



PRÁCTICAS DE QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES

Pablo J. Linares Palomino. 2008©

ÍNDICE

ACEITE ESENCIAL	1
TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES	2
Método Clásico	2
Método Clevenger	3
ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO. APLICACIÓN COMBINADA CG-EM	4
ESTUDIO DE ACEITE ESENCIAL DE <i>LAVANDULA LATIFOLIA</i> (ESPLIEGO) ...	5
DESTILACIÓN FRACCIONADA A PRESIÓN REDUCIDA DEL ACEITE	7
SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA PREPARATIVA. CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA FLASH	10
AISLAMIENTO Y DETERMINACIÓN DE PRODUCTOS NATURALES	12
Espectro de RMN – ¹ H de 1,8-cineol	13
Espectro de RMN – ¹³ C de 1,8-cineol	14
Espectro de IR de 1,8-cineol	15
Espectro de Masas de 1,8-cineol	16
Espectro de RMN – ¹ H de linalol	17
Espectro de RMN – ¹³ C de linalol.....	18
Espectro de IR de linalol	19
Espectro de Masas de linalol	20
TRANSFORMACIONES QUÍMICAS	21
Obtención de Citral a partir de linalol	21
Preparación de Clorocromato de piridinio, PCC	22
Oxidación de linalol a Citral con PCC	22
Obtención de acetato de linalilo a partir de linalol	23
Acetilación de linalol, con Ac ₂ O, Et ₃ N y DMAP	24
INFORME DE PRÁCTICAS DE QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES	25

ACEITE ESENCIAL

Un aceite esencial es un conjunto de compuestos orgánicos volátiles (en su mayoría productos olorosos) obtenidos de una planta.

Estos aceites esenciales son mezclas complejas que contienen generalmente una gran variedad de monoterpenoides y, en los últimos años, se han aislado también muchos sesquiterpenos. Además, en un porcentaje menor se presentan compuestos bencenoides y, en casos muy particulares compuestos alifáticos de azufre y nitrógeno.

No obstante, a pesar de la manifiesta complejidad de la mezcla, la química de los aceites esenciales se ha revolucionado con el desarrollo de técnicas analíticas modernas, de las cuales, una de las más importantes es la cromatografía de gases, como tal, o combinada con la espectrometría de masas.

Por otra parte la amplia aplicación en la industria, sobre todo de perfumería, cosmética, alimentación y farmacia, ha desarrollado variedad de métodos de extracción y obtención de aceites esenciales, siendo la técnica de arrastre en corriente de vapor la más usual.

TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

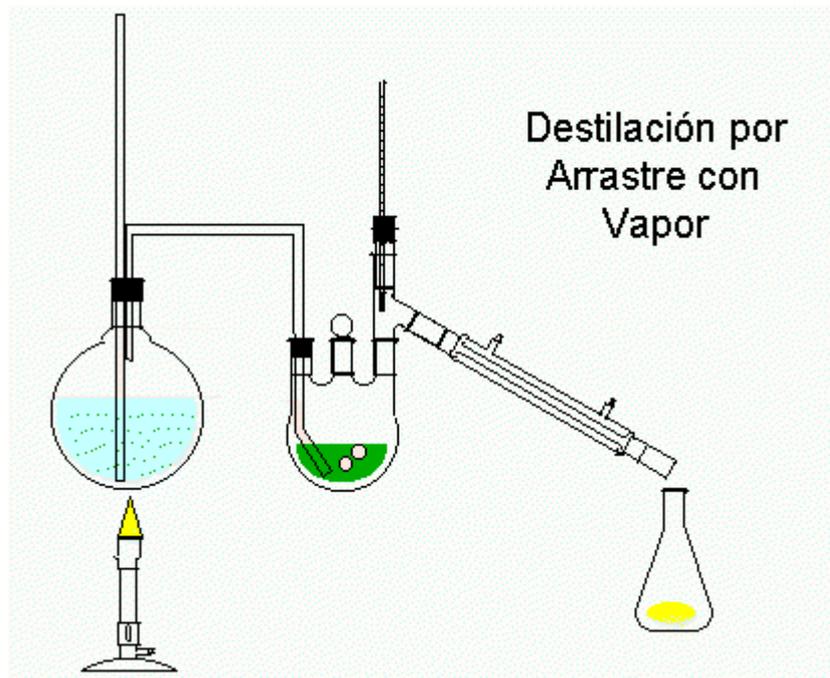
La obtención del aceite esencial de una planta requiere una preparación previa de la misma. El material recogido se debe dejar secar en una habitación ventilada, exenta de humedad, a temperatura ambiente, durante un periodo de 1-2 semanas. A continuación y para aumentar la superficie de extracción de la planta, debe triturarse en forma de serrín si se tratara de madera o partes leñosas de la misma, o simplemente trocearse cuando se trate de partes aéreas o espigas florales.

El triturado o troceado de la planta debe hacerse momentos antes de iniciar el proceso de extracción.

La extracción la podemos efectuar por dos técnicas distintas de arrastre de vapor:

1. Método clásico

Montaje

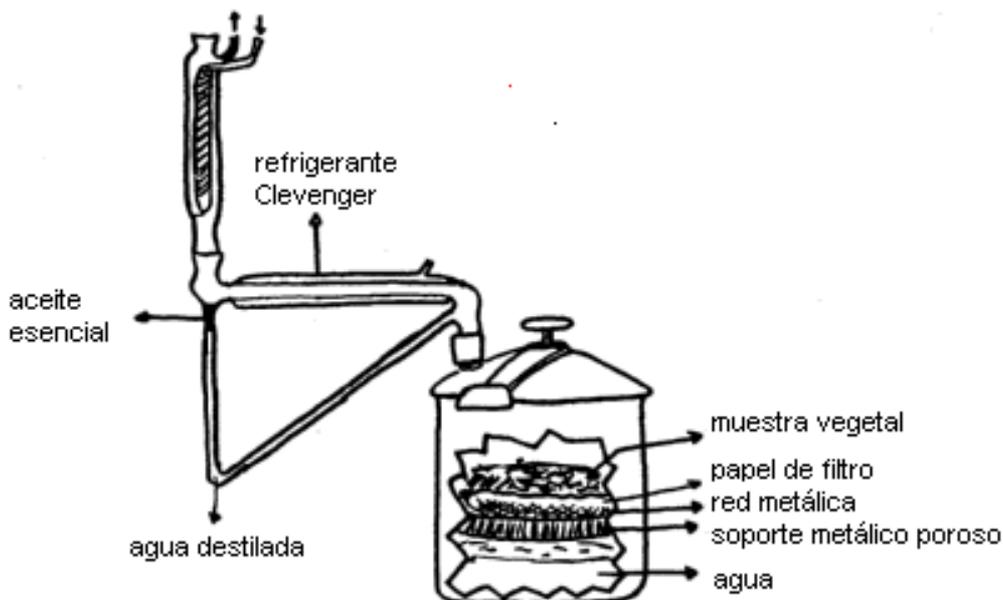


Modo operativo

Introducir el troceado en el matraz de arrastre, el cual contendrá la planta y un poco de agua caliente para evitar que el vapor proveniente del calderín se condense en él (el nivel de agua en el matraz de arrastre debe permanecer constante). Enlazar con este calderín, el cual debe de estar precalentado una media hora antes, asegurándose de que está en marcha el refrigerante. Se parará el arrastre de vapor cuando no condense nada más que agua en el refrigerante.

2. Método Clevenger

Montaje



Modo operativo

Añadir agua en la olla de forma que el troceado o serrín nunca llegue a estar en contacto con ella. Introducir la planta en la olla, colocando previamente un papel de filtro sobre la red metálica de acero inoxidable. Al instalar los refrigerantes Clevenger, hay que rellenar de agua destilada el tubo inferior, sin que el nivel del agua en el tubo vertical llegue al refrigerante. Conectar los refrigerantes y calentar enérgicamente. El aceite esencial que se va depositando hay que retirarlo regularmente con una pipeta Pasteur.

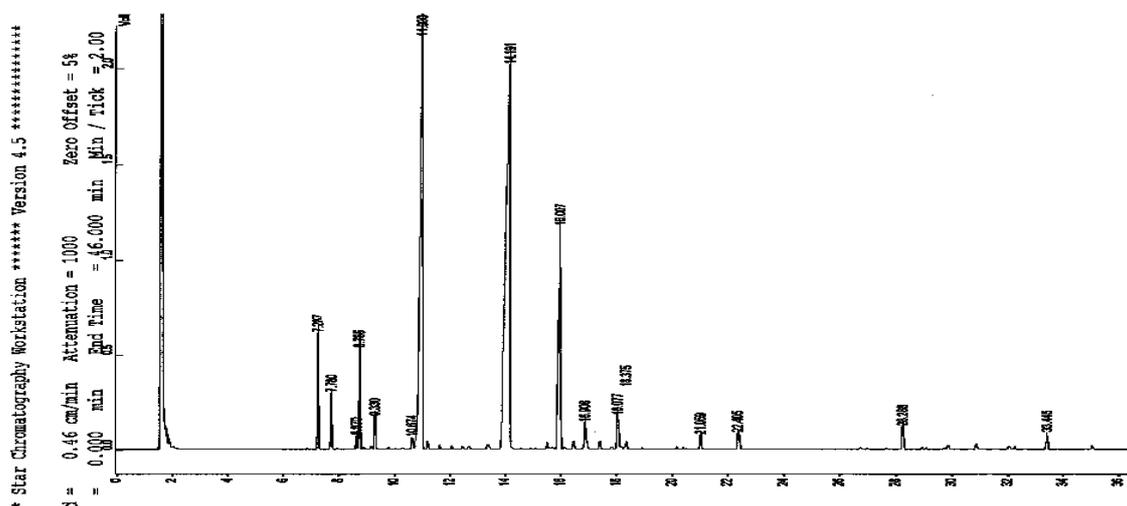
En ambos métodos, una vez obtenido el aceite, hay que proceder a secarlo. Para ello, se diluye el extracto en éter y se seca sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se evapora.

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO. APLICACIÓN COMBINADA CG-EM

El paso siguiente en el estudio de la composición de un aceite esencial es el de realizar una cromatografía de gases del mismo. Se efectuará en un cromatógrafo de gases con columna capilar de CARBOWAX como fase estacionaria, que es suficientemente eficaz para la resolución de productos de este tipo (terpenoides). Las condiciones de trabajo serán:

- Temperatura del inyector : 250 °C
- Temperatura del detector : 300 °C
- Tipo de detector : Detector de ionización de llama (FID)
- Temperatura inicial del horno : 50 °C
- Temperatura final del horno : 250 °C
- Gradiente de temperatura : 5 °C/min
- Gas portador : Helio
- Flujo a través de la columna : 1,5 mL/min
- Volumen de inyección : 0,1 µL

En el cromatograma obtendremos información acerca del número de productos existentes, porcentaje de cada uno y, según la zona del cromatograma, una cierta noción sobre el tipo de terpenoide del que se trata.



CG de aceite esencial de *Lavandula latifolia* (Espliego)

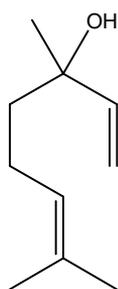
La realización de esta técnica, combinada con la espectrometría de masa, permitiría una identificación rápida de un gran número de productos. Por cada pico del cromatograma de gases se obtiene el espectro de masa de dicho compuesto. Para la identificación será necesario por tanto una colección, lo más amplia posible, de los productos, que aparecen normalmente en dichos aceites y de sus espectros de masas.

ESTUDIO DE ACEITE ESENCIAL DE *LAVANDULA LATIFOLIA* (ESPLIEGO)

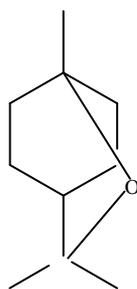
El aceite esencial de espliego se obtiene por destilación de *Lavandula latifolia* Med., planta perenne, que puede alcanzar 1,5 m de altura, de distribución mediterránea y abundante en la Península Ibérica, especialmente en su mitad oriental. La provincia de Jaén es, debido al *Parque Natural de las Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas*, una de las reservas de flora aromático-medicinal más importantes de toda la Península, siendo esta extensión de naturaleza protegida, lugar habitual de crecimiento y aprovechamiento de este recurso natural.

Las infusiones de espliego tienen propiedades digestivas y estimulantes, y en su uso externo sirven para desinfectar heridas y llagas. La esencia de espliego se utiliza en aromaterapia como tranquilizante y somnífero, y usada tópicamente como profiláctico sirve para evitar las señales de cicatrices, reacciones alérgicas y picaduras de insectos. Sin embargo, su principal aplicación se encuentra en cosmética y perfumería donde se utiliza en la preparación de jabones y de aguas de lavanda.

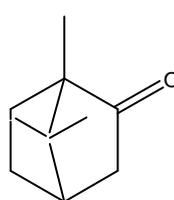
La composición de este aceite esencial es compleja, siendo los componentes principales linalol, eucaliptol (1,8-cineol) y alcanfor. Otros componentes inferiores son α -pineno, β -pineno, borneol y β -cariofileno, entre otros.



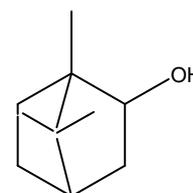
Linalol



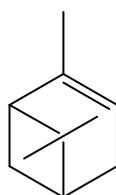
1,8-cineol



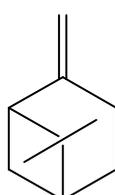
Alcanfor



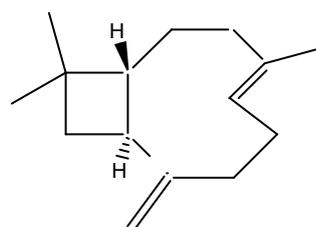
Borneol



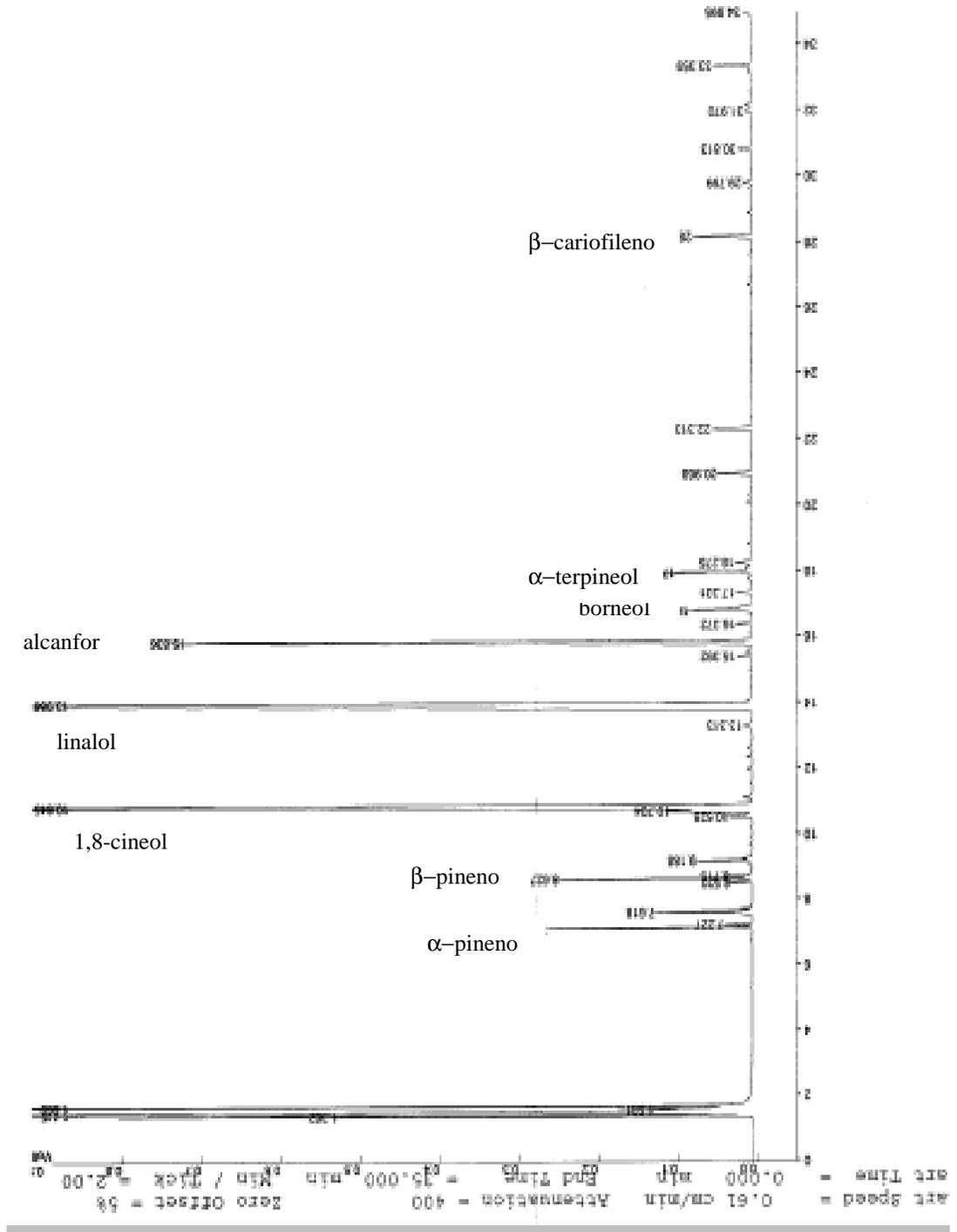
α -pineno



β -pineno



β -cariofileno



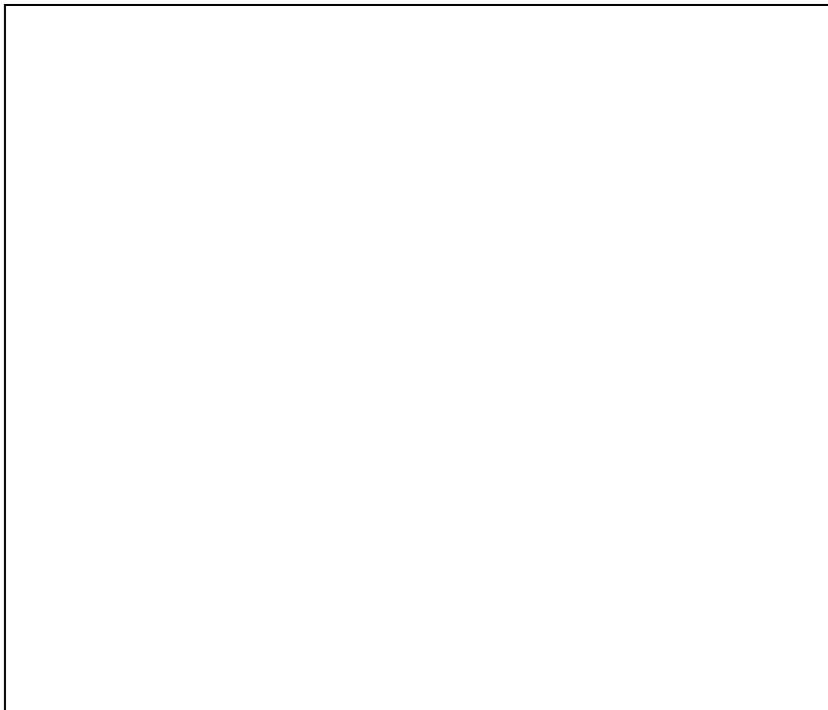
Cromatograma de Gases del aceite esencial de una muestra comercial de *Lavandula latifolia* (ESPLIEGO), con la asignación de los compuestos principales.

DESTILACIÓN FRACCIONADA A PRESIÓN REDUCIDA DEL ACEITE ESENCIAL

El fundamento de la técnica consiste en disminuir la presión externa para que la presión de vapor del líquido se iguale con ella a una temperatura inferior a la del punto de ebullición normal. De este forma la destilación puede llevarse a cabo a temperatura mucho más baja.

Se utiliza cuando el punto de ebullición del líquido a destilar es muy elevado, o porque el producto en cuestión sufre fragmentación, descomposición o polimerización a su temperatura de ebullición normal. Recuerda además, que la destilación fracionada se emplea para separar mezclas de líquidos cuyos puntos de ebullición difieren en menos de 100 °C.

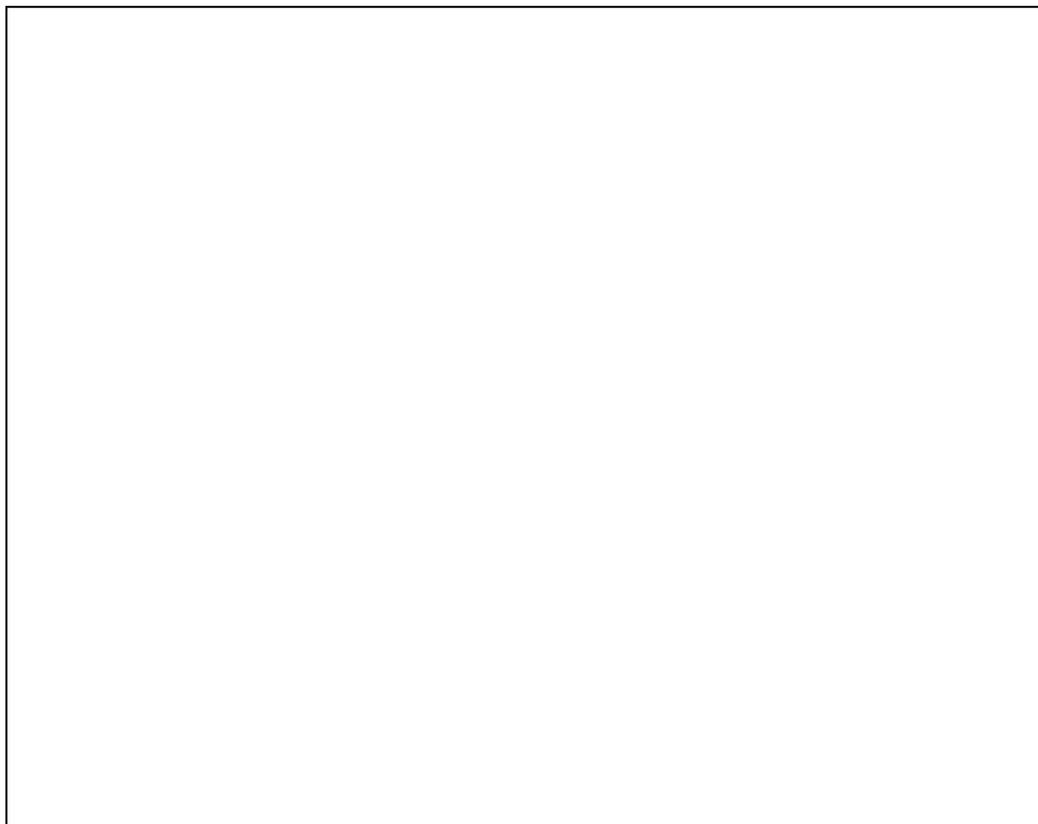
Montaje.



Modo operativo.

Tras introducir en el matraz de destilación un agitador magnético (de tamaño adecuado) y el aceite esencial (libre de disolvente) se empieza a verificar la estanqueidad del montaje (asegúrate de utilizar grasa o silicona para los esmerilados del tipo *vacío o presión*). Si está en óptimas condiciones, el medidor de presión permanecerá estable. No hay que olvidar que un aparato en el cual se hace vacío es muy frágil a los golpes, y naturalmente, hay que verificar antes de utilizarlos que todos los componentes del montaje no tiene fisuras.

La condiciones óptimas de trabajo son, aproximadamente, 100 a 150 °C en el baño de aceite y 2 a 12 mmHg de presión. De esta forma, se reúnen todas las fracciones que destilan entre 30 °C y 45 °C (cabezas de la destilación) que corresponderán con los monoterpenos hidrocarburos mayoritariamente. Después, se reúnen las fracciones que destilan entre 45 °C y 70 °C, que corresponderán con los monoterpenos oxigenados en su mayoría. Por último se recoge lo que destila entre 70 °C y 95 °C aproximadamente correspondientes a los sesquiterpenos. Lo que queda sin destilar constituye la fracción de colas y se trata de las partes más pesadas (menos volátiles) del aceite y otras impurezas inorgánicas.



Se debe ajustar la destilación a menos de una gota por segundo controlando el calor suministrado y la calidad del vacío.

Al final de la destilación, se para de calentar, se deja enfriar y se abre la llave que controla el vacío. Cuando la presión en el interior del montaje de destilación sea igual a la atmosférica se corta la bomba de vacío.

Las fracciones obtenidas serán objeto de análisis por cromatografía de gases para observar la eficacia de la separación por destilación.

SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA PREPARATIVA. CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA FLASH

La cromatografía en columna es una técnica para separar sustancias o un grupo de sustancias existentes en una mezcla, a escala preparativa. El modo operativo más usual es la adición de eluyentes por la parte superior de la columna y recogida de las diversas fracciones que emergen de la misma.

Se debe escoger el adsorbente más idóneo, y tener una orientación sobre la complejidad de la mezcla, porcentaje relativo y eluyente más adecuado para conseguir una buena separación. Para ello es preciso tener en cuenta los resultados obtenidos en CCF y CG.

Se emplean como eluyentes n-hexano, éter dietílico y mezclas de éstos. El tratamiento de estos disolventes, purificación y secado, debe ser exhaustivo, cuando se van a destinar a cromatografía. El hexano debe estar recientemente destilado y almacenado sobre Na hilado. El éter dietílico debe igualmente destilarse y almacenarse sobre Na, en lugar frío y en ausencia de la luz.

Para la cromatografía en columna *Flash* (a presión), se utiliza como soporte gel de sílice con un tamaño de partícula comprendido entre 0,063 y 0,04 mm. La cantidad de gel de sílice empleada, diámetro de columna y polaridad del eluyente a utilizar viene marcado por la siguiente tabla:

Diámetro de columna (mm)	Volumen total de eluyente (mL)	Cantidad de crudo a cromatografiar (mg)		Volumen por fracción (mL)
		$\Delta R_f \geq 0.2$	$\Delta R_f \geq 0.1$	
10	100	100	40	5
20	200	400	160	10
30	400	900	360	20
40	600	1600	600	30
50	1000	2500	1000	50
100	2500	4000	1500	70

Además, la cromatografía *Flash*, exige una altura de gel de sílice en la columna de entre 15 y 16 cm. Así mismo debe ser utilizada una mezcla eluyente cuya polaridad

sea aquella en la que los productos con más interés en separar queden entre 0,33 y 0,5 de R_f en CCF eluida con esa polaridad.

Una vez elegida la columna (su grosor), la polaridad del eluyente, el volumen total del mismo y el de cada fracción (en función de la cantidad a cromatografiar), se coloca un poco de algodón en la parte inferior de la misma y se introduce la sílice ya impregnada en el eluyente. Es muy conveniente compactar la columna mientras se introduce la gel de sílice con un vibrador automático o golpeándola suavemente con un trozo de goma.

Una vez que todo el soporte de sílice esté dispuesto en la columna, bien compactado y humectado, se coloca la muestra de aceite esencial con ayuda de una pipeta Pasteur de longitud adecuada apurando con un poco de la mezcla eluyente. Seguidamente, se dispone encima de la gel de sílice, que ya ha impregnado la muestra de aceite, 2 o 3 cm de arena de mar.

A partir de este momento se introduce el volumen de eluyente restante y con ayuda de un pequeño compresor se va haciendo pasar a través de la fase sólida. Simultáneamente se van recogiendo fracciones del volumen antes fijado sobre tubos de ensayos.

Tras el fraccionamiento, el análisis por CCF y CG de las fracciones permite reconocer la presencia de productos puros.

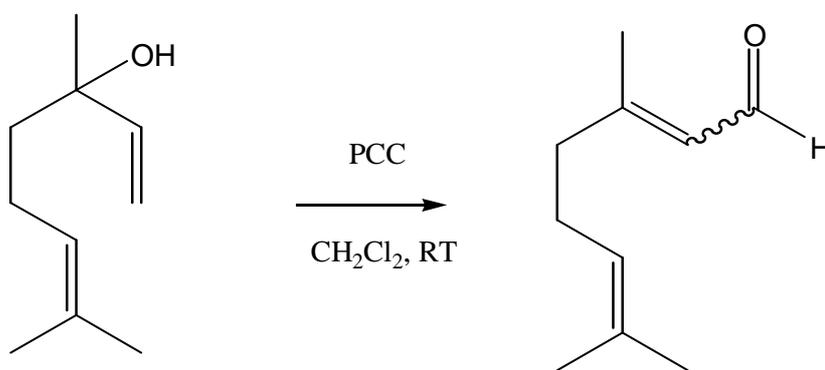
AISLAMIENTO Y DETERMINACIÓN DE PRODUCTOS NATURALES

Del fraccionado del aceite esencial de ESPLIEGO, deben aislarse, fácilmente, 1,8-cineol (eucaliptol) y linalol. Detente a oler ambos compuestos puros e intenta identificarlos olfativamente respecto de todo el aceite.

A continuación se presentan los espectros de ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, IR y Masas de ambos monoterpenos. Intenta la elucidación completa de dichas estructuras.

TRANSFORMACIONES QUÍMICAS

1.- Obtención de Citral a partir de linalol



El PCC, clorocromato de piridinio, es un agente ampliamente utilizado en síntesis capaz de oxidar alcoholes primarios y secundarios a aldehídos y cetonas con gran eficacia. Especialmente conveniente es su uso para la oxidación de alcoholes terciarios alílicos que derivan por reagrupamiento a aldehídos α,β -insaturados.

En el caso que nos ocupa el linalol rinde, cuantitativamente, con PCC, citral, nombre con que se conoce a la mezcla de geranial y neral (o citral a y citral b).

Citral a su vez, es un compuesto presente en numerosos aceites esenciales, en algunos de ellos como principal constituyente, como ocurre en el aceite de limón, en el de *Eucalyptus staigeriana*, en el de lima o en el de raíz de ginger. El citral es un líquido que presenta una cierta coloración amarillo pálido y un poderoso olor del tipo *limón*.

El citral es ampliamente utilizado en la industria para la obtención de sabores sintéticos del tipo *limón*, *lima* y *naranja*, si bien, siempre en pequeñas proporciones. Se utiliza así mismo en la aromatización de jabones, cosméticos y en la composición de numerosos perfumes.

