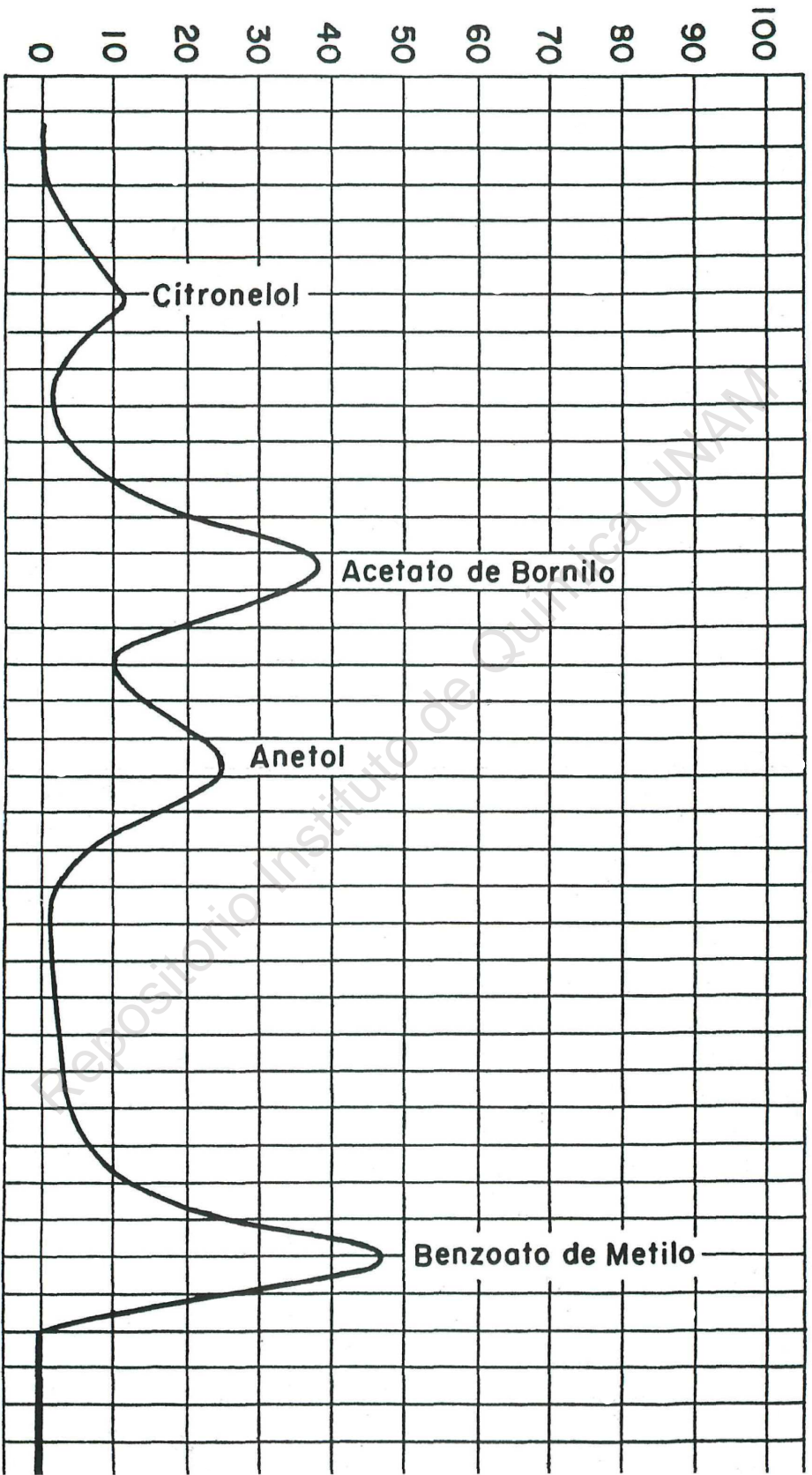
Desde el punto de vista de la termoestabilidad, existe un hidrocarburo conocido comercialmente como apieazón L, que también dio resultados satisfactorios.

