

## Tesis de Posgrado

# Sobre la naturaleza de los glicéridos de aceites vegetales que forman bromoderivados insolubles en éter de petróleo a 0°C

Dasso, Irene

1969

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:**

Dasso, Irene. (1969). Sobre la naturaleza de los glicéridos de aceites vegetales que forman bromoderivados insolubles en éter de petróleo a 0°C. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_1349\\_Dasso.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1349_Dasso.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Dasso, Irene. "Sobre la naturaleza de los glicéridos de aceites vegetales que forman bromoderivados insolubles en éter de petróleo a 0°C". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1969.

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_1349\\_Dasso.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1349_Dasso.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

"SOBRE LA NATURALEZA DE LOS GLICERIDOS DE ACEITES VEGETALES  
QUE FORMAN BROMODERIVADOS INSOLUBLES  
EN ETER DE PETROLEO A 0°C"

Irene Dasso

1349  
R  
q.3

Tesis presentada para optar al título de  
Doctora en Química

1 9 6 9

A B S T R A C T

El presente estudio ha tenido por objeto indagar sobre la naturaleza de los glicéridos, principalmente de aceites vegetales, que determinan la formación de compuestos de bromo adición insolubles en éter de petróleo a 0°C.

La formación de estos precipitados a partir de aceites de oliva adulterados con aceites de semilla semisecantes hizo que Vizern y Guillot propusieran un ensayo que, según ellos, daba resultados siempre negativos (ausencia de precipitación) con aceites de oliva genuinos. Estos autores, por determinación del contenido en bromo del insoluble de un aceite de soya, concluyeron que el precipitado estaría constituido por productos de bromo adición de un dilinoleo-oleo glicérido. Esta conclusión aparece como dudosa desde que los aceites de soya contienen cantidades significativas de ácido linolénico,

En consecuencia se examinaron 28 aceites de semilla, de germen o de pulpa de frutos, obtenidos en laboratorio y sometidos, en la mayoría de los casos, a decoloración y desacidificación. Los aceites considerados pertenecen a las siguientes familias botánicas:

Compuestas, Vitaceas, Solanaceas, Gramineas, Leguminosas, Malvaceas, Meliaceas, Euforbiaceas, Linaceas, Crucíferas, Cucurbitaceas, Teaceas y Oleaceas.

A los efectos de la experimentación se los divide en dos grupos: aceites carentes de ácido linolénico o conteniendo menos de 1,5% de este ácido sobre ácidos totales de los glicéridos precipitados y aceites conteniendo ácido linolénico.

Luego de analizar y adoptar una técnica controlada para

el aislamiento de insolubles en éter de petróleo a 0°C, se procedió a las siguientes determinaciones analíticas:

- a) aislamiento de precipitados libres de líquido madre.
- b) rendimiento en precipitado y determinación de sus contenidos en bromo.
- c) debrominación de los precipitados y aislamiento de los glicéridos involucrados.
- d) transformación de los glicéridos aislados en ésteres metílicos (metanólisis).
- e) examen de composición acídica por C.G.L. de los ésteres metílicos de los ácidos totales de los aceites de partida y de los glicéridos según Vizern y Guillot.
- f) cálculo del contenido en bromo de los glicéridos según Vizern y Guillot en base a las composiciones acídicas C.G.L. respectivas.

En los aceites del grupo carente de ácido linolénico o con no más de 1,5% de él en los glicéridos precipitados, se pudo comprobar:

- 1) los rendimientos en precipitado : son aproximadamente función de los índices de yodo de los aceites de partida y por tanto, de sus contenidos en ácido linoleico y de la concentración molar en trilinoleína de los aceites (calculada según el esquema "random").
- 2) los contenidos en bromo de los precipitados (48,2-51,9%) presentan la mayor concentración de valores entre 50,0 y 51,9%, cifras muy próximas al contenido en bromo de una trilinoleína dodecabromada (52,0%).
- 3) las composiciones acídicas de los glicéridos según Vizern y Guillot de estos aceites señalan concentraciones en li-

noleico con una mayor densidad de valores entre 86,2 y 97,6%.

De la consideración de estos resultados se concluye: que en este grupo de aceites el principal triglicérido determinante de la precipitación en los ensayos de Vizern y Guillot es la trilinoleína, habiéndosela identificado en el caso del aceite de girasol. Así mismo se sugiere que la mayor parte de estos aceites responderían aproximadamente al sistema "random" de configuración glicerídica.

En el grupo de aceites que contienen más de 1,5% de ácido linolénico en los glicéridos precipitados, se estableció:

- 1) que en general los rendimientos en precipitado aumentan con la suma de las concentraciones molares de glicéridos que contienen seis o más dobles enlaces por mol (calculados según esquema "random").
- 2) los contenidos en bromo de los precipitados oscilan entre 50 y 52% (cifra del orden de la de una trilinoleína dodecabromada).

En base a estos resultados se concluye que en este grupo de aceites los glicéridos determinantes de la precipitación contienen seis o más dobles enlaces por mol y paralelamente glicéridos con menos de seis dobles ligaduras pero conteniendo al menos un radical de ácido linolénico.

En el curso de este trabajo se evidenció que el aceite de semilla de Melia Azedarach (paraíso), carente de ácido linolénico, debe responder a una configuración glicerídica distinta a la "random" total, que conduce a una mayor riqueza en trilinoleína.

Este estudio ha obligado a una puesta al día sobre los conocimientos de configuración glicerídica de grasas naturales

y así mismo a un examen exhaustivo de la composición acídica (incluyendo componentes en muy baja concentración) de numerosos aceites vegetales.

  
A horizontal line is drawn below the signature.

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

"SOBRE LA NATURALEZA DE LOS GLICERIDOS DE ACEITES VEGETALES  
QUE FORMAN BROMODERIVADOS INSOLUBLES  
EN ETER DE PETROLEO A 0°C"

Irene Dasso

1349  
ej. 2

Tesis presentada para optar al título de  
Doctora en Química

1 9 6 9



Agradezco la dedicación brindada en todo momento por el Dr. Pedro Cattaneo al guiarme en este trabajo.

También expreso mi reconocimiento a las Dras. Germaine K. de Sutton y María H. Bertoni por la colaboración prestada.

P A R T E I

I N T R O D U C C I O N

La composición glicerídica de grasas naturales y sintéticas ha sido abordada en un gran número de trabajos sin que al presente exista una teoría única que asegure determinada conformación en estos productos. La principal dificultad reside en su extrema complejidad y en las propiedades a veces muy poco diferenciadas de los componentes, pese a sus distintas estructuras químicas.