Preparación de Clorocromato de piridinio, PCC

Sobre una solución de CrO_3 de 1 g (0,01 mol) en una solución 6 M de HCl (0,011 mol) se añaden lentamente, con agitación y procurando que la temperatura no exceda los 30 °C, 0,79 g (0,01 mol) de Piridina.

A la disolución resultante se le añaden 50 mL de éter dietílico frío y se mantiene a - 17 °C durante 1 h. Finalmente la mezcla se lleva a rotavapor y se filtran el precipitado amarillo-naranja lavándolo con éter dietílico frío. Rto.: 66%

PCC : $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}^+ \text{HCrO}_3 \text{Cl}^-$, M 215,56 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, m.p.: 205 °C.

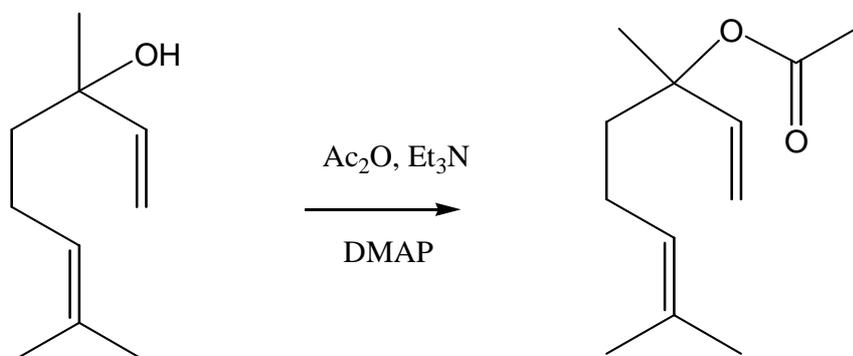
Oxidación de linalol a Citral con PCC

Sobre 120 mg de linalol (0,78 mmol) disueltos en 8 mL de CH_2Cl_2 anhidro se añaden 670 mg (3,1 mmol) de PCC. Se mantiene en agitación vigorosa, bajo atmósfera de Argón y a temperatura ambiente durante 16 h.

Transcurrido este tiempo, el crudo se filtra sobre placa filtrante en la que se ha dispuesto un lecho de 0,5-1 cm de gel de sílice lavando con diclorometano abundante. Las aguas de filtrado se llevan a sequedad en el rotavapor. Rto.: 98 %.

La determinación de geranial y el neral se hace en base a patrones de CG-EM.

2.- Obtención de acetato de linalilo a partir de linalol



La reacción de un alcohol con un anhídrido en medio básico es, con frecuencia, el mejor método de preparación de un éster. Estas suelen proceder con anhídrido acético, piridina y 20° C con un rendimiento prácticamente cuantitativo en pocas horas. No obstante, este método suele ser ineficaz para los alcoholes terciarios.

Para un caso como el que nos ocupa, se hace imprescindible el uso de DMAP (4-N,N-dimetil aminopiridina) como catalizador, lo cual aumenta la velocidad de la acilación en un factor de 10⁴, permitiéndose así rendimientos entorno al 75 % en 30 horas.

Este importante éster, acetato de linalilo, es el principal constituyente del aceite de lavanda y de bergamota, de hecho, la calidad de los mismos se evalúa en base al contenido de acetato de linalilo. Está presente también en otros muchos aceites como el de jazmín, o el espliego.

Este éster posee un agradable olor frutal que recuerda a la bergamota y está presente en multitud de perfumes y cosméticos. Es el responsable de la nota floral u oriental de algunas aguas de colonia y perfumes.

Acetilación de linalol, con Ac₂O, Et₃N y DMAP

En un matraz redondo de 25 mL, se disponen 3 mL de Et₃N, 0,5 ml de Ac₂O y 45 mg de DMAP. Se mantiene en agitación unos minutos y se le añaden 152 mg (0,96 mmol) de linalol. Al matraz se le dispone un refrigerante y una tubo de Ca₂Cl y se mantiene la temperatura entorno a los 40 °C durante 24 h y en agitación.

Transcurrido ese tiempo, se vierten sobre el matraz 50 mL de agua-hielo y 30 mL de éter etílico. Se transfiere todo a embudo de decantación y se lava primero con solución acuosa de HCl 1N (2 x 25), después de NaHCO₃ (2 x 25) y por último con salmuera. Finalmente la fase etérea se seca con Na₂SO₄ anhidro se filtra y se evapora a rotavapor.

Chequea el resultado final y el rendimiento por CCF y CG.

GUÍA PARA ELABORAR EL INFORME DE PRÁCTICAS DE ACEITES ESENCIALES

Como ya sabes, al final de las Prácticas de esta asignatura debes presentar un informe, que pueden firmar tres o cuatro alumnos, como si de un artículo científico se tratara, confeccionado por ti, en base a lo que has desarrollado en estas Prácticas.

El esquema básico de dicho informe, que no debe exceder las 10–12 caras de folio, escrito a tamaño 12 con letra Time y espaciado 1.5, a ser posible, debe tener el siguiente formato:

TÍTULO¹

SUBTÍTULO²

AUTORES

ASIGNATURA, TITULACIÓN, UNIVERSIDAD

FECHA DE ENTREGA

RESUMEN (ABSTRACT)³

INTRODUCCIÓN⁴

MÉTODOS EXPERIMENTALES⁵

- **Material**
- **Reactivos**
- **Procedimientos Experimentales**
 - **Procedimientos Generales**
 - **Receta**
 - **Resultado final de la reacción o proceso**

DISCUSIÓN DE RESULTADOS⁶

CONCLUSIONES⁷

NOTAS⁸

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS⁹

1. **Título:** En Mayúscula, y no más de 25 palabras. Intenta que sea algo breve pero muy descriptivo de todo lo que se hace y se consigue. Ejemplo: ESTUDIO DEL ACEITE ESENCIAL DE UNA VARIEDAD DE LAVANDA. AISLAMIENTO Y DERIVATIZACIÓN DE EUCALIPTOL Y LINALOL. O bien, podría ser: ACEITE

ESENCIAL DE *LAVANDULA X INTERMEDIA* (LAVANDIN) COMO FUENTE PARA OBTENER MONOTERPENOS OXIGENADOS OLOROSOS. Otra idea: OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE LAVANDIN POR MÉTODO CLEVINGER Y OBTENCIÓN DE CITRAL (O ACETATO DE LINALILO) A PARTIR DE SU MAYORITARIO (LINALOL). Intenta ser original.

2. **Subtítulo:** Opcional, y no más de 10-12 palabras. Debe ser algo que complemente al Título en algún o algunos aspectos colaterales del trabajo. Algunos ejemplos: Subtítulo del segundo título de arriba: Un Método para Obtener Citral (o Acetato de Linalilo) a partir de linalol. Subtítulo del tercer título de arriba: La Lavanda como Fuente de Odorantes.
3. **Resumen:** Breve ídem de los principales procedimientos puestos en juego y resultados obtenidos. No debe exceder las 100 palabras. Debe por tanto aparecer los siguientes conceptos: arrastre de vapor por m. Clevenger, variedad de la Lavanda, composición de aceite, fraccionamiento y cromatografía Flash, cineol, linalol, acetato de linalilo, reacción de oxidación con PCC, reacción de acetilación.
4. **Introducción:** No mas de 250–300 palabras. Se trata de ir recogiendo aspectos al principio de forma muy general y acabar con lo más concreto. Debes de tocar los siguientes aspectos. – Aceite esencial de Planta Aromática. – Método Clevenger de obtención de Aceites. – Género Lavanda, variedades y endemismos y composición química de los aceites. – Destilación a presión reducida del aceite como herramienta de fraccionamiento. – Eucaliptol. – Linalol. – Acetato de Linalilo. – Citral.
5. **Métodos Experimentales:** Material (descripción breve pero suficientemente descriptiva): –Instrumental utilizado en el M. Clevenger. –Instrumental utilizado en la destilación a Presión reducida. –Cromatografía en capa fina. –Cromatógrafo de Gases. –Instrumental utilizado en la cromatografía Flash. –Datos relativos a RMN de Protón y Carbono-13. Reactivos: descripción breve de su peligrosidad si la tiene o de sus propiedades olfativas si las tiene. Procedimientos Experimentales Generales: –Cómo se operó con el Clevenger. –Cómo se operó en la destilación a vacío. –Cómo se operó en la Cromatografía Flash. Reacción de Oxidación de Linalol (receta y resultados obtenidos). Reacción de Acetilación de Linalol (receta y resultados obtenidos).
6. **Discusión de Resultados:** No más de 250 palabras. Debe contener: –Resumen (breve), justificación teórica y valoración de lo obtenido en el arrastre de vapor. – Resumen (breve), justificación teórica y valoración de lo obtenido en la Destilación. –Ídem en la Flash. –Asignación de los datos espectroscópicos de cineol y linalol. –Justificación teórica y valoración de los mecanismos de las reacciones.
7. **Conclusiones:** Opcional.

- 8. Notas:** Opcional. Se trataría de un listado, numerado, de aclaraciones, que consideres pertinente hacer, que creas que se salen un poco del texto principal. Aquí podrías indicar aquellas cosas que tú no has hecho (Clevenger/destilación, u oxidación/acetilación) pero sí tus compañeros.
- 9. Referencias Bibliográficas:** Todas las que hayas utilizado para justificar algo, y recuerda que todo debe estar justificado, uno ejemplos:
- Snowden, R. L.; Eichenberger, J. C.; Linder, S. M.; Schulte-Elte, K. H. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 955–960.
 - March, J. *Advanced Organic Chemistry. Reactions, Mechanisms and Structure*, 4th ed.; John Wiley & Sons: New York, **1992**; pp 165–174.
 - Martínez Grau, M. A.; Csáky, A. G. *Técnicas Experimentales en Síntesis Orgánica*; Editorial Síntesis: Madrid, **1998**.

Intercala entre la Introducción y las Referencias Bibliográficas, imágenes o esquemas como:
–Cromatogramas del aceite con asignación de picos. –Tabla en la que aparezcan los componentes principales del aceite con su tiempo de retención y abundancia. –Dibujos de fórmulas y esquemas de reacción y de mecanismos.

