

**ADICIÓN DE VALOR AL ACEITE ESENCIAL DE *Cymbopogon martinii* A
TRAVÉS DE PROCESOS FÍSICO-QUÍMICOS**

NESTOR ARMANDO MARÍN SOLANO

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTADER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
POSTGRADO EN QUÍMICA
BUCARAMANGA
2013**

**ADICIÓN DE VALOR AL ACEITE ESENCIAL DE *Cymbopogon martinii* A
TRAVÉS DE PROCESOS FÍSICO-QUÍMICOS**

NÉSTOR ARMANDO MARÍN SOLANO

**Trabajo de investigación
presentado como requisito
parcial para optar al título de
Magíster en Química**

Directora: ELENA E. STASHENKO, Química, Ph.D.

Co-director: JAIRO R. MARTÍNEZ, Químico, Ph.D.

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTADER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
POSTGRADO EN QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2013

DEDICADO A

Esteban Marín.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra Elena E Stashenko y el Dr Jairo René Martínez por todas sus enseñanzas. La labor activa de ustedes en la construcción del conocimiento en todos los aspectos, han sido y serán de gran valía para mi vida personal y profesional.

Al Centro de investigación CENIVAM – CROM MASS, MADR y las asociaciones campesinas, por el apoyo económico y logístico brindado para la realización de la investigación.

A mi familia por permanecer siempre firme.

A los profesores y calificadores de este trabajo, Alirio Palma y José Carlos Gutierrez.

A mi compañero y amigo Carlos Alberto R, por su enorme colaboración.

A todos los compañeros y amigos que han sido parte del centro de investigación CENIVAM, Especialmente a Monica C, Carlos R, Ginna A, Andrea A, Julian A, Edwin, Joaquin, Arvind K, Giohanna S, Elizabeth G, Gustavo, Jessica, Andres Nardus, Marvin R.

A mí querida patria boba.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	18
1 ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO	22
1.1 ACEITES ESENCIALES	22
1.1.1 Generalidades	22
1.1.2 Mercado internacional de aceites esenciales	23
1.1.3 Aceites esenciales en Colombia	24
1.1.4 Calidad de los aceites esenciales	24
1.2 DESTILACIÓN	26
1.2.1 DESTILACIÓN FRACCIONADA DE ACEITES ESENCIALES	29
1.3 SOBRE LAS ESPECIES VEGETALES Y AE BAJO ESTUDIO	31
1.3.1 <i>Cymbopogon martinii</i> y su aceite esencial	31
1.3.2 Geraniol	34
1.3.3 <i>Cymbopogon nardus</i> y su aceite esencial	36
1.3.4 Citronelol	37
1.4 FULERENOS	39
2 METODOLOGÍA.....	42
2.1 MATERIAL VEGETAL.	42
2.2 REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO	42
2.2.1 Reactivos y solventes	42
2.2.2 Materiales	43
2.2.3 Equipos menores	43
2.3 OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES	44
2.4 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS DE LOS ACEITES ESENCIALES	45
2.4.1 Determinación de la composición química	45
2.4.2 Análisis cuantitativo	46

2.5 DESTILACIÓN FRACCIONADA DEL AE DE PALMARROSA	47
2.5.1 Rectificación de los AE de palmarrosa	47
2.5.2 Estudio del equilibrio líquido-vapor para la mezcla geraniol-acetato de geraniol	48
2.5.3 Método gráfico de McCabe-Thiele	49
2.6 HIDRÓLISIS DEL ACETATO DE GERANIOL PRESENTE EN EL AE DE PALMARROSA	49
2.6.1 Hidrólisis del acetato de geraniol presente en el AE de palmarrosa usando hidróxido de potasio como catalizador	49
2.6.2 Hidrólisis del acetato de geraniol presente en el AE de palmarrosa usando hidróxido de calcio como catalizador	51
2.7 TRANSFORMACIONES FOTOQUÍMICAS DEL CITRONELAL	53
3 RESULTADOS Y ANÁLISIS	55
3.1 ANÁLISIS DEL AE DE PALMARROSA	55
3.2 DESTILACIÓN FRACCIONADA DEL AE DE PALMARROSA	57
3.2.1 Rangos de destilación del AE de palmarrosa	57
3.2.2 Rectificación del AE de palmarrosa para obtener una fracción de composición química reproducible.	62
3.3 AISLAMIENTO DEL GERANIOL	65
3.3.1 Determinación del número de etapas ideales por el método de McCabe-Thiele	69
3.4 HIDRÓLISIS BÁSICA DEL ACETATO DE GERANIOL PRESENTE EN EL AE DE PALMARROSA EMPLEANDO SOLUCIONES ACUOSAS DE HIDRÓXIDO DE POTASIO	70
3.4.1 Análisis estadístico de los resultados del diseño experimental 2^2	71
3.5 HIDRÓLISIS BÁSICA DEL ACETATO DE GERANIOL PRESENTE EN EL AE DE PALMARROSA EMPLEANDO HIDRÓXIDO DE CALCIO	75

3.6 ESTUDIO DE LA TRANSFORMACIÓN FOTOQUÍMICA DEL CITRONELAL	81
3.7 PRODUCTOS DEL CITRONELAL USANDO LA MEZCLA DE FULLERENOS Y METANOL COMO SOLVENTE	81
4 CONCLUSIONES	85
5 RECOMENDACIONES.....	87
BIBLIOGRAFÍA	88
ANEXOS.....	98

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Principales países proveedores de AE en el año 2002 [Erkekjdian, 2002].	23
Figura 2. Columna de fraccionamiento para un sistema continuo. Figura tomada del libro: “Operaciones unitarias en ingeniería química” [McCabe, 1991].	28
Figura 3. Diagrama de McCabe-Thiele para la destilación en modo continuo. Tomada de la página web: http://docencia.udea.edu.co/ingenieria/transferenciademasaborrar/unidad1/sist_binarios.html .	29
Figura 4. Taxonomía de <i>C. martinii</i> . Fotografía tomada por el autor en el CENIVAM el 15-03-2013.	32
Figura 5. Sustancias precursoras en la síntesis del geraniol.	34
Figura 6. Geraniol y sus productos de oxidación.	35
Figura 7. Taxonomía de la planta <i>Cymbopogon nardus</i> (L) Rendle. Fotografía tomada por el autor en el CENIVAM el 18-06-2013.	37
Figura 8. Estructura del fullereno C ₆₀ . Tomada de la página web http://qcaorganica.blogspot.com/2010/03/el-elemento-carbono.html .	40
Figura 9. Destilador multimodal (hidrodestilación, arrastre con vapor). 1.	44
Figura 10. Cromatógrafo de gases <i>Agilent 6890 Plus</i> , acoplado a un detector de masas (<i>MSD 5973 Network</i>) y un inyector automático <i>Agilent Technologies 7863 Series</i> . Fotografía tomada por el autor en el laboratorio CROM-MASS el 02-02-2011.	45
Figura 11. Equipo para destilación fraccionada a presión reducida de aceites esenciales <i>B/R Instruments 800 – High Efficiency Micro Distillation</i> (BR Instrument Corporation, Easton, EE.UU.). 1. Válvula de reflujo. 2. Controlador de temperatura. 3. Columna de eje rotatorio. 4. Reservorio (resistencia) con aceite mineral. 5. Condensador. 6. Termocuplas tipo K. 7. Medidor de	

temperatura. 8. Placa para agitar. Fotografía tomada por el autor en el CENIVAM el 12-01-2012..... 48

Figura 12. Montaje para el tratamiento del AE de palmarrosa con soluciones acuosas de KOH. 1. Controlador de temperatura. 2. Termocupla. 3. Plancha para agitación. 4. Balón de fondo redondo. 5. Condensador. 6. Reservorio con aceite equipado con una resistencia. 7. Baño con circuito para flujo de agua para el condensador. Fotografía tomada por el autor en el CENIVAM el 17-01-2013. 51

Figura 13. Montaje empleado para llevar a cabo las reacciones en presencia de la luz ultravioleta. 1. Cuerpo del reactor (cilindro de acero). 2. Vista superior de la tapa. 3. Ventana de cuarzo. 4. Vista interna del cuerpo del reactor. 5. Recipiente porta-muestra. 6. Soporte de acero. 7 y 8. Válvulas. 9. Manómetro. 10. Lámpara UV. 11. Soporte en caucho para la lámpara UV. 12. Manguera con rosca *Swagelok* para conexión al manómetro de un cilindro de H₂. Fotografía tomada por el autor en el CENIVAM el 17-01-2012..... 53

Figura 14. Perfil cromatográfico típico del AE de palmarrosa obtenido por GC-FID en la columna cromatográfica DB-5 (60m). La identificación de compuestos mayoritarios aparece en la **Tabla 8**..... 55

Figura 15. Composición porcentual de linalol, geraniol y acetato de geranilo en las fracciones obtenidas por rectificación del AE de palmarrosa a 4, 8 y 12 mm Hg. 63

Figura 16. Perfiles cromatográficos (GC-FID, columna DB-5) de las fracciones obtenidas del AE de palmarrosa a 12 mm Hg. 1. 6-Metil-5-hepten-2-ona; 2. β -Mirceno; 3. *cis*- β -Ocimeno; 4. *trans*- β -Ocimeno; 5. Linalol; 6. Geraniol; 7. Acetato de geranilo; 8. Istd; 9. *trans*- β -Cariofileno..... 64

Figura 17. Logaritmo natural de la P^s (mm Hg) Vs el recíproco de la temperatura 1/T (°K), del geraniol y acetato de geranilo, en el rango de 2-14 mm Hg. 66

Figura 18. Distribución de los grupos funcionales de las moléculas, geraniol y acetato de geranilo..... 67

Figura 19. Diagramas T-xy de la mezcla geraniol-acetato de geranilo a: A. 12 mm Hg; y B. 2 mm Hg. Se usó el <i>software Aspen Plus</i>	68
Figura 20. Variación de la concentración del acetato de geranilo en función del tiempo de reacción.....	71
Figura 21. Concentraciones del Acetato de geranilo obtenidas experimentalmente Vs los valores predichos a partir de la ecuación del modelo.	74
Figura 22 Perfiles cromatográficos GC-FID superpuestos del AE de palmarrosa crudo (en azul), y de la mezcla (en rojo) después de reaccionar bajo las siguientes condiciones: tiempo (90 min), concentración del KOH (0,5 M), relación mL de la base por g de AE (3,5).	75
Figura 23. Superficie de respuesta generada de la ecuación del modelo (2^3) parametrizada para la variable tiempo en el valor máximo.....	79
Figura 24. Espectro de emisión de la lámpara UV empleada en las transformaciones fotoquímicas. La figura se creó en una hoja de cálculo de Excel, empleando los valores generados por un espectrómetro USB4000, Ocean pacific.	81
Figura 25. Perfiles cromatográficos de: A. citronelal y B. Productos de su transformación fotoquímica bajo las siguientes condiciones: radiación UV (17 h), fulereno (40 mg) y metanol (10 mL).	82

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Países que importan AE de palmarrosa de la India de 2005 a 2007.	33
Tabla 2. Catalizadores empleados en la hidrogenación químico selectiva de citral, geraniol y nerol.	38
Tabla 3. Sustancias químicas empleadas en esta investigación.....	42
Tabla 4. Factores y dominio experimental del diseño experimental 2^2	49
Tabla 5. Matriz de experimentos del diseño experimental 2^2	50
Tabla 6. Factores y dominio experimental del diseño 2^3	51
Tabla 7. Matriz de experimentos del diseño 2^3	52
Tabla 8. Compuestos aislados por arrastre con vapor de hojas y tallos de <i>C. martinii</i>	56
Tabla 9. Contenido de linalol, geraniol y acetato de geranilo, de los dos AE obtenidos en cosechas de palmarrosa.....	56
Tabla 10. Fracciones obtenidas de la rectificación del AE de palmarrosa a diferentes presiones reducidas.	59
Tabla 11. Composición química de las fracciones obtenidas por destilación fraccionada a presión reducida del AE de palmarrosa.	61
Tabla 12. Cuantificación de las fracciones de fondo del AE de palmarrosa obtenidas a 12 mm Hg.	65
Tabla 13. Rectificación de la fracción fondo a 12 mm Hg.....	70
Tabla 14. Respuestas medidas de acuerdo con la matriz de experimentos del diseño experimental 2^2 (Sección 2.6).	71
Tabla 15. Anova del diseño experimental 2^2	72
Tabla 16. Ecuaciones obtenidas usando el <i>software R commander</i> con base en los resultados del diseño experimental 2^2	73

Tabla 17. Datos de validación del modelo para la hidrólisis con soluciones de KOH.....	73
Tabla 18. Ensayos preliminares en la hidrólisis del acetato de geranilo usando hidróxido de calcio.	76
Tabla 19. Resultados experimentales para el diseño 2^3	77
Tabla 20. ANOVA para el diseño experimental 2^3	78
Tabla 21. Validación cruzada del modelo generado para el diseño 2^3	80
Tabla 22. Experimentos de la transformación fotoquímica del citronelal.	84

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AE	Aceite(s) esencial(es).
AFNOR	Asociación Francesa de Normalización (<i>Association Française de Normalisation</i>).
C.	<i>Cymbopogon</i> .
CENIVAM	Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas Medicinales Tropicales.
DMD	Dortmund
DMAPP	Dimetilalil difosfato.
e.g.	<i>Exempli gratia</i> (Por ejemplo).
EE.UU.	Estados Unidos.
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> (Administración de Drogas y Alimentos).
FPP	Farnesil difosfato.
FFHPVC	<i>The Flavor and Fragrance High Production Volume Consortia</i> .
GGPP	Geranilgeranil difosfato.
GAE	<i>Geranyl Acetate Sterase</i> (Esterasa acetato de geranilo).
GC	<i>Gas Chromatography</i> (Cromatografía de gases).
GC-FID	<i>Gas Chromatography-Flame Ionization Detector</i> (Cromatografía de gases acoplada a un detector de ionización en llama).
GC-MS	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas).
GRAS	<i>Generally Regarded as Safe</i> .
i.e.	<i>Id est</i> (Es decir).
IFRA	<i>International Fragrance Association</i> (Asociación internacional de fragancias)
IS	<i>Indian Estandar</i> .
ISO	<i>International Organization for Standardization</i> (Organización internacional para la estandarización).

IPP	Isopentil difosfato.
Istd	<i>Internal Standard</i> (Estándar interno).
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada).
LRI	<i>Linear Retention Index</i> (Índice de retención lineal)
L-V	Líquido – vapor.
MADR	Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
MWHD	<i>Microwave-Assisted Hydrodistillation</i> (Hidrodestilación asistida por radiación de microondas).
MS	<i>Mass Spectrometry</i> (Espectrometría de masas).
MSD	<i>Mass Selective Detector</i> (Detector selectivo de masas).
QRA	<i>Quantitative Risk Assessment</i> (Valoración cuantitativa del riesgo de sensibilización)
UIS	Universidad Industrial de Santander
US-EPA	<i>United States-Environmental Protection Agency</i> (Agencia de protección ambiental de Estados Unidos).
UNAL	Universidad Nacional de Colombia.
UNIFAC	<i>Universal Functional Activity Coefficient</i>

RESUMEN

TÍTULO: ADICIÓN DE VALOR AL ACEITE ESENCIAL DE *Cymbopogon martinii* A TRAVÉS DE PROCESOS FÍSICO-QUÍMICOS*.

AUTOR: Néstor Armando Marín Solano**

PALABRAS CLAVE: *Cymbopogon martinii*, destilación fraccionada, geraniol

El incremento en el valor comercial del aceite esencial (AE) de la especie vegetal *Cymbopogon martinii*, o palmarrosa, depende de su alto contenido en geraniol, un alcohol terpénico de amplio uso en perfumería. En esta investigación se reporta cómo la destilación fraccionada a presión reducida (2-14 Torr), y la hidrólisis alcalina del acetato de geranilo, permiten concentrar el geraniol en el AE de palmarrosa, obtenido de plantas cultivadas en el complejo agroindustrial CENIVAM, Bucaramanga, Colombia. Los aceites esenciales, las fracciones obtenidas y los productos de reacción fueron analizados por cromatografía de gases GC-FID y GC-MS.

El AE se rectificó a presión reducida usando la *Spinning Band Column*, o columna de eje rotatorio, consiguiéndose un producto de composición química reproducible a 12 mm Hg con un contenido de geraniol ca. 89% y 10% de acetato de geranilo. Además, se demostró con base en un estudio teórico usando el software *aspen plus*, que la formación de un azeótropo entre el geraniol y acetato de geranilo, impide el aislamiento del geraniol por el método destilativo empleado. Por otra parte, se logró la hidrólisis "*in situ*" del acetato de geranilo presente en el AE crudo de palmarrosa, usando soluciones acuosas de KOH y mezclas de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y agua, elevando la concentración de geraniol hasta un 91%.

*Trabajo de investigación de Maestría en Química

**Universidad Industrial de Santander, Facultad de ciencias, Escuela de Química
Director: Elena E Stashenko. Codirector: Jairo René Martínez.

ABSTRACT

TITLE: ADDING VALUE TO ESSENTIAL OIL THROUGH *Cymbopogon martini* CHEMICAL AND PHYSICAL PROCESSES*.

AUTHOR: Néstor Armando Marín Solano**.

KEYWORDS: *Cymbopogon martinii*, fractional distillation, geraniol.

The increase in the commercial value of the essential oil (EO) of the plant species *Cymbopogon martinii*, or palmarosa, depends on its high content of geraniol, terpene alcohol widely used in perfumery. This research reports how fractional distillation under reduced pressure (2-14 Torr), and alkaline hydrolysis of geranyl acetate, geraniol allow to concentrate on palmarosa EO, obtained from plants grown in the agroindustrial complex CENIVAM, Bucaramanga, Colombia. Essential oils, the fractions obtained and the reaction products were analyzed by gas chromatography GC-FID and GC-MS.

The EO was rectified under reduced pressure by using the Spinning Band Column, rotary shaft or column, obtaining a product of reproducible chemical composition to 12 mm Hg geraniol containing ca. 89% and 10% geranyl acetate. Furthermore, it was demonstrated based on a theoretical study using Aspen Plus software, the azeotroping between geraniol and geranyl acetate, geraniol prevents isolation by distillative method employed. Moreover, the hydrolysis is achieved "*In situ*" geranyl acetate present in the raw EO palmarosa, using aqueous solutions of KOH and mixtures of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and water, increasing the concentration to 91% geraniol.

*Master's Research Project in Chemistry

**Industrial University of Santander, Faculty of Science, School of Chemistry

Directed by: Elena E Stashenko. Co: Jairo René Martínez

INTRODUCCIÓN

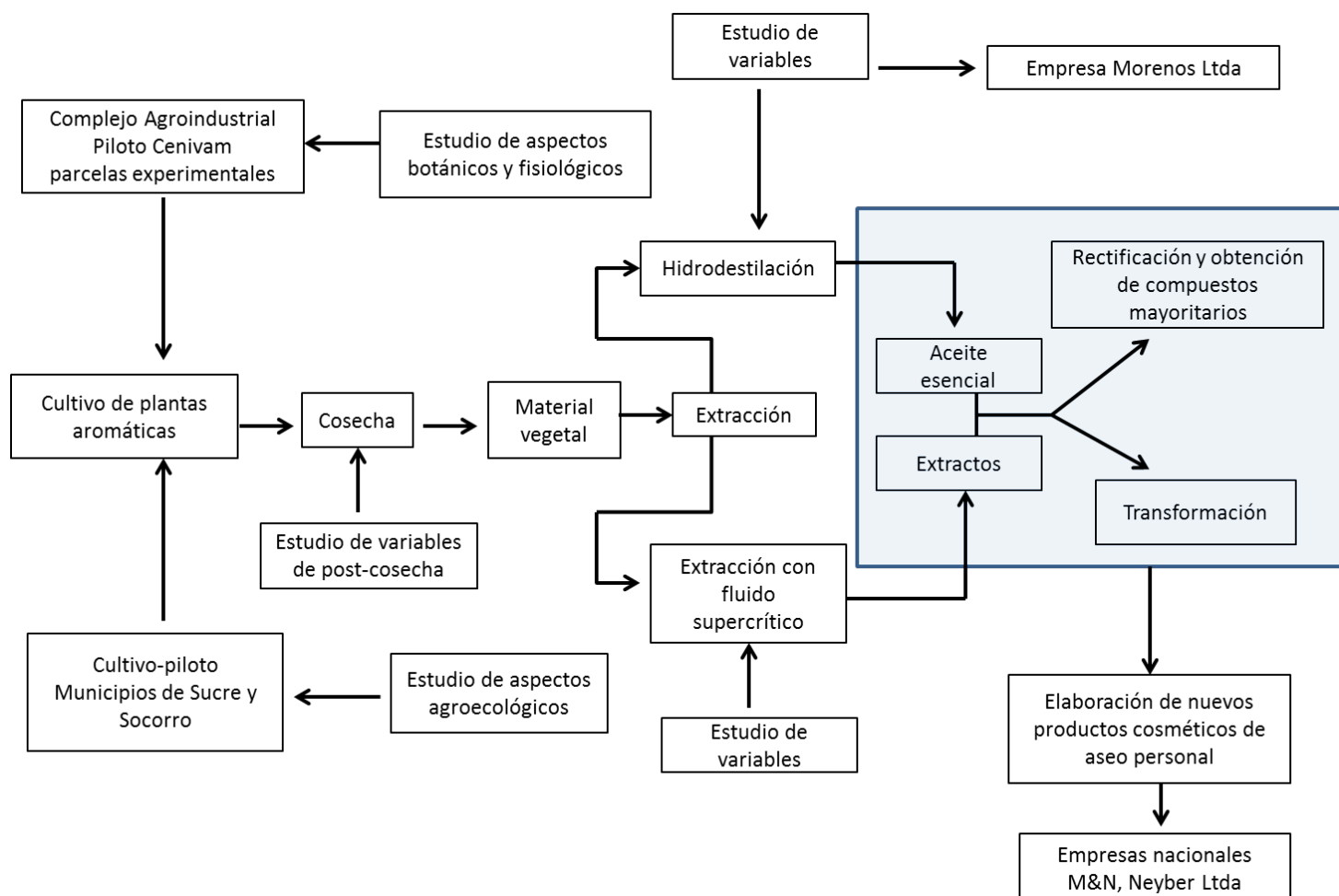
Los aceites esenciales (AE) son productos naturales que se obtienen a partir de las plantas aromáticas por métodos destilativos; se extraen sustancias aromáticas volátiles que pueden poseer actividad biológica o bondades curativas; por esto, son productos ampliamente apetecidos por las industrias de sabores, cosmética, farmacéutica, alimenticia y de fragancias [Biocomercio, 2003].

Aunque la riqueza natural de Colombia brinda el escenario preciso para la producción masiva de esencias naturales, esto no ha sido aprovechado. En la actualidad, está en marcha un macro proyecto (**Esquema 1**), cuyo propósito es abordar la investigación orientada al uso sostenible de la biodiversidad, e impulsar el desarrollo de la cadena productiva de los AE. En el proyecto participa: la Universidad Industrial de Santander (UIS) como coordinador, que en conjunto con otras universidades del país, conforman el CENIVAM, así como asociaciones de cultivadores campesinos y mujeres del departamento de Santander, y algunas empresas del sector privado (M&N, NEYBER y MORENOS Ltda), entre otras [Stashenko, 2010]. Este trabajo de investigación fue realizado en el Centro de Cromatografía y Espectrometría de Masas, CROM-MASS, de la UIS, con el apoyo del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR), y tuvo como propósito agregar valor, empleando métodos fisicoquímicos, a los AE obtenidos de dos especies del género *Cymbopogon* introducidas al país, a saber, *C. martinii* y *C. nardus*.

La *C. martinii* o palmarrosa, es un pasto aromático originario de la India y del cual se obtiene un AE con aroma a rosas, rico en acetato de geranilo y geraniol; este último es el alcohol terpénico de cuyo contenido depende el valor comercial del aceite [Akhila, 2010]. Este AE ya está en proceso de producción en el departamento de Santander bajo la transferencia tecnológica del CENIVAM, por lo cual fue imprescindible desarrollar la metodología para

estandarizar su composición. Así, que en esta parte de la investigación se exploraron algunos métodos fisicoquímicos para conseguir un AE rico en geraniol y de composición química homogénea. El AE se rectificó a presión reducida usando la *Spinning Band Column*, o columna de eje rotatorio, consiguiéndose un producto de composición química reproducible con un contenido de geraniol ca. 89% y ca 10% de acetato de geranilo. Por otra parte, se demostró con base en un estudio teórico, que la formación de un azeótropo entre el geraniol y acetato de geranilo, impide el aislamiento del geraniol por el método destilativo empleado. Como alternativa, se logró hidrolizar “*In situ*” el acetato de geranilo presente en el AE de palmarrosa, lo que elevó la concentración de geraniol hasta un 91%. Para esto, se usaron soluciones de KOH y mezclas de Ca(OH)_2 y agua, usando distintos diseños experimentales.

La *C. nardus* es otro pasto aromático no endémico, cuyo aceite esencial es uno de los 20 más comercializados en el mundo gracias a que entre sus componentes está el citronelol, un alcohol terpénico de amplio uso [Lapczynski *et al.*, 2008]. El contenido de este compuesto en el AE, aislado en el CENIVAM, fue de alrededor del 15%. Para mejorar esta proporción se partió de la premisa de que este es uno de los productos de la reducción del citronelal, otra de las sustancias que hacen parte de este aceite y cuya proporción en el mismo es del 23%. Fue así como se pretendió fotorreducir el citronelal con un catalizador amigable con el medio ambiente, como lo es, el fullereno, del cual recientemente se ha reportado este tipo de actividad catalítica, en reemplazo de los típicos catalizadores mono- y bimetálicos [Baojun Li y Zheng, Xu, 2009]. Como se mostrará en los resultados, esto no fue posible; sin embargo, se obtuvo otro producto, el dimetil acetal del citronelal, un agente de sabor y fragancia



Esquema 1. Esquema del macro-proyecto, conformado por la Universidad Industrial de Santander, Asociaciones de cultivadores de Sucre y Socorro (Santander), y las empresas colombianas M&N, NEYBER y MORENOS Ltda.

1 ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO

1.1 ACEITES ESENCIALES

1.1.1 Generalidades

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos orgánicos volátiles productos de metabolitos secundarios de las plantas; pueden ser sintetizados en cualquier parte de ésta (*i.e.*, hojas, tallos, semillas, frutos, raíces, corteza), y se almacenan en células secretoras, cavidades, canales, células epidérmicas o tricomas glandulares [Bakkali *et al.*, 2008]. Los métodos para obtener los AE a partir de plantas aromáticas son: destilación con agua (hidrodestilación) [Denny, 1989; Schreier, 1984], destilación con agua y vapor, y destilación con vapor seco [Bandoni, 2000]. Una forma rápida de llevar a cabo la extracción de los AE, consiste en la hidrodestilación asistida por la radiación con microondas (*Microwave- assisted hidrodestillation*, MWAH); en este proceso, la transferencia efectiva de “calor” permite tiempos más cortos para la extracción [Stashenko *et al.*, 2004].

La principal característica de los AE es su olor, el cual evoca la fragancia de la planta. Los aceites pueden contener más de 200 compuestos y están constituidos principalmente por hidrocarburos (terpenos y sesquiterpenos) y compuestos oxigenados (alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos, cetonas, lactonas, fenoles, entre otros) [Guenther, 1948]. Los terpenos constituyen el grupo más numeroso (más de 40.000 moléculas diferentes), se biosintetizan en última instancia a partir del isopentil difosfato (IPP) (C₅) y de su isómero alílico, dimetilalil difosfato (DMAPP) (C₅). En reacciones de condensación catalizadas por prenil transferasas, el IPP y DMAPP dan lugar a bifosfatos de prenilo tales como: geranil difosfato (GPP), precursor de monoterpenos, farnesil difosfato

(FPP), precursor de sesquiterpenos, y geranilgeranil difosfato (GGPP), precursor de diterpenos [Ávalos y Pérez, 2009].

La técnica oficial para el análisis de AE, es la cromatografía de gases (GC) [Cserhádi, 2010]. Esta técnica proporciona alta resolución (*i.e.*, separación de los analitos), y la posibilidad del acoplamiento al instrumento analítico (cromatógrafo), de una técnica espectroscópica (espectrometría de masas, MS).

1.1.2 Mercado internacional de aceites esenciales

El mercado internacional de AE es de alrededor de 1300 millones de dólares anuales (valor promedio entre los años 1998 y 2002) [Erkekadjian, 2002]. Dicho comercio está controlado por las grandes empresas de sabores y fragancias, y por los acopiadores de materias primas para estas industrias [Baser, 2010]. Las exportaciones de AE se encuentran dominadas por Estados Unidos (EE.UU.) y algunos países de la Unión Europea (Francia, Alemania y el Reino Unido). Por Suramérica, Brasil y Argentina, se ubican entre los 10 primeros exportadores a nivel mundial (**Figura 1**) [Erkekadjian, 2002].

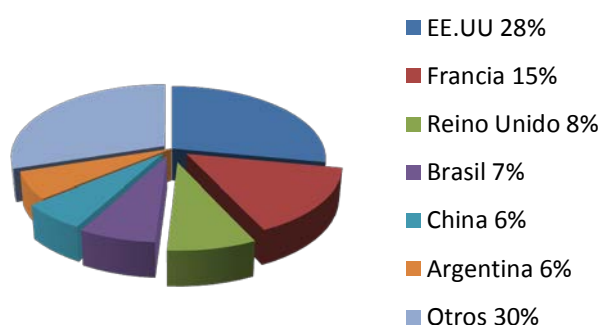


Figura 1. Principales países proveedores de AE en el año 2002 [Erkekadjian, 2002].

1.1.3 Aceites esenciales en Colombia

A pesar de que Colombia posee las condiciones favorables agroecológicas (*i.e.*, diversidad de suelos, clima, etc.) para la propagación de diversas especies vegetales aromáticas, la industria productiva de AE es ínfima, y los AE demandados son importados en su totalidad [Avellaneda y Roa, 2008]. De acuerdo con un estudio realizado sobre el mercado de AE en Colombia en el 2003, el poco conocimiento de la tecnología, y el mercado, así como los problemas en el suministro de la materia prima, han sido las principales causas que “no permiten asegurar el éxito financiero, y generan temor en los inversionistas” [Biocomercio, 2003].

A partir del 2004, Colciencias (Actualmente, Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación en Colombia) financió la creación del Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM (Centro Nacional de Investigación para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas Medicinales Tropicales), integrado por varias universidades de Colombia, y cuyo nodo coordinador fue la Universidad Industrial de Santander (UIS). Desde el CENIVAM, se abordó la temática investigativa para el desarrollo de la cadena productiva de AE, a saber, etnobotánica y taxonomía (829 accesiones recolectadas), obtención y caracterización de AE y extractos (438 AE y 309 extractos), transformación de AE (2190 pruebas catalíticas y 232 catalizadores sintetizados), síntesis y estudios de bioactividad de nuevas moléculas (605 moléculas sintetizadas y remitidas para ensayos de bioactividad), entre otras. En sintonía con estas actividades, este centro proporcionó asesorías, transferencia de tecnología y servicios a la comunidad [Stashenko, 2010].

1.1.4 Calidad de los aceites esenciales

Para obtener AE de calidad y con características “homogéneas”, es necesario el control de las variables que afectan su composición y rendimiento, entre

ellos: el origen de la planta, la época de recolección del material vegetal, parte de la planta a partir del cual se obtiene el AE, el método de extracción, la preparación del material vegetal (e.g., tiempo de secado), entre otros [Mendivelso *et al.*, 2007; García *et al.*, 2007]. Los parámetros de calidad para algunos AE y los métodos de análisis o ensayos a los cuales deben ser sometidos (análisis cromatográficos, pruebas fisicoquímicas y organolépticas), se encuentran estandarizados en diversas normas, fijadas por organizaciones como, ISO (*International Organization for Standardization*) (<http://www.iso.org/iso/home.html>) y AFNOR (*Association Francaise de Normalisation*).

Como parte de las estrategias para el fortalecimiento de la cadena productiva de AE, se encuentra la búsqueda de AE de mayor calidad y, por lo tanto, valor agregado. La adición de “valor” a los aceites esenciales se lleva a cabo principalmente a través de dos métodos. El primero, consiste en someterlo a procesos destilativos, el cual se realiza a presión reducida (≤ 5 mm Hg), para evitar procesos de polimerización y descomposición [Srivastava, 2006]. A partir de la destilación fraccionada, es posible mejorar las características organolépticas de los AE (e.g., la desterpenación del AE de cítricos) [Ikeda *et al.*, 1962], concentrar algunos de sus componentes importantes o estandarizar su calidad, e.g., aislar la carvona de los AE de *Lippia alba* y *Anethum graveolens*, el citral, del AE de *Cymbopogon citratus*, el geraniol, del AE de palmarrosa y el 1,8-cineol, del AE *Myrtus Communis* [Farah *et al.*, 2006; Conde, 2008; Roa, 2009; Tovar *et al.*, 2010], La obtención de fracciones por rectificación de los AE, permite además la evaluación del efecto sinérgico de sus constituyentes, y la identificación de principios activos. Por ejemplo, a partir de la rectificación del AE de citronela, se reveló que el mirceno, era el responsable de la actividad larvica en las fracciones de monoterpenos [Ranaweera y Dayananda, 1996].

La otra forma de agregar valor a los AE, consiste en la transformación química de alguno(s) de sus constituyentes (*in situ*, o aislados), para obtener derivados de mayor valor comercial. Por ejemplo, el citral, presente en el AE de limonaria

y *Litsea cubeba* (60-80%), es precursor de α -iononas y terpenos (citronelol, linalool, nerodiol, geraniol, farnesol y bisabolol) muy importantes en la industria de los saborizantes y fragancias. El eugenol, presente en el AE de clavo, es tratado (álcali o catalizadores de Ru y Rh) para formar isopulegol, y éste a su vez, oxidado para dar vainillina [Berger, 2007]. El safrol es un constituyente del AE de sasafrás (>90%), y es utilizado en la obtención de butóxido de piperonal, el cual es un ingrediente vital de los insecticidas piretroides. El anetol, que se encuentra en el AE de anís, y del cual se produce en China cerca de 500 t/año, es oxidado (ácido crómico) para producir anisaldehído. La formación de nuevas tetrahydroquinolinas (derivados 4-anisil-2-fenil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina), a partir de reacciones de cicloadición (Diels-Alder) con el aceite esencial y semillas del anís [Kouznetzov *et al.*, 2007]. Se han realizado diversas biotransformaciones de terpenoides, mediante el uso de enzimas (e.g., cloroperoxidasa) [Arias *et al.*, 2007], bacterias (e.g., *Rodhococcus erythropolis*, *anthobacter sp.*) [Prieto *et al.*, 2007], hongos, insectos, mamíferos, microalgas y cultivos de células de plantas superiores. Entre las investigaciones más notables, se encuentran sobre los hongos *Aspergillus* y *Euglena gracilis*, utilizados en un amplio rango de reacciones de oxidación, reducción, isomerización, hidroxilación, entre otras [Castellanos *et al.*, 2007; Baser, 2010].

1.2 DESTILACIÓN

La destilación es una técnica que consiste en la separación de los componentes de una mezcla por volatilización parcial de la misma, separando los distintos analitos en función de sus puntos de ebullición. La base fundamental de la destilación es el equilibrio físico entre las fases líquido y vapor de un sistema. La relación de concentraciones de equilibrio de un componente entre las fases (líquido-vapor, L-V) se describe a través de la constante de equilibrio K , o simplemente volatilidad (**Ecuación 1**). Para un sistema de dos componentes (bajo las mismas condiciones), la relación de equilibrio entre fases puede formularse como se muestra en la **Ecuación 2**, y se conoce como volatilidad relativa. A partir de las determinaciones de la

composición en equilibrio del compuesto de interés, y aplicando la **Ecuación 2**, se construye la curva de equilibrio líquido-vapor, necesaria para el diseño de columnas de fraccionamiento [Carney, 1949; Fair y Sticlmair, 2009].

Ecuación 1 $K_i = Y_i^* / X_i$

Ecuación 2 $\alpha_{ij} = K_i / K_j = (1-X_i) Y_i^* / (1-Y_i^*) X_i$

Donde:

K_i, K_j : relación de equilibrio de los componentes i, y j.

X_i : fracción molar de i en equilibrio en la fase líquida.

Y_i^* : fracción molar del componente i en equilibrio en la fase vapor.

α_{ij} : volatilidad relativa del componente i respecto al componente j.

La destilación puede llevarse a cabo según dos métodos principalmente, esto es, si se permite el retorno de parte del condensado al calderín o no; es decir, con o sin reflujo. El retorno de una parte del condensado a la columna se da en unas condiciones (e.g., empleando una columna de fraccionamiento) tales que el líquido, que retorna, se pone en íntimo contacto con los vapores que ascienden hacia el condensador. El enriquecimiento de la corriente de vapor al atravesar la columna en contacto con el reflujo recibe el nombre de rectificación. Cualquiera de los dos métodos, en términos del suministro de material a destilar, puede realizarse de forma continua o por cargas [McCabe, 1991]. Como se observa en la **Figura 2**, pueden identificarse dos secciones en una columna de fraccionamiento a partir del plato de alimentación, es decir por donde se realiza la carga (sin importar su forma o material). Todos los platos por encima del plato de alimentación constituyen la sección de rectificación (o enriquecimiento), mientras que todos los platos por debajo de la alimentación (incluyendo también el plato de alimentación), constituyen la sección de agotamiento [McCabe, 1991].

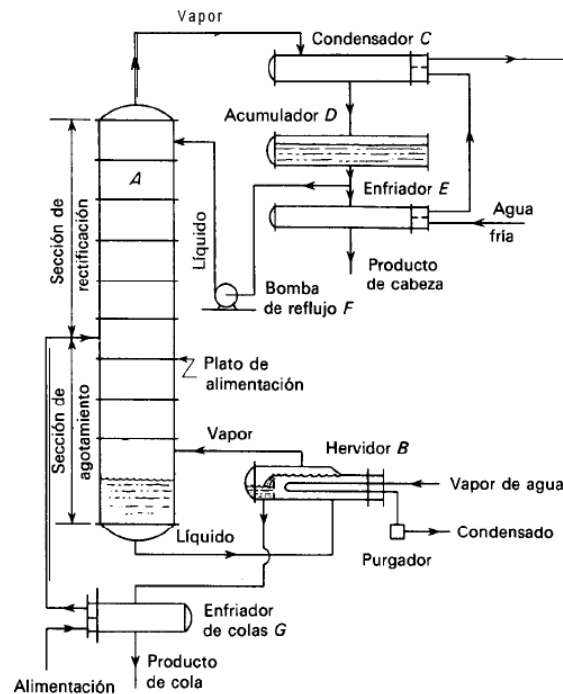


Figura 2. Columna de fraccionamiento para un sistema continuo. Figura tomada del libro: “Operaciones unitarias en ingeniería química” [McCabe, 1991].

Cada sección en la columna de fraccionamiento posee una línea de operación, la cual se deriva de los balances de materia globales. Cuando estas líneas se representan juntamente con la curva de equilibrio en el diagrama X-Y (**Figura 3**), se puede utilizar la construcción de escalones de McCabe-Thiele para calcular el número de platos ideales que se requieren para alcanzar una diferencia de concentración definida, bien en la sección de enriquecimiento o en la de agotamiento. Es decir, se puede determinar el número de etapas que debe tener una columna para poder obtener un destilado deseado. En la destilación *batch* o por cargas, la alimentación entra por la parte baja de la columna; por lo tanto, no hay sección de agotamiento. En la **Ecuación 3** se muestra la línea de operación de la sección de rectificación, cuya ordenada en el origen es $X_d/(R + 1)$; donde X_d es la composición del destilado y R es la variable de operación denominada reflujo [McCabe, 1991].

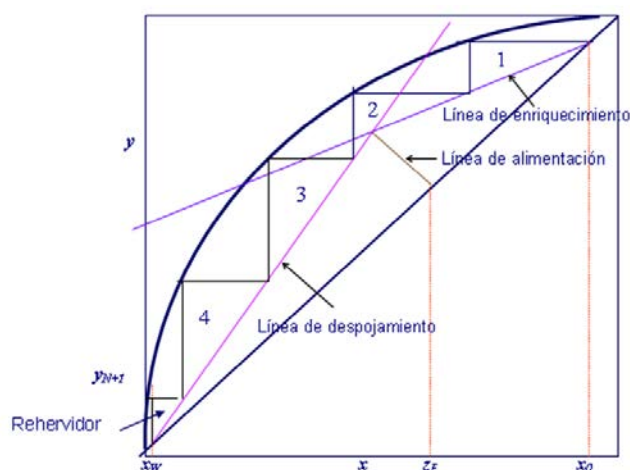


Figura 3. Diagrama de McCabe-Thiele para la destilación en modo continuo. Tomada de la página web: http://docencia.udea.edu.co/ingenieria/transferenciademasaborrar/unidad1/sist_binarios.html.

Ecuación 3
$$Y = (R / R + 1) X_d + (X_d / (R + 1))$$

Donde: X_d : Composición del destilado.

R : Reflujo.

Y : Composición el componente más volátil en fase vapor.

1.2.1 DESTILACIÓN FRACCIONADA DE ACEITES ESENCIALES

Como se mencionó anteriormente, la destilación fraccionada de los AE se lleva a cabo a presión reducida, ya que muchos de sus componentes tienen puntos de ebullición por encima de 200 °C, y, de esta manera, se puede evitar su descomposición o polimerización. Este método de separación permite evaluar aquellos componentes o mezcla de éstos, que en un AE brindan alguna actividad biológica. Esto se evidenció en un estudio realizado sobre el AE de la especie *C. nardus*, en el cual la separación y el estudio de diferentes fracciones de hidrocarburos monoterpénicos permitieron inferir que el mirceno, elemol o metil-iso-eugenol son los componentes principales responsables de la actividad letal frente a las larvas de *Culex quinquefasciatus* [Ranaweera y Dayananda,

1996]. En otra investigación, las fracciones obtenidas por destilación fraccionada a presión reducida por lotes de los AE de eneldo, cilantro y eucalipto, revelaron que la actividad antimicrobiana difiere y en algunos casos excede aquella medida en los AE crudos; esto sugiere interacciones complejas entre los distintos compuestos activos, como por ejemplo, en el caso de las fracciones obtenidas del AE de eneldo, donde la actividad antimicrobiana dependía de la cantidad de carvona y limoneno, de manera que cuando la concentración de estos dos componentes era similar, la actividad era menor respecto de aquellas fracciones donde uno de estos compuestos estaba enriquecido [Delaquis *et al.*, 2002].

La rectificación de los AE permite, además, separar y/o concentrar algún o algunos componentes, así como estandarizar la composición del mismo, lo cual es primordial al momento de su comercialización. Por destilación fraccionada a presión reducida (10 mm Hg) del AE de *Tsuga canadensis* (L.) (Abeto canadiense) [Shaw, 1951], se reportó la concentración de 11 componentes de este AE en 59 fracciones por debajo de 105°C, a saber, tricicleno, α -pineno, canfeno, β -pineno, mirceno, α -felandreno, limoneno, α -tujona, un alcohol terciario (no identificado), canadeno y acetato de bornilo [Shaw, 1951]. Los compuestos del tipo hidrocarburo se separaron en fracciones por debajo de 70°C, mientras los del tipo oxigenado entre 70 y 105 °C [Shaw, 1951]. En otro trabajo [Farah *et al.*, 2006], a partir de la rectificación del AE de mirto en una columna de 3 m rellena de anillos de vidrio, se logró dar un mayor valor agregado a este AE; esto por la obtención de tres fracciones concentradas en: la primera, α -pineno y 1,8-cineol, la segunda, 1,8-cineol (83,3-95,8%) y la tercera, acetato de mirtenilo. La destilación fraccionada por lotes del enebro (*Juniperus communis*) [Milojević *et al.*, 2010], en una columna de 36 etapas teóricas, operando a presión reducida (8-3.35 kPa), permitió la obtención de 14 fracciones, donde en las 6 primeras se aisló el α -pineno, con una concentración de más del 98,3% en masa. En las otras fracciones, se logró concentrar el sabineno y mirceno.

La aplicación más importante a nivel comercial de la destilación fraccionada de AE se asocia a la desterpenación de los AE de cítricos, a saber, mandarina, limón y naranja. Con la desterpenación se logra mejorar la calidad organoléptica del AE, y obtener de acuerdo con las veces que se someta a este proceso, aceites esenciales de diferente calidad y por lo tanto precio. Por ejemplo, el AE de naranja crudo o *single fold* cuyo costo para el año 2003 era de US\$ 0,7/kg, lograba alcanzar un precio hasta de US \$75/kg (AE diez *fold* o *ten fold*), cuando era removida la mayor cantidad de terpenos.

1.3 SOBRE LAS ESPECIES VEGETALES Y AE BAJO ESTUDIO

El género *Cymbopogon* consta de 120 especies vegetales nativas del viejo continente y Oceanía, que crecen en clima cálido. Los AE obtenidos de algunas especies de *Cymbopogon spp.* sirven como fuente de distintos compuestos e.g., geraniol, acetato de geranilo, citral, citronelal, piperitona, eugenol, citronelol, de alto valor en las industrias perfumística y cosmética, entre otras. De las especies aromáticas del género *Cymbopogon*, las más importantes en términos de producción de aceites esenciales son *C. martinii* var. *motia* (AE de palmarrosa), *C. flexuosus*, *C. nardus* y *C. winterianus* (AE de citronela) [Akhila, 2010].

1.3.1 *Cymbopogon martinii* y su aceite esencial

La especie *C. martinii* (Roxb) Wats variedad *motia* (también llamada *rosha grass* o *rusa grass*) o palmarrosa (**Figura 4**), es un pasto aromático que se encuentra ampliamente distribuido en el sudeste asiático, especialmente, en Pakistán y en la India. De esta planta, se obtiene un AE (AE de palmarrosa) con olor a rosas y una nota odorífica cítrica debida al contenido de compuestos como el citral.

Entre los distintos constituyentes del AE de palmarrosa, el citral (4–12%), citronelol (6.4%), linalool (2.4%), sobresalen por su contenido, la cantidad del

geraniol y acetato de geranilo varía entre 65–90% y 6-12%, respectivamente [Raina *et al*, 2003; Rajeswara, 2005]. Los mayores productores de AE de palmarrosa han sido Brasil, Indonesia, Honduras, Guatemala y la India. India se destaca por producir un AE conocido como *East Indian Geranium Oil* o *Rosha oil*, que sobresale por su calidad; el contenido de geraniol varía entre el 75 y el 90% [Akhila, 2010].



Reino: *Plantae*

Familia: *Poaceae*

Género: *Cymbopogon*

Epíteto específico: *martinii* (Roxb.) J.F. Watson

Nombre botánico: *Cymbopogon martinii*

Figura 4. Taxonomía de *C. martinii*. Fotografía tomada por el autor en el CENIVAM el 15-03-2013.

Como criterio de calidad para el AE de este tipo producido en la India, según el *Indian Standard IS:526-1986*, el AE debe tener un olor suave y ser soluble en 2.2-4.2 volúmenes de alcohol etílico (70%), lo cual se asocia con el alto contenido de geraniol. Los AE producidos en la India son ampliamente comercializados en Europa; sin embargo, el mayor importador de este producto, de acuerdo con las estadísticas de los años 2005 – 2007, fueron los Estados Unidos (**Tabla 1**).

Tabla 1. Países que importan AE de palmarrosa de la India de 2005 a 2007.

País	2005		2006		2007	
	kg	Valor (USD)	kg	Valor (USD)	kg	Valor (USD)
Francia	540	5838	1105	16394	3740	67284
Alemania	485	5062	1880	24615	2365	37042
Holanda	3060	32600	2880	44090	2700	54114
EE.UU.	180	1252	4801	57940	9980	164540
Otros países	2992	34561	7271	69427	1899	42343
Total	7257	79313	17883	212466	20684	365323

El AE de palmarrosa se utiliza en la perfumería, en la formulación de jabones, como saborizante del tabaco, en la elaboración de repelentes contra mosquitos y, principalmente, como fuente de geraniol [Akhila, 2010; Nerio *et al.*, 2010]. Posee un amplio espectro de actividades biológicas, a saber: antimicrobiana contra *Saccharomyces cerevisiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* [Prashar *et al.*, 2003], anti-*Candida* (*Candida albicans*) [Texeira *et al.*, 2005], acaricida (*Dermanyssus gallinae*) [Kim *et al.*, 2004; George *et al.*, 2009].

A escala industrial, el AE de palmarrosa se aprovecha como materia prima para aislar el geraniol. Este proceso se lleva a cabo, saponificando el AE, es decir, se provoca la hidrólisis del acetato de geranilo, luego la mezcla se somete a destilación fraccionada [Parry, 1922; Caiger y Hughes, 2010]. Es importante resaltar, que al respecto no hay publicaciones que especifiquen de qué manera se lleva a cabo este proceso, pues, sin duda, hace parte del *know how* de los productores. Un avance importante en el propósito de mejorar la calidad del AE de palmarrosa, lo constituye un estudio sobre los AE obtenidos a partir de las inflorescencias en los diferentes estadios de *C. martinii*. Allí, Dubey y colaboradores, lograron aislar la enzima (*Geranyl Acetate Esterase*, GAE) responsable de la bioconversión del acetato de geranilo a geraniol [Dubey y Luthra, 2001; Dubey *et al.*, 2003]. Esta enzima, además, demostró la

capacidad para hidrolizar otros ésteres de monoterpenos acíclicos, a saber, formiato de geranilo y acetato de citronelilo [Dubey *et al.*, 2002]

1.3.2 Geraniol

El geraniol (**Figura 5**), de cuyo contenido depende la calidad del AE de palmarrosa, es un compuesto incoloro, con olor a rosas, que se encuentra además presente, aunque en menor proporción, en otros AE, e.g., de geranio, *ginger grass* y absoluto de las rosas [Parry, 1922]. Junto al citronelol y el linalool, es uno de los alcoholes terpénicos comercialmente más importante; su producción anual asciende a aproximadamente 1000 ton/año [Lapczynski *et al.*, 2008]. Se produce en grado técnico (sintético 98%) a partir del pineno. En este proceso, el pineno es pirolizado a mirceno, el cual se convierte a cloruros de geranilo y nerilo y, posteriormente, a sus acetatos. Esta mezcla se hidroliza para ser sometida a destilación fraccionada, para separar el geraniol [FFHPVC, 2006]. También, se puede sintetizar a partir del isobutileno (proceso BASF), isopreno (proceso Kurakay), isoprenil metil éter o acetileno/acetona (proceso F. Hoffman-La Roche), utilizando como compuesto inicial el 2-metil-2-hepten-6-ona (**Figura 5**).

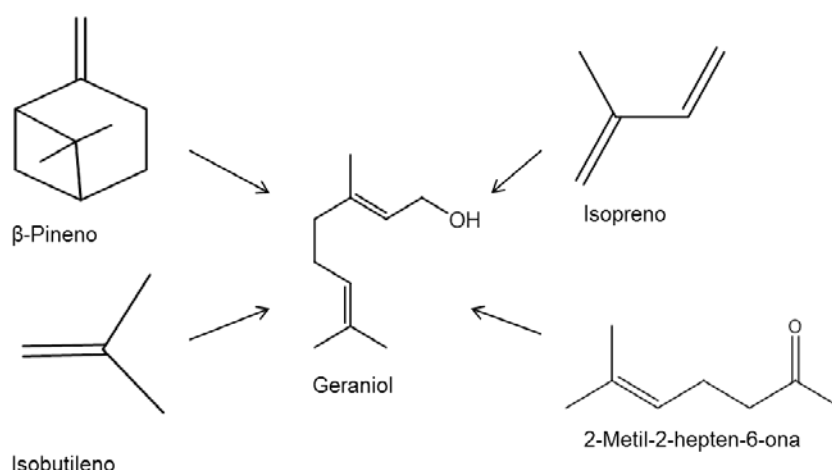


Figura 5. Sustancias precursoras en la síntesis del geraniol.

La aplicación que tiene el geraniol es bien variada. Un estudio realizado en el mercado europeo, reporta que el 76% de los desodorantes, el 41% de los productos de aseo para el hogar, y el 33% de los cosméticos (cuya base son ingredientes naturales), contienen el geraniol [Lapczynski *et al*, 2008]. Sin embargo, por su carácter alergénico, marcado principalmente por sus productos de oxidación, *i.e.*, hidroperóxido de geraniol (**Figura 6**) [Bäctorp *et.al*, 2008], las cantidades límite para su uso se encuentran reguladas por la Asociación Internacional de Fragancias (IFRA). En los Estados Unidos (EE.UU.), el uso de geraniol como aditivo en alimentos está avalado por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA), la cual concedió a este compuesto la notificación “*Generally Regarded as Safe*” (GRAS) [Lapczynski *et al*, 2008].

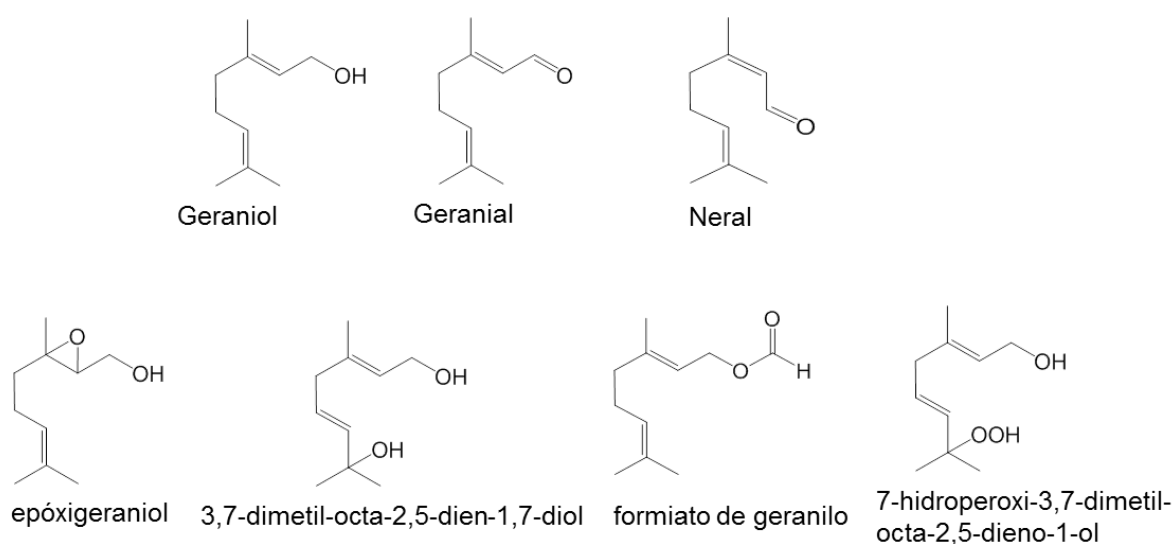


Figura 6. Geraniol y sus productos de oxidación.

Mientras el precio comercial del AE de palmarrosa varía de 31 a 44 USD/kg, su constituyente más importante, el geraniol (de pureza del 97%), cuesta alrededor de 82 USD/kg (<http://www.sigmaaldrich.com/us-export.html>).

1.3.3 *Cymbopogon nardus* y su aceite esencial

El AE de citronela (Ceylon y Java) se obtiene a partir de las plantas de *C. nardus* (L) Rendle (**Figura 7**), y *C. winterianus*. Es uno de los 20 AE más comercializados a nivel mundial; se estima que la producción mundial anual de AE de citronela es de 5000 ton, avaluada en 20 millones USD. Los principales cultivos de *C.nardus* se encuentran en Sri Lanka, razón por la cual, el AE es comercialmente conocido como AE de citronela tipo *Ceylon*.

El AE de citronela (Ceylon y Java) se considera un bioplaguicida por su modo de acción no tóxico (según la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos, US EPA) (www.epa.gov). Este AE ha sido empleado como repelente de mosquitos (*Musca domestica*) (EPA Reg. N°. 385-32) y áfidos (*Hyadaphis foenicule*) [Samarasekera *et al.*, 2006; Abramson *et al.*, 2006]. En Colombia, Olivero y colaboradores (2009), demostraron que la actividad repelente del AE de citronela contra el escarabajo rojo de la harina (*Tribolium castaneum*), es similar o mejor que el producto comercial empleado (IR 3535) para tratar esta plaga [Olivero *et al.*, 2009].

Los principales constituyentes del AE de citronela (Ceylon) son: limoneno (9-28%), geraniol (20-30%) citronelol (8-20%), citronelal (5-29,7%), cariofileno (1,4%), canfeno (5-6%), citral (18%), acetato de geranilo (7-8%), linalool (8%), γ -terpineol (9,2%) [Vijender *et al.*, 2002; Akhila, 2010]. La composición química para este AE obtenido en el Complejo Agroindustrial Piloto-CENIVAM, en Santander (Colombia), mostró como componentes mayoritarios citronelal (23%), geraniol (16%) y citronelol (15%) [CENIVAM, 2010].



Familia: *Poacea*

Género: *Cymbopogon*

Especie: *nardus*

Nombre botánico: *Cymbopogon nardus* (L) Rendle

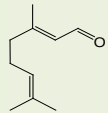
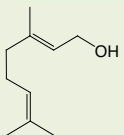
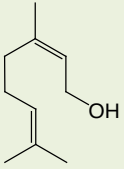
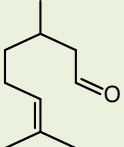
Figura 7. Taxonomía de la planta *Cymbopogon nardus* (L) Rendle. Fotografía tomada por el autor en el CENIVAM el 18-06-2013.

El bajo costo (10-18 \$USD/kg) del AE de citronela (*Ceylon* y *Java*), le ha brindado a éste una ventaja económica para ser materia prima de compuestos de gran valía, a saber, citronelol (US \$ 200/kg), citronelal y geraniol [Sell, 2003; Caiger y Hughes, 2010]. Entre tanto, esto no ocurre con otras fuentes naturales de dichos compuestos, e.g., el AE de rosas (US\$2300/kg).

1.3.4 Citronelol

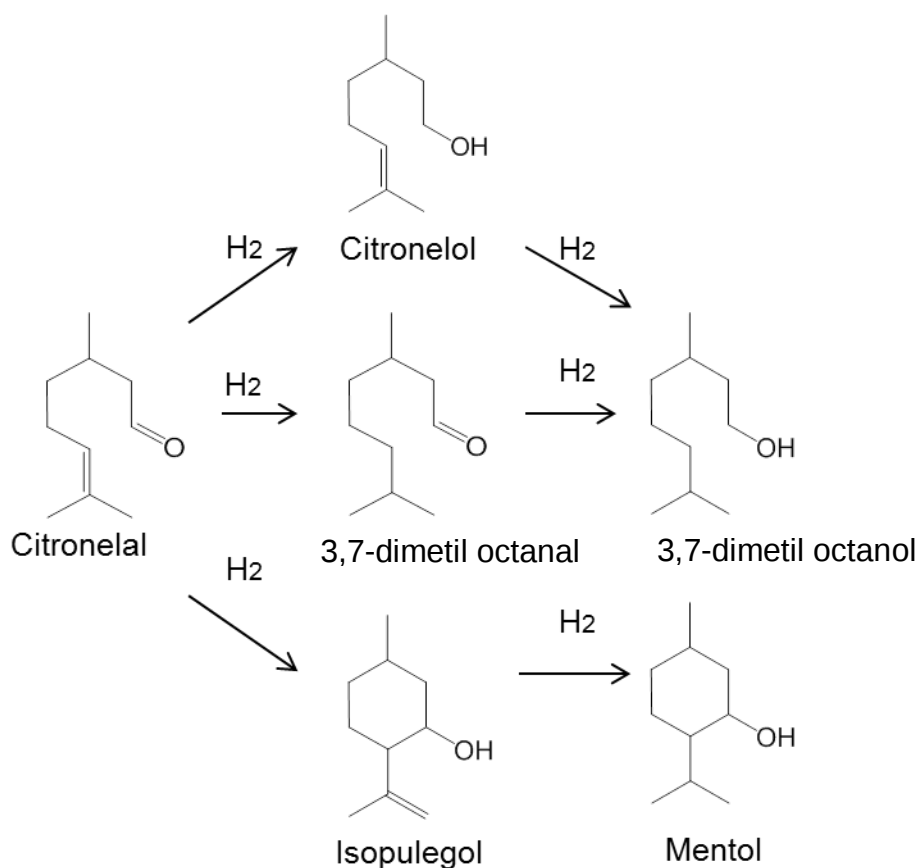
El citronelol (**Esquema 2**), uno de los componentes terpénicos del AE de citronela, es un compuesto empleado como ingrediente en la elaboración de productos de tocador (perfumes, cosméticos, champús, jabones) y otros no cosméticos (limpiadores y detergentes) [Lapczynski *et al.*, 2008]. Hace parte de la síntesis total de compuestos quirales (ácidos carboxílicos 3-alkil sustituidos), terpenoides (1-mentol, α -tocoferol) y es precursor a escala industrial del óxido de rosa [Lenardao *et al.*, 2007; Monnerie y Ortner, 2001]. Los métodos usados para la obtención del citronelol comprenden la hidrogenación selectiva en fase condensada del geranial y neral, geraniol y nerol, citronelal, empleando catalizadores mono- y bimetálicos con diferentes soportes.

Tabla 2. Catalizadores empleados en la hidrogenación quimio selectiva de citral, geraniol y nerol.

Reactante	Catalizador	Selectividad, %	Refs
 Geranial, Neral	Ni/Al ₂ O ₃ ,	85-95	Mäki-Arvela <i>et al.</i> , 2003
	Ni/SiO ₂ , Ni-Cu/SiO ₂	76,8	
	Cr-Ni Raney	92,3	De Simone <i>et al.</i> , 1977
	Ni/Cr ₂ O ₃		Pak <i>et al.</i> , 1981
 Geraniol	Cu-Cr/ Ba como promotor (42% Óxido de cobre 42% Óxido crómico 12% Óxido de bario)	90,4	Kane, 1967
 Nerol	Pt/SiO ₂ ,	65	Mäki-Arvela <i>et al.</i> , 2004
	Pt/H-MCM-41	55	
	Pt/H-Y	25	
 Citronelal	Ru/SiO ₂	78,2 y 20% conversión	Milone <i>et al.</i> , 1999
	Suspensiones sólidas Pt y Ru (Pt-PVP, Ru-PVP)+Co ⁺²	99,6-99,8 y 100% conversión	de Weiyong <i>et al.</i> , 2000
	NaBH ₄ en sales de amonio cuaternarias		Ganapati <i>et al.</i> , 2006

De acuerdo con lo reportado en la literatura, la hidrogenación del citronelal (**Esquema 2**) puede dar lugar a la formación del 3,7-dimetil octanal y en última instancia, al 3,7-dimetil octanol. En presencia del catalizador Ru/SiO₂, se reportaron además la formación de isopulegol y mentol.

Esquema 2. Productos de la reducción del citronelal por diferentes métodos.



Es importante subrayar, que en las distintas investigaciones no se han empleado sistemas no metálicos para reducir el citronelal, u otro sustrato de estructura similar. Este tipo de catalizadores no es muy común. Sin embargo, al respecto, en el año 2009, se reportó por parte de algunos investigadores en la China, la capacidad del fullereno C₆₀, conjunto con la luz UV, para activar el hidrógeno molecular, lo que dejó al descubierto este nuevo material como un potencial catalizador en reacciones de hidrogenación [Baojun y Zheng, 2009].

1.4 FULERENOS

Los fullerenos o fullerenos, fueron descubiertos en 1985 y constituyen la tercera forma alotrópica del carbono. En su estructura presenta no solo ciclohexanos

sino también ciclopentanos, lo que genera la curvatura de las moléculas (forma de jaulas cerradas simétricas) (**Figura 8**).

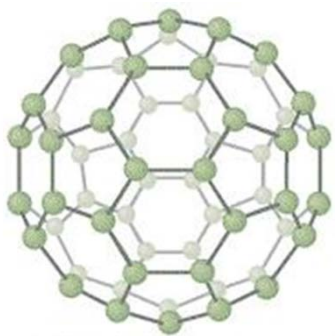


Figura 8. Estructura del fullereno C_{60} . Tomada de la página web <http://qcaorganica.blogspot.com/2010/03/el-elemento-carbono.html>.

La síntesis a escala macroscópica de los fulerenos en los años 90 desarrollada por Donald Huffman y Wolfgang Krätschmer [Alekseyev y Dyuzhev, 2003], permitió abrir el camino para explorar la química de estas moléculas. Con este método de preparación (Huffman- Krätschmer), los fulerenos C_{60} y C_{70} se obtienen en mayor cantidad (75 y 24%), por lo cual muchas investigaciones han sido desarrolladas sobre estas moléculas [Langa y Nierengarten, 2007]. Los fulerenos son un arreglo octaédrico de seis unidades de piracileno con un doble enlace reactivo en el centro de cada unidad, por lo que la reactividad de los fulerenos es análoga a la de una poliolefina electrodeficiente con los pares electrónicos localizados. La alta afinidad electrónica de C_{60} y C_{70} , favorece su reducción, lo que ocasiona la formación de aniones C_{60}^{-n} . Se han descrito diferentes tipos de reacciones para los fulerenos, a saber: reducción, oxidación, hidrogenación, alquilación, aminación, halogenación, cicloadición, sustitución, entre otras [Dresselhaus *et al.*, 1996]. Las reacciones de cicloadición son las mejores para funcionalizar los fulerenos. Se han reportado reacciones de cicloadición [2+1], [2+2], [3+2] [Shiu *et al.*, 1994] y [4+2] [García y Klimova, 2000], en las cuales los fulerenos (C_{60} y C_{70}), pueden actuar como dienos o dienófilos. Otro aspecto importante en los fulerenos (en estado sólido), es la posibilidad de su dopaje con metales (M) alcalinos o alcalinotérreos en diferentes partes de su estructura, *e.g.*, dentro de la cavidad del fullereno,

reemplazado uno o más átomos de carbono u ocupando posiciones intersticiales dentro de la red; algunos de estos metalofulerenos (e.g., M_nC_{60} , $M_nM_mC_{60}$) han demostrado propiedades de superconductores [Dresselhaus *et al.*, 1996]. Sin embargo, otros elementos pueden estar confinados dentro de su estructura, entre otros, gases nobles (helio, neón, argón), nitrógeno, hidrógeno [Murata *et al.*, 2006], calcio (C_{80}), litio (C_{70}), bario (C_{70}). Algunas de las áreas de aplicación de los fulerenos incluyen la ciencia de materiales (e.g., polímeros con propiedades de limitadores ópticos, construcción de células fotovoltaicas), química y biomédica (e.g., derivados con actividad frente al virus del SIDA) [Martín, 1999].

Los fulerenos han participado como catalizadores de reacciones de acoplamiento y transalquilación de mesitileno a través de la transferencia de átomos de hidrógeno, con la capacidad, además, de romper enlaces $C_{aril}-C_{alquil}$ en 1,2-di-naftilmetanos [Malhotra *et al.*, 1998]. El C_{60} reacciona con hidrógeno molecular tanto para generar derivados $C_{60}H_x$ ($x=2$ a 40), como para activar esta molécula y funcionar como un catalizador en reacciones de hidrogenación [Malhotra *et al.*, 1998]. Así se expone en una investigación sobre el nitro benceno, donde usando el C_{60} en presencia de H_2 (1 atm), radiación ultravioleta y THF como solvente, se lograba reducir esta sustancia a anilina después de 4 horas, con 100% de conversión y selectividad del 92,4% [Baojun Li y Zheng, Xu, 2009].

2 METODOLOGÍA

2.1 MATERIAL VEGETAL.

El material vegetal utilizado para obtener el AE de palmarrosa, fue colectado de plantas propagadas en las parcelas experimentales del Centro de Investigación CENIVAM, *campus* principal de la UIS, a partir de semillas certificadas y comercializadas por la empresa B&TWorld seeds (París, Francia).

2.2 REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO

2.2.1 Reactivos y solventes

Tabla 3. Sustancias químicas empleadas en esta investigación

REACTIVOS	PUREZA Y CASA PRODUCTORA
<i>n</i> -Tetradecano (sustancia de referencia para cromatografía de gases)	99,5%, Merck, Darmstadt, Alemania.
Cloruro de metileno	99,9%, Mallinckrodt, Baker, Inc., París, Francia
Geraniol	98%, Sigma-Aldrich, St Louis, EE.UU.
Linalol	97%, Sigma-Aldrich, St Louis, EE.UU.
Acetato de geraniol	98%, Sigma-Aldrich, St Louis, EE.UU.
Hidróxido de potasio	>85%, Merck, Darmstadt, Alemania
Fulereo soot	7% de fulerenos; 76% C ₆₀ , 22% C ₇₀ El resto corresponde a fulerenos de orden superior, Sigma-Aldrich, St Louis, EE.UU.
Metanol	Grado HPLC-Sigma Aldrich, St Louis, EE.UU.
Hidróxido de calcio	Promical 60%. Hidróxidos totales 80%, Medellín, Colombia
Citronelal	95%, Sigma-Aldrich, St Louis, EE.UU.

Los reactivos y solventes utilizados en la parte experimental de esta investigación fueron, en su mayoría, de grado analítico. Las casas productoras y el grado de pureza de los reactivos y solventes, se resumen en la **Tabla 3**.

2.2.2 Materiales

- Tubos de ensayo tapa rosca de 16x150 mm (Kimax).
- Tubos cónicos de poli(propileno) de 1.5 mL (BRAND, *Postfach* 1155. D-97864 Wertheim, Alemania).
- Pipetas *Pasteur* de vidrio de 230 mm de longitud (BRAND, *Postfach* 1155. D-97861 Wertheim, Alemania).
- Balón de fondo redondo de 50 mL, 24/40
- Condensador.
- Micropipeteadores de 2-20, 25-250 y 100-1000 μL (BRAND, *Postfach* 1155. D-97864 Wertheim, Alemania).
- Consumibles cromatográficos (*septa*, férrulas, *liners*, frascos de 1.5 mL para cromatografía de gases, jeringas Hamilton de 10 μL , otros).
- Gas especial (He, Linde, S.A., Bucaramanga, Colombia).

2.2.3 Equipos menores

- Plancha de calentamiento con agitación magnética (RC Velp Scientifica, Usmate, Italy).
- *Minishaker* MS2 Wilmintong, EE.UU.
- Balanza digital (PB1502S, METTLER TOLEDO, $\pm 0.01\text{g}$, Nãnicon Suiza).
- Balanza analítica (AG285 METTLER TOLEDO, $\pm 0.00001\text{ g}$, Nãnicon Suiza).
- Baño con circuito de flujo de agua, y temperatura programable (*Digital polystat temperature controller Cole Palmer*), Illinois, EE.UU.
- Controlador de temperatura *Digi-sense temperature controller-Cole Palmer*), Illinois, EE.UU.

2.3 OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

Los AE obtenidos de la especie vegetal *C. martinii* fueron extraídos por destilación con arrastre con vapor de agua, durante 1h (80 psi vapor, 700 mL/min flujo de destilado), en un destilador piloto (**Figura 9**), diseñado por el CENIVAM, con cámara de extracción de 0,4 m³.

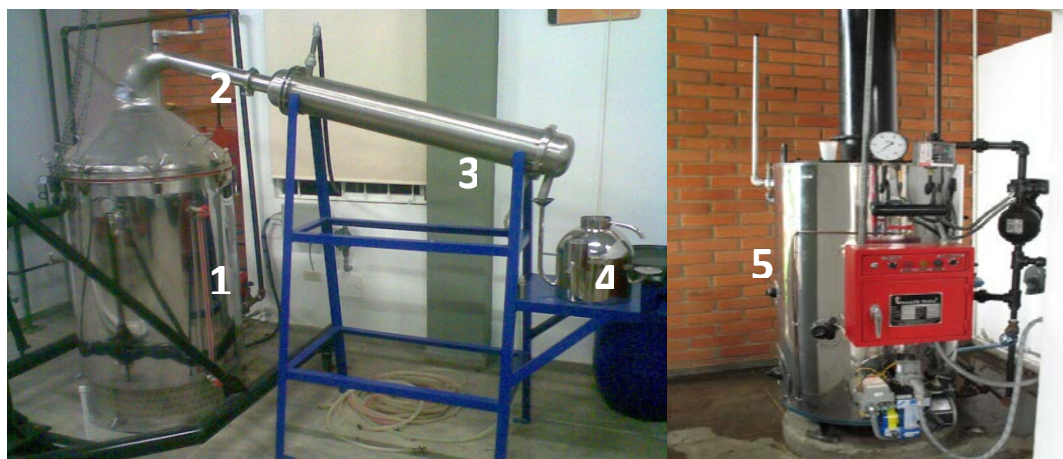


Figura 9. Destilador multimodal (hidrodestilación, arrastre con vapor). 1. Reservorio para el material vegetal, 2. Cuello de cisne, 3. Condensador, 4. Vaso Florentino. 5. Caldera para generación de vapor. Fotografía tomada por Marcela Domínguez en el CENIVAM, 2009.

Posteriormente, el AE se separó por decantación y se pesó. Finalmente, se tomaron 50 µL del AE a los cuales se le adicionaron 2 µL de *n*-tetradecano como estándar interno (*Istd*), y se llevaron a un volumen de 1 mL con diclorometano en un tubo cónico de poli(propileno). La muestra se trasvasó a un vial estándar de 1.5 mL, para su posterior análisis por GC-MS.

2.4 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS DE LOS ACEITES ESENCIALES

2.4.1 Determinación de la composición química

Para la identificación de los componentes volátiles en las muestras de AE, se empleó un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 6890 Plus* (Palo Alto, California, EE.UU.) (**Figura 10**) equipado con un detector selectivo de masas (MSD, EI, 70 eV, m/z 40-350), un inyector automático *Agilent Technologies 7863 Series*, y un sistema de datos *MS.ChemStation G1701-DA*, con las librerías de espectros *WILEY*, *NIST* y *ADAMS*. Se empleó una columna cromatográfica (DB-5MS, *J&W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.) de 60 m x 0.25 mm (D.I.) x 0.25 μm de espesor. Como gas de arrastre se utilizó helio (99.995% Linde, Bogotá, Colombia), con un flujo de 1 mL/min. La temperatura del horno del cromatógrafo fue programada así: 45°C (5 min) hasta 150°C (2 min) @ 4°C min⁻¹, seguidamente, la temperatura se aumentó hasta 250°C @ 5°C min⁻¹, donde se mantuvo por 5 min. Luego, se elevó hasta 275°C (10 min) @ 10°C min⁻¹. La relación de *split* fue de 1:30. La identificación de los compuestos se realizó con base en los criterios cromatográficos (tiempos de retención, índices de retención) y espectroscópicos (interpretación espectral por comparación con las bases de datos) [Adams, 2007].



Figura 10. Cromatógrafo de gases *Agilent 6890 Plus*, acoplado a un detector de masas (*MSD 5973 Network*) y un inyector automático *Agilent Technologies 863 Series*. Fotografía tomada por el autor en el laboratorio CROM-MASS el 02-02-2011.

Los espectros de masas fueron obtenidos por impacto de electrones con una energía promedio de 70 eV. Las temperaturas de la cámara de ionización y la línea de transferencia se mantuvieron constantes en 230 y 285°C, respectivamente. El MSD fue operado en el modo de barrido automático de radiofrecuencia (*full scan*), en un rango de masas de m/z 40-350 Daltons. Los datos fueron procesados a través de un sistema de datos *MS-ChemStation* (Versión D.02.00.275).

2.4.2 Análisis cuantitativo

Para la cuantificación de los compuestos de interés en las muestras de AE, se empleó un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 6890 Plus* (Palo Alto, California, EE.UU.), equipado con un detector de ionización en llama (FID), y un inyector automático *Agilent Technologies 7863 Series*. Se utilizó una columna cromatográfica (DB-5, J&W Scientific, Folsom, CA) de 60m x 0.25 mm (D.I.) x 0.25 μm de espesor. Como gas de arrastre se utilizó helio (99.995% Linde, Bogotá, Colombia), con un flujo de 1mL/min. La temperatura del horno del cromatógrafo se programó así: 45°C (5 min) hasta 150°C (2 min) @ 4°C min⁻¹, seguidamente, se aumentó hasta 250°C @ 5°C min⁻¹, donde se mantuvo por 5 min; luego se elevó hasta 275°C (10 min) @ 10°C min⁻¹.

La cuantificación del linalol, geraniol y acetato de geranilo en las muestras de AE, se llevó a cabo por el método de estandarización interna, usando patrones certificados (**Tabla 3**), y empleando como estándar interno (Istd) *n*-tetradecano (2 μL). Las curvas de calibración se muestran en el **Anexo 1**.

2.5 DESTILACIÓN FRACCIONADA DEL AE DE PALMARROSA

Para obtener un AE de palmarrosa de composición química reproducible o para aislar mediante la destilación fraccionada el geraniol presente en el aceite esencial, fue necesario estudiar el rango de destilación, o bien, el conjunto de destilados que se pueden obtener bajo una presión dada. De tal manera, que la primera etapa en esta parte del proyecto consistió, en inspeccionar las condiciones bajo las cuales se obtienen destilados a presiones de 4, 6, 8, 10, 12 y 14 mm Hg, así como la composición química de las fracciones obtenidas. Luego, se procedió a separar el geraniol de la fracción más rica en este componente, producto de la rectificación del AE crudo, acompañado de un estudio teórico del equilibrio líquido-vapor para el sistema geraniol y acetato de geraniol.

2.5.1 Rectificación de los AE de palmarrosa

Para rectificar las muestras de aceite esencial de palmarrosa, se empleó un equipo de fraccionamiento a escala de laboratorio (*B/R Instrument 800 – High Efficiency Micro Distillation*, BR Instrument Corporation, Easton, EE.UU.) (**Figura 11**), provisto con una columna de teflón en forma de espiral (*spinning band*) que permite obtener 30 etapas teóricas, una válvula manual (la válvula de reflujo), un condensador, una bomba de vacío y un reservorio para recoger los destilados.

Se tomaron aproximadamente 16 g de AE de palmarrosa y se transfirieron a un balón de fondo redondo de 25 mL. Luego, el balón fue asegurado a la torre y sumergido en un recipiente que contenía aceite mineral y una resistencia regulada por un controlador de temperatura. Posteriormente, se ajustó la presión del sistema y se inició el calentamiento del AE. Al descender la primera gota de la parte superior de la torre, se conectó el motor que hacía girar la columna (*spinning band*). Conforme aumentaba la temperatura, se realizaba su registro, con el propósito de reconocer las temperaturas en las que se daban

los equilibrios, es decir, aquellos períodos en los cuales la temperatura permanecía constante.

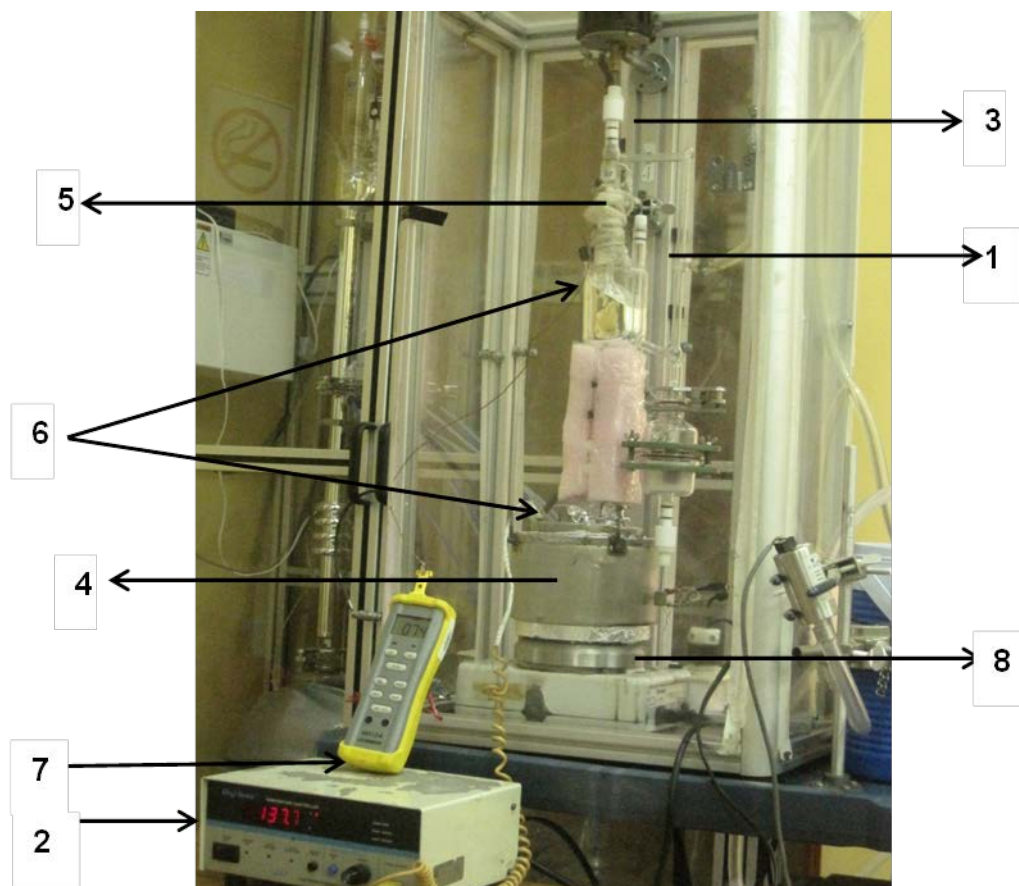


Figura 11. Equipo para destilación fraccionada a presión reducida de aceites esenciales *B/R Instruments 800 – High Efficiency Micro Distillation* (BR Instrument Corporation, Easton, EE.UU.). 1. Válvula de reflujo. 2. Controlador de temperatura. 3. Columna de eje rotatorio. 4. Reservorio (resistencia) con aceite mineral. 5. Condensador. 6. Termocuplas tipo K. 7. Medidor de temperatura. 8. Placa para agitar. Fotografía tomada por el autor en el CENIVAM el 12-01-2012.

2.5.2 Estudio del equilibrio líquido-vapor para la mezcla geraniol-acetato de geraniol

Se construyó la curva de equilibrio líquido-vapor (diagramas T-xy) para el sistema geraniol-acetato de geraniol, empleando el *Software Aspen Plus*®,

Aspen Technology, Inc, Massachusetts, EE.UU. Aunque el programa posee una amplia variedad de componentes en su librería, esta no contaba con las especies bajo estudio. Por lo tanto, fue necesario definir las, ingresando al *software* las estructuras del geraniol y acetato de geranilo, algunas propiedades físicas, y los valores de temperatura y presión de saturación (P^s) derivadas de la ecuación de Antoine (**Anexo 2**).

2.5.3 Método gráfico de McCabe-Thiele

La construcción de escalones de McCabe Thiele, se realizó utilizando el programa *Vaxa MCTH - Number of theoretical trays by McCabe - Thiele method*. Chicago, Illinois, EE.UU. El análisis se ejecutó para diseñar una torre de destilación fraccionada en modo continuo, del sistema binario geraniol-acetato de geranilo, empleándose los datos en el equilibrio obtenidos por la simulación en *Aspen plus*.

2.6 HIDRÓLISIS DEL ACETATO DE GERANILO PRESENTE EN EL AE DE PALMARROSA

2.6.1 Hidrólisis del acetato de geranilo presente en el AE de palmarrosa usando hidróxido de potasio como catalizador

El estudio de la hidrólisis del acetato de geranilo en el AE de palmarrosa se realizó a través de un diseño experimental 2^2 más estrella, con tres réplicas en el centro. Las variables, factores y la matriz de experimentos, se muestran en las **Tablas 4 y 5**.

Tabla 4. Factores y dominio experimental del diseño experimental 2^2 .

Factores	Dominio experimental				
	$-\alpha$	-1	0	1	α
sln KOH (mL) : AE (g)	1:2	3:2	7:2	11:2	13:2
Concentración base (M)	0,03	0,05	0,125	0,250	0,500

Tabla 5. Matriz de experimentos del diseño experimental 2².

N° de Experimento	X ₁	X ₂	Relación sln KOH (mL):AE (g)	[] KOH (M)
1	-	-	1,50	0,0625
2	-	+	1,50	0,250
3	+	-	5,50	0,0625
4	+	+	5,50	0,250
5	0	- α	3,50	0,0312
6	0	+ α	3,50	0,500
7	- α	0	0,50	0,125
8	+ α	0	6,50	0,125
9*	0	0	3,50	0,125
10*	0	0	3,50	0,125
11*	0	0	3,50	0,125

En cada experimento, se pesaron aproximadamente 2 g de aceite esencial, en un balón de fondo redondo de 100 mL; luego, se adicionó usando un agitador magnético, un volumen de solución acuosa de KOH dependiente de la matriz de experimentos. La mezcla se sometió a reflujo (100°C), agitándose a 750 rpm (**Figura 12**). El tiempo de reacción se estipuló de acuerdo con el análisis de la hidrólisis obtenida para 2 g de AE, empleando 13 mL de una solución acuosa de KOH 0,5 M, durante: 15, 30, 60 o 90 min.

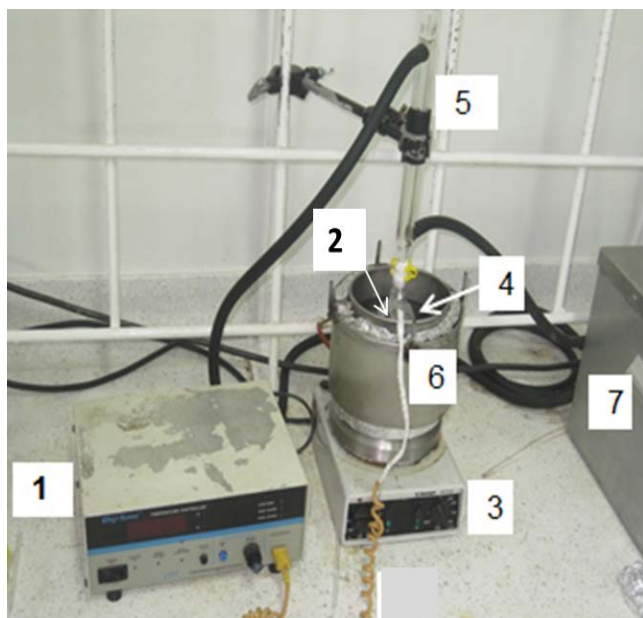


Figura 12. Montaje para el tratamiento del AE de palmarrosa con soluciones acuosas de KOH. 1. Controlador de temperatura. 2. Termocupla. 3. Plancha para agitación. 4. Balón de fondo redondo. 5. Condensador. 6. Reservorio con aceite equipado con una resistencia. 7. Baño con circuito para flujo de agua para el condensador. Fotografía tomada por el autor en el CENIVAM el 17-01-2013.

2.6.2 Hidrólisis del acetato de geranilo presente en el AE de palmarrosa usando hidróxido de calcio como catalizador

El estudio de la hidrólisis del acetato de geranilo en el AE de palmarrosa empleando $\text{Ca}(\text{OH})_2$ como catalizador, se realizó a través de un diseño experimental (cúbico) 2^3 centrado en las caras, con 4 réplicas en el centro. Las variables, factores y la matriz de experimentos, se muestran en las **Tablas 6 y 7**.

Tabla 6. Factores y dominio experimental del diseño 2^3

Factores	Dominio experimental		
	-1	0	1
% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$: AE	5	17,5	30
Tiempo de reacción (h)	2	3	4
Volumen de agua (mL)	10	17,5	25

Tabla 7. Matriz de experimentos del diseño 2³.

Experimento	Factor (dominio experimental)		
	Tiempo de reacción	% de Ca(OH) ₂	Volumen agua, mL
1	2(-)	5(-)	10(-)
2	4(+)	5(-)	10(-)
3	2(-)	30(+)	10(-)
4	4(+)	30(+)	10(-)
5	2(-)	5(-)	25(+)
6	4(+)	5(-)	25(+)
7	2(-)	30(+)	25(+)
8	4(+)	30(+)	25(+)
9	4(+)	17,5(0)	17,5(0)
10	2(-)	17,5(0)	17,5(0)
11	3(0)	30(+)	17,5(0)
12	3(0)	5(-)	17,5(0)
13	3(0)	17,5(0)	25(+)
14	3(0)	17,5(0)	10(-)
15	3(0)	17,5(0)	17,5(0)
16	3(0)	17,5(0)	17,5(0)
17	3(0)	17,5(0)	17,5(0)
18	3(0)	17,5(0)	17,5(0)

En cada experimento, se pesaron aproximadamente 2 g de aceite esencial en un balón de fondo redondo de 100 mL, al cual se le adicionaron un volumen de agua (mL) y una cantidad de Ca(OH)₂ (g) dependiente de la matriz de experimentos. La mezcla se sometió a reflujo (100°C), agitándose a 750 rpm (**Figura 12**). Al finalizar cada ensayo, la muestra se decantó y se centrifugó por 15 min.

2.7 TRANSFORMACIONES FOTOQUÍMICAS DEL CITRONELAL

Para el estudio de las transformaciones fotoquímicas del citronelal, se empleó el reactor que se muestra en la **Figura 13**; el cual consta de un cuerpo de acero con capacidad de 1 L, con una tapa en este mismo material donde se soporta una ventana de cuarzo de 5 cm de diámetro. Esta tapa posee dos salidas, a las cuales se acoplan un sistema de válvulas y un manómetro, que permiten la entrada y salida controlada de un gas.

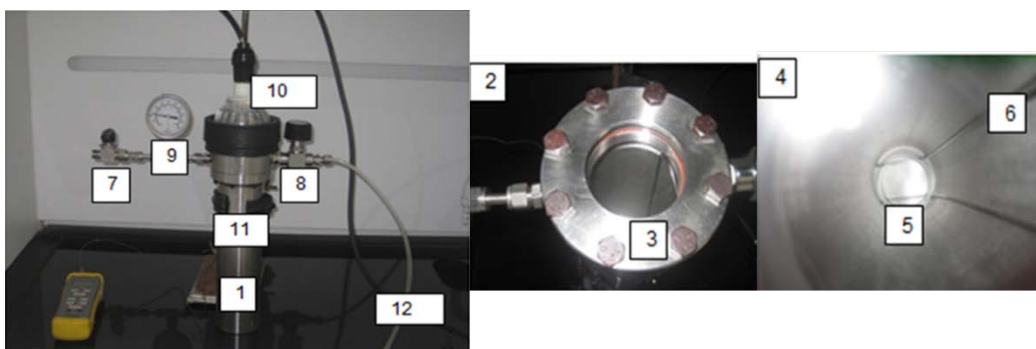


Figura 13. Montaje empleado para llevar a cabo las reacciones en presencia de la luz ultravioleta. 1. Cuerpo del reactor (cilindro de acero). 2. Vista superior de la tapa. 3. Ventana de cuarzo. 4. Vista interna del cuerpo del reactor. 5. Recipiente porta-muestra. 6. Soporte de acero. 7 y 8. Válvulas. 9. Manómetro. 10. Lámpara UV. 11. Soporte en caucho para la lámpara UV. 12. Manguera con rosca *Swagelok* para conexión al manómetro de un cilindro de H_2 . Fotografía tomada por el autor en el CENIVAM el 17-01-2012.

En los diferentes ensayos, se pesaron 40 mg de fullereno, los cuales se mezclaban con el citronelal (25 μ L), en un recipiente de vidrio. Luego, se adicionaban 10 mL de metanol y, con la ayuda del soporte de acero, se introducía el recipiente en el cilindro. En seguida, se cerraba el sistema y se purgaba 3 veces con N_2 a 24 psi, y, luego, 6 veces de igual forma con H_2 ; para dejar al final presurizado el sistema a 24 psi. Luego, se colocaba el soporte para la lámpara, y la mezcla se exponía por 17 horas a la luz UV.

Al finalizar la reacción, la mezcla se trasvasaba a un tubo de ensayo previamente al pasar por un filtro de 1 μ m. Luego, se adicionaban 2 mL del mismo solvente al recipiente de vidrio para hacer el lavado. Para preparar la muestra, el filtrado se concentraba con N₂ y se trasvasaba a un tubo cónico de 1 mL, en el cual se adicionaban 2 μ L de n-tetradecano y se completaba el aforo a 1mL.

3 RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 ANÁLISIS DEL AE DE PALMARROSA

Los AE obtenidos por arrastre con vapor de la especie *C. martinii* tuvieron un rendimiento de extracción en base fresca de $0,4 \pm 0,2\%$. El AE era de color traslúcido, ligeramente amarillo y olor a cítrico. Su compuesto mayoritario fue el geraniol, seguido de su éster, el acetato de geranilo, en una proporción de 83,9 y 9,2%, respectivamente. En la **Figura 14**, puede apreciarse el perfil cromatográfico obtenido por GC-FID de los metabolitos secundarios de hojas y tallos de *C. martinii*. En la **tabla 8**, se encuentran relacionados los constituyentes mayoritarios de este AE, identificados por GC-MS, con sus respectivos índices de retención y cantidades relativas, constituyéndose estos en el 98,2% de la corriente iónica total (TIC).

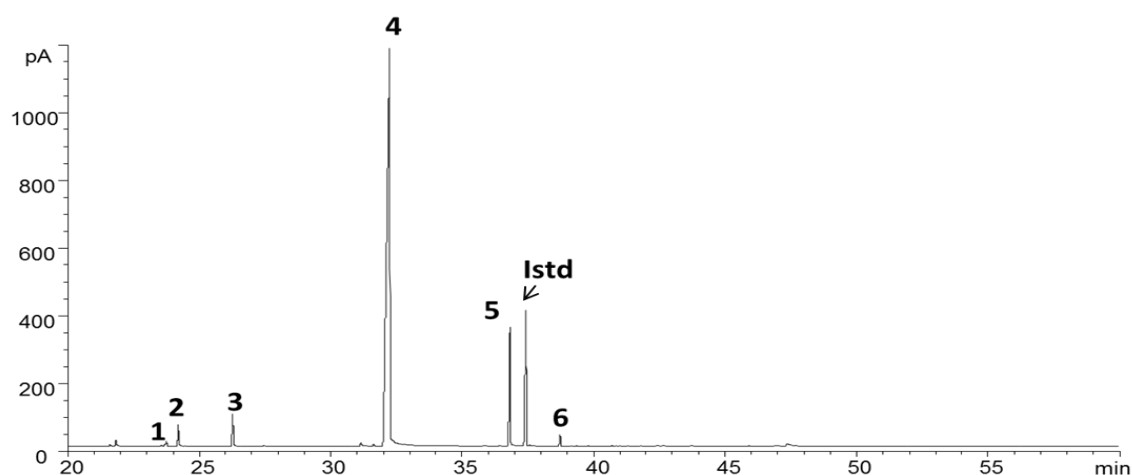


Figura 14. Perfil cromatográfico típico del AE de palmarrosa obtenido por GC-FID en la columna cromatográfica DB-5 (60m). La identificación de compuestos mayoritarios aparece en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Compuestos aislados por arrastre con vapor de hojas y tallos de *C. martinii*.

N° pico (Figura 14)	Compuesto	LRI, Columna DB-5		Cantidad relativa, %
		Experimental	Literatura [Adams,2007]	
1	<i>cis</i> - β -Ocimeno	1038	1032	0,5
2	<i>trans</i> - β -Ocimeno	1048	1044	1,5
3	Linalol	1102	1098	2,3
4	Geraniol	1264	1253	83,9
5	Acetato de geranilo	1380	1381	9,2
6	<i>trans</i> - β -Cariofileno	1432	1419	0,8

Empleando la metodología descrita en la **Sección 2.4.2**, se cuantificaron por GC-FID los principales componentes, a saber, geraniol, linalol y acetato de geranilo de dos AE de palmarrosa obtenidos de diferentes cosechas en el CENIVAM (**Tabla 9**). EL valor obtenido para el geraniol en el AE aislado está en el rango de los que son producidos en la India, a saber, con un contenido de esta sustancia entre el 75-85% [Rajeswara, 2005], lo cual es un indicio de las condiciones agroecológicas favorables para la propagación de esta especie en Santander.

Tabla 9. Contenido de linalol, geraniol y acetato de geranilo, de los dos AE obtenidos en cosechas de palmarrosa.

AE palmarrosa	Geraniol, %	Acetato de geranilo, %	Linalol, %
Cosecha 1	81 $\pm$ 2,3	10,6 $\pm$ 0,5	1,5 $\pm$ 0,1
Cosecha 2	83,5 $\pm$ 0,1	6,54 $\pm$ 0,01	1,4 $\pm$ 0,1

3.2 DESTILACIÓN FRACCIONADA DEL AE DE PALMARROSA

3.2.1 Rangos de destilación del AE de palmarrosa

A continuación, se muestran los resultados de rectificación del AE de palmarrosa en el rango de presiones de 4 a 14 mm Hg. En la **tabla 10**, se encuentran consolidados los valores de las temperaturas, a las cuales se obtuvieron las distintas fracciones (F) y la masa recuperada de las mismas. En la **Tabla 11**, aparecen la composición y la proporción de cada uno de los analitos, en términos de su cantidad relativa en cada una de las fracciones aisladas a las distintas presiones.

El fraccionamiento del AE de palmarrosa a presión reducida permitió obtener hasta 5 fracciones, incluyéndose el fondo, con una pérdida de masa en el proceso entre el 3 y el 8%. Las fracciones mayoritarias, a saber, F3 (8,10,12 y 14 mm Hg) y F4 (4,6 mm Hg) variaron entre el 42 y 84% de la masa del AE alimentado. Estos destilados se caracterizaron porque sus principales componentes fueron: el geraniol, en concentraciones que estaban en el rango de 86-88% y el acetato de geraniol entre el 8 y 9%; además, se obtuvieron a las temperaturas predichas por la ecuación de Antoine para el geraniol de acuerdo con las presiones empleadas, excepto para la fracción F4 a 4 mm Hg, donde alcanzó la temperatura de ebullición del acetato de geraniol. Estos valores pueden ser constatados en el **Anexo 2**, en donde se listan las temperaturas para la presión de saturación de estos dos compuestos de acuerdo con el desarrollo de la ecuación de Antoine. El análisis de composición de los fondos (FF) de destilación, reveló que aún había un contenido importante de geraniol, a saber >50% en estos residuos, cuyos porcentajes en peso estuvieron entre el 5 y 8% de la masa de alimentación.

Las fracciones más volátiles respecto a la temperatura de ebullición del geraniol sirvieron para concentrar o separar los compuestos terpénicos, *trans*- β -ocimeno, *cis*- β -ocimeno y linalol. Para tomar como ejemplo, el linalol

constituyó el 71% de la segunda fracción (F2) a 10 mm Hg. A pesar de que la cantidad de masa retirada en las fracciones más volátiles fue menor del 3% de la masa de alimento (AE de partida), se lograron tiempos de equilibrio de 15 min.

Cabe señalar, antes de continuar, que de acuerdo con estos resultados, fue posible simplificar la rectificación del AE en dos conjuntos de destilados. Los obtenidos antes y después de alcanzar la temperatura de ebullición del geraniol y/o acetato de geranilo a la presión del sistema. Como en casi todas las fracciones el geraniol estaba presente, se infería la formación de azeótropos de menor punto de ebullición, y el dado por el par geraniol-acetato de geranilo; lo cual no era extraño para un sistema multicomponente como lo es un AE.

Tabla 10. Fracciones obtenidas de la rectificación del AE de palmarrosa a diferentes presiones reducidas.

	Ensayo	Presión, mm Hg													
		4					6					8			
		F1	F2	F3	F4	FF	F1	F2	F3	F4	FF	F1	F2	F3	FF
Fracción, g	1	0,13	0,31	6,41	6,57	0,8	0,34	0,39	0,14	11,5	2,18	0,34	0,96	8,96	3,26
	2	0,08	0,22	3,4	9,9	1,2	0,05	0,16	0,22	12,73	2,36	0,43	1,26	10,41	2,81
Fracción, %	1	0,8	2,0	41,4	42,4	5,2	2,2	2,2	0,9	76,1	14,4	2,2	6,3	58,7	21,4
	2	0,5	1,4	21,1	61,5	7,5	0,3	0,3	1,3	75,3	14	2,8	8,2	67,7	18,3
T1, °C	1	112 ±	112 ±	115 ±	116,5	-	113,5	114	115,3	115,7	-	119,5	120	120,5	-
	2	1,5	2,8	2,3	± 0,71	-	± 0,71	-	± 0,58	± 0,58	-	± 0,71	-	± 0,71	-
T2, °C	1	53 ±	63 ±	99 ±	105 ±	-	56 ±	65 ±	87 ±	100 ±	-	64 ±	85 ±	106 ±	-
	2	2,1	3,5	1,0	1,4	-	6,1	2,8	4,9	1,5	-	3,9	2,1	1,3	-
AE inicial, g	1														
	2	15,8 ± 0,43					16 ± 1,3					15,32 ± 0,085			
Pérdida AE, g	1														
	2	1,29 ± 0,021					1 ± 0,58					1,1 ± 0,90			

Tabla 10, continuación.

	Ensayo	Presión, (mmHg)											
		10				12				14			
		F1	F2	F3	FF	F1	F2	F3	FF	F1	F2	F3	FF
Fracción, g	1	0,06	0,23	7,37	7,42	0,23	0,51	12,56	1,25	0,22	0,37	12,55	2,14
	2	0,16	0,41	12,57	1,53	0,14	0,43	12,64	1,86	0,11	0,45	11,89	2,78
Fracción, %	1	0,4	1,4	46,1	46,5	1,5	3,4	83,6	8,3	1,4	2,3	77,3	13,2
	2	1,1	2,7	83,3	10,1	0,9	2,8	81,7	12	0,7	2,9	75,4	17,6
T1, °C	1	120,5 ± 0,71	123	124 ± 1,5	-	130,5 ± 0,71	129 ± 1,4	129,5 ± 0,71	-	131,5 ± 0,71	132,7 ± 0,58	134	-
	2												
T2, °C	1	55,5 ± 0,71	81 ± 3,9	109,3 ± 0,96	-	70 ± 2,1	87 ± 4,2	114,8 ± 0,96	-	76 ± 2,8	94 ± 3,5	116,3 ± 0,96	-
	2												
AE inicial, g	1												
	2	15,5 ± 0,62				15,3 ± 0,31				16,0 ± 0,34			
Pérdida AE, g	1												
	2	0,7 ± 0,33				0,44 ± 0,057				0,7 ± 0,30			

Tabla 11. Composición química de las fracciones obtenidas por destilación fraccionada a presión reducida del AE de palmarrosa.

Compuesto	LRI	Cantidad relativa (%)																												
		AE	Presión, mm Hg																											
			4					6					8				10				12				14					
			F1	F2	F3	F4	FF	F1	F2	F3	F4	FF	F1	F2	F3	FF	F1	F2	F3	FF	F1	F2	F3	FF	F1	F2	F3	FF		
6-metil,5-hepten - 2-ona	984	0,2	4,1	0,9	-	-	-	1,6	2,2	0,7	-	-	0,9	-	-	-	8,4	1,2	-	-	1,6	1,9	-	-	0,8	0,8	-	-		
β-Mirceno	989	0,4	5,6	1,2	0,3	0,2	-	1,8	2,2	1,0	0,2	0,3	1,0	0,2	0,2	0,2	8,9	1,5	0,2	0,2	2,3	1,9	0,2	0,1	1,8	1,5	0,2	0,2		
Limoneno	1033	0,1	1,0	0,2	-	-	-	0,6	0,8	0,3	-	-	0,2	-	-	-	3,2	0,4	-	-	0,3	0,4	-	-	0,2	0,2	0,1	-		
cis-β-Ocimeno	1036	0,5	9,4	1,8	-	-	-	3,7	1,4	1,9	-	-	1,7	0,1	0,1	-	5,8	2,7	0,1	-	0,9	1,3	0,1	-	0,5	0,6	-	-		
trans-β-Ocimeno	1047	1,6	32	5,9	0,3	0,1	-	11	13	5,8	0,2	0,1	5,5	0,4	0,2	-	43	10	0,4	-	6,7	5,9	0,2	-	3,3	3,6	0,2	-		
Linalol	1100	2,3	43	52	1,6	-	-	24	14	23	1,5	-	37	4,2	0,3	-	0,7	71	1,8	-	65	39	0,5	-	34	38	0,9	-		
Nerol	1228	0,3	0,5	0,6	0,5	-	-	0,3	0,2	0,6	0,3	-	0,6	0,4	0,3	-	0,2	0,1	0,5	-	0,2	0,7	0,3	-	0,2	0,4	0,4	-		
Neral	1240	0,2	0,4	4,5	0,5	-	0,4	0,7	0,3	1,2	0,1	0,1	2,8	0,4	0,1	-	-	0,3	0,3	-	1,0	1,8	0,1	0,3	0,2	1,5	0,1	0,3		
Geraniol	1253	83	-	18	86	92	52	50	57	56	88	77	39	83	88	87	15	9,0	86	90	13	33	88	56	51	44	88	62		
Geranial	1269	0,2	-	3,9	-	-	0,8	0,6	0,5	0,8	0,1	0,2	1,8	0,4	0,1	-	-	0,3	0,2	-	0,9	2,1	0,2	0,9	0,9	1,2	0,2	0,6		
Acetato de geranilo	1378	9,6	-	1,2	9,7	7,8	3,2	3,8	4,9	4,8	8,8	8,1	3,1	8,4	9,5	10	1,0	0,6	8,5	9,0	0,9	2,8	9,4	0,1	5,3	4,0	9,0	12		
trans-β-Cariofileno	1434	0,8	-	6,0	1,5	-	0,4	1,4	0,7	3,1	0,9	0,1	4,8	1,7	0,8	0,2	0,2	0,7	1,5	0,1	1,7	3,4	0,8	0,1	0,4	1,5	0,9	-		
Butanoato de geranilo	1555	0,04	-	-	-	-	2,1	-	-	-	-	0,6	-	-	-	0,3	-	-	-	0,04	-	0,1	-	1,1	-	-	-	0,8		
Óxido de cariofileno	1598	0,1	-	-	-	-	3,6	-	-	-	-	1,0	-	-	-	0,3	-	-	-	0,05	-	-	-	0,1	-	-	-	0,1		

3.2.2 Rectificación del AE de palmarrosa para obtener una fracción de composición química reproducible.

Con base en los resultados obtenidos en los ensayos preliminares, se optó por someter a rectificación el AE de palmarrosa hasta el punto de separar los componentes más volátiles, que el geraniol, y obtener un producto de composición química reproducible; enriquecido en geraniol y acetato de geraniol. Se tomaron como presiones de trabajo 4, 8 y 12 mm Hg y se cuantificaron los componentes mayoritarios, geraniol, acetato de geraniol y linalol por estandarización interna, bajo el procedimiento descrito en la **Sección 2.4.2**. Se empleó en esta parte de la investigación el AE denominado como “cosecha” 1, cuya composición se da en la **Tabla 9**.

En el **Anexo 3**, se presentan los datos de temperatura de los diferentes destilados, así como su porcentaje en términos del alimento. La pérdida de masa durante la rectificación estuvo en el rango de 5-6,4%, menor con respecto a los ensayos en los que se estudió el perfil de destilación. Las fracciones, ricas en geraniol y acetato de geraniol, fueron aquellas denominadas fracciones de fondo (FF), que además constituían en porcentaje en masa, entre el 88-91% del AE alimentado. Las fracciones F1, F2 y F3 contenían los compuestos más volátiles que el geraniol, entre éstos, figuraban el *cis*- β -ocimeno, *trans*- β -ocimeno y linalol. Para el caso en que la columna se operó a 12 mm Hg fue posible obtener una fracción más, F4, lo que permitió concentrar ca. de un 2% más el geraniol en la fracción de fondo respecto a las fracciones obtenidas operando la torre a 4 y 8 mm Hg. Este resultado es consecuencia del incremento, aunque mínimo, entre las diferencias que existen entre los puntos de ebullición de los distintos compuestos a medida que la presión aumenta.

En la **Figura 15**, se muestran las cantidades porcentuales del geraniol, acetato de geraniol y linalol en cada una de las réplicas realizadas durante el fraccionamiento del AE de palmarrosa a las presiones de 4, 8 y 12 mm Hg. En las fracciones F1, F2, F3 y F4, la composición varió de forma significativa, no

siempre reproducible en los distintos ensayos, mientras que la reproducibilidad de los fondos sí se logró.

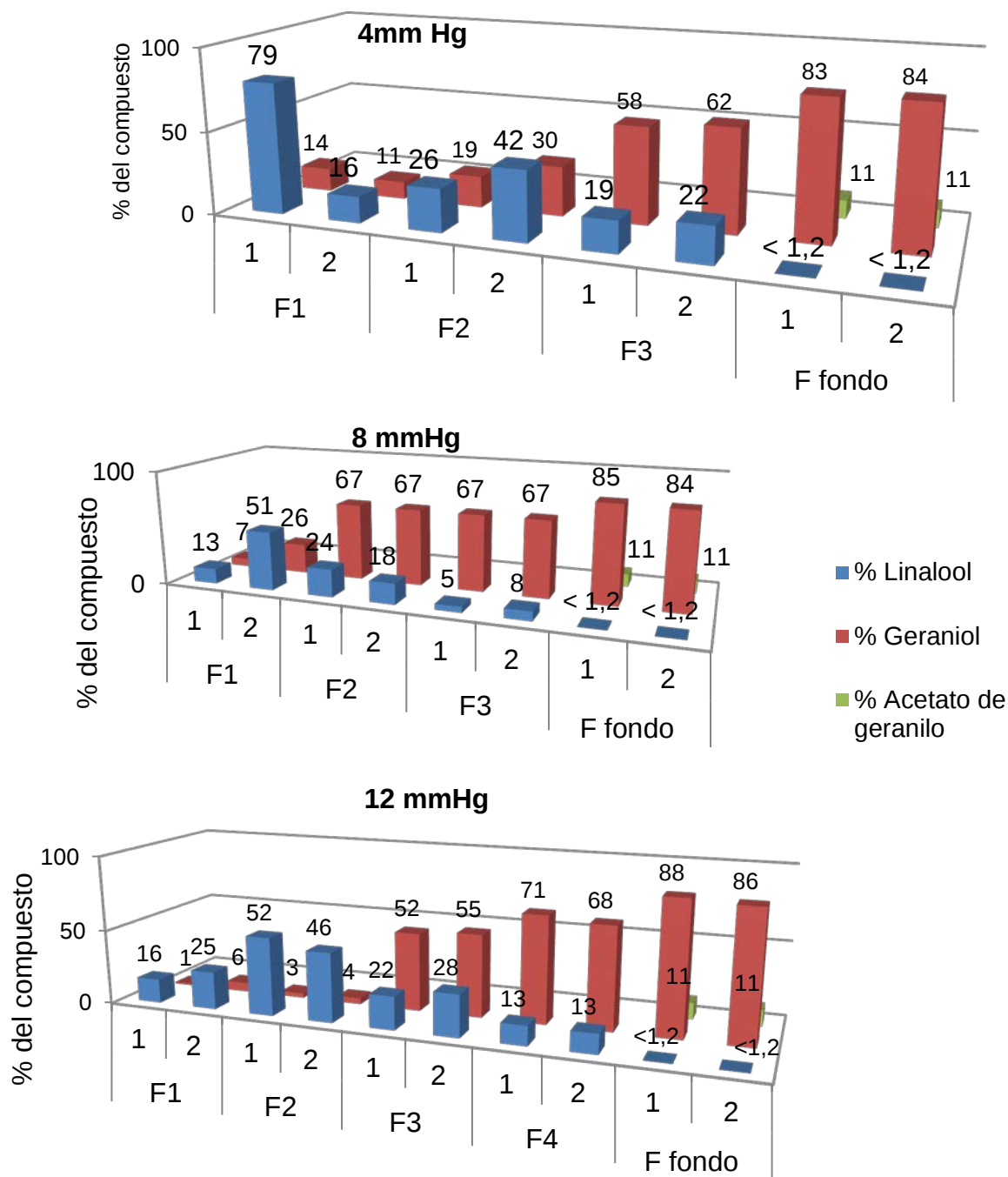


Figura 15. Composición porcentual de linalol, geraniol y acetato de geraniol en las fracciones obtenidas por rectificación del AE de palmarrosa a 4, 8 y 12 mm Hg.

En la **Figura 16**, se pueden observar los perfiles cromatográficos de las fracciones obtenidas a 12 mm Hg. Como se mencionó anteriormente, se disminuyen los componentes más volátiles que el geraniol, para dar paso a un fondo rico en la mezcla geraniol-acetato de geranilo. En los **Anexo 4** y **5**, se muestran los perfiles cromatográficos obtenidos para los demás ensayos.

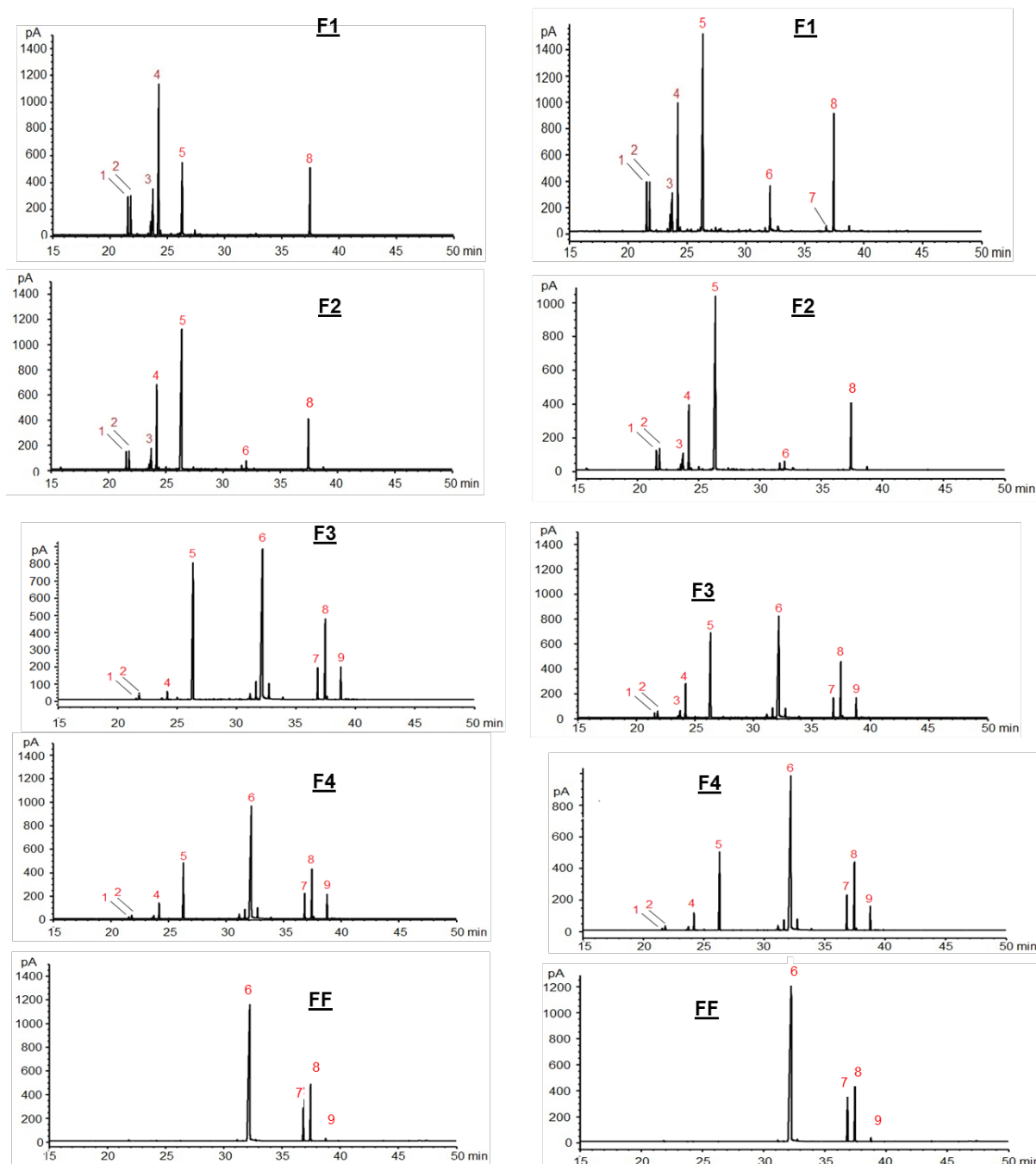


Figura 16. Perfiles cromatográficos (GC-FID, columna DB-5) de las fracciones obtenidas del AE de palmarrosa a 12 mm Hg. 1. 6-Metil-5-hepten-2-ona; 2. β -

Mirceno; 3. *cis*- β -Ocimeno; 4. *trans*- β -Ocimeno; 5. Linalol; 6. Geraniol; 7. Acetato de geranilo; 8. Istd; 9. *trans*- β -Cariofileno.

Para ver qué tan reproducible fue la operación, se realizó la rectificación del AE de palmarrosa de las dos cosechas, en días diferentes, realizados a 12 mm Hg. En la **Tabla 12**, se muestra la composición química de las fracciones de fondo obtenidas; se observa que la operación, tal y como se planteó en esta investigación, fue apropiada para obtener un AE de composición química reproducible; se logró el enriquecimiento del geraniol en cerca de un 6% más respecto al AE crudo.

Tabla 12. Cuantificación de las fracciones de fondo del AE de palmarrosa obtenidas a 12 mm Hg.

AE palmarrosa	Geraniol, %	Acetato de geranilo, %	Linalol, %
Cosecha 2	87,2 $\pm$ 0,7	6,9 $\pm$ 0,1	< 1,2
Cosecha 1	86,1 $\pm$ 0,3	10,4 $\pm$ 0,1	< 1,2

Uno de los objetivos en esta investigación fue el aislamiento del geraniol. Sin embargo, y de acuerdo con los ensayos de rectificación, se observó la formación de un azeótropo entre éste y su acetato. A continuación, se realizó un estudio teórico del equilibrio liquido-vapor de esta mezcla de compuestos, alcohol y su acetato.

3.3 AISLAMIENTO DEL GERANIOL

El punto de partida en esta parte de la investigación fue considerar la fracción del fondo, producto de la rectificación del AE crudo de palmarrosa, como un sistema de dos componentes constituido por geraniol y acetato de geranilo. En una investigación previa realizada en el CENIVAM [Conde, 2008], dicha aproximación permitió encontrar las condiciones necesarias para aislar la carvona en el AE desterpenado de *Lippia alba*. El primer análisis, en este

estudio, se realizó a partir de los datos de la presión de saturación en función de la temperatura obtenidos de la ecuación de Antoine para estos dos componentes (**Figura 17**).

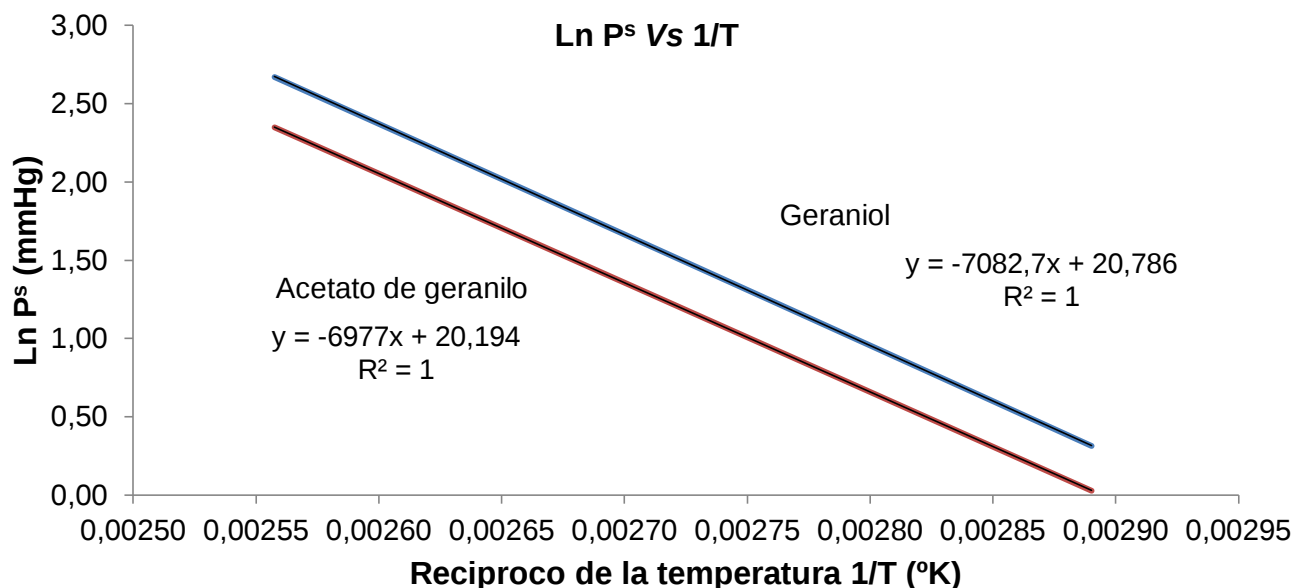
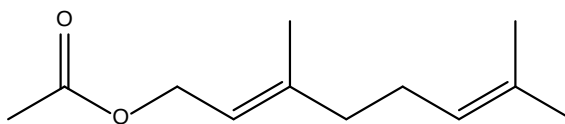
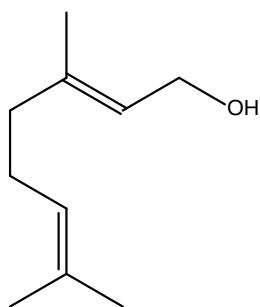


Figura 17. Logaritmo natural de la P^s (mm Hg) Vs el recíproco de la temperatura $1/T$ ($^{\circ}\text{K}$), del geraniol y acetato de geraniol, en el rango de 2-14 mm Hg.

El paralelismo de las dos rectas (**Figura 17**) indica que la relación de las presiones de vapor no cambia con la temperatura. Esto significa, que la facilidad o dificultad de la separación del geraniol y acetato de geraniol, no es función de la presión de operación de la columna. Es importante resaltar que este tipo de análisis considera cada componente por separado, y no como una mezcla; en la que la interacción molecular puede provocar otro resultado. Por lo tanto, se simuló el equilibrio líquido-vapor de este sistema binario, usando el modelo de predicción UNIFAC-Dortmund (DMD), el cual se basa en el concepto de contribución de grupos, dividiendo las moléculas por grupos funcionales para estimar la interacción entre éstas. Para realizar este estudio, se empleó el programa *Aspen Plus*®, distribuyendo los grupos funcionales de las moléculas en juego, tal como se muestran en la **Figura 18**.



Geraniol	
Grupo	Ocurrencia
CH ₃	3
CH=C	2
CH ₂	3
OH (primario)	1

Acetato de geranilo	
Grupo	Ocurrencia
CH ₃	3
CH=C	2
CH ₂	3
CH ₃ COO (éster)	1

Figura 18. Distribución de los grupos funcionales de las moléculas, geraniol y acetato de geranilo.

En la **Figura 19**, se incluyen los diagramas “T-xy” simulados a 2 y 12 mm Hg, bajo el método UNIFAC-DMD, usando el programa *Aspen Plus*®. En el diagrama T-xy, se representa la temperatura de equilibrio frente a la fracción másica del componente más volátil en cada una de las fases. La curva superior indica la temperatura a la que comienza a condensar el vapor (temperatura de rocío). La curva inferior, es decir, la curva del líquido saturado, indica la temperatura a la que entra en ebullición el líquido para cada composición, temperatura de burbuja. Para lograr la separación de este sistema binario se requiere que exista una diferencia apreciable entre las composiciones en la fase líquida y de vapor. Desde el punto de vista gráfico, puede interpretarse como la separación de las dos curvas antes mencionadas.

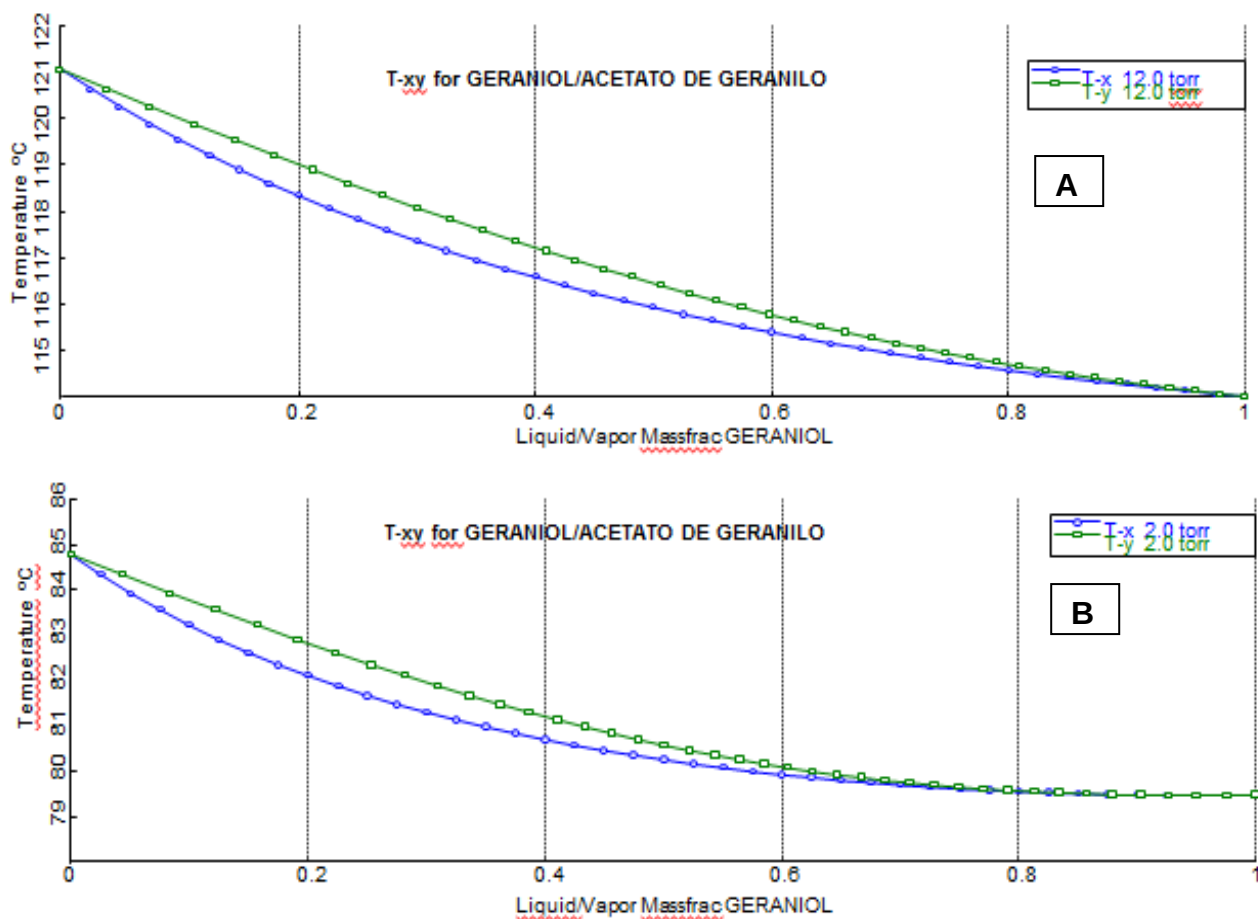


Figura 19. Diagramas T-xy de la mezcla geraniol-acetato de geraniol a: A. 12 mm Hg; y B. 2 mm Hg. Se usó el software *Aspen Plus*.

Las tablas de datos de composición (fracción másica) del geraniol y acetato de geraniol en la fase vapor y líquido se encuentran en el **Anexo 6**. Los resultados sugieren que en mezclas binarias con un contenido de geraniol $\geq 73\%$ no es posible aislarlo a 2 mm Hg. Esto mismo se predice a 12 mm Hg, cuando la mezcla contiene una cantidad de geraniol $\geq 87,5\%$.

3.3.1 Determinación del número de etapas ideales por el método de McCabe-Thiele

Con los datos de la composición en el equilibrio L-V de los componentes en la mezcla geraniol-acetato de geranilo, se estimaron mediante el método gráfico de McCabe Thiele el número de etapas teóricas y la relación de reflujo necesarios para aislar el componente de interés (geraniol), a una presión de 12 mm Hg.

La representación gráfica se realizó empleando el *software Vaxa MCTH*. El análisis inició considerando una destilación en continuo, en la cual una mezcla, cuyo contenido de geraniol era del 86%, se esperaba enriquecer en este componente hasta un 98% (composición) en el destilado. Se fijó el parámetro q de alimentación igual a 1, y, de este modo, se especificó que la alimentación sea en el punto de burbuja. El resultado mostró que se requiere una columna con 112 platos operando a una relación de reflujo de 4,462 (**Anexo 6**). Como se mencionó en la **Sección 2.5.1** la torre con la cual se realiza el fraccionamiento del AE de palmarrosa cuenta con 30 platos. De modo que, se realizó un nuevo análisis, esta vez forzando la simulación a considerar un número de platos igual a 30. El resultado fue un aumento marcado en la relación de reflujo (99,95), lo cual indica la necesidad de construir una torre más ancha y con un paso más restringido del destilado.

Como no es posible alterar físicamente la columna de destilación, bien sea para generar más de 100 platos o para ampliar su diámetro, se optó con base en el último análisis, realizar nuevos experimentos bajo “la misma” metodología (**Sección 2.5.1**), solo que, esta vez, usando las fracciones de fondo enriquecidas de geraniol (**Sección 3.2.2**), reduciendo en un 56% la cantidad de masa de la alimentación y controlando el paso del destilado de tal manera que este goteo fuese lo más lento posible. Vale la pena mencionar que el tiempo de recolección del destilado en estos experimentos fue de 6 horas. Los resultados de estos ensayos se muestran en la **Tabla 13**. Aunque hubo un incremento en la proporción del geraniol, éste no se logró aislar. De modo que, el aumento de este componente en las fracciones con mayor porcentaje en

masa durante las rectificaciones, que se realizaron al AE de palmarrosa, se debe a la separación de los componentes más volátiles que el geraniol y a la separación del par geraniol-acetato de geraniol del resto de componentes de mayor temperatura de ebullición.

Tabla 13. Rectificación de la fracción fondo a 12 mm Hg.

Presión (12 mm Hg)				
Ensayo	Fracción	Masa de la fracción, %	Geraniol, %	Acetato de geraniol, %
1	F1	85,6	89,7	10,1
	FF	6,7	63,6	9,3
2	F1	72,2	89,9	9,9
	FF	24,3	77,2	10,5
3	F1	76,9	89,4	10,5
	FF	21	74,9	9,6

Rectificación de las fracciones de fondo FF con un contenido de geraniol del 86 %. Temperatura en la columna 114 ± 3 °C.

3.4 HIDRÓLISIS BÁSICA DEL ACETATO DE GERANILO PRESENTE EN EL AE DE PALMARROSA EMPLEANDO SOLUCIONES ACUOSAS DE HIDRÓXIDO DE POTASIO

En la **Figura 20**, se observa la disminución en la concentración del acetato de geraniol presente en el AE de palmarrosa, como consecuencia de la hidrólisis que sufre este compuesto cuando el AE se mezcla con una solución alcalina (0,5 M de KOH), usando la técnica de reflujo. La concentración más baja se alcanzó cuando transcurrieron 90 min de reacción, razón por la cual, se fijó este tiempo para evaluar las variables planteadas en el diseño factorial propuesto en la **Sección 2.6**.

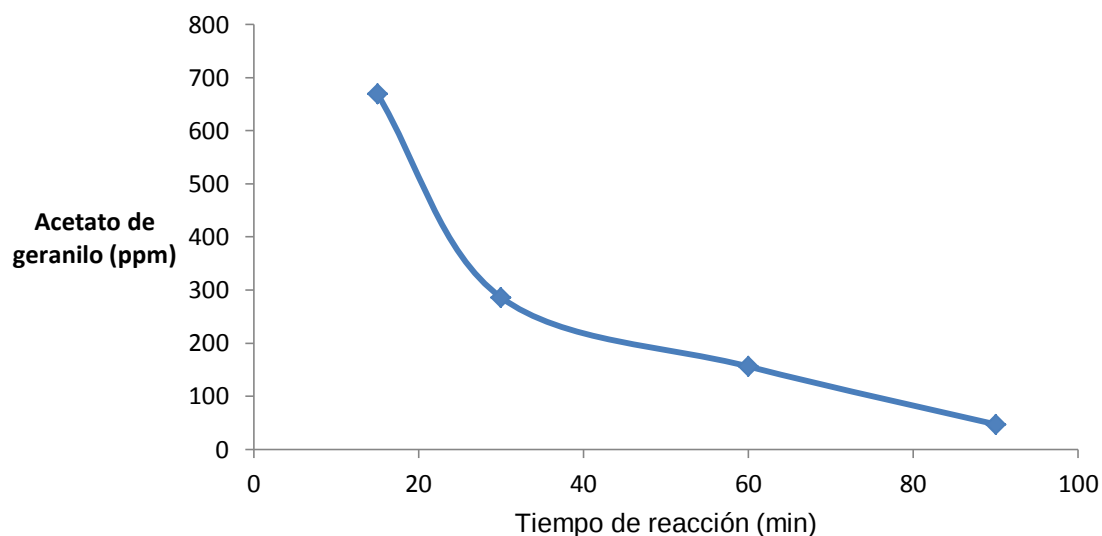


Figura 20. Variación de la concentración del acetato de geranilo en función del tiempo de reacción.

3.4.1 Análisis estadístico de los resultados del diseño experimental 2²

En la **Tabla 14**, se muestran los resultados obtenidos de cada uno de los experimentos planteados en el diseño de la **Sección 2.6**. La cuantificación de las muestras se realizó con base en la adición de un estándar interno.

Tabla 14. Respuestas medidas de acuerdo con la matriz de experimentos del diseño experimental 2² (**Sección 2.6**).

N° de Experimento	Acetato de geranilo (g/mL AE)
1	0,051
2	0,035
3	0,031
4	0,009
5	0,038
6	0,006
7	0,044
8	0,026
9	0,028
10	0,031
11	0,029

El análisis de varianza ANOVA (**Tabla 15**) de los resultados, indica que solo las variables bajo estudio (volumen de la base: masa del AE y la concentración de la base), y no su interacción, fueron estadísticamente significativas, ya que para la interacción entre las variables, el valor F fue menor que el valor umbral (18,5 para una probabilidad $p = 0,05$) para 1 y 2 grados de libertad.

Tabla 15. Anova del diseño experimental 2^2 .

Fuente de variación	Sumas de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F _o	Efecto
ln KOH (mL) : AE (g)	0,1730	1	0,1730	205,8	SI
Concentración ln KOH (M)	0,2742	1	0,2742	326,3	SI
Interacción	0,0060	1	0,0060	7,2	NO
Error	0,0017	2	0,0008		
Total	0,4549	5			

En la **Tabla 16**, se muestran los modelos de regresión lineal múltiple obtenidos, usando el *software R Commander*, junto con sus valores de R^2 ajustado, LOF (*Lack of Fit*, falta de ajuste) y RMSEC (*Root Mean Square of Error Calibration*, raíz cuadrada media del error de calibración). De éstos, se escogió para validar el mejor modelo, aquel con mayor R^2 y valores más bajos de LOF y RMSEC. No obstante, cabe resaltar, que cualquiera de las otras ecuaciones modela bien la relación entre las variables. Los coeficientes de la ecuación 4 son: $\beta_0 = 1,1008$, $\beta_1 = 0,3415$, $\beta_2 = -1,2028$, $\beta_3 = -3,4325$, $\beta_4 = 0,4569$, $\beta_5 = 2,6773$. La construcción de este modelo permite determinar la disminución de la concentración de Acetato de geranilo en función de las variables de reacción, con lo cual se podrá controlar en adelante (en el rango de las variables independientes establecidas) la composición de este componente en el AE. Aunque los ensayos se han realizado a escala de laboratorio, brindan un camino para explorar esta reacción empleando cantidades mayores de AE.

Tabla 16. Ecuaciones obtenidas usando el *software R commander* con base en los resultados del diseño experimental 2².

Nº	Ecuación	R	R ²	LOF	RMSEC
1	$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2$	0,91	0,89	0,08	0,10
2	$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_1^2 + \beta_4 X_2^2$	0,95	0,91	0,05	0,090
3	$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_1^2 + \beta_4 X_2^2 + \beta_5 X_1^3 + \beta_6 X_2^3$	0,98	0,96	0,01	0,063
4	$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_1^2 + \beta_4 X_2^2 + \beta_5 X_1^3$	0,98	0,96	0,01	0,056
5	$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_1^2 + \beta_4 X_2^2 + \beta_5 X_2^3$	0,95	0,89	0,05	0,098

β_0 = intercepto; X_1 = Volumen de la base (mL) : AE (g); X_2 = Concentración de la Base (M); Y=g de A. de geranilo/mL de AE.

La validación del modelo se realizó a través de la recolección de nuevos datos. En la **Tabla 17** se relacionan los valores elegidos de las variables regresoras y los observables experimentales, así como los valores predichos según el modelo para cada experimento. El error en la validación no superó el 10%. Además, el análisis de los residuales muestra que el error de predicción promedio al cuadrado a partir de los nuevos datos fue de $5,5 \times 10^{-7}$, y es menor al cuadrado medio de los residuales obtenidos con el modelo ajustado, que fue de $3,5 \times 10^{-6}$, lo cual indica la eficiencia del modelo en su predicción.

Tabla 17. Datos de validación del modelo para la hidrólisis con soluciones de KOH.

X_1 mL de base : AE g	X_2 Concentración base M	Respuesta experimental, g acetato/mL AE	Respuesta calculada, g acetato/mL AE	Error, %
2,5	0,3	0,02328	0,02423	4
2,5	0,3	0,02285	0,02423	6
5,3	0,3	0,00568	0,00555	2
5,3	0,3	0,00589	0,00555	6
3,5	0,45	0,00782	0,00755	4
3,5	0,45	0,00809	0,00755	7

En la **Figura 21**, se muestran además las concentraciones de A de geranilo (de todos los ensayos) obtenidas experimentalmente Vs las cantidades predichas con la ecuación del modelo. En esta figura, se puede apreciar como el modelo planteado se ajustó bien a los valores experimentales; se observa el resultado satisfactorio para valor estadístico R^2 0,98.

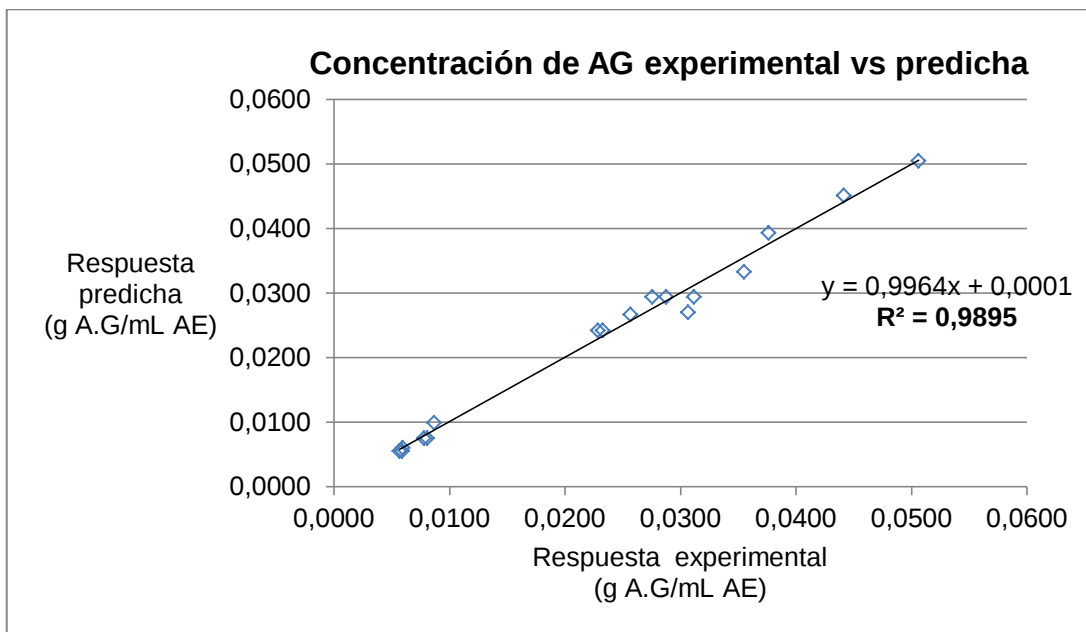


Figura 21. Concentraciones del Acetato de geranilo obtenidas experimentalmente Vs los valores predichos a partir de la ecuación del modelo.

En la **Figura 22**, se muestran de modo comparativo, los perfiles cromatográficos del AE de palmarrosa y del aceite sometido a las condiciones de reacción del experimento 6. Al final, el contenido de geraniol en el AE alcanzó un 91%.

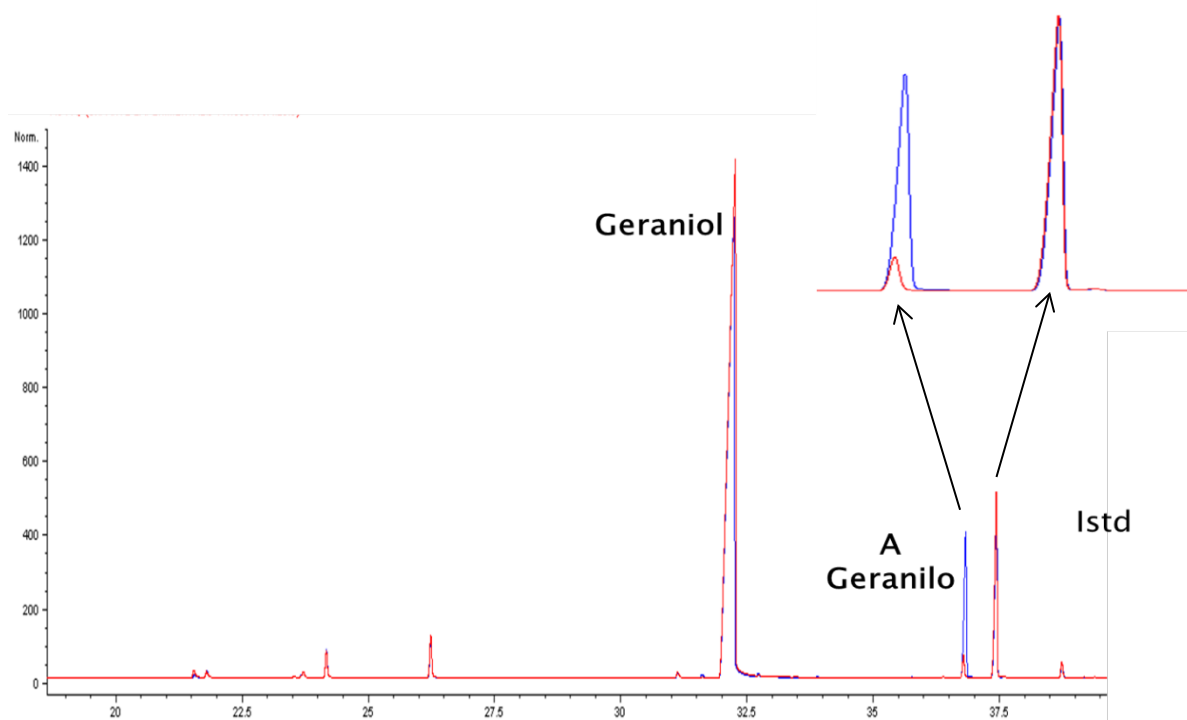


Figura 22 Perfiles cromatográficos GC-FID superpuestos del AE de palmarrosa crudo (en azul), y de la mezcla (en rojo) después de reaccionar bajo las siguientes condiciones: tiempo (90 min), concentración del KOH (0,5 M), relación mL de la base por g de AE (3,5).

3.5 HIDRÓLISIS BÁSICA DEL ACETATO DE GERANILO PRESENTE EN EL AE DE PALMARROSA EMPLEANDO HIDRÓXIDO DE CALCIO

Como alternativa para realizar las hidrólisis del acetato de geranilo presente en el aceite esencial de palmarrosa, se ensayó el hidróxido de calcio, como base fuerte en reemplazo del KOH. El estudio se realizó según un diseño experimental cubico 2^3 centrado en las caras y con 4 réplicas en el centro. Las variables y rangos de trabajo se determinaron con base en algunos experimentos preliminares, cuyos resultados se muestran en la **Tabla 18**. Al realizar la reacción por 2 h, con agua cal a diferentes temperaturas, se obtuvo bajo reflujo el mejor resultado, con una reducción del 24% en la cantidad relativa del acetato de geranilo en el AE. Bajo estas condiciones y por 4 h, se logró, a su vez, una disminución del 28% de la cantidad relativa del acetato de

geranilo. Debido a que la solubilidad del Ca(OH)_2 disminuye con el aumento de la temperatura, se probó el uso de Ca(OH)_2 por porcentaje en masa (10 %) respecto a la cantidad de AE, fijando un volumen de agua de 25 mL, a reflujo por 2 h; con lo que se consiguió una disminución del 50% de la cantidad relativa del acetato de geranilo. En otros ensayos con un AE de mayor contenido de acetato de geranilo (9,4%) y variando el % de Ca(OH)_2 entre el 1 y 10%, se logró una reducción en la concentración relativa del acetato de geranilo en un 42%.

Tabla 18. Ensayos preliminares en la hidrólisis del acetato de geranilo usando hidróxido de calcio.

a. Condiciones : 2 g de AE/12 mL de agua cal/2h

	AE	Temperatura °C por 2 h		
		40	80	118
Acetato de geranilo, %	5,4	5,2	4,6	4,1
		5,3	4,6	4,0

b. Condiciones : 2 g de AE/12mL de agua cal/reflujo a 118°C

		Tiempo de reacción (h)		
		2	4	6
Acetato de geranilo, %	5,4	4,1	3,9	3,9

c. Condiciones: 2 g de AE/12mL de agua/reflujo a 118°C/2h.

	AE	% Ca(OH)_2		
		1	5	10
Acetato de geranilo, %	9,3	9,3	7,5	5,4
		9,3	7,7	5,5
	5,4	-	-	2,7

En la **Tabla 19**, se muestran los resultados obtenidos de cada uno de los experimentos planteados en el diseño de la **Sección 2.6**. La cuantificación de las muestras se realizó con base en la adición de un estándar interno, como se reseñó en esta misma sección.

Tabla 19. Resultados experimentales para el diseño 2^3

Nº Experimento	g Acetato de geranilo/mL AE
1	0,020
2	0,008
3	0,015
4	0,007
5	0,015
6	0,003
7	0,010
8	0,003
9	0,001
10	0,018
11	0,009
12	0,012
13	0,006
14	0,010
15	0,012
16	0,010
17	0,009
18	0,008

El análisis de varianza ANOVA (**Tabla 20**) de los resultados, indica que las variables volumen de agua, porcentaje en masa de Ca(OH)_2 , el tiempo de reacción y la interacción entre estas dos últimas, fueron estadísticamente significativas, ya que para las demás interacciones, el valor F fue menor que el dado en las tablas (18,5 para una probabilidad $p = 0,05$) para 1 grado de libertad.

Tabla 20. ANOVA para el diseño experimental 2^3

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados Medios	Fo	Efecto
Tiempo	0,642	1	0,642	637,53	Si
% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$	0,0502	1	0,0502	49,55	Si
Volumen de agua	0,1578		0,1578	155,64	Si
Interacciones					
Tiempo-% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$	0,0315	1	0,0315	31,12	Si
Tiempo-volumen de agua	0,0001	1	0,0001	0,08	No
% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -volumen de agua	0,0000	1	0,0000	0,01	No
Tiempo-% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -volumen de agua.	0,0001	1	0,0001	0,12	No
Error	0,0020	2	0,0010		
Total	0,8839	9			

Usando el *software Statgraphics* se determinó la ecuación que mejor modela los resultados, a saber: $Y = 1,00165 - 1,76499 \cdot X_1^2 - 0,501988 \cdot X_2^2 - 0,267211 \cdot X_3^2 - 0,572895 \cdot X_1 \cdot X_2 + 0,809395 \cdot X_1^2 \cdot X_2^2 + 1,07681 \cdot X_1^3 + 0,270808 \cdot X_2^3$, y cuyos valores de R^2 y R^2 ajustado fueron 0,96 y 0,93, respectivamente. Parametrizando la ecuación al valor máximo (normalizado) en la variable tiempo y graficando la superficie de respuesta (**Figura 23**), se obtienen los valores mínimos de la respuesta g AG/mL AE; las variables regresoras volumen de agua y % de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ deben estar en 1 y 0,4-0,6, respectivamente, esto es 25 mL de agua y entre el 15 y 20% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Por otra parte, cabe señalar, que bajo este tratamiento, el contenido de geraniol en el AE, pasa del 87,2% a un valor del ca. 93%, mientras el acetato de geranilo disminuye del 6,9% al ca. 0,1%.

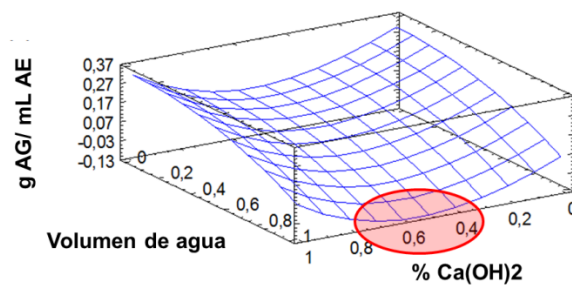


Figura 23. Superficie de respuesta generada de la ecuación del modelo (2³) parametrizada para la variable tiempo en el valor máximo.

La validación del modelo se realizó a través de la división de datos, donde se evaluó el desempeño del modelo extrayendo cada vez uno de los resultados de los 18 experimentos (validación cruzada). En la **Tabla 21**, se relacionan los valores de R^2 y R^2 ajustado, los cuales son mayores que 0,94, lo que permite concluir que el modelo es capaz de desempeñar una buena predicción.

Tabla 21. Validación cruzada del modelo generado para el diseño 2^3 .

Exp	Intercepto	X_1^2	X_2^2	X_3^2	X_1X_2	$X_1^2X_2^2$	X_1^3	X_2^3	SS residuales	RMSEC	R^2	R^2 AJUSTADO
1	1,003	1,775	0,511	0,268	-0,568	0,805	1,085	0,279	0,050	0,003	0,949	0,949
2	0,997	1,830	0,477	0,254	-0,522	0,795	1,108	0,241	0,047	0,003	0,963	0,963
3	1,006	1,789	0,443	0,279	-0,618	0,819	1,104	0,244	0,048	0,003	0,960	0,960
4	1,003	1,760	0,497	0,271	-0,586	0,834	1,072	0,266	0,050	0,003	0,961	0,961
5	1,001	1,762	0,498	0,267	-0,574	0,809	1,074	0,268	0,050	0,003	0,959	0,959
6	1,010	1,845	0,489	0,283	-0,529	0,804	1,122	0,253	0,047	0,003	0,959	0,959
7	0,992	1,781	0,413	0,250	-0,620	0,813	1,097	0,221	0,047	0,003	0,964	0,964
8	1,004	1,774	0,511	0,272	-0,560	0,785	1,086	0,280	0,050	0,003	0,956	0,956
9	1,017	2,590	0,521	0,275	-0,019	0,255	1,922	0,262	0,033	0,002	0,969	0,969
10	0,984	1,571	1,017	0,258	-0,349	0,585	0,902	0,775	0,039	0,002	0,964	0,964
11	0,985	1,747	0,344	0,259	-1,139	1,375	1,087	0,595	0,032	0,002	0,975	0,975
12	1,018	1,272	0,689	0,276	-0,786	1,022	0,595	0,439	0,040	0,002	0,969	0,969
13	0,997	1,739	0,476	0,259	-0,574	0,810	1,051	0,245	0,050	0,003	0,960	0,960
14	1,003	1,735	0,472	0,272	-0,580	0,815	1,048	0,242	0,049	0,003	0,962	0,962
15	1,004	1,878	0,615	0,265	-0,549	0,785	1,189	0,383	0,032	0,002	0,975	0,975
16	1,002	1,788	0,525	0,267	-0,567	0,803	1,100	0,294	0,049	0,003	0,962	0,962
17	1,001	1,748	0,484	0,268	-0,576	0,812	1,060	0,254	0,050	0,003	0,962	0,962
18	1,000	1,694	0,431	0,269	-0,586	0,822	1,006	0,200	0,043	0,003	0,967	0,967

3.6 ESTUDIO DE LA TRANSFORMACIÓN FOTOQUÍMICA DEL CITRONELAL

Para el estudio de las transformaciones fotoquímicas del citronelal en presencia de una mezcla de fulerenos, se empleó un fotorreactor diseñado en el centro de investigación CENIVAM-CROMMASS, para lo cual se usó una lámpara ultravioleta, cuya línea de emisión más intensa se encuentra a una longitud de onda de 402,8 nm y con un ancho de banda de 0,26 nm (**Figura 24**).

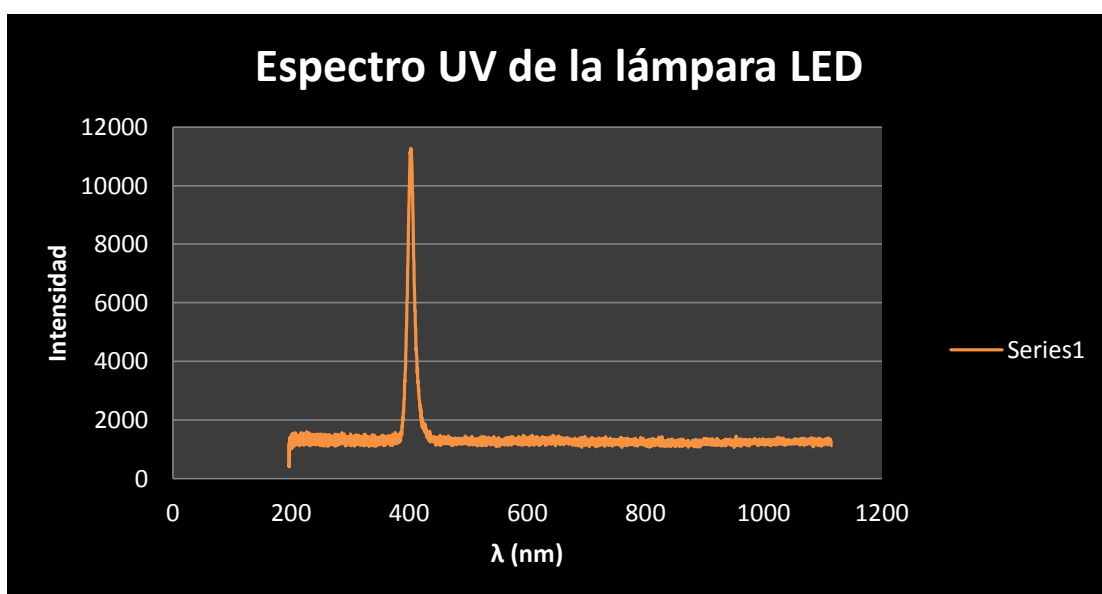


Figura 24. Espectro de emisión de la lámpara UV empleada en las transformaciones fotoquímicas. La figura se creó en una hoja de cálculo de Excel, empleando los valores generados por un espectrómetro USB4000, Ocean pacific.

3.7 Productos del citronelal usando la mezcla de fulerenos y metanol como solvente

En los cromatogramas (**Figura 25**) de las mezclas, obtenidas después de exponer el citronelal a la radiación UV en presencia de la mezcla de fulerenos y usando metanol como medio de reacción, aparece una señal, correspondiente al dimetilacetal del citronelal (8,8-dimetoxi-2,6-dimetil-2-octeno).

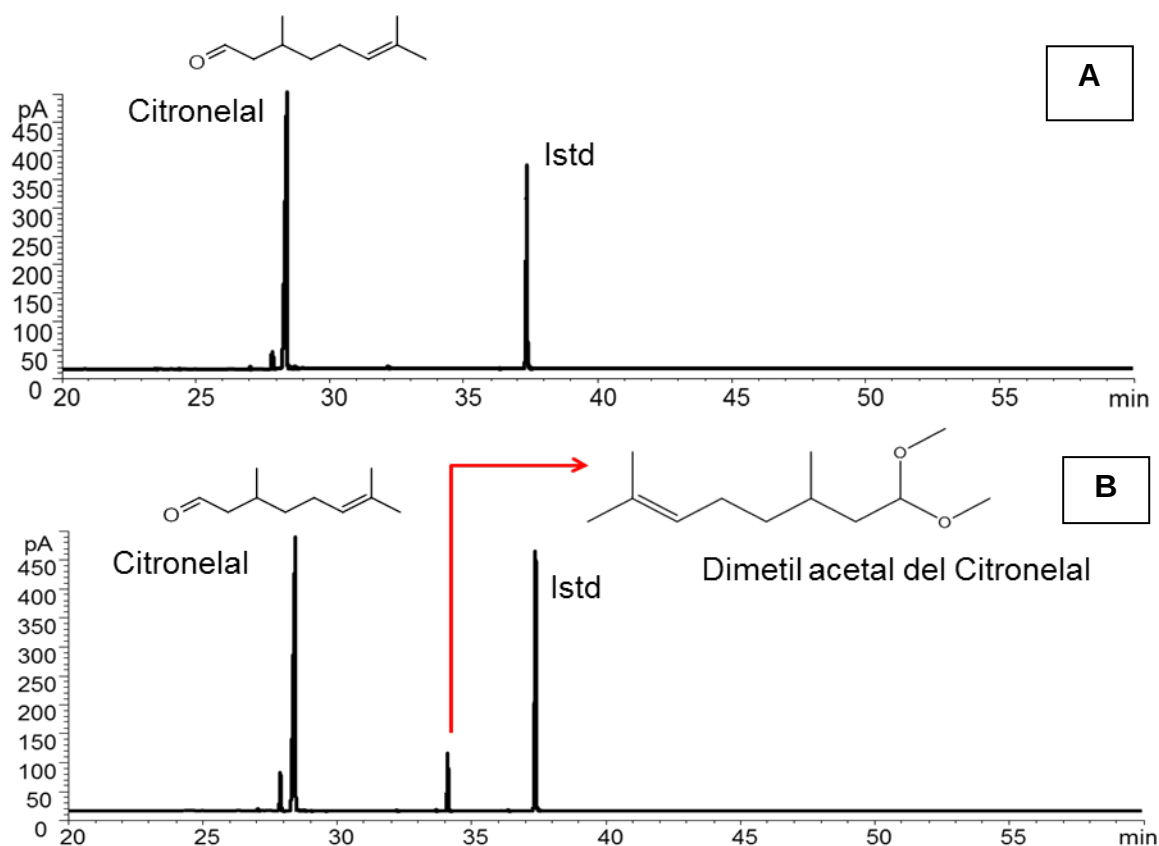
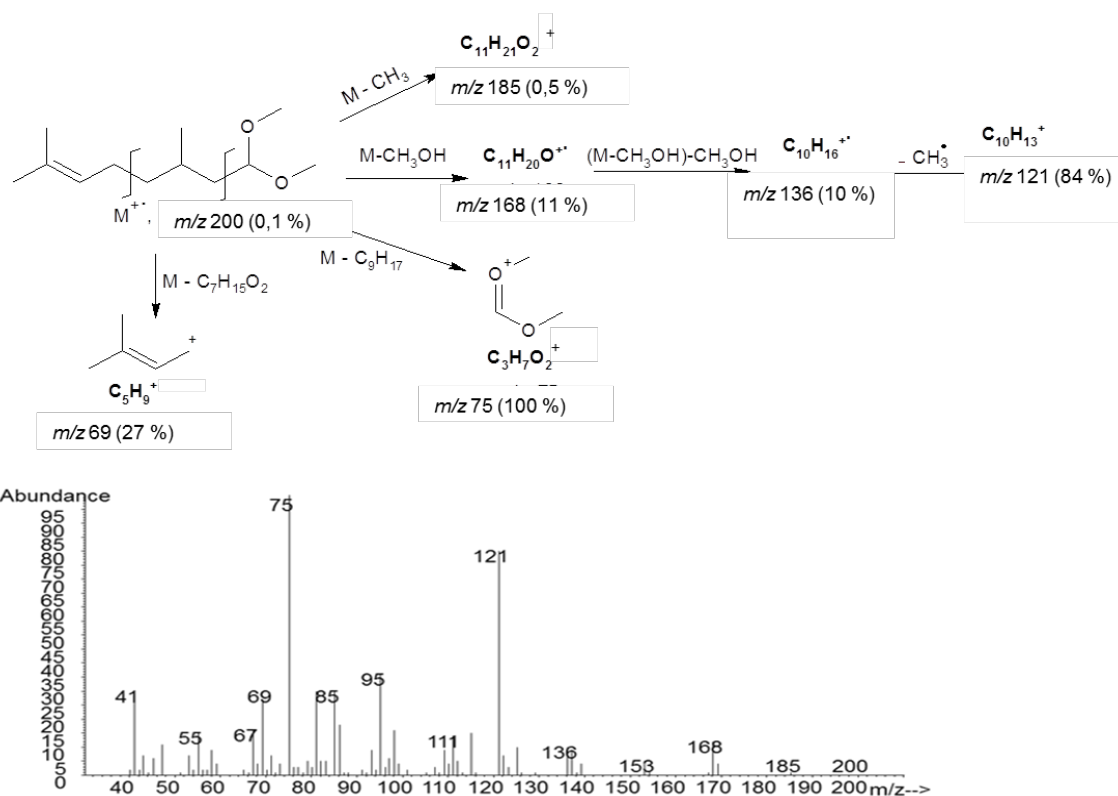


Figura 25. Perfiles cromatográficos de: A. citronelal y B. Productos de su transformación fotoquímica bajo las siguientes condiciones: radiación UV (17 h), fulereno (40 mg) y metanol (10 mL).

Este compuesto fue identificado a partir del análisis de las rutas de fragmentación y la comparación del espectro de masas con lo reportado en la literatura (**Esquema 3**), [http://www.massbank.jp/jsp/Dispatcher.jsp?type= disp&id JP008660&site=10](http://www.massbank.jp/jsp/Dispatcher.jsp?type=disp&id JP008660&site=10).



Esquema 3. Espectro de masas y rutas de fragmentación para el dimetil acetal del citronelal.

Esta sustancia presenta en su espectro de masas un ion molecular M^+ en m/z 200 (0,1%), que elimina el radical metilo, lo que conduce a la formación del ion en $(M-CH_3)^+$ m/z 185 (0,5%). A partir del ion molecular y por pérdidas sucesivas de dos moléculas de metanol, se generan los cationes radicales en $(M-CH_3OH)$ m/z 168 (11%) y $(M-2CH_3OH)$ m/z 136 (10%). El fragmento $(M-2CH_3OH)$, por pérdida de un radical metilo, genera $(M-2CH_3OH-CH_3)$ m/z 121(84%). Por ruptura alílica en el ion molecular se forma el catión con m/z 69 (27%). El ion pico de base con m/z 75 (100%) se da a partir del ion molecular, por ruptura homolítica.

De acuerdo con lo reseñado en una publicación por Haworth y Lapworth [Haworth y Lapworth, 1922], esta sustancia se sintetizó con un 56% de rendimiento, empleando el método de Fischer; cuando un aldehído reacciona con un alcohol, en presencia de un ácido mineral (HCl) como catalizador. En otras investigaciones encaminadas a estudiar la hidrogenación del citronelal bajo condiciones no ácidas en soluciones alcohólicas se ha observado también

la formación de acetales. Se ha reportado [Zhdankina *et al.*, 1987] que cuando se emplea un catalizador de Pd/C (2%) en metanol a una temperatura de 40°C y 80 atm de presión de gas hidrógeno, se dio a partir del citronelal, la formación del dimetil acetal con reducción de su doble enlace. En la **Tabla 22** se resumen los experimentos realizados.

Tabla 22. Experimentos de la transformación fotoquímica del citronelal.

Sustrato	Catalizador	Luz irradiante	Presión H ₂ (psi)	Solvente (10 mL)	% del acetal
Citronelal	C60	UV	25	Metanol	3,17±1,49
Citronelal	C60	UV	45	Metanol	1,37
Citronelal	C60	-	25	Metanol	0,27±0,90
Citronelal	-	UV	25	Metanol	-
-	C60	-	25	Metanol	-
Citronelal	C60	UV	25	Acetonitrilo	-

Como se observa en la **Tabla 22**, en los distintos medios de reacción el dimetil acetal del citronelal se obtuvo en presencia de la mezcla de fulerenos, lo que confirma su papel determinante en la síntesis. Los resultados muestran además que la luz UV induce una mayor reactividad, revelado en una mayor cantidad del acetal que se forma. Este fenómeno posiblemente se debe a la formación de un estado excitado en el fullereno, ya que debido la longitud de onda de trabajo (>200nm) la absorción de la radiación no ocurrirá en el metanol; y en el citronelal, tal vez se hubiese detectado por lo menos la formación del isopulegol [Taylor y Hasselström, 1930].

Estos resultados indican que es probable que este producto se forme vía radicales libres por la desoxigenación del metanol, como ocurre en la reacción entre el carbono en presencia de alcoholes, donde se forman [Moss *et al.*, 2004] CO, productos de inserción C-H y O-H, así como el dimetoximetano y radicales libres como el radical metilo.

4 CONCLUSIONES

- ✓ Por destilación fraccionada a la presión de 12 mm Hg, a través de dos etapas, se obtuvo un aceite esencial de palmarrosa de composición química reproducible. La primera, permitió concentrar los componentes más volátiles (e.g., linalol, *trans* y *cis* β -ocimenes) que el geraniol, en máximo tres fracciones, obtenidas por debajo de 100 °C; y la segunda, en la cual se obtiene el destilado de composición química reproducible a 114°C, rica en geraniol (ca. 89%) y acetato de geranilo (ca. 10%), con una recuperación >80% respecto a la masa de alimentación.
- ✓ La mayor cantidad de geraniol que se obtuvo por destilación fraccionada fue ca. 89%, debido a la formación de un azeótropo entre el geraniol y su acetato. Los resultados experimentales y el estudio teórico del equilibrio-liquido vapor realizado permitieron soportar este resultado experimental.
- ✓ El acetato de geranilo presente en el aceite esencial de palmarrosa se hidrolizó "*in situ*", usando soluciones acuosas de KOH, lo cual permitió concentrar el geraniol hasta un 91%. Se estimó la ecuación que mejor modela la relación entre las variables: $1,1008 + X_1 0,3415 - X_2 1,2028 - X_1^2 3,4325 + X_2^2 0,4569 + X_1^3 2,6773$. De igual forma, se pudo hidrolizar el acetato de geranilo en el aceite esencial usando $\text{Ca}(\text{OH})_2$. La ecuación del modelo fue: $1,00165 - 1,76499 \cdot X_1^2 - 0,501988 \cdot X_2^2 - 0,267211 \cdot X_3^2 - 0,572895 \cdot X_1 \cdot X_2 + 0,809395 \cdot X_1^2 \cdot X_2^2 + 1,07681 \cdot X_1^3 + 0,270808 \cdot X_2^3$. La validación de este se realizó de forma estadística (validación cruzada).
- ✓ Con base en las concentraciones finales del geraniol en los AE de palmarrosa sometidos a destilación fraccionada y al tratamiento "*in situ*" con bases fuertes, puede concluirse que al combinarse estos dos procesos, primero hidrolizando el acetato de geranilo y después

rectificando el aceite, se puede enriquecer el aceite esencial de palmarrosa con geraniol hasta un 98%.

- ✓ No se obtuvo un producto de reducción en la transformación fotoquímica del citronelal en presencia del fullereno. No obstante, se registró la formación del dimetil acetal del citronelal (ca. 3%).

5 RECOMENDACIONES

- ✓ Llevar a escala piloto tanto el proceso de hidrólisis del acetato de geranilo en el aceite esencial de palmarrosa, como la rectificación del mismo.
- ✓ Determinar experimentalmente el equilibrio líquido-vapor para la mezcla geraniol-acetato de geranilo.
- ✓ Explorar el uso de catalizadores básicos amigables con el medio ambiente, tipo zeolitas, para realizar la hidrólisis del acetato de geranilo.
- ✓ Realizar un estudio de costos para los procesos descritos, con el fin de establecer la viabilidad de los mismos a nivel industrial.

BIBLIOGRAFÍA

Abramson, C.I; Wanderley, P.A; Maria J. A; Alexandre J. S; Miná; Baracho, O, S. Effect of Essential Oil from Citronella and Alfazema on fennel aphids *Hyadaphis foeniculi* Passerini (Hemiptera: Aphididae) and its predator *Cycloneda sanguinea* L. (Coleoptera: Coccinelidae). *Am. J. Environ. Sci.* **2006** 3 (1), 9-10.

Adams, P. Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th Ed. Allured Publishing, Carol Stream, IL, USA, **2007**, 804.

Akhila, A. Essential Oil-Bearing Grasses. The genus *Cymbopogon*. CRC Taylor & Francis Group, **2010**, 72-121.

Alekseyev, N.I; Dyuzhev, G.A. Fullerene formation in an arc discharge. *Carbon*, **2003**, 41(7), 1343-1348.

Arias, G.P; Stashenko, E.E; Torres, R. Biotransformación de terpenos R(+)-limoneno, α -pineno, y terpineno por medio de cloroperoxidasa de *Caldaromyces fumago*. *Scientia Et Technica*, **2007**, XII, 33, 75-78.

Ávalos G.A; Pérez, E. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. **2009**, 2 (3), 119-145.

Avellaneda, G; Roa, G. Estudio de la estructura de mercado para la comercialización de aceites esenciales en Colombia. Tesis de pregrado en economía, Universidad Industrial de Santander. **2008**, 95.

Bäcktorp, C; Hagvall, L; Börje, A; Karlberg, Ann-Therese; Norrby, Per-Ola; and Gunnar Nyman. Mechanism of air oxidation of the fragrance terpene geraniol. *J. Chem. Theor. Comput.* **2008**, 4, 101-106.

Bakkali, F; Averbeck, S; Averbeck, D; Idaomar, M. Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem. Toxicol.* **2008**, 46, 446–475.

Bandoni, A (Ed). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores, Red de Editoriales Universitarias. La Plata. **2000**, 27-40.

Baojun Li, B; Zheng, Xu. A nonmetal catalyst for molecular hydrogen activation with comparable catalytic hydrogenation capability to noble metal catalyst. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131 (45), 16380–16382.

Baser, K.H.C. Handbook of Essential oils: Science, Technology, and Applications. CRC Taylor & Francis Group, Boca Ratón, EE.UU., **2010**, 991.

Berger, R.G. Flavours and fragrance. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. **2007**, 545.

Biocomercio sostenible. Estudio del mercado colombiano de aceites esenciales. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Colombia, **2003**, 109.

Caiger, S; Hughes, K. Essential Oils & Oleoresins, EU and US Market Report. **2010**, 26. www.intracen.org. Fecha de consulta: abril de 2010.

Carney, T. Laboratory fractional distillation. The MacMillan Company. New York. **1949**, 269.

Castellanos, F.E; Villamil, A.P; López, C. O. Obtención de alcohol perílico por biotransformación del limoneno. *Scientia et Technica*, **2007**, XII, 33, 137-140.

CENIVAM 2010. <http://cenivam.uis.edu.co/cenivam/principal.php#>

Conde, N.M. Aislamiento de la carvona presente en el aceite esencial de *Lippia alba* (Mill) N.E.Brown por destilación fraccionada a presión reducida. Bucaramanga: Tesis de grado. Escuela de Química. Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, **2008**.

Cserhádi, T. Chromatography of aroma compounds and fragrances. Springer, New York. **2010**, 269-271.

Delaquis, J.P; Kareen, S. B; Mazza, G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* **2002**, 74 , 101– 109.

De Simone, R.S; Gradeff, P.S. **1977**. Process for the hydrogenation of citral to citronellal and of citronellal to citronellol using chromiun-promoted raney nickel catalyst. *US Patent* No. 4,029,709. 1-10.

Denny, E.F.K. Hidrodestillation of oils from aromatic herbs. *Perfumer & Flavorist.* **1989**, 14, 57-58.

Dresselhaus, M.S; Dresselhaus, G; Eklund, P.C. Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes. Elsevier, San Diego, **1996**, 985.

Dubey V.S; Luthra, R. Biotransformation of geranyl acetate to geraniol during palmarosa (*Cymbopogon martinii*, Roxb. wats. var. *motia*) inflorescence development. *Phytochemistry.* **2001**, 57, 675–680.

Dubey V.S., Bhalla, R., Luthra, R. An esterase is involved in geraniol production during palmarosa inflorescence development. *Phytochemistry.* **2003**, 63, 257–264.

Dubey, V.S; Luthra, R; Naqvi, A.A; Kumar, S. **2002**. Stable esterase obtained from palmarosa. *US Patent* No. 6,387,678.

Erkekjdjian, M. Fundación Exportar. Análisis de la tendencia del mercado internacional de aceites esenciales. Informe **2002**, 24. www.iprofesional.com. Fecha de consulta: febrero de 2010.

Fair, J.R; Stichlmair, J.G. Distillation: principles and practice. Taylor & Francis Group, LLC, New York, **2009**, 529.

Farah, A; Afifi, A; Fechtal, M; Chhen, A; Satrani, B; Talbi, M; Chaouch, A. fractional distillation effect on the chemical composition of Moroccan myrtle (*Myrtus communis* L.) essential oils. *J. Flavour. Fragr*, **2006**, 21, 351–354.

FFHPVC. The Flavor and Fragrance High Production Volume Consortia. Test plan for terpenoid primary alcohols and related esters. **2006**, 33. <http://www.epa.gov>. Fecha de consulta: Febrero de 2010.

Ganapati, D; Yadav; Sharad V; Lande. Novelties of kinetics of chemoselective reduction of citronellal to citronellol by sodium borohydride under liquid–liquid phase transfer catalysis. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2006**, 247, 253–259.

García, D.C; Monsalve, L.A; Martínez, J.R., Stashenko, E.E. Estudio comparativo de la composición química de aceites esenciales de *Lippia alba* provenientes de diferentes regiones de Colombia y efecto del tiempo de destilación sobre la calidad del aceite. *Scientia et Technica*. **2007**, *XIII*, 33, 435-438.

García, M; Klimova, E. Reacciones de cicloadición [4+2] tipo Diels-Alder a los fulerenos C₆₀ y C₇₀. *Rev. Mex. Fis.* **2000**, 46 (2), 126-131.

George, D.R; Sparagano O.A.E; Port, G; Okello, E; Shiel, R.S; Guy, J.H. Repellence of plant essential oils to *Dermanyssus gallinae* and toxicity to the non-target invertebrate *Tenebrio molitor*. *Vet. Parasitol.* **2009**, 162, (2), 129-139.

Guenther, E. The Essential Oils Vol II. Krieger Publishing Company, Florida USA. **1948**.

Haworth, R.D; Lapworth, A. XIV.—The direct acetalisation of aldehydes. *J. Chem. Soc., Trans.*, **1922**,121, 76-85.

Ikeda, R.M; Rolle, L.A; Vannier, S.H; Stanley, W.L. Lemon oil composition, isolation and identification of aldehydes in cold-pressed lemon oil. *J. Agric. Food Chem.*, **1962**, 10 (2), 98-102.

Kane, J.B. Preparation of citronellol. **1967**. *US Patent* No. 3,346,650.

Kim, S; Yi, J-Hwan; Tak, J-hyung; Ahn, Y-Joon. Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Veteri. Parasitol.* **2004**, 120, 297–304.

Kouznetzov, V; Romero, A; Bohórquez, R; Stashenko, E.E. Three-component imino Diels-Alder reaction with essential oil and sedes of anise: generation of new tetrahydroquinolines. *Tetr. Lett.* **2007**, 48 (10), 8855-8860.

Langa, F; Nierengarten, J.F. Fullerenes principles and applications. *RSC*, publishing, Dorset, UK, **2007**, 411.

Lapczynski, A; Bhatia, S.P; Foxenberg, R.J; Letizia, C.S. Fragrance material review on geraniol. *Food Chem. Toxicol.* **2008**, 46,160–170.

Lenardao E.J; Botteselle, G.V; Azambuja de Francisco; Perin, G; and Jacob, R.G. Citronellal as key compound in organic synthesis. *Tetrahedron*, **2007**, 63, 6671–6712.

Mäki-Arvela, P; Tiainen, L-P; Lindblad, M; Demirkan, K; Kumar, N; Sjöholm, R; Ollonqvist, T; Väyrynen, J; Salmi T; Murzin, D.Y. Liquid-phase hydrogenation of citral for production of citronellol: catalyst selection. *Appl. Catal., A: General*, **2003**, 241, 271–288.

Mäki-Arvela, P; Kumar, N; Paseka, I; Salmi, T; Murzin, D.Y. Support effects in nerol hydrogenation over Pt/SiO₂, Pt/H-Y and Pt/H-MCM-41 catalyst. *Catal. Lett.* **2004**, 98 (4), 173-179.

Malhotra, R; Hirschon, A.S; McMillen, D.F; Bell W.L. Catalytic properties of fullerene materials. *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **1998**, 497, 137-143.

Martín, N.L. Fullerenos: moléculas de carbono con propiedades excepcionales. *Anales de la Real Sociedad Española de Química.* **1999**, 1(95) ,14-24.

McCabe, W.L. Operaciones unitarias en ingeniería química. McGraw-Hill. 4ed. Madrid, España. **1991**, 521-615.

Mendivelso, D; Olivares, M; Martínez, J.R; Stashenko, E.E. Composición química de los metabolitos secundarios volátiles de *Pelargonium graveolens*, en función del método de extracción y época de recolección del material vegetal. *Scientia et Technica*, **2007**, *XIII*, 33, 183-184.

Milone, C; Gangemi, C; Ingoglia, R; Neri, G; Galvagno, S. Role of the support in the hydrogenation of citronellal on ruthenium catalysts. *Appl. Catal. A.* **1999**, 184, 89-94.

Milojević, S; Glisić, S; Skala, D. The batch fractionation of *Juniperus communis* L. Essential oil: experimental study, mathematical simulation and process economy. *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, **2010**, 16, 183–191.

Monnerie, N; Ortner, J. Economic evaluation of the industrial photosynthesis of rose oxide via lamp or solar operated photooxidation of citronellol. *J. Sol. Energ. Eng.* **2001**, 123, 171-174.

Moss,R.A; Platz, M.S; Jones,M. Reactive intermediate chemistry. John Wiley & Sons, inc. New Jersey, EE.UU. **2004**,486-487.

Murata, M; Murata, Y; Komatsu, K. Synthesis and properties of endohedral C60 encapsulating molecular hydrogen. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128 (24), 8024–8033.

Nerio L.S; Olivero-Verbel, J; Stashenko, E. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresour. Technol*, **2010**, 101, 372–378.

Olivero, J.V; Caballero, K.G; Jaramillo, B.C; Stashenko, E.E. Actividad repelente de los aceites esenciales de *Lippia origanoides*, *Citrus sinensis* y *Cymbopogon nardus* cultivadas en Colombia frente a *Tribolium castaneum*, Herbst. *Revista Salud UIS*. **2009**, 41 (3), 244-250.

Pak, M ; Konuspaev, S.R ; Zakumbaeva, G.D ; Sokolskii, D.V. Hydrogenation of citral to citronellol over Ni-Cr₂O₃. *React. Kinet. Catal. Lett*, **1981**,16 (4), 339-343.

Parry, E.J. The chemistry of essential oil and artificial perfumes. Volumen II. 4° Ed. Scott, Greenwood and Sons & Broadway, Ludgate, London,**1922**, 51,183-185.

Prashar, A; Hili, P; Veness R.G; Evans, C.S. Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytochemistry*. **2003**, 63, 569–575.

Prieto, G.A ; Perea, J.A ; Stashenko, E.E. Biotransformación del limoneno para la obtención de terpenoides por la acción de bacterias: *Rodhococcus erythropolis* y *Xanthobacter sp.* *Scientia et Technica*, **2007**, XIII, 33, 291-292.

Raina, V. K; Srivastava, S. K; Aggarwal, K. K; Syamasundar, K. V. Essential oil composition of *Cymbopogon martinii* from different places in India. *J. Flavour. Fragr.* **2003**, 18, 312–315.

Ranaweera, S.S; Dayananda, K.R. Mosquito-larvicidal activity of some Sri-Lankan plants. *J Nat Sci Council Sri Lanka*. **1996**, 24(2), 63–69.

Rajeswara, B.R; Kaul, P.N; Syamasundar, K.V; Ramesh, S. Chemical profiles of primary and secondary essential oils of palmarosa (*Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats var. *motia* Burk.). *Ind. Crop. Prod.* **2005**, 21, 121–127.

Roa, S.R. Aplicación de la destilación fraccionada a presión reducida para el aislamiento del citral contenido en aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (Limonaria). Bucaramanga: Tesis de grado. Escuela de Química. Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, **2009**.

Samarasekera, R; Kalhari, K.S; Weerasinghe, I.S. Insecticidal activity of essential oils of Ceylon *Cinnamomum* and *Cymbopogon* species against *Musca domestica*. *J. Essent. Oil. Res.* **2006**, 18 (3), 352-354

Schreier, P. Chromatographic studies of biogenesis of plant volatiles, Ed. Hüthig-Verlag, Heidelberg. **1984**, 35-171.

Sell, S.C. A fragrant introduction to terpenoid chemistry. Quest International, Ashford, Kent, UK. **2003**. 307.

Shaw, A. C. The Essential Oil of *Tsuga canadensis* (L.) Carr. *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, 73, 2859–2861.

Shiu, L.L; Lin, T.I; Peng, S.M; Her, G.R; Ju, D.D; Lin S.K; Hwang, J.H; Mou, C.Y; Luh, T.Y. Palladium-catalysed [3 + 2] cycloaddition of trimethylenemethane (TMM) and fullerene. Observation of the room-temperature fluorescence spectrum of the TMM-CGO adduct. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 647-648.

Srivastava, R.K. Value addition in essential oils. Fragrance & Flavour Development Centre, Makrand Nagar, India, **2006**, 10.

Stashenko, E.E. Informe final 2005-2009, CENIVAM. **2010**.
<http://cenivam.uis.edu.co/cenivam/productos/produccion.html>.

Stashenko, E. E; Jaramillo, B. E; Martínez, J. R. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its *in-vitro* antioxidant activity, *J. Chromatogr. A*. **2004**, 1025, 93-103.

Stashenko, E.E; Villa, D.H; Combariza, M.Y. Study of compositional variation in Colombian rue oil (*Ruta graveolens*) by HRGC using different detection system. *J. Microcolumn Sep*, **1995**, 7, (2), 117-122.

Taylor, B.M; Hasselström, T. The action of ultraviolet light on terpenes I. The action on citronellal. *J. Am. Chem. Soc.*, **1930**, 52, (10), 4093–4098.

Teixeira, M.C; Duarte; Figueira, G.M; Sartoratto, A; Garcia, V.L; Rehder, Delarmelina, C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*. **2005**, 97, 305–311.

Tovar, L.P; Maciel, M.R; Pinto, G.M; Filho, M.R; Gomes, D.R. Factorial design applied to concentrate bioactive component of *Cymbopogon citratus* essential oil using short path distillation. *Chem. Eng. Res. Des.* **2010**, 88, 239–244.

Vijender, S.M; Mohd, A. Volatile constituents of *Cymbopogon nardus* (Linn.) Rendle. *J. Flavour. Fragr.* **2002**, 18 (1), 73-76.

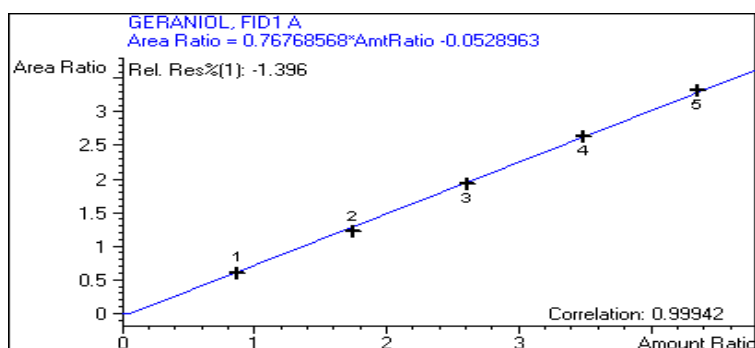
Weiyong, Yu; Hanfan, L; Manhong, L; Zhije, L. Selective hydrogenation of citronellal to citronellol over polymer-stabilized noble metal colloids. *React. Funct. Polym.* **2000**, 44, 21–29.

Zhdankina, G.M; Kozlova, L.M; Kryshtal, G.V; Litvin, E.F; Serebryakov, E.P; Yanovskaya, L.A. Catalytic hydrogenation of the adduct of citral diethyl acetal

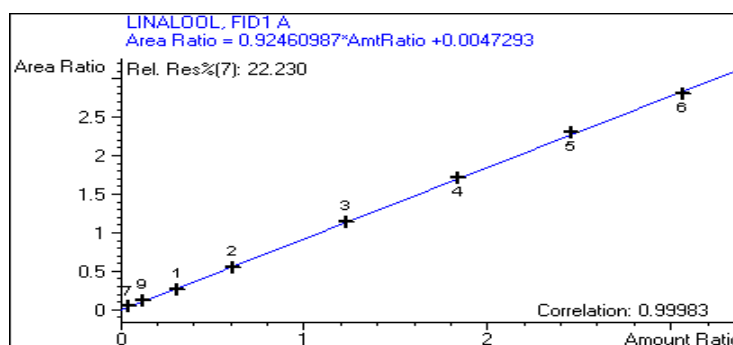
with 2-methoxy-propene, and the synthesis of 6,10-dimethylundec-3-en-2-one.
Russ. Chem. B+, **1987**, 36, (12), 2590-2595.

ANEXOS

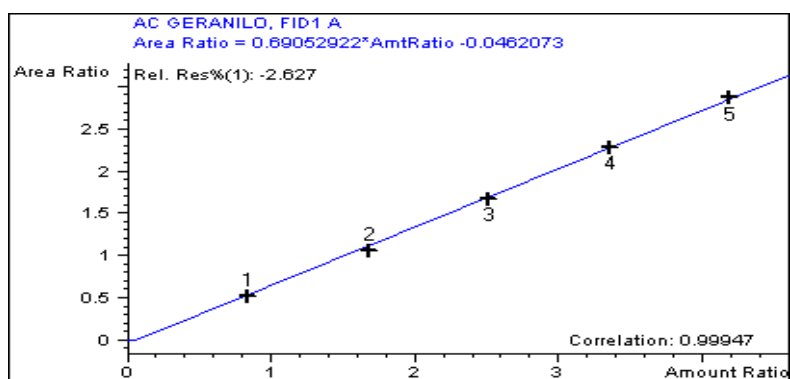
Anexo 1. Curvas de calibración interna para el linalol, geraniol y acetato de geranilo.



Geraniol (ppm)	Área	Factor de respuesta	Istd (ppm)	Área	Factor de respuesta
1311,7	692,4	1,89	1504,8	1139,4	1,32
2623,5	1398,4	1,88	1504,8	1148,6	1,31
3935,2	2176,1	1,81	1504,8	1125,5	1,34
5247	3064,8	1,71	1504,8	1160,7	1,30
6558,7	3837,6	1,71	1504,8	1155,4	1,30
Desviación estándar		0,088			0,016
Promedio		1,8			1,3
% CV		4,9			1,2



Linalool (ppm)	Área	Factor de respuesta	Istd ppm	Área	Factor de respuesta
61,6	49,9	1,23	1504,8	910,1	1,65
184,7	113,1	1,63	1504,8	904,1	1,66
461,7	245,5	1,88	1504,8	1013,0	1,49
923,4	504,5	1,83	1504,8	1004,5	1,50
1846,9	1163,1	1,59	1504,8	969,3	1,55
2770,3	1728,2	1,60	1504,8	960,2	1,55
3693,7	2234,7	1,65	1504,8	960,0	1,57
4617,2	2722,8	1,70	1504,8	904,7	1,66
Desviación estándar		0,20			0,072
Promedio		1,6			1,6
Porcentaje CV		11,9			4,6



Acetato de geraniolo (ppm)	Área	Factor de respuesta	Istd ppm	Área	Factor de respuesta
1261,8	591,14	2,134	1504,8	1139,4	1,32
2523,5	1215	2,077	1504,8	1148,6	1,31
3785,3	1885,8	2,007	1504,8	1125,5	1,34
5047	2654,9	1,901	1504,8	1160,7	1,30
6308,8	3313,9	1,904	1504,8	1155,4	1,30
Desviación estándar		0,103			0,016
Promedio		2,005			1,3
Porcentaje CV		5,2			1,2

Anexo 2. Presiones de saturación en función de la temperatura para el geraniol y acetato de geraniol. Ecuaciones de Antoine tomadas de la base de datos Knovel. <http://why.knovel.com/>.

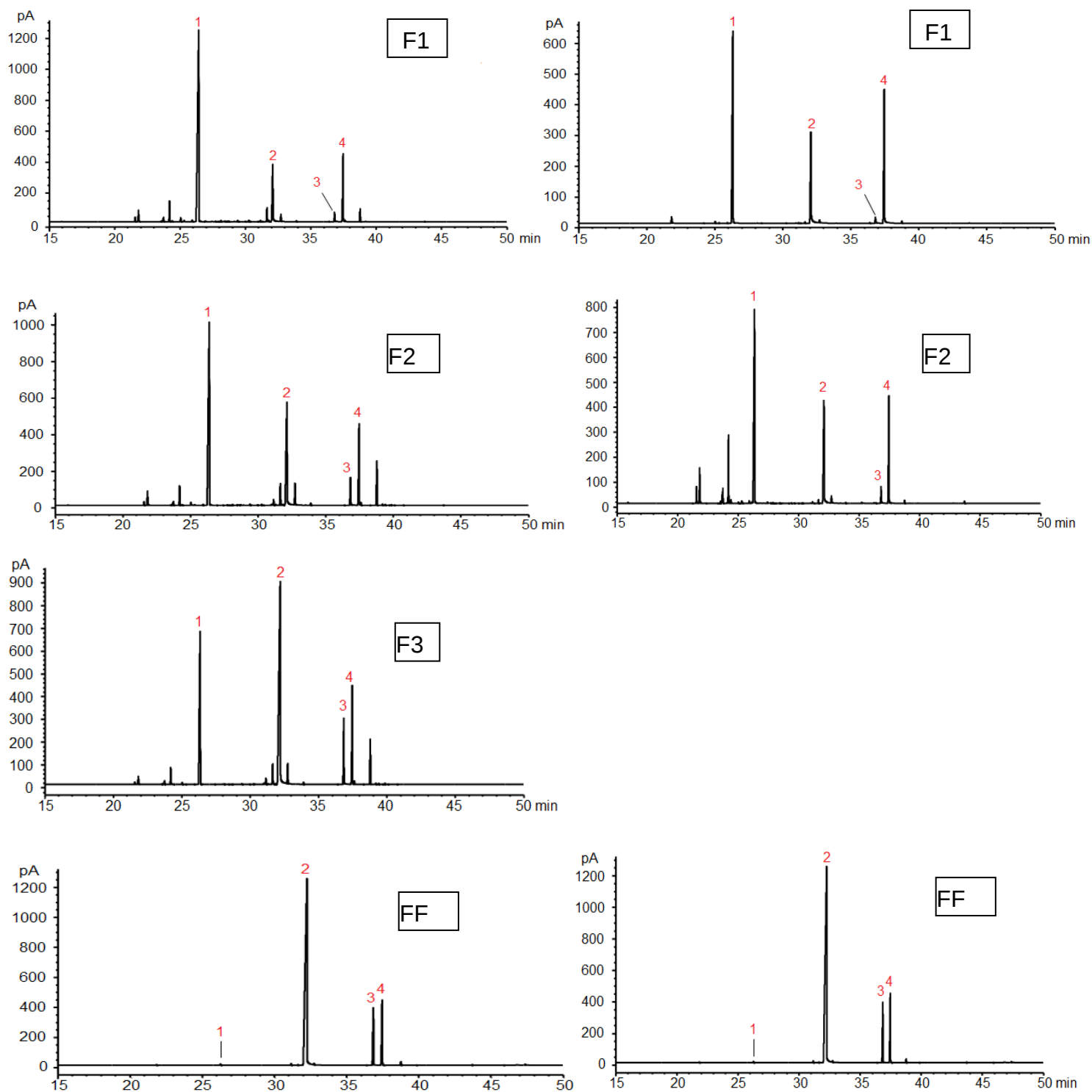
- Geraniol: $P^s \text{ (mmHg)} = 10^{(8.60515 - 2773.11 / (T + 254.443))}$
Rango de temperatura: 4-230 °C
- Acetato de geraniol: $P^s = 10^{(8.51142 - 2842.78 / (T + 261.464))}$
Rango de temperatura: 67-243 °C

GERANIOL				ACETATO DE GERANIOL			
T(°C)	P ^s (mmHg)	T(°C)	Ps (mmHg)	T(°C)	P ^s (mmHg)	T(°C)	Ps (mmHg)
79	1,943373	100	6,0436151	84	1,9166606	105	5,6767001
80	2,0578948	101	6,3578219	85	2,0243996	106	5,9594528
81	2,1784214	102	6,6864623	86	2,1375218	107	6,2546388
82	2,305227	103	7,0301078	87	2,256261	108	6,5627283
83	2,4385959	104	7,3893479	88	2,3808593	109	6,8842063
84	2,5788238	105	7,7647918	89	2,5115679	110	7,2195729
85	2,7262169	106	8,1570681	90	2,6486467	111	7,5693435
86	2,8810935	107	8,5668256	91	2,792365	112	7,9340492
87	3,0437832	108	8,9947335	92	2,9430015	113	8,3142372
88	3,2146283	109	9,4414824	93	3,1008448	114	8,7104713
89	3,3939833	110	9,9077844	94	3,2661936	115	9,123332
90	3,5822156	111	10,394374	95	3,4393568	116	9,5534171
91	3,779706	112	10,902007	96	3,6206539	117	10,001342
92	3,9868489	113	11,431465	97	3,8104153	118	10,467741
93	4,2040526	114	11,983551	98	4,0089827	119	10,953264
94	4,4317401	115	12,559092	99	4,2167091	120	11,458583
95	4,6703487	116	13,158943	100	4,4339594	121	11,984388
96	4,9203315	117	13,78398	101	4,6611104	122	12,531388
97	5,1821568	118	14,435108	102	4,8985515	123	13,100313
98	5,4563091			103	5,1466846		
99	5,7432893			104	5,4059247		

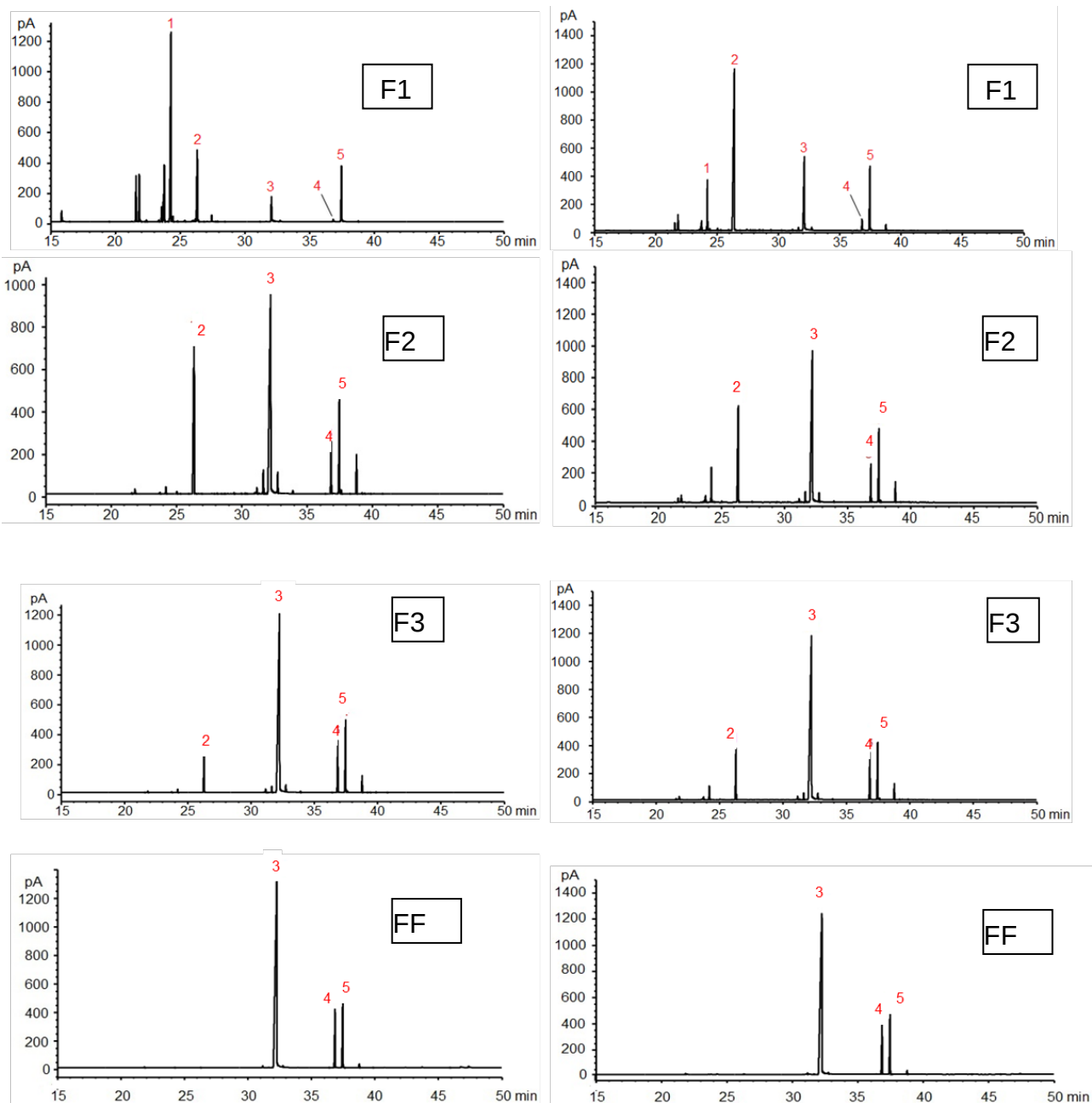
Anexo 3. Rectificación del AE de palmarrosa a 4,8 y 12 mm Hg

Fracción	Masa de la fracción (g)	%	Temperatura del fondo T1 (°C)	Temperatura en el tope de la columna T2 (°C)	Masa de AE inicial (g)	Pérdida de AE (g)
Presión 4 mmHg						
1	0,03 ± 0,01	0,19 ± 0,09	115 ± 4,2	48 ± 2,1	16,03 ± 0,00	1,03 ± 0,01
2	0,18 ± 0,06	1 ± 0,35	116,5 ± 0,71	62 ± 2,1		
3	0,33 ± 0,00	2,06 ± 0,00	117 ± 0,0	74 ± 0,0		
4	No se obtuvo					
Fondo	14 ± 0,28	91 ± 1,8				
Presión 8 mmHg						
1	0,19 ± 0,06	1,2 ± 0,40	124,5 ± 0,71	64 ± 2,8	16,03 ± 0,00	0,8 ± 0,34
2	0,4 ± 0,11	2,5 ± 0,66	124,5 ± 0,71	74 ± 2,8		
3	0,66 ± 0,01	4,12 ± 0,09	123 ± 2,1	85 ± 2,1		
4	No se obtuvo					
Fondo	13,9 ± 0,37	87 ± 2,3				
Presión 12 mmHg						
1	0,09 ± 0,01	0,59 ± 0,04	130,5 ± 0,71	67 ± 3,5	16,03 ± 0,01	0,8 ± 0,40
2	0,18 ± 0,02	1,1 ± 0,13	130,5 ± 0,71	76 ± 2,1		
3	0,4 ± 0,18	3 ± 1,1	130 ± 0,0	87,5 ± 0,7		
4	0,3 ± 0,11	2,1 ± 0,71	130 ± 0,0	97 ± 2,1		
Fondo	14,23 ± 0,08	88,7 ± 0,57				

Anexo 4. Cromatogramas de las fracciones (F) obtenidas en la rectificación del AE de palmarrosa a presión de 4 mmHg. 1. Linalol; 2. Geraniol; 3. Acetato de geraniol; 4. Istd (*n*-tetradecano).



Anexo 5. Cromatogramas de las fracciones (F) obtenidas en la rectificación del AE de palmarrosa a la presión de 8 mm g. 1. *trans*- β -Ocimeno; 2. Linalol; 3. Geraniol; 4. Acetato de geranilo; 5 Istd (*n*-tetradecano).



Anexo 6. Composición en el equilibrio de la mezcla geraniol-acetato de geranilo a 12 y 2 mm Hg generadas por el software *Aspen Plus*®.

Temperatura °C	Fracción másica del geraniol	Presión 12 mm Hg			
		Vapor		Líquido	
		Fracción másica del geraniol	Fracción másica del acetato de geranilo	Fracción másica del geraniol	Fracción másica del acetato de geranilo
121,03	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000
120,62	0,025	0,039	0,961	0,025	0,975
120,23	0,050	0,076	0,924	0,050	0,950
119,86	0,075	0,112	0,888	0,075	0,925
119,52	0,100	0,147	0,853	0,100	0,900
119,20	0,125	0,180	0,820	0,125	0,875
118,89	0,150	0,211	0,789	0,150	0,850
118,60	0,175	0,242	0,758	0,175	0,825
118,33	0,200	0,272	0,728	0,200	0,800
118,07	0,225	0,301	0,699	0,225	0,775
117,82	0,250	0,329	0,671	0,250	0,750
117,59	0,275	0,356	0,644	0,275	0,725
117,36	0,300	0,383	0,617	0,300	0,700
117,15	0,325	0,408	0,592	0,325	0,675
116,95	0,350	0,434	0,566	0,350	0,650
116,76	0,375	0,458	0,542	0,375	0,625
116,58	0,400	0,482	0,518	0,400	0,600
116,41	0,425	0,506	0,494	0,425	0,575
116,24	0,450	0,529	0,471	0,450	0,550
116,08	0,475	0,552	0,448	0,475	0,525
115,93	0,500	0,575	0,425	0,500	0,500
115,79	0,525	0,597	0,403	0,525	0,475
115,66	0,550	0,619	0,381	0,550	0,450
115,52	0,575	0,641	0,359	0,575	0,425
115,40	0,600	0,662	0,338	0,600	0,400
115,28	0,625	0,684	0,316	0,625	0,375
115,17	0,650	0,705	0,295	0,650	0,350
115,06	0,675	0,726	0,274	0,675	0,325
114,96	0,700	0,747	0,253	0,700	0,300
114,86	0,725	0,768	0,232	0,725	0,275
114,77	0,750	0,789	0,211	0,750	0,250
114,68	0,775	0,810	0,190	0,775	0,225
114,59	0,800	0,831	0,169	0,800	0,200
114,51	0,825	0,852	0,148	0,825	0,175
114,43	0,850	0,873	0,127	0,850	0,150
114,35	0,875	0,894	0,106	0,875	0,125
114,28	0,900	0,915	0,085	0,900	0,100
114,22	0,925	0,936	0,064	0,925	0,075
114,15	0,950	0,957	0,043	0,950	0,050
114,09	0,975	0,978	0,022	0,975	0,025
114,03	1,000	1,000	0,000	1,000	0,000

Temperatura °C	Fracción másica del geraniol	Presión 2 mm Hg			
		Vapor		Líquido	
		Fracción másica del geraniol	Fracción másica del acetato de geraniol	Fracción másica del geraniol	Fracción másica del acetato de geraniol
84,93	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000
84,49	0,025	0,043	0,957	0,025	0,975
84,08	0,050	0,084	0,916	0,050	0,950
83,71	0,075	0,122	0,878	0,075	0,925
83,37	0,100	0,157	0,843	0,100	0,900
83,06	0,125	0,191	0,809	0,125	0,875
82,78	0,150	0,223	0,777	0,150	0,850
82,51	0,175	0,253	0,747	0,175	0,825
82,27	0,200	0,282	0,718	0,200	0,800
82,04	0,225	0,310	0,690	0,225	0,775
81,83	0,250	0,336	0,664	0,250	0,750
81,64	0,275	0,362	0,638	0,275	0,725
81,46	0,300	0,387	0,613	0,300	0,700
81,30	0,325	0,411	0,589	0,325	0,675
81,14	0,350	0,434	0,566	0,350	0,650
81,00	0,375	0,457	0,543	0,375	0,625
80,86	0,400	0,479	0,521	0,400	0,600
80,74	0,425	0,501	0,499	0,425	0,575
80,63	0,450	0,522	0,478	0,450	0,550
80,52	0,475	0,543	0,457	0,475	0,525
80,42	0,500	0,564	0,436	0,500	0,500
80,33	0,525	0,585	0,415	0,525	0,475
80,25	0,550	0,605	0,395	0,550	0,450
80,17	0,575	0,626	0,374	0,575	0,425
80,10	0,600	0,646	0,354	0,600	0,400
80,03	0,625	0,667	0,333	0,625	0,375
79,97	0,650	0,687	0,313	0,650	0,350
79,92	0,675	0,707	0,293	0,675	0,325
79,87	0,700	0,728	0,272	0,700	0,300
79,83	0,725	0,749	0,251	0,725	0,275
79,79	0,750	0,770	0,230	0,750	0,250
79,75	0,775	0,791	0,209	0,775	0,225
79,72	0,800	0,813	0,187	0,800	0,200
79,70	0,825	0,834	0,166	0,825	0,175
79,68	0,850	0,857	0,143	0,850	0,150
79,66	0,875	0,879	0,121	0,875	0,125
79,65	0,900	0,902	0,098	0,900	0,100
79,64	0,925	0,926	0,074	0,925	0,075
79,64	0,950	0,950	0,050	0,950	0,050
79,64	0,975	0,975	0,025	0,975	0,025
79,65	1,000	1,000	0,000	1,000	0,000

Anexo 7. Gráficas de McCabe Thiele generadas por vaxa *MCTH* - Number of theoretical trays by McCabe, a 12 mm Hg.