Durante muchos años los métodos de estudio se fundaron en el fraccionamiento de los glicéridos de grasas y aceites naturales hacia la obtención de mezclas más simples que se resolvían con ciertas aproximaciones. Así se utilizaron técnicas de bromación en éter de petróleo y separación de los bromoderivados formados por cristalización en distintos solventes (1, 2, 3, 4); separación y de terminación de glicéridos saturados por oxidación de los no saturados con permanganato de potasio (5) y cristalización fraccionada del aceite en acetona a muy bajas temperaturas (6).

Actualmente se han incorporado técnicas más elaboradas como cromatografías en fase gaseosa, en columna y en placa delgada, distribución en contracorriente, formación de azelaoglicéridos por oxidaciones controladas, degradaciones parciales con bromuro de metil-magnesio y métodos biológicos de hidrólisis enzimática. Todos ellos se usan generalmente en forma combinada.

El amplio programa de estudios teóricos y de experimentación desarrollado intenta conocer y predecir cómo están distribuidos los ácidos grasos en los glicéridos y qué mecanismos de regulación determinan la composición de las grasas naturales. Es así que se llegan a formular teorías que por medio de "modelos" o "patrones" de distribución acídica permiten esquematizar, en forma general, las composiciones glicerídicas de las sustancias grasas.

#### Teoría de la distribución máxima.-

La primera de las teorías fue la resultante de los exten-

-sos estudios realizados a partir de 1926 y hasta 1951 por Hilditch, conocida como "distribución máxima" ("even distribution") (7) según la cual los ácidos grasos tienden a ser distribuidos lo más ampliamente posible entre todas las moléculas de glicéridos. Puede resumirse diciendo que no existirán diglicéridos de un mismo ácido graso si este ácido no se halla por lo menos una vez en cada molécula de glicerol, y no existirá un triglicérido homogéneo antes de que dicho ácido no se halle por lo menos dos veces en cada molécula de los glicéridos presentes.

Por esa época, Morris y Mattil (8, 9, 10) discuten esas ideas y sostienen que solamente las grasas vegetales conformarían el modelo de la distribución máxima, puesto que la mayoría de las grasas animales mostraban seguir un tipo de distribución al azar ("random") tal como se había hallado en grasas sintéticas obtenidas por esterificación directa de glicerol con ácidos grasos. Así, la distribución glicerídica de tales grasas naturales podía ser calculada a partir de la composición acídica a través de ecuaciones basadas en la ley de probabilidades, conduciendo a la existencia de todo tipo posible de glicérido de acuerdo al número de ácidos grasos presentes y a sus respectivas concentraciones molares. Para ello se tuvo que admitir que las reactividades de los tres hidroxilos del glicerol eran idénticas, al igual que las reactividades de los ácidos (independientemente de su grado de saturación y de su magnitud molecular).

A los efectos del cálculo se aplicó el desarrollo del cubo de un polinomio cuyo número de términos es igual al número de ácidos grasos presentes.

Las experiencias de interesterificación de dos o más grasas naturales conducían a un producto final cuya estructura glicerídica resultaba idéntica a la calculada en base a una colisión "ran-

-dom". Esto hizo pensar que toda grasa natural que estuviese constituida de acuerdo a un modelo de distribución al azar, no sería afectada al ser sometida a tal tratamiento (interesterificación o simple calentamiento de la grasa a alta temperatura en presencia de catalizador), mientras que aquella que respondiese a otro modelo, sería afectada en un grado medible.

Los resultados logrados por Norris y Mattil al someter grasas animales y vegetales a condiciones que causaban interesterificación les permite concluir que numerosas grasas de depósito de animales terrestres habían sido relativamente poco afectadas mientras que las vegetales, como se esperaba, resultaban muy alteradas.

Las ligeras desviaciones observadas para las grasas animales las atribuyeron a la influencia de la estructura glicerídica de las grasas vegetales de la dieta y a la extensión con que éstas eran absorbidas. Las vegetales, en cambio, estarían conformadas de acuerdo al modelo "even".

Si bien el esquema de distribución "random" estricta no podía ser aplicado en general, fue suplementado por la hipótesis sugerida por Mattil de que existía una diferencia básica en la acción de síntesis enzimática entre plantas y animales. No obstante no surgió mecanismo alguno para explicar esa acción selectiva que atribuía a las enzimas vegetales, ni tampoco justificó por qué ciertas grasas vegetales respondían a un modelo prácticamente "random".

Subsiguientes estudios llevados a cabo con técnicas más depuradas, le permiten a Hilditch (11) puntualizar que algunas circunstancias (grasas conteniendo más de cuatro ácidos grasos como componentes mayores en proporciones similares, o grasas que poseen más de 80% de ácidos saturados) pueden conducir a que glicéridos de una grasa que cumple el modelo "even" aparenten conformar igualmente la distribución al azar, hecho que de ninguna manera puede llevar

a una definición generalizada. Formula así, en 1956 (6) reglas más amplias para la distribución máxima, en lo que respecta a dar una medida menos rígida de los tipos de glicéridos posibles. Señala que cada uno de los ácidos se comporta individualmente y que el estudio en grupos de ácidos (saturados y no saturados) no siempre conduce a un conocimiento completo de la configuración del glicérido.

Paralelamente a las experiencias señaladas, Bhattacharya y Hilditch (11) preparan triglicéridos sintéticos partiendo de glicerol y mezclas de ácidos saturados y oleico en presencia de un catalizador, mostrando que una gran extensión del curso de la esterificación sigue el modelo "random". Fue así definitivamente demostrado que los glicéridos mixtos obtenidos a altas temperaturas, ya sea por esterificación del glicerol o por interesterificación de mezclas de glicéridos seleccionados, forman mezclas estrechamente concordantes a las esperadas en base al cálculo de probabilidades.

Estos hechos, sostiene Hilditch, valiosos por sí mismos, no parecerían tener relación con el problema de la estructura de los glicéridos elaborados por acción enzimática en la célula viviente a la temperatura ambiente o ligeramente superior. Si bien este último proceso parece tener selectividad en la síntesis de productos naturales (a diferencia de los obtenidos en laboratorio a altas temperaturas) es ilógico suponer que la acción enzimática difiera en manera fundamental entre plantas y animales.

#### Teorías de distribución "random" restringidas.-

Doerschuk y Daubert (12) presentan evidencias experimentales de que los triglicéridos del aceite de germen de maíz no responden a los patrones de distribución máxima ni "random" estricta, pero que conforman un nuevo modelo de distribución "random" parcial, cuyas características son intermedias entre las dos anteriormente -

citadas. Los valores calculados para el caso especial del aceite de maíz concuerdan con los determinados experimentalmente, pero los autores no hacen referencia a mecanismo alguno que lo explique, como tampoco prueban su aplicación a otras grasas vegetales o animales.

Desde entonces y hasta el presente, las nuevas teorías - que postulan un ordenamiento de los constituyentes ácidos al azar, aunque con ciertas restricciones, son las que cuentan con mayor aceptación.

#### Teoría de Kartha.-

Kartha (13, 14, 15) al proponer su teoría "random" restringida reduce sus consideraciones teóricas y experimentales a cuatro tipos de glicéridos: trisaturados ( $S_3$ ), disaturados-monosaturados -  $(S_2U)$ , monosaturados-diinsaturados ( $SU_2$ ) y triinsaturados ( $U_3$ ), sin hacer subdivisiones de acuerdo a la longitud de cadena, grado de no saturación de los ácidos y posición del glicerol que substituyen.

Su teoría y cálculos están basados en la hipótesis de que las grasas animales "in vivo" y las vegetales durante el período de maduración de semillas o frutos, están en estado de equilibrio dinámico con intercambio de sus radicales acilos constantemente, lo que conduce a una distribución "random" solo restringida por circunstancias específicas. Esta restricción se basa en la suposición de que existe una proporción máxima de glicéridos trisaturados ( $S_3$ ) presente en cada especie de grasa vegetal o animal (dependiendo de dicha especie y condiciones ambientales) en la extensión en que pueda permaner fluida en el organismo "in vivo".

De acuerdo a esta regla, cuando la cantidad máxima de  $S_3$  (la mayor que puede existir cumpliendo con el requisito de fluidez) coincide con la calculada en base al esquema "random", todos los otros ácidos grasos estarán distribuidos al azar en los demás tipos

de glicéridos, pero si las circunstancias "in vivo" son tales que - existe una proporción menor de  $S_3$  que la calculada por probabilidad, el exceso de ácidos saturados y los remanentes insaturados serán distribuidos en forma estadística entre las moléculas de glicerol pero sin formación de nuevas moléculas de  $S_3$ .

El límite de glicéridos trisaturados está impuesto por la solubilidad del mismo en los restantes glicéridos insaturados y por su capacidad de ser movilizado "in vivo"; esa solubilidad depende, entre otros factores, de la longitud de las cadenas acídicas e indirectamente de su punto de fusión (a menor P.M. de los acilos mayor tendencia a permanecer fluída la grasa).

La acción de la lipasa, que cataliza la esterificación de ácidos grasos y glicerol en plantas y animales, es reversible y procede de acuerdo a la ley de acción de masas. Así, cuando una grasa de depósito está en presencia de lipasa activa y agua, existirá un equilibrio dinámico similar al que ocurre en reacciones de esterificación fuera del tejido viviente. Según Kartha las posiciones  $\alpha$  y  $\beta$  del radical glicerilo no muestran especificidad hacia algún tipo de ácido graso. De ahí que en una reacción "in vivo", a menos que - la enzima ejerza por sí misma alguna acción específica, resultará - una distribución "random" completa de los ácidos grasos en el equilibro. Las desviaciones se deberán a la inhabilidad de la planta o animal para producir  $S_3$  en exceso respecto a la que pueda permanecer en estado fluído, lo que estaría ligado a una cualidad de las - enzimas lipolíticas de no poder sintetizar triglicéridos sólidos - (el complejo "enzima-reactante" no se produciría a menos que el reactante forme un film continuo sobre la superficie de la enzima coloidal, debiéndose encontrar para ello en solución o en estado fluído).

Kartha, en base a sus métodos de análisis y cálculos, pre



-senta valores concordantes con su teoría en veintisiete grasas naturales, los que difieren marcadamente de los resultantes de aplicar las reglas de distribución máxima. Manifiesta que en ningún caso observó valores de  $S_3$  más altos que los calculados en base "random" completa.

Lakshminarayana y Rebello (16) en 1960 publican un estudio crítico sobre los métodos de oxidación que emplearon Hilditch y Kartha en sus experiencias, haciendo una evaluación de las etapas individuales para ambos procedimientos; la teoría de Kartha es la más afectada en este sentido.

La falta de métodos analíticos convenientes para el aislamiento y caracterización de los glicéridos provocó una situación muy irregular en lo que respecta a conclusiones en este tipo de trabajos, originando discusiones prolongadas.

#### Teoría de Youngs.-

Una primera explicación la intenta Youngs (17); dentro de la distribución "random" da lugar al predominio de ciertos isómeros posicionales sobre el total que él considera (SSS, SSU, SUS, SUU, - USU, UUU). Señala que resulta difícil imaginar un esquema distinto al de fijación al azar de los ácidos grasos en cada etapa de la síntesis de triglicéridos, pero que debe ser seguida de una redistribución intramolecular en alguna de dichas etapas conduciendo al predominio de un isómero en particular.

En la mayoría de las grasas ensayadas observó una buena correlación de valores en relación al esquema de distribución que da preferencia de fijación para ácidos saturados en las posiciones 1 y 3 del glicerol y en 2 para ácidos insaturados. A este modelo lo llamó "Tipo I" (no incluye el isómero USU).

Para las grasas que no conformaban ese esquema propuso el

modelo "Tipo II" donde ocurren preferentemente ácidos no saturados en 1 y 3 y saturados en posición 2 (no formándose el isómero SUS). Sugiere acertadamente que si bien con su teoría logra buena correlación con resultados de técnicas usadas por él y otros investigadores, al igual que las demás teorías formuladas hasta el presente, está basada en el análisis de los productos finales de la biosíntesis de grasas naturales sin un conocimiento definitivo de sus mecanismos.

#### Teoría de Vander Wal.-

Mattson y Beck (18) al demostrar la selectividad de la lipasa pancreática para catalizar la hidrólisis de uniones éster en posición 1 y 3 de triglicéridos (con solo pequeños desplazamientos de aquellos en posición 2), sugirieron que tal técnica ofrecía un nuevo recurso para estudiar estructuras glicerídicas.

Richardson (19) en una comunicación remitida a Vander Wal en 1957, sugiere la posibilidad de una distribución "random" que involucra las posiciones 1 y 3 en los glicéridos, pero no la 2, y señala la unión preferencial de ácidos no saturados en el hidroxilo secundario. La probable distribución "random" en 1 y 3 se conduciría como si se tratase de la esterificación de una molécula de glicol y no de glicerol.