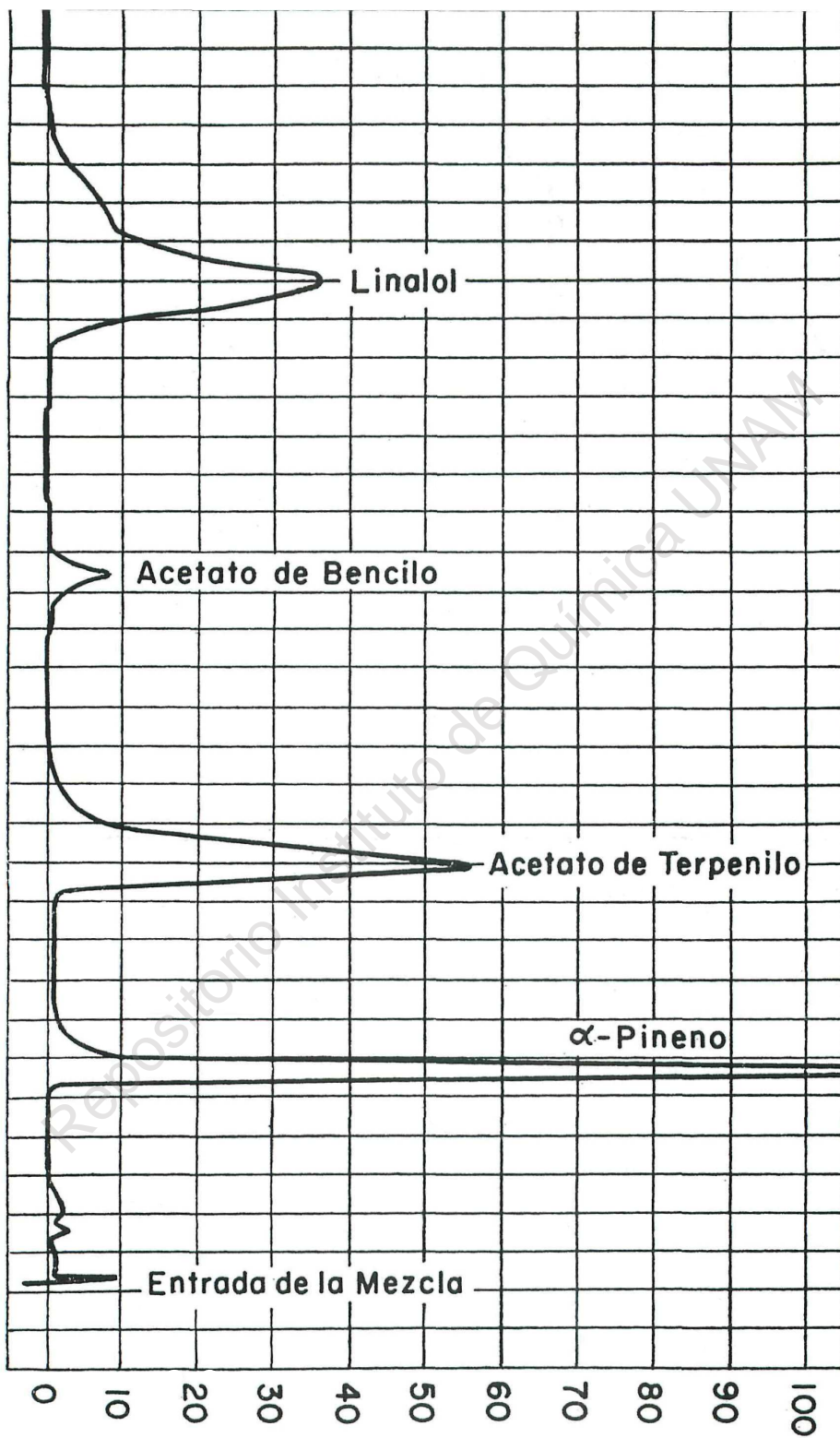
Después de haber probado todos estos líquidos de partición, se encontró que dos de ellos, el carbowax 4000 y el silicón 710R, producen los mejores resultados.

3) Se preparó una columna de cobre de 4 metros de largo, cargada la mitad con carbowax 4000 y la otra mitad con silicón 710R. Al hacer pasar las sustancias a través de la columna en ese orden, se obtuvieron resultados similares a los obtenidos con las tres columnas reportadas.

4) Se investigó el efecto de invertir el orden de los líquidos de partición en la columna anterior, quedando ahora primero la parte que contiene el silicón 710R y en segundo lugar la parte correspondiente al carbowax 4000, encontrándose que los tiempos de retención disminuían considerablemente en algunos casos, pero la separación de los componentes de la mezcla no era más eficiente.

5) Por último, se encontró que la mezcla de dos líquidos de partición, silicón 710R y carbowax 4000, en una columna de cobre de 4 metros, era la más eficiente en la separación de los componentes.





Por este último método se lograron separar ocho componentes de una mezcla de líquidos fragantes.

BIBLIOGRAFIA

1. O. Wallach. Ann. (1888) 201 (1889) 253, 251.
2. O. Wallach. Ann. (1889) 252, 132 (1890) 258, 243
3. M. Lederer, Chromatography Reviews. Vol. II, pág. 12. Elsevier Publishing Company, 1960.
4. W. J. Zubyk y A. Z. Conner, Anal. Chem. Vol. II, 912 (1960).

Repositorio Instituto de Química UNAM