

## Tesis de Posgrado

# El ácido linolénico como componente menor y normal de aceites de oliva

Crespo, Fernando

1958

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Crespo, Fernando. (1958). El ácido linolénico como componente menor y normal de aceites de oliva. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0966\\_Crespo.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0966_Crespo.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Crespo, Fernando. "El ácido linolénico como componente menor y normal de aceites de oliva". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1958.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0966\\_Crespo.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0966_Crespo.pdf)

FCEN-BA

**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**EL ACIDO LINOLENICO COMO COMPONENTE MENOR Y NORMAL DE  
ACEITES DE OLIVA.**

**TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTOR EN QUIMICA.**

**FERNANDO CRESPO**

**BUENOS AIRES**

**1956**

*TESIS: 966*

*Tesis 966*

Quiero manifestar mi agradecimiento al Dr Pedro Cattaneo, que dirigió este trabajo y me alentó en todo momento, con su palabra y con su obra.

Asimismo agradezco a las Dras G. Karman de Surten y M.E. Bertoni su generosa colaboración.

Mi reconocimiento también a la Dirección Nacional de Química, que por intermedio del Dr Cattaneo me facilitó sus laboratorios para la realización de este trabajo.

## INTRODUCCIÓN Y DISCUSIÓN DE LA PARTE EXPERIMENTAL.

### ENSAYOS PRELIMINARES.

Este trabajo tenía por objetivo, en un principio, la detección del aceite de patas bovino en mezclas con aceites de oliva, una forma reciente de adulteración de éstos últimos.

El método más difundido para probar la presencia de grasas de origen animal en aceites vegetales (1) se basa en que los respectivos esteroides dan derivados acilados que funden a distinta temperatura. La existencia de colesterol produce un descenso en el punto de fusión de la mezcla. Empero, pequeñas cantidades de grasas o aceites animales no son detectables por este procedimiento, dado que la depresión producida en el punto de fusión es también pequeña, y, por otra parte, los fito-esteroides acilados no funden siempre a la misma temperatura.

Bragg (2) obvia esta dificultad aislando el derivado bromado del acil-colesterol y regenerando por desbromación el compuesto originario. Este método es largo y tedioso, exigiendo extremar las precauciones en la purificación del material.

Danz (3) hace una revisión del problema y llega a la conclusión de que no es posible detectar la contaminación de aceite de oliva con aceites de origen animal.

Otros autores (4)(5) sugieren que la existencia de ácido araquidónico en grasas animales puede servir para revelar su presencia en mezclas con aceites vegetales (dosando dicho ácido por espectrofotometría en el ultravioleta, una vez isomerizado por conjugación en medio alcalino).

Con esta finalidad investigamos la presencia del ácido araquidónico entre los componentes del aceite de patas bovino. Aún cuando existen numerosas referencias sobre contenido en araquidónico de grasas diversas, (6)(7)(8)(9)(10)(11)(12)(13)(14), la literatura no registra antecedentes respecto al aceite

de patas bovino (15)(16).

Para ello efectuamos la bromación de cinco gramos de ácidos grasos totales, disueltos en 20 ml de éter etílico, a 0°C y con lente agregado de bromo.

Después de tres horas de reposo en baño de hielo, el precipitado fué separado por centrifugación, lavado con éter frío y con benceno hirviendo, secado y pesado. Al mismo procedimiento fueron sometidos los ésteres metílicos y etílicos de los ácidos grasos de aceites de patas.

Los precipitados fueron reconocidos por sus puntos de fusión; siempre funden con descomposición y desprendimiento de gases.

ACEITE	SUSTANCIA BROMADA	POLIBROMUROS %	P. de FUSION
Dunlop y Bern	Acidos totales	0,06	242-244°
Swift	Acidos totales	0,10	250°
Swift	Esteres metílicos	0,10	245-247°
Swift	Esteres etílicos	0,09	246-248°

El precipitado que se separa por centrifugación es blanco, voluminoso, fácilmente identificable por su insolubilidad en benceno hirviendo y por su punto de fusión característico.

Por consiguiente se pensó detectar al aceite de patas por su propiedad de dar polibromuros. Tomamos los ácidos grasos totales, de mezclas de aceites de patas bovino y de oliva en distintas proporciones, sometiéndoles al método de bromación arriba descrito. Con menos de 10 % de aceite de patas el precipitado es demasiado exiguo para ser reconocido con seguridad.

#### EMPLEO DE TÉCNICAS DE CONCENTRACION EN ACIDOS TRI- A POLIETILENICOS POR FORMACION DE COMPUESTOS DE INCLUSION CON UREA (ADUCTOS).

Los compuestos de inclusión con urea han sido señalados (17)(18) de utilidad para fraccionar mezclas de ácidos grasos, dado que los ácidos saturados y monoetilénicos de cadena normal forman tales compuestos con mucha más fa-

ilidad que los di- a polietilénicos.

Las técnicas de separación importan al tratamiento de las mezclas a fraccionar con solventes que no formen aductos de por sí, y con cantidades apropiadas de urea ( 15 a 20 moles por mol medio de ácidos grasos).

El problema planteado, la investigación del aceite de patas en aceite de oliva, permite el empleo de estas técnicas a los fines de obtener concentrados de ácidos tri- a polietilénicos. En efecto, los aceites de oliva de producción nacional presentan valores de composición en ácidos grasos que oscilan dentro de los siguientes valores máximos y mínimos:

**CUADRO I.- Aceites de oliva de producción nacional. Composición en ácidos grasos- ( % de ácidos totales). (19)**

ACIDO	MINIMO	MAXIMO
Mirístico	0,1	2,4
Palmitico	9,8	20,0
Estearico	0,3	2,9
Araquídico	0,1	1,3
Palmitoleico	0,2	3,4
Oleico	54,0	79,1
Linoleico	5,3	22,7

Por otra parte, los aceites llamados de pata de ganado bovino presentan valores de composición en ácidos grasos que, tomados de la literatura, han sido resumidos en el Cuadro II. ( pág. 5)

Los cuadros I y II señalan que en aceites de oliva y en aceites de pata de ganado bovino, las concentraciones en ácidos di- a polietilénicos son sumamente bajas, pudiendo deducirse que en el fraccionamiento de los ácidos totales a través de la formación de compuestos de inclusión con urea permitirá fácilmente la eliminación de los ácidos saturados, de la mayor parte de los monoetilénicos y de parte de los ácidos octadecadecimicos, obteniendo una fracción que no forma compuestos de inclusión, en la que se concentran los ácidos tri- a polietilénicos.

**CUADRO II. Aceites de patas bovino. Composición en ácidos grasos.**

ACIDO	De Luca (20)	Hilditch y Shrivastava (16)	Hasan (21) (a)	Hasan (21) (b)	Hasan (21) (c)
Mirístico	1,1	0,7	1,6	1,1	1,4
Palmitico	15,8	16,9	25,3	21,3	19,0
Estearico	6,2	2,7	5,2	6,4	3,8
Araquídico	0,1	0,1	---	0,4	0,2
Tetradecenoico	1,0	1,2	0,8	0,6	1,0
Hexadecenoico	10,3	9,4	5,8	3,1	5,8
Octadecenoico	58,4	64,4	48,7	57,3	60,5
Octadecadienoico	6,0	2,3	12,1	9,1	7,6
Octadecatrienoico	vest.	0,6	vest.	vest.	vest.
No sat. en C <sub>20</sub>	1,1(d)	1,6	0,5(e)	0,7(f)	0,7(g)

(a): de huesos de canillas

(b): de huesos carpos y tarsos

(c): de huesos cuneibijes

(d): Ácidos en C<sub>20</sub> (-3,98 H)

(e): Ácidos en C<sub>20</sub> (-3,40 H)

(f): Ácidos en C<sub>20</sub> (-3,41 H)

(g): Ácidos en C<sub>20</sub> (-3,48 H)

**APLICACION AL CASO DE ACEITES DE OLIVA**

Al tratar de investigar la presencia de aceites de patas en aceite de oliva mediante el empleo de las técnicas que hacen uso de los aductos con urea, como medio de obtener concentrados de los ácidos polietilénicos (araquidónico), se estimó prudente su aplicación previa a los aceites de oliva, desde que la literatura hace referencia a contenidos en ácido linoléico en concentraciones que van de 0,3 a 1,0 % en estos aceites, y que figuran a continuación:

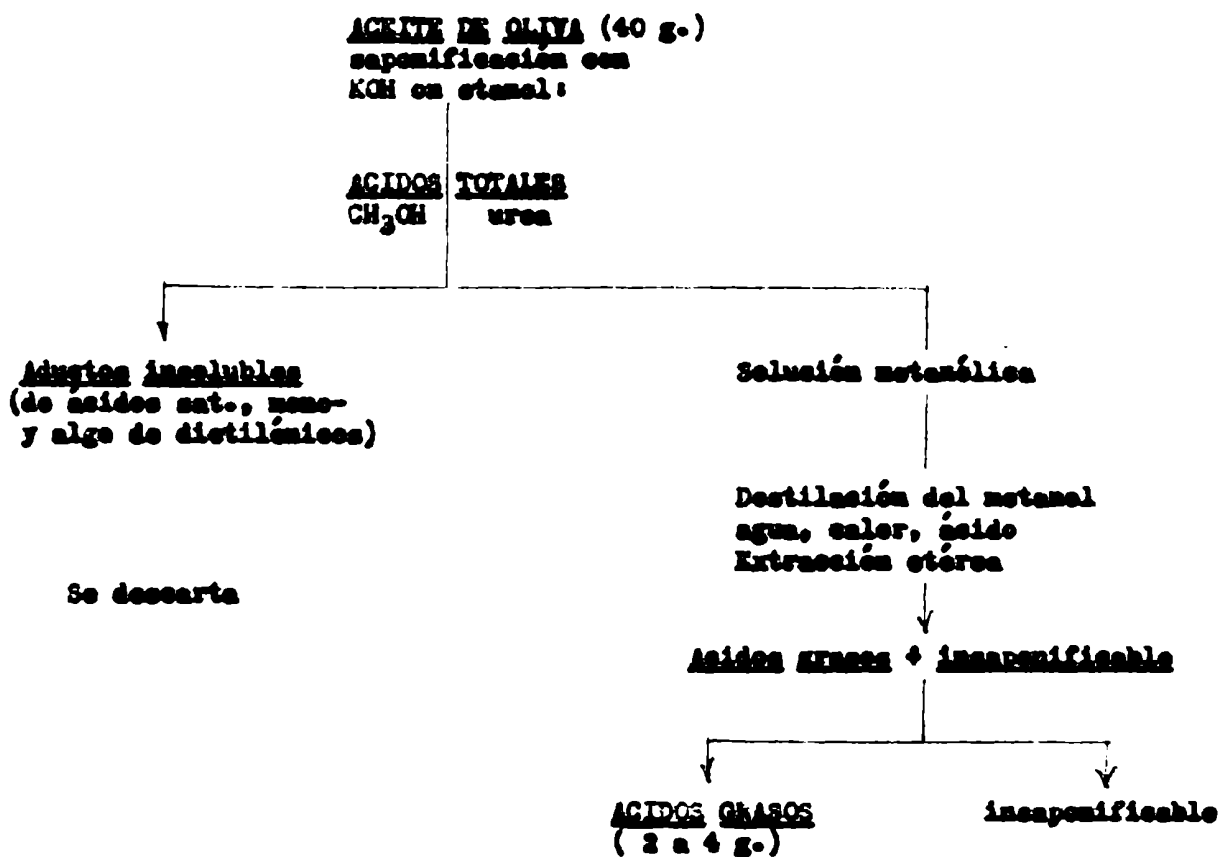
**CUADRO III. Ácidos tri- y tetraetilénicos en aceites de oliva.**