Con estos antecedentes Vander Wal (20) elabora su teoría que consiste en una fijación al azar de los ácidos en las posiciones 1 y 3 e independientemente, pero también al azar, en la posición 2; modelo denominado 1,3 "random"2"random".

Sus hipótesis son las siguientes:

- 1) Cualquier combinación de grupos acilos puede ocupar las posiciones 2 en las moléculas de glicerol de una grasa natural, estando distribuidos en forma "random".

- 2) Las posiciones 1 y 3 son idénticas y están ocupadas por las mismas clases y proporciones de grupos acilos.
- 3) Al igual que en las posiciones 2, los grupos acilos de las posiciones primarias están distribuidos en forma "random".

Si bajo esas condiciones, las clases y porcentajes de grupos de las posiciones 2 son los mismos que aquellos de las 1 y 3, la distribución en la grasa natural será completamente al azar.

Sobre estas bases formula un procedimiento para calcular la composición molecular para las variedades de glicéridos SSS, SUS, SSU, USU, UUS y UUU, conociendo el % de ácidos saturados presentes y el % de ácidos saturados de los 2-monoglicéridos que provienen de la hidrólisis selectiva con lipasa pancreática.

Sus resultados están en buena concordancia con los calculados por Kartna para los cuatro glicéridos fundamentales ( $S_3$ ,  $S_2U$ ,  $SU_2$ ,  $U_3$ ) y con los logrados por Youngs (21) al aplicar el método Vander Val en algunas grasas naturales. Dutton y col. (22) y Jones y Hammond (23) también proveen apoyo experimental a esta teoría.

El resultado neto de los trabajos llevados a cabo hasta el momento fue el de establecer la seguridad del modelo "1, 3 random-2random" aplicado sobre los seis tipos de glicéridos citados, en grasas donde predominaban componentes en  $C_{16}$  y  $C_{18}$ . Esto no prueba que tal patrón pueda ser aplicado a los componentes acilos individuales de las familias de saturados e insaturados, ni que las posiciones 1 y 3 sean exactamente equivalentes.

Ya no quedan dudas acerca de que los componentes acídicos cuando son considerados solamente como radicales saturados o no saturados, y no individualmente, responden a una distribución en base

"random", pero tendiendo a ocupar posiciones específicas intramolecularmente.

Gunstone (24), considerando las ideas propuestas por Hilditch en una comunicación personal, postula y examina tres teorías de distribución acídica en grasas vegetales, basadas en la hipótesis de que las posiciones secundarias son esterificadas al azar con ácidos no saturados en  $C_{18}$  solamente, a menos que no haya suficiente cantidad de los mismos para cubrirlas totalmente (en esta última circunstancia no sugiere cómo se completan las posiciones 2, aunque puede suponerse que lo hacen con el remanente de los ácidos, en forma estadística). Posteriormente se acilan las posiciones 1 y 3 con todos los ácidos restantes.

De las tres teorías que postula, Gunstone comprueba que la que no hace distinciones entre los carbonos primarios concuerda mejor con los datos experimentales obtenidos en numerosas grasas vegetales. Esta variante del modelo Vander Wal podría denominarse esquema 1,3"random"2"random insaturado", limitado a los cuatro tipos clásicos de glicéridos y salvo ligeras discrepancias, esta nueva interpretación permite concordancias con datos experimentales logrados por Kartha y Vander Wal y contribuye al acercamiento con las primeras ideas de Hilditch sobre distribución máxima.

La teoría de Gunstone es en realidad un esquema intermedio entre los modelos "random" y "even" aproximándose especialmente al primero cuando la concentración de ácidos saturados tiende a cero.

Dos hechos importantes surgen de las ideas precedentes: que la probabilidad juega un papel clave en los mecanismos de biosíntesis y que en la mayoría de las grasas naturales las posiciones secundarias están ocupadas por una combinación de grupos acilos diferentes de aquellas correspondientes a las primarias. En este sen-

-tido, la marcada diferencia entre grasas vegetales y animales se aclararía al ampliar el estudio con numerosas grasas naturales incluyendo las de pájaros, reptiles y peces (25).

Los mecanismos que podrían explicar estas diferencias son motivo de numerosas especulaciones en los últimos años.

Senior e Isselbacher (26) sugieren que en el proceso de resíntesis de triglicéridos en grasas animales, después de la absorción intestinal, ocurre un control intracelular sobre las cantidades relativas y especificidad molecular de los nuevos lípidos.

Savary y Desnuelle (27) se encuentran entre los primeros en sugerir la acción de una enzima altamente específica para ácidos insaturados que esterifican la posición 2 en grasas vegetales y la de una enzima de menor especificidad para la esterificación en 1 y 3.

Kartha (28) propone la existencia de dos mecanismos designados como Reglas "A" y "B" de Distribución Random Restringida y Específica. Para las grasas que configuran la Regla "A" supone la esterificación de las posiciones 1 y 3 del glicerol en una primer etapa catalizada por una  $\alpha$  lipasa, después de la cual se esterifican las posiciones 2 por medio de una  $\beta$  lipasa. La esterificación en 1 y 3 es reversible y no específica, circunstancia que lleva a un equilibrio dinámico; las acilaciones en 2 son prácticamente irreversibles y toman poco juego en ese equilibrio.

Como en su primer teoría, Kartha asume que la formación de  $S_3$  estaría restringida de manera que la grasa permanezca fluida "in vivo".

Para las grasas que conforman la regla "B", supone las mismas esterificaciones reversibles en 1 y 3 y no reversibles en 2, con la adición de diferentes grados de esterificación preferencial de algunos acilos. En este último caso se acentúan los cambios en -

la configuración. Surge de lo dicho que ambas reglas responden a una base "1,3random-2random".

Vander Wal (29, 30) considera el aspecto de intercambio dinámico de la función éster en los organismos vivos, tomando en cuenta el factor especificidad. Supone que los componentes acilos de las grasas "in vivo" están en intercambio dinámico inter e intramolecularmente, con el único requerimiento de que los ácidos estén presentes en las cantidades requeridas. En el equilibrio resultará un patrón de composición molecular definido, cuya naturaleza variará según la preferencia de los acilos particulares por determinadas posiciones del glicerol. En el momento de la muerte o en las semillas en estado de madurez, el proceso dinámico se detiene, manteniéndose el patrón correspondiente.

La elasticidad de esta hipótesis permitiría ajustar aquellos productos grasos no característicos, incorporados al organismo a través de la dieta, al patrón de dicho organismo. Así, una proporción apreciable de 2-monopalmítina, derivable de grasas de cerdo, requerirá después de la resíntesis de triglicéridos en el organismo del hombre, un ajuste al modelo humano, en el cual los 2-monopalmítatos están en menor proporción.

Es posible también, que en los diacil-fosfátidos exista un ordenamiento molecular similar y que puedan tomar parte en el intercambio dinámico de grupos con los triglicéridos. Teóricamente, cualquier agrupación éster, incluyendo esteroides esterificados, podría participar en el sistema dinámico.

Al entender los estudios de estructura glicéridica a grasas de semillas de nuevos géneros y familias, Kartha (31, 32, 33) encuentra que muchas de ellas presentan desviaciones que están fuera del alcance de cualquier de las teorías existentes. En sus tra-

-bajos más recientes señala la incidencia de la no homogeneidad de las grasas provenientes de tejidos morfológicamente idénticos.

Existe la posibilidad de que toda grasa natural sea la resultante de una mezcla de grasas con diferentes composiciones acídicas, alojadas en distintas células o zonas de un mismo tejido. Cuando las diferencias son tan solo cuantitativas, no existen graves desviaciones a las reglas "random" restringidas (grasas de bajo orden de mezcla), pero cuando las variaciones son además de tipo cualitativo, surgen discrepancias notables (grasas de alto orden de mezcla) (34).

Concluye que tales comportamientos no constituyen una característica de la familia botánica, quedando por resolver si lo son con respecto al género o si dentro de cada género se presentan variaciones.

Si bien en mayor o menor grado existe no homogeneidad en la composición acídica de los tejidos hasta ahora examinados, Kartha no solo atribuye las desviaciones observadas a ese factor, sino también a diferencias en el mecanismo de biosíntesis en las células.

El aislamiento y análisis de grasas provenientes de células individuales o de grupos de células con función similar, no parece posible en un futuro cercano.

Si bien se señala, dentro de los estudios a proseguir, la necesidad de contemplar el análisis acídico y glicerídico del mayor número posible de grasas naturales, incluyendo componentes menores que han sido generalmente ignorados, no deja de reconocerse la dificultad experimental y de cálculo que ofrecen las grasas conteniendo un gran número de ácidos altamente insaturados o ácidos grasos de bajo peso molecular (35).

Evidentemente, ninguno de los patrones de distribución é-

-efecto existentes explican enteramente la configuración glicéridica de toda grasa natural; quizá este aspecto sea dilucidado tan solo - con la contribución de la bioquímica, o sea con estudios sobre biosíntesis de glicéridos.



P . . R P E - II

DISCUSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL

1) Antecedentes sobre el ensayo de Vizern.-

En la Parte I se ha hecho referencia a las técnicas mencionadas en la literatura, que emplean la bromación de glicéridos en distintos solventes, entre ellos éter de petróleo, para obtener información sobre constitución glicerídica. No parecen ser ajenos a esas técnicas los intentos de Vizern y Guillot (36) para estudiar aspectos de genuinidad de aceites de oliva. En efecto, en 1939 propusieron un ensayo de bromación directa de aceites vegetales en solución en éter de petróleo a 0°C. Probaron que los aceites semiseccantes formaban precipitados insolubles en esas condiciones, mientras los aceites de oliva no los producían. Concluyeron que el procedimiento propuesto permitía señalar la presencia de cantidades mayores de 5% de aceite de soya o de girasol y de 10% de aceite de germen de maíz en aceites de oliva. Así mismo informaron haber ensayado aceites genuinos de oliva de elevados índices de yodo (90-92) con resultado siempre negativo. En su trabajo original, Vizern y Guillot atribuyen a los glicéridos conteniendo radicales linoleico la precipitación que ocurre en aceites semiseccantes en éter de petróleo a 0°C y denominan "tetrabromuros de linoleína" a sus derivados bromados insolubles.

Con posterioridad, en 1958, los mismos autores (37) confirman el comportamiento de los aceites de oliva a través del examen de aceites de oliva de Túnez con valores de índice de yodo 94-95, no observando nunca la formación de precipitado, al igual que Toubol (38) quien obtiene siempre ensayos Vizern negativos en aceites de oliva marroquíes de índice de yodo 87 a 93. Vizern y Guillot mencionan el comportamiento extraño de mezclas de aceites de oliva con aceites de semilla, de índice de yodo 79 a 95, que producen precipitado mientras los de oliva no lo hacen en ese mismo ámbito de índice

ces de yodo. Además una mezcla, de índice de yodo 82, de aceite de oliva con 5% de aceite de soya produce precipitado, al igual que aceites de maní con índices de yodo menores de 95.

Concluyen que en los aceites de oliva existirían glicéridos que comprenden ácido linoleico con no más de un radical por mol de glicérido mientras que en los aceites Vizern positivos existirían dilinoleo-glicéridos. Como prueba mencionan haber aislado un precipitado a partir de aceite de soya, con un contenido en bromo (% de precipitado) de 47,2, cifra muy próxima al contenido en bromo del derivado bromado de un dilinoleo-oleo-glicérido (47,6%) (+). Señalan que los derivados bromados de los glicéridos que sólo contienen un radical linoleico deben ser solubles en éter de petróleo en las condiciones del ensayo de Vizern.

En una serie de ensayos vinculan valores de índice de yodo de aceites de oliva y maní con sus concentraciones en ácido linoleico (determinadas espectrofotométricamente), así encuentran 10,6 y 15,4% de ácido linoleico en aceites de oliva de índice de yodo 80 y 92 y 30,8% de ese ácido en un aceite de maní de índice de yodo 93. Estos hechos les llevan a pensar que en los aceites Vizern negativos no existirían dilinoleo-glicéridos, sí en los Vizern positivos.

También hicieron ensayos sobre aceites de oliva con distinto grado de acidez libre mostrando que por más elevado que sea éste no ocurre precipitación en los ensayos de Vizern (esta precaución se debió al hecho conocido de que el ácido linoleico produce un tetrabromo derivado parcialmente insoluble en éter de petróleo a

---

(+): A esta altura cabe señalar que los autores no tuvieron en cuenta la presencia de ácido linoléico como componente normal del aceite de soya.

0°C). La no influencia de la acidez libre puede ser atribuida a un efecto inhibitor sobre la precipitación de ácido tetrabromoesteárico, derivado de la gran concentración de otros ácidos grasos libres y de glicéridos que no forman precipitado en esas condiciones en ensayos en los que existen bajas concentraciones de ácido linoleico - (caso del aceite de oliva).

La probable inexistencia de dilinoleo-glicéridos en aceites de oliva era, por esa época, justificada por la teoría de la "even distribution" de Hilditch.

En el país, macchi (39, 40) observó el ensayo de Vizern - sobre aceites de oliva genuinos argentinos obtenidos en laboratorio por prensado de aceitunas o procedentes de establecimientos elaboradores, sobre frutos cosechados en las provincias de Córdoba, Mendoza, Entre Ríos, San Luis y Buenos Aires. Comprobó ensayos negativos en la gran mayoría de los aceites considerados (un total de 84). En solo cuatro (obtenidos por prensado de aceitunas en laboratorio) observó ensayos positivos (precipitación); en dos de esos casos el contenido en bromo de los precipitados fue de 46,8 y 48,5%, cifras que comprenden el valor 47,6% correspondiente al derivado bromado de un dilinoleo-oleo-glicérido. Tres de los aceites Vizern positivos eran de índices de yodo elevado (90,0; 87,2 y 88,2) mientras el cuarto era de índice de yodo bajo (83,3); constató que tres de estos cuatro aceites procedían de la expresión de aceitunas "heladas" (índices de yodo 83,3; 88,2 y 87,2 con contenido en ácido linoleico % de ácidos totales 23,0, 23,8 y 26,8 respectivamente). El aceite Vizern positivo de índice de yodo 90,0 contenía 28,6% de ácido linoleico. Señaló que todos los aceites de oliva con menos de 26% de ácido linoleico daban ensayos negativos, pero que de las experiencias surgía que aceites procedentes de aceitunas "heladas" con no menos de 23% del ácido daban ensayos positivos (otros aceites provenientes de a-

-ceitunas "heladas" con 11,0 y 19,4% de ácido linoleico daban ensayo negativo). Sin pretender una afirmación sugirió que la condición de "helada" determinaría ensayos positivos en aceites con más bajo contenido en linoleico.

Trabajando con mezclas de aceites de oliva y de semilla - vio la posibilidad de revelar más de 5% de aceite de girasol de elevado índice de yodo o más de 10% de aceites de girasol de bajo índice de yodo. Así mismo, el ensayo de Vizern permitiría revelar la existencia de más de 5% de aceites de pepita de uva o de soya y de 10% de aceite de algodón, nabo y germen de maíz.

También, y modificando el ensayo de Vizern, estableció que los aceites de oliva daban precipitado en éter de petróleo a  $-15^{\circ}\text{C}$ , con contenido en bromo de 42,8% (cifra muy cercana a la correspondiente a una dioleo-linoleína bromada: 42,0%).

Con posterioridad, Karman de Sutton, Bertoni, Cattaneo, Abitbol y Donett (41) realizaron un amplio estudio acerca de la influencia varietal sobre la composición acídica de aceites de oliva, obtenidos en laboratorio por extracción con hexano sobre aceitunas (cosechadas a igual grado de madurez) de 64 variedades distintas de olivo, todas ellas desarrollando en la Estación Experimental Agrícola de Catamarca (EITA). Constataron los siguientes ámbitos para las concentraciones acídicas (% de ácidos totales): 16:0 (12,5-27,4); - 18:0 (1,3-5,1); 16:1 (0,8-5,3); 18:1 (34,3-73,6); 18:2 (5,5-33,3) y 18:3 (0,5-1,5). Concluyeron que la variedad vegetal tiene una influencia significativa sobre los valores de composición acídica de los aceites que originan, desde que una misma variedad conduce, en dos cosechas sucesivas, a aceites de similares valores de índice de yodo, contenidos en escualeno, en esteroides totales y en ácido linoleico.

Sobre el total de los aceites señalados practicaron estrictamente la técnica del ensayo de Vizern. En 26 casos se registraron resultados negativos, de los cuales 22 correspondieron a aceites - conteniendo menos de 20% de ácido linoleico y solo 4 más de esa cifra (20,2 a 23,4%). En 39 casos observaron ensayos positivos los - que fueron graduados de acuerdo a la intensidad de la precipitación en trazas (T), débilmente positivos (+), positivos (++) y fuertemente positivos (+++).

Ningún aceite conteniendo menos de 10% de ácido linoleico dió ensayo positivo; uno con 14,4% de ese ácido fue positivo en el orden de T; de 14 aceites con linoleico entre 15-20% 5 dieron positivo como T, 8 como (+) y 1 como (++); 15 aceites conteniendo 20-25% de linoleico también fueron positivos (6 como (T), 8 como (+) y 1 como (+++)), mientras que de 9 aceites con 25-33% del ácido, 2 ensayos fueron (+), uno (++) y 6 (+++).

Señalaron que los resultados obtenidos indicaban la existencia de aceites de oliva con más de 15% de ácido linoleico que - producen ensayos Vizern positivos, aunque algunos de ellos solo lo hacen en el orden de trazas (formación de una fina película en el fondo del tubo). Otros, con 17-25% de ácido linoleico, daban ensayos positivos en el orden de (+), mientras que todos los aceites que contenían más de 27% de dicho ácido se clasificaban como (++) y (+++). No obstante existieron numerosos aceites conteniendo 15-24% de linoleico que no dieron precipitado.

Concluyeron que la concentración de ácido linoleico juega un papel de importancia en la concentración de los glicéridos determinantes de los ensayos positivos de Vizern. Observaron que los contenidos en bromo de los precipitados oscilaban entre 41,0 y 49,7% - sugiriendo que, probablemente, los glicéridos determinantes de la -

formación de bromoderivados insolubles podrían contener otros ácidos grasos además de oleico y linoleico (posiblemente linolénico y palmítico).

El conjunto de resultados observados indicaría que las composiciones glicerídicas de los aceites de oliva responden a distintos esquemas según la variedad. Finalmente, y en relación a la probable composición acídica de los glicéridos que precipitan en los ensayos de Vizern como bromoderivados insolubles, sugirieron la realización de un estudio que comprendiera el aislamiento de los precipitados, su debrominación y el estudio de la composición acídica por C.G.L. de los glicéridos así regenerados.

## 2) Plan de experimentación.-

El ensayo de Vizern se practica normalmente en aceites de oliva como criterio de genuinidad y por tanto para señalar adulteraciones en mezclas con aceites de semilla. En nuestro país figura como ensayo en las normas IRAM sobre aceites de oliva (42) y en el Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, Comisión del Codex Alimentarius (43).

En el presente trabajo se ha intentado ahondar en el esclarecimiento de la composición acídica de los glicéridos que, como derivados insolubles, precipitan en el ensayo de Vizern, considerando aceites vegetales de distintas familias botánicas y muy diversas composiciones acídicas.

Se ha experimentado sobre los aceites de semilla o pulpa de fruto de los siguientes vegetales (se indica la familia botánica a la que pertenecen):

Compuestas: Carthamus tinctorius (cártamo), Helianthus annuus (girasol).

- Vitaceae: Vitis vinifera (uva).  
Solanaceae: Lycopersicon esculentum (tomate).  
Gramineae: Sorghum vulgare Pers. (sorgo); Zea mays (maíz); Triticum sativum (trigo).  
Leguminosae: Arachis hypogaea (maní); Lupinus multiflorus (lupinus);  
Glycine max (soya).  
Malvaceae: Gossypium hirsutum (algodón).  
Meliaceae: Melia Azedarach (paraíso).  
Euphorbiaceae: Colliguaya integerrima (duraznillo).  
Linaceae: Linum usitatissimum (lino).  
Cruciferae: Brassica nigra (mostaza).  
Cucurbitaceae: Cucumis melo (melón); Cucúrbita máxima (zapallo).  
Theaceae: Thea sinensis (té).  
Oleaceae: Olea europea (oliva).

La lista precedente comprende numerosas plantas pertenecientes a distintas familias botánicas cuyos aceites seminales poseen, cualitativamente, los mismos ácidos grasos componentes. Dentro de ellas algunas, perteneciendo a familias distintas, proporcionan aceites seminales de composiciones ácidoicas cuali y cuantitativamente similares, como los aceites de semilla de cártamo, uva y girasol, o como los aceites de oliva y té. Otras familias proveen aceites seminales que comprenden ácidos particulares, tales las Euphorbiaceae y Linaceae, ricos en ácido linolónico, y la Cruciferae rica en ácido erúico (22:1).

De lo que antecede surge que se trata de establecer si existe una probable influencia de la familia botánica en la composición ácidoica de los glicéridos Vizern. Así mismo, en el caso de la Compositae, se dispone de aceites de girasol de distintos valores de índice de yodo y por tanto, de distintos contenidos en ácido linoleico. En este caso se trata de ver si estas diferencias inciden



sobre la composición acídica de los glicéridos Vizern o si sólo tienen influencia sobre los rendimientos en precipitado.

El plan de trabajo elaborado consiste de:

- a) Aislamiento de bromoderivados precipitados por aplicación estricta de la técnica de Vizern, incluyendo a los de aceites de oliva Vizern positivos.
- b) Determinación del rendimiento en precipitado.
- c) Determinación del contenido en bromo de los precipitados.
- d) Debrominación y aislamiento de los glicéridos involucrados en los precipitados.
- e) Metanólisis de los glicéridos y examen de sus composiciones acídicas por C.G.L.
- f) Metanólisis directa de los aceites de partida y examen de sus composiciones acídicas por C.G.L.

La técnica de Vizern es de índole cualitativa. El precipitado se obtiene en el seno de una solución de otros glicéridos, bromados o no, en éter de petróleo y a 0°C. Si se pretende aislar el precipitado para el estudio de su composición, se tropieza con la dificultad de eliminar totalmente la solución madre. Vizern y Guillot (37) resolvieron este problema por centrifugación y lavado exhaustivo del precipitado con éter de petróleo frío. Sin embargo esta técnica, si bien elimina las aguas madres, solubiliza parte del precipitado desde que la solución madre está saturada respecto de los componentes precipitados. No se ha encontrado ninguna otra solución a este problema; por eso, y según se expone en la Parte Experimental, todos los precipitados aislados y analizados en este trabajo lo han sido por aplicación del método usado por Vizern y Guillot (36 y 37). En consecuencia los valores de composición acídica se re-

-fieren a los precipitados así aislados y no representan el total de precipitado que ocurre en los ensayos de Vizern. Lo expuesto hace al punto a) del plan de trabajo descripto.

Si bien en aceites de oliva la acidez libre elevada no afecta los ensayos de Vizern (37) (por precipitación de ácido tetrabromoestérico originado en la bromación de ácido linoleico libre), en aceites mucho más ricos en ese ácido (aceites de girasol, cártamo, papa de uva, etc. con hasta 70% de linoleico) sí podría ser causa de precipitación. Como precaución general estos aceites se examinan en su grado de acidez libre y se los desacidifican por percolación a través de alúmina activada empleando éter etílico:metanol (39:1<sup>v</sup>/v) según el método oficial AOCS (44) para el aislamiento, en materiales grasos, de la suma de glicéridos e insaponificable.

Las demás operaciones mencionadas en el plan de trabajo: determinación del contenido en bromo de los precipitados, debromación de los mismos, aislamiento, metanólisis y C.G.L. de los glicéridos involucrados en los precipitados, responden a técnicas conocidas que en detalle se describen en la Parte Experimental.

### 3) Aceites en particular - Discusión de resultados.-

A continuación se consideran los resultados obtenidos sobre cada aceite en particular. En primer lugar se discuten los datos obtenidos en aceites carentes de ácido linolénico y en aquellos que por contener rastros de él solo presentan valores inferiores a 1,4% del mismo sobre ácidos totales de los glicéridos Vizern.

Las concentraciones en trioleína (LLL) que se incluyen se calculan en base a los esquemas de distribución acídica "random" y Gunstone:

$$(LLL) \text{ "random" } = (L)^3 \cdot 10^{-4} \quad , \quad (LLL) \text{ Gunstone } = (L)^3 \cdot \frac{(3(U)-100)^2}{400(U)^3}$$

donde (L)= concentración molar de ácido linoleico y

(U)= suma de concentraciones molares de ácidos insaturados.

Las concentraciones de LLL quedan expresadas en moles por cien moles.

a) Aceite de semilla de Thea sinensis (t ).-

Se opera sobre un aceite extraido por hexano de semilla cosechada en Alba Posse (Misiones). El indice de yodo del aceite bruto es 92,3 y el del percolado por alúmina 92,5. El cuadro siguiente se refiere a la composición acida del aceite de partida y de los glicéridos Vizern, ambos en % de ácidos totales:

	14:0	16:0	16:1	17:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:1	IIac. tot. calc.	Ppdo %	Bromo % calc. det.
Aceite (+)	0,1	19,3	0,2	vest.	4,4	49,7	25,8	-	0,5	91,6	-	-
Vizern	-	4,0	-	0,1	1,1	10,9	83,0	0,9	-	162,5	0,8	49,5

(+)  stros de 18:3 y 20:0. Valores de composición acordes con los señalados para aceites de semilla de t  argentinos (45 y 46). En el cromatograma de  steros metilicos de los ácidos provenientes de glicéridos Vizern no se registró miristato, palmitoleato y eicosenoato de metilo. Se observa un sensible aumento en la concentración de ácidos linoleico y linolénico y una disminución notable en los valores de oleico, esteárico y palmítico.