ORIGEN DEL ACEITE	LINOLENICO %	CITA	OBSERVACIONES
Desconocido	0,60	(22)	0,01 % de araquidónico
California	1,0	(23)	Ne indica el método usado
Portugal	0,36	(24)	Promedio de varios aceites.
Desconocido	0,6-0,7	(25)	Con t-butanol-K obtiene 1,3-1,4 %
España	0,65	(5)	0,02 % de araquidónico
Marruecos	0,91	(5)	
Francia	0,57	(5)	0,01-0,02 % de araquidónico
Italia	0,54	(5)	
Desconocido	0,61	(26)	
Desconocido	0,9	(27)	El mismo aceite de (25)

Sin embargo, no existe al presente ninguna información en el sentido de la identificación de ácidos tri- a polietilénicos como componentes normales del aceite de oliva. Los valores que figuran en la literatura corresponden a mediciones espectrofotométricas en el ultravioleta, luego de conjugación por isomerización alcalina. Dichas absorciones en el ultravioleta no son específicas del ácido linolénico, puesto que cualquier molécula conteniendo trienes conjugados las produce, por lo tanto no implican la identificación de dicho ácido.

La aplicación de las técnicas por formación de aductos con urea al caso de los aceites de oliva supone la eliminación del insaponificable, desde que debiéndose operar a posteriori por bromación en éter etílico a 0°C, cabe esperar la precipitación del derivado dodecabromado del hidrocarburo ergosterol, (presente en los insaponificables de todos los aceites de oliva).

En consecuencia se planeó un sistema de trabajo que se reproduce en el siguiente esquema:





Los detalles de la aplicación de esta técnica figuran en la parte experimental, pero se puede anticipar que en el fraccionamiento con urea se empleó a ésta en la relación de 20 moles por mol medio de ácidos grasos a separar.

Asimismo se señala que el índice de iodo registrado en la fracción final (que no forma aductos), oscila entre valores de 128 a 157, lo que indica una fuerte concentración en ácido linoleico y/o en ácidos de mayor insaturación.

En consecuencia se aplicó esta técnica a diez aceites de oliva argentinos procedentes de frutos cosechados en las distintas zonas de producción y de cuya genuinidad no cabían dudas, con los resultados experimentales que figuran en el Cuadro IV:

**CUADRO IV. Aplicación del fraccionamiento por urea en material a aceites de oliva de producción nacional.**

ACEITE		Acidos totales en separación		Acidos grasos + insap. que no forman aduct.		Acidos libres de insap. que no forman aduct.	
Origen	I. de I.	g.	g.	I. de I.	g.	I. de I.	
Bs Aires	79,3	30,0	2,86	140	2,51	128	
San Juan	84,1	30,0	4,46	142	4,06	148	
Catamarca	89,4	30,0	4,63	151,2	4,17	149	
Río Negro	90,0	30,0	3,16	143,2	2,86	133,6	
La Rioja	86,2	30,0	3,09	155	2,77	139	
E. Ríos	84,3	30,0	3,99	150	3,57	151,5	
E. Ríos	84,4	30,0	4,04	152	3,74	148	
Córdoba	84,2	30,0	3,53	150,3	3,26	152,2	
San Juan	83,7	30,0	2,70	148,6	2,52	156,5	
Mendoza	85,0	30,0	3,33	148,2	3,05	132,5	

Es visible la concentración lograda en ácidos di- a polistilénicos de los ácidos totales en todos los casos, como se deduce de la pequeña cantidad en gramos de los concentrados obtenidos, y de sus elevados índices de iodo en relación con los índices de iodo de los aceites de partida.

Con el fin de verificar la precipitación del escualeno ( como derivado dedecabrenado) se bromó un concentrado así obtenido, sin liberarle del in-

saponificable, obteniéndose a 0°C y después de varias horas un insoluble en éter etílico, que fundió a 183°C con descomposición. El derivado bromado del escualeno funde con descomposición a 186° (28) - 187-189° (29); la temperatura de fusión obtenida es algo menor, lo que indica una mezcla.

Se procedió luego a bromar los ácidos libres de insaponificable que forman los concentrados obtenidos a partir de los diez aceites de oliva considerados en el cuadro IV. (Se adoptaron las condiciones de bromación fijadas por Elitz y Bragg) (30).

En todos los casos, después de 20 horas de reposo a 0°C, se obtuvieron precipitados que separados por centrifugación y convenientemente lavados con éter etílico anhidro y frío, fundieron sin descomposición a alrededor de 180-182°C, temperaturas coincidentes con la que corresponde al ácido  $\alpha$ -hexabromosteárico obtenido por bromación del ácido linoléico.

No se observó depresión por fusión mezcla con éste último. Por otra parte, dichos precipitados señalaron un contenido en bromo de 63,8 % (Stenogy) (31), coincidente con el que corresponde al ácido  $\alpha$ -hexabromosteárico, de 63,3 %. También se determinó el equivalente de neutralización del precipitado, hallándose el valor de 764, suficientemente concordante con el valor calculado (757,9).

En otra experiencia, un concentrado de ácidos libre de insaponificable, obtenido por fraccionamiento con urea, fué esterificado con metanol, bromándose los ésteres metílicos en las condiciones señaladas. Se aisló un insoluble en éter etílico que funde a 156,5°C, no produciendo depresión su fusión mezcla con el derivado bromado del linoleato de metilo. (Erismann y Radford) asignan a esta sustancia un punto de fusión de 157-158°C (32).

Todas estas experiencias señalan en forma indudable que los aceites de oliva argentinos, elaborados con frutos cosechados en las distintas zonas de producción contienen pequeñas cantidades de ácido linoléico.

Idénticas experiencias practicadas sobre un aceite de olivas de proceden-

cia italiana dieron los mismos resultados. Como ensayo confirmatorio y no disponiendo de aceitunas maduras recién cosechadas, (por no ser época de cosección de frutos) se procedió a separar en el laboratorio el aceite de aceitunas de mesa conservadas en salmuera; sobre el aceite así obtenido se practicaron las experiencias anteriores, confirmando la existencia de pequeñas cantidades de ácido linoléico.

Sobre los ácidos grasos totales de dos aceites de oliva se hizo el fraccionamiento de sus jabones de litio, según la técnica de Toussaint (23); en los concentrados de ácidos libres de insaponificable se practicó la bromación en las condiciones arriba señaladas, obteniéndose también precipitados de ácido  $\alpha$ -hexabromosteárico.

En consecuencia cabe afirmar que ha sido probada la existencia normal de pequeñas cantidades de ácido linoléico como componente normal de aceites de oliva, destacando que no hemos hallado al respecto información bibliográfica anterior.

Ante el deseo de establecer los probables valores de concentración de dicho ácido se practicaron determinaciones cuantitativas de polibromuros.

Partimos de concentrados de ácidos libres de insaponificable de dos aceites de oliva argentinos, utilizando la técnica de bromación de White y Brown (30). Se encontraron 0,376 y 0,192 gramos de hexabromuro por cien gramos de ácidos totales. Asignando al ácido linoléico puro un número de polibromuro de 92 (34) corresponden a dichos aceites concentraciones de 0,41 y 0,21 % de ese ácido.

Estas cifras deben ser consideradas bajas en razón de que no tenemos la absoluta seguridad de que parte del ácido linoléico no haya quedado bajo la forma de aductos insolubles u oculto en los mismos.

Por otra parte, con el método de interpolación de White y Brown (30) se hallan porcentajes de 0,90 y 0,62 en linoléico, valores concordantes con los hallados por espectrofotometría.

PORTE EXPERIMENTAL-

1) Obtención de los ácidos grasos totales-

Se saponifican 40 g de aceite con una solución de 12 g de hidróxido de potasio en 150 ml de etanol de 95%, hirviendo a reflujo durante una hora. Se recupera por destilación 75 ml de alcohol, se diluye con 150 ml de agua y se acidifica hasta viraje del metil-orange. Se extrae dos veces con éter etílico, se lavan los extractos etéreos con agua destilada, se secan con sulfato de sodio anhidro, se filtra y se recupera el solvente.

Los ácidos grasos más el insaponificable se calientan en estufa de vacío a 100°C y 10 mm de presión, y se conservan en atmósfera de nitrógeno.

---

2) Concentración en ácidos no saturados a partir de la formación de compuestos de inclusión con urea (aductos).

Se pesa en un matraz Erlenmeyer 30,0 g de ácidos grasos totales de aceite de oliva y se agrega 130 g de urea y 300 ml de metanol de 99-100%. Se conecta un refrigerante en posición de reflujo y se hierve hasta total disolución. Se deja una noche, a una temperatura de alrededor de 20°C.

El voluminoso precipitado que se forma es filtrado por un embudo Büchner con succión, lavándose dos veces con 30 ml de metanol cada vez. Dicho precipitado se desecha, comprendiendo principalmente aductos de ácidos saturados, monoetilénicos y algo de dietilénicos.

Los líquidos de lavado se unen al filtrado, se destila casi todo el metanol y el residuo se disuelve con 100 ml de agua. Se ebulle a 50-60°C y se acidifica con algunas gotas de ácido clorhídrico, hasta viraje del metil-orange. El líquido aceitoso que se separa (ácidos grasos más insaponificable) es extraído tres veces con éter etílico. Los extractos etéreos se lavan con agua, se secan con sulfato de sodio anhidro, se filtra y se destila el éter.

El residuo se calienta en estufa de vacío a 100°C y 10 mm de presión, y se pesa. Sobre esta fracción se determina el índice de iodo, guardándose bajo nitrógeno para prevenir oxidaciones.

---

3) Concentración en ácidos no saturados a partir de la precipitación de los jabones de litio.

Para operar este fraccionamiento se siguió la técnica de Tsujimoto (33), que se basa en la distinta solubilidad de los jabones de litio en acetona de 95 %.

Con ese objeto se disuelve 37,0 g de ácidos totales en 543 ml de acetona anhidra, neutralizando luego con 18 ml de agua amoniacal (D: 0,910). Se agrega lentamente una solución de 9,2 g de cloruro de litio en 12,6 g de agua; agítase enérgicamente durante media hora y se resaca de hielo. A las tres horas se filtra con succión y se lava con 35 ml de acetona de 95 % enfriada a 0°C. El precipitado se descarta y el filtrado más el líquido de lavado se concentra por destilación.

El residuo se diluye con 100 ml de agua tibia, se acidifica hasta viraje del metil-orange a fin de decomponer los jabones de litio y se extrae tres veces con éter etílico. Los extractos etéreos se lavan con agua destilada, se secan con sulfato de sodio anhidro y se recupera el solvente. El residuo, constituido por ácidos no saturados e insaponificable, se calienta a 100°C y 10 mm de presión en estufa de vacío y se pesa.

Sobre esta fracción se determina el índice de iodo.

---

4) Separación del insaponificable de los concentrados anteriores.

Por cada gramo de concentrado se agrega 10 ml de potasa alcohólica al 40 e/ce y 20 ml de agua destilada. Se transfiere a una ampolla y se extrae

---

una vez con 20 ml de éter etílico y luego tres veces con 10 ml cada vez.

De dichos extractos se aísla el insaponificable, lavando sucesivamente con agua, con soda cáustica diluida y finalmente con agua hasta que los lavados no sean alcalinos a la fenolftaleína; se seca con sulfato de sodio anhidro y se recupera el éter, calentando el residuo en estufa de vacío.

La solución acuosa de los jabones se descompone con ácido clorhídrico, hasta viraje del metil-orange, y se extrae tres veces con éter etílico. Los extractos etéreos se lavan con agua, se secan con sulfato de sodio anhidro y se destila el solvente. El residuo se calienta en estufa de vacío a 100°C y 10 mm de presión, y se pesa. Se determina su índice de iodo.

Esta fracción, constituida por ácidos no saturados libres de insaponificable, es altamente oxidable y se conserva en atmósfera de nitrógeno.

---

#### 5) Resultados experimentales.

El esquema de trabajo es el reproducido en la página 6. La aplicación del fraccionamiento con urea a diez aceites de oliva genuinos dió los valores que figuran en el Cuadro IV (pág. 7). El mismo procedimiento ensayado sobre un aceite de olivas italiano y sobre un aceite extraído en el laboratorio de aceitunas en salmuera condujo a los siguientes resultados:

CUADRO V. Fraccionamiento con urea en metanol de aceites de oliva.

ACEITE		Acidos totales en <u>separación</u>	Acidos grasos + insap. que no <u>forman aductos</u>		Acidos libres de insap. que no <u>forman aductos</u>	
Origen	I. de I.		g.	g.	I. de I.	g.
Italia	81,5	30,0	2,88	158,3	2,55	139,5
Acetitunas	80,7	17,0	2,33	---	1,81	---

La separación mediante la precipitación de los jabones de litio dió los valores que figuran a continuación :

CUADRO VI. Fraccionamiento de aceites de oliva por los jabones de litio.

ACEITE		Ácidos tot. <u>a fraccionar</u> g.	Concentrado libre <u>de insaponificable</u> g.	
Origen	I.de I.			I.de I.
San Juan	84,1	57,0	2,13	138
Entre Ríos	84,4	57,0	2,19	133,7

Como puede verse, tanto el rendimiento en peso como el índice de iodo de los concentrados son menores que los obtenidos de los mismos aceites mediante el fraccionamiento con urea.

6) Bromación de los anteriores concentrados de ácidos grasos.

Cada concentrado de ácidos no saturados libre de insaponificable se disuelve en éter etílico, a razón de 20 ml por cada gramo de material. Se reduce de hielo machacado y se broma lentamente, agregando bromo desde una fina pipeta, gota a gota; al mismo tiempo se agita para evitar aumentos locales de temperatura.

Cuando toma un color rosado persistente se guarda en un vaso-termo rodeado de hielo. A la hora generalmente no hay precipitación; a las tres horas se ve turbio y a las 20 horas de reposo aparece en el fondo un precipitado blanco, de granos gruesos.

Se pasa a un tubo de centrifuga tarado y se centrifuga. Se lava seis veces con éter anhidro y frío, se seca en estufa a 60-70°C y se pesa.

Esta determinación es aproximada, desde que el precipitado no puede ser transferido cuantitativamente.

Los resultados figuran en el Cuadro VII:

CUADRO VII. Bromación de los concentrados de ácidos no saturados.

ACEITE	Acidos tot. originales	Fracción a bromar	Precipitado	Polibromuros	P. de F. °C	P. de F. masilla °C
Origen	g.	g.	mg.	%		
Ba Aires	30,0	2,51	---	---	181	181,5
San Juan	30,0	4,06	92,6	0,21	180,5	181,3
Catamarca	30,0	4,17	42,0	0,14	179,5	180,5
Río Negro	30,0	2,86	47,0	0,16	180,5	181,3
La Rioja	30,0	2,77	60,3	0,20	181,3	182
Entre Ríos	30,0	3,37	46,0	0,15	181	181,7
Entre Ríos	30,0	3,74	67,2	0,22	181	181,5
Córdoba	30,0	3,26	32,6	0,11	180,5	181,7
San Juan	30,0	2,52	37,1	0,19	180,2	182
Mendoza	30,0	3,05	35,6	0,12	181	181,5
Italia	30,0	2,55	74,5	0,25	181	181,5
Acetunas ext.	17,0	1,81	54,1	0,32	179,8	181
San Juan (*)	57,0	2,13	47,6	---	180,5	181,5
Entre Ríos (*)	57,0	2,19	7,5	---	181,5	182,3

(\*) : Separados por fraccionamiento de los jabones de litio en acetona.

7) Determinación cuantitativa del ácido linolénico.

Se toma dos de los aceites de oliva anteriormente ensayados y se somete sus ácidos totales al fraccionamiento por formación de aductos con urea.

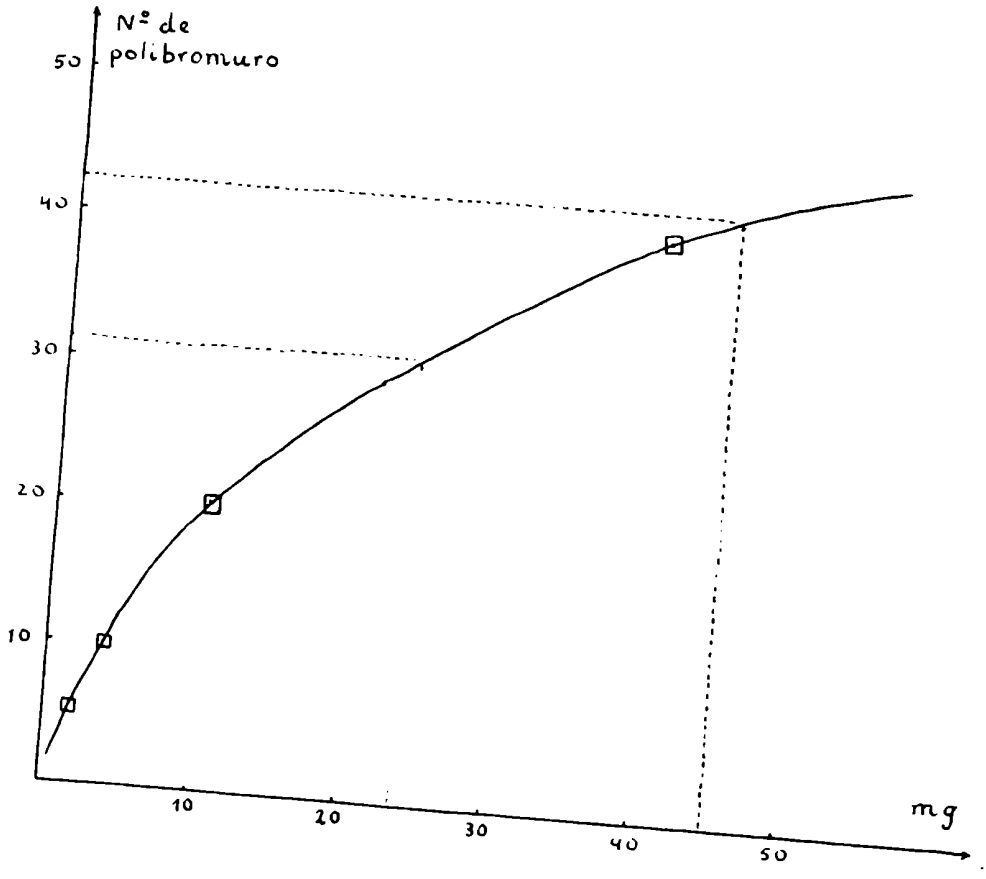
Seguimos el método detallado en la página 10, con la única modificación de que el lavado del precipitado se hace una vez con 25 ml de metanol y tres veces con 25 ml de benceno cada vez. Este tiene por finalidad arrastrar al máximo el linolénico que podría quedar oculto en la masa de aductos. Los líquidos de lavado se unen al filtrado y se sigue del modo usual.

La determinación del ácido linolénico en el concentrado libre de insaponificable se efectúa mediante el número de polibromuro.

Para ello usamos la siguiente adaptación del método de White y Brown (30) : se pesa un gramo del concentrado en un tubo de centrifuga tarado, de 25 ml ; se disuelve con 18 ml de éter etílico destilado sobre sodio, se enfría a 0°C y se broma con cuidado, agitando bien ; se lava el agitador con 1-1½ ml de éter y se guarda una noche rodeado de hielo. Al día siguiente se centrifuga



1.0 \*



y se lava el precipitado tres veces, con 18 ml de éter anhidro y a 0°C cada vez. Se seca una noche a 50-60° y se pesa.

Los valores experimentales se resumen a continuación:

ACEITE	Acidos a	Concen-	Perción	Polibro-	P. de F.	Acido	Polibro-
Origen	SEPARAR	trada	brada	uros	°C	linoléico	uros
	g.	g.	g.	g.		% ácidos	%
San Juan	30,00	5,1865	1,0260	0,0227	180	0,41	0,376
E. Ríos	30,00	4,7742	0,9766	0,0118	181	0,21	0,192

Los porcentajes de ácido linoléico fueron calculados asignando al ácido puro un número de polibromuro de 92, según la fórmula de Shinowara y Brown (34):

$$\% \text{ de ácido linoléico} = \frac{\% \text{ de Polibromuros} \times 100}{92}$$

Dado que el rendimiento en polibromuros depende de las condiciones experimentales, y en particular de la concentración de linoléicos en la muestra, White y Brown (30) proponen reemplazar el coeficiente 92 por el valor empírico que corresponda a la concentración de linoléico presente.

El gráfico adjunto fué construido conforme con los datos que suministran White y Brown. En abscisas figuran los rendimientos de polibromuros en mg; en ordenadas los números que corresponde usar en lugar de 92, en cada caso.

Los miligramos de polibromuros obtenidos en nuestras experiencias son multiplicados por 2, ya que redujimos al medio la técnica original; interpolando esas cifras en el gráfico hallamos los valores de 42 y 31 respectivamente. Calculando el porcentaje de linoléico se encuentra 0,90 % para el aceite de San Juan y 0,62 % para el de Entre Ríos (ácido linoléico % ácidos totales).

8) Otención de hexabromosteárico de metilo.

Se fracciona con urea y metanol 20 g de ácidos totales de un aceite de oliva (San Juan). El concentrado libre de insaponificable (3,78 g) se esterifica hirviendo una hora a reflujo con 15,2 g de metanol y 0,075 g de sulfúrico concentrado, como catalizador.

Se diluye con agua, y se extrae con éter etílico; el extracto se lava con carbonato de sodio diluido, para separar los ácidos libres, luego con agua, se seca con sulfato de sodio anhidro y se destila el éter.

Los ésteres metílicos así obtenidos se disuelven en 40 ml de éter anhidro y se broman a 0°C. Después de estar 20 horas rodeado de hielo se centrifuga, y el precipitado se lava con éter frío, se seca y se pesa.

Rendimiento: 0,0365 g. Punto de fusión: 156,5°C.

El punto de fusión mezcla con sustancia de pureza conocida no mostró depresión. Erdmann y Bedford (32) señalan un punto de fusión de 157-158°C.

---

9) Reconocimiento del ácido hexabromosteárico.

En cada caso se tomó el punto de fusión del precipitado y el punto de fusión mezcla con hexabromosteárico puro. Los valores figuran en el Cuadro VII (pág. 14) y coinciden con el correspondiente a esa sustancia.

Dada la exigua cantidad de material se reunió todas las precipitados, purificándose del siguiente modo: se disuelve en benceno hirviendo, filtrando en caliente para separar cualquier partícula extraña; seguidamente se evapora el benceno y el residuo se lava dos veces con éter etílico frío y se seca.

Sobre este producto recristalizado se determina el contenido en bromo, según la técnica de Stepanov (31).

La muestra pesada se coloca en un Erlenmeyer de 150 ml y se disuelve en caliente con 20 ml de etanol de 98 %. En el transcurso de 20 minutos se añade

sodio metálico, cortado en pequeños trozos, en la cantidad de 0,9 g por cada 0,1 g de hexabromosteárico. Se conecta un refrigerante de aire y se calienta media hora más sobre bañe-maria, con suave reflujo.

Se diluye con 20 ml de agua y se evapora el alcohol; se acidifica con ácido nítrico 1:1, se agrega 100 ml más de agua destilada y se precipita con solución de nitrato de plata. El precipitado se transfiere a un crisol con fondo de porcelana filtrante y se lava primero con ácido acético caliente, luego con agua acidulada con ácido nítrico y finalmente con acetona.

Se seca dos horas a 120° y se pesa.

Ensayo	Muestra (g)	BrAg (g)	Br % hallado	Br % calculado
1	0,0708	0,1061	63,8	63,3
2	0,0577	0,0865	63,8	63,3

Stearoxy en su memoria original desea al halógeno según Volhard-Sarti (35) indica que se puede determinar también gravimétricamente. Los valores experimentales concuerdan con el teórico.

Para determinar el equivalente de neutralización se pesa alrededor de 0,1 g de muestra, se disuelve en 10 ml de benceno hirviendo y se le añade 20 ml de etanol de 95°. Se titula con hidróxido de sodio 0,02 N en tibio, usando fenolftaleína como indicador. Se descuenta un valor blanco efectuado con los mismos reactivos.

Muestra	NaOH 0,02 N f:1,012	FM hallado	FM calculado
0,0912 g	5,90 ml	764	757,9

---

CONCLUSIONES

1) Tratando de establecer un procedimiento tendiente a revelar la presencia de aceite de patas de ganado bovino, en mezclas con aceites de oliva, se ha desarrollado un método que comprende la aplicación de técnicas por formación de compuestos de inclusión con urea en metanol a partir de los ácidos totales, que permite una importante concentración de los ácidos di- a poliinsaturados presentes.

2) Aplicando dicho procedimiento al caso de un aceite de oliva, se aisló un concentrado de ácidos formado fundamentalmente por ácido linoléico y componentes del insaponificable. La bromuración directa de este concentrado a 0°C en éter etílico anhidro produce un insoluble que funde a 183° (desc.), formado muy probablemente por el derivado dodecaborado del hidrocarburo esencial. La aplicación del método de bromuración a un concentrado tal, libre de insaponificable, produce un insoluble que funde netamente y sin descomposición entre 180 y 182°C, y que ha sido reconocido como ácido  $\alpha$ -hexabromoesteárico (derivado bromado del ácido linoléico).

3) A partir de los concentrados en ácidos di- a poliinsaturados obtenidos de diez aceites gominos de oliva argentinos separados de frutos cosechados en las distintas zonas de producción de la República se ha obtenido, sin excepción y por bromuración a 0°C en éter etílico anhidro, ácido  $\alpha$ -hexabromoesteárico (9,10,12,13,15,16), reconocido por su temperatura de fusión, por su temperatura de fusión mezcla con ácido hexabromoesteárico obtenido a partir de aceite de lino, por su contenido en bromo y por su equivalente de neutralización.

También se aisló el derivado bromado del éter etílico del ácido linoléico, reconocido por su temperatura de fusión y temperatura de fusión mezcla.

4) El ácido linoléico ha sido reconocido también por estos procedimientos operando sobre un aceite de olivas de origen italiano y sobre un aceite extraído en laboratorio a partir de aceitunas de mesa conservadas en salmuera.

5) Los mismos reconocimientos han sido logrados utilizando como sistema de concentración de los ácidos totales, el método de Taujimoto, (33) basado en la mayor solubilidad de las sales de litio de los ácidos polistilénicos en acetona de 95 %.

6) Por aplicación de la técnica de White y Brown (30) a concentrados de ácidos di- a polistilénicos se determinaron los números de polibromuro.

Dichos concentrados fueron obtenidos de dos aceites de oliva por el fraccionamiento con urea en metanol. Se calcularon concentraciones de 0,90 y de 0,62 % (linoléico % de ácidos totales). Es posible que los contenidos reales sean mayores en razón de posibles inclusiones de ácido linoléico en la masa de aductos.

---

BIBLIOGRAFIA

- (1) Jamieson, G.S.- "Vegetable fats and Oils", edición 1943, p.419.
- (2) Prose, J.A.- Fette und Seifen, 40, 131 (1939).
- (3) Doro, P.- Boll.lab.chim.provinciali, 4, 97 (1953).  
C.Abs. 43, 3561 (1954).
- (4) Beadle, R.M., Kraybill, H.R. y Stricker, L.A.- Oil and Soap, 22, 50 (1945).
- (5) Firestone, L.- J.Ass.Off.A.C., 37, 333 (1954).
- (6) Levenc, F.A.- J.Biol.Chem, 43, 135 (1921); 57, 359 (1925).
- (7) Eckstein, M.C.- J.Biol.Chem, 84, 797 (1925).
- (8) Brown, J.R. y Deck, E.M.- J.Am.C.S., 52, 1135 (1930).
- (9) Wesson, L.G.- J.Biol.Chem, 60, 133 (1924); 59, 255 (1925).
- (10) Shinozaki, T.Y. y Brown, J.R.- J.Biol.Chem, 134, 331 (1940).
- (11) Ault, W.G. y Brown, J.R.- J.Biol.Chem, 137, 315 (1941).
- (12) Cartland, S.F. y Hart, M.C.- J.Biol.Chem, 20, 313 (1915).
- (13) Bloor, W.R.- J.Biol.Chem, 63, 33 (1923).
- (14) Hartley, F.- J.Physiol, 33, 353 (1909).
- (15) Eckart, E.- Z.Unter.Nahr.Genuss, 1, 44 (1922).  
C.Zentr, II, 54 (1923).
- (16) Hilditch, T.F. y Shrivastava, K.K.- J.Soc.Chem.Ind, 37, 139 (1940).
- (17) Swern, D.- Ind.Eng.Chem, 47, 216 (1955).
- (18) Holman, R.L., Lundberg, W.C. y Malkin, T.- "Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids", vol II, 243 (1954).
- (19) Cattaneo, P.- Comunicación privada.
- (20) De Luca, L.- Tesis. Fac.de Química y Farmacia.Univ. de La Plata, 1954.
- (21) Hazan, A. Tesis. Fac. de C.E. y Nat. Univ. de Bs Aires, 1955.
- (22) Swain, M.L. y Brice, E.A.- J.Am.Oil C.S., 26, 272 (1949).

- 21-
- (23) Swann, R. y Parker, R. E.- J. Am. Oil C. S., 22, 614 (1952).
- (24) Parsons, F. G.- Agronomia Lucitana, 15, 183 (1953).  
C. Abs., 42, 8369 (1954)
- (25) Arceivasson, R. S. y Brynnedal, R.- J. Am. Oil C. S., 31, 523 (1956).
- (26) Finnstrom, R.- J. Ass. Off. A. C., 40, 490 (1957).
- (27) Arceivasson, R. S. y Brynnedal, R.- J. Am. Oil C. S., 35, 92 (1958).
- (28) Cattaneo, P. y Karman, G.- An. Asoc. Quim. Arg., 22, 110 (1945).
- (29) Thorbjarnsson, T. y Dronngjald, G.- Analyt., 60, 28 (1935).
- (30) Wakisaka, K. y Brynnedal, R.- J. Am. Oil C. S., 28, 133 (1949).
- (31) Zimmermann, A.- Berichte, 22, 4054 (1908).
- (32) Arbmann, F. y Radford, F.- Berichte, 42, 1330 (1909).
- (33) Imai, M.- J. Soc. Chem. Ind. Japan, 22, 1007 (1920).
- (34) Shimamura, G. Y. y Brynnedal, R.- J. Am. Chem. Soc., 50, 2734 (1928).
- (35) Scott, G.- "Standard Methods of Chemical Analysis", 5<sup>th</sup> ed, I, p. 266.