(LLL) "random" del aceite =1,6 y calculada por esquema Gunstone=1,5%.

b) Aceite de semilla de Arachis hypogaea (maní).-

Se opera sobre un aceite extraido con hexano de semilla de var. roja comercial. El indice de yodo del aceite crudo es 101,7.

La composición ácida del aceite de partida y de los glicéridos - Vizern, ambos en % de ácidos totales, figura en el siguiente cuadro:

		14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	20:0	20:1	ác. tot. calc.	Ppác %	Bromo % calc. det.
aceite (+)	vest.	11,4	0,2	3,2	42,9	36,4	3,3	2,6	106,8	-	-	-
Vizern	-	3,5	0,2	0,9	19,4	75,3	0,2	0,5	154,3	2,0	48,2	-

(+) No se computan los ácidos en más de C<sub>20</sub>. Valores de composición acordes con los señalados para aceites de maní argentinos (47). Se observa en la composición ácida de los glicéridos Vizern la ausencia de ácido mirístico y un sensible aumento en la concentración de linoleico. Paralelamente una notable disminución en la concentración de los demás componentes ácidos. El valor de (LLL) calculado según distribución "random" es 4,9 y según teoría Gunstone 4,7%.

c) aceite de semilla de *Gossypium hirsutum* (algodón).-

Se operó sobre un aceite crudo de producción industrial - de índice de yodo 109,8, purificado por pasaje a través de alúmina activada (decoloración) poseo índice de yodo 109,7. Los valores de composición ácida del aceite percolado y de los glicéridos Vizern son los siguientes:

		14:0	16:0	16:1	17:0	17:1	18:0	18:1	18:2	ác. tot. calc.	Ppác %	Bromo % calc. det.
aceite (+)	0,7	26,0	0,9	vest.	vest.	2,5	18,3	51,6	110,8	-	-	-
Vizern	0,1	4,9	0,1	-	-	0,9	0,6	93,4	169,7	4,0	50,6	51,2

(+) Valores acordos con los registrados para aceites de algodón argentinos (48).

Se observa un aumento notable en la concentración de ácido linoleico en los glicéridos Vizern, ausencia de componentes en C<sub>17</sub> y sensible disminución en las concentraciones de los demás ácidos. El valor de (LLL) calculada "at random" da 12,7 y según Gunstone 11,1%.

d) Aceite de semilla de Cucúrbita máxima (zapallo).-

Se trabaja sobre aceite (extraído con hexano) de semilla de zapallo var. "Inglés" (Mendoza). El índice de yodo del aceite crudo es 113,1. El cuadro siguiente informa sobre la composición acidica del aceite y de los glicéridos Vizern:

	14:0	(+)	16:0	17:0	18:0	18:1	18:2	llíc. Ppdo tot. %	Bromo %
								calc.	calc. det.
Aceite	0,1	-	15,0	-	7,7	26,3	50,9	115,8	-
Vizern vest.	3,7	2,2	vest.	0,9	7,0	86,2	162,3	2,3	49,4

(+) Componente no identificado con tiempo de retención entre los correspondientes a miristato y palmitato de metilo.

Los glicéridos Vizern muestran un sensible aumento en la concentración de ácido linoleico y disminución notoria de los demás componentes ácidos.

El valor de LLL calculada según "random" es 12,8 y según el esquema Gunstone 12,0%.

e) Aceite de germen de Zca mays (maíz).-

Se opera sobre un aceite (extraído con hexano) de germen de maíz (separado por método húmedo) provisto por un establecimiento

industrial. El índice de yodo de este aceite es 111,3. Los valores de composición acídica del aceite y de los glicéridos Vizern son - los que siguen:

	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	Índ. Ppdo tot. % calc.	Fromo % calc. det.	
Aceite (+)	-	13,2	0,5	1,8	35,9	47,8	0,8	121,5	-	-
Vizern	0,1	0,7	vest.	vest.	2,4	95,4	1,4	178,7	3,6	51,9 52,8

(+) Valores acordes con los registrados para aceites de germen de - maíz argentinos (49).

La composición acídica de los glicéridos Vizern incluye ácido mirfístico (no registrado en el aceite de origen y posiblemente como rastros). Es notorio el aumento de concentración en los glicéridos - Vizern de ácido linoleico y linolónico (la concentración de este último <sup>no</sup> sobrepasa el 1,5% de los ácidos totales). Los demás componentes ácidos figuran, en los glicéridos precipitados, en concentraciones mucho menores que en el aceite. El valor de LLL calculada por - distribución "random" es 10,6 y según el esquema Gunstone 10,3%.

f) Aceite de semilla de Helianthus annus (girasol).-

Se opera sobre tres aceites obtenidos en laboratorio por extracción con hexano de semilla entera. Los aceites crudos acusan índices de yodo 118,0; 133,9 y 138,2. Por ser de baja acidez libre y color claro no se percolan por alúmina. El cuadro siguiente se refiere a las composiciones acídicas de los tres aceites en % de ácidos totales (valores acordes con los registrados para aceites de girasol argentinos (50).

II							IIác. (LLL) calculada		
aceite	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	tot.	según	
							calc. "r naom" Gunstone		
118,0	0,1	6,4	0,4	3,1	41,5	48,5	121,0	11,3	11,2
133,9	vest.	6,8	0,4	4,2	21,2	67,4	136,0	31,2	30,8
138,2	vest.	7,2	0,4	2,9	16,6	72,9	141,8	37,3	36,9

Los datos correspondientes a los glicéridos Vizern son los que siguen:

II	Ppdo					IIác.	Bromo	%
aceite	%	16:0	18:0	18:1	18:2	tot.	ppdo	
						calc.	calc.	det.
118,0	2,0	0,9	vest.	3,9	95,2	175,8	51,4	50,6
133,9	10,7	0,6	vest.	1,8	97,6	178,3	51,9	52,3
138,2	15,1	0,6	vest.	1,8	97,6	178,3	51,9	51,9

En los glicéridos Vizern de los tres aceites no se observa ácido hexadecenoico, mostrando un extraordinario incremento en la concentración de ácido linoleico lo que lleva a pensar en la precipitación principal de trilinoleína dodecabromada.

Kaufmann y Wessels (51), en un examen exhaustivo de la composición glicéridica del aceite de girasol (separación de glicéridos por T.L.C. con nitrato de plata, estudio de hidrólisis enzimática e identificación por C.G.L. de los ácidos grasos en los glicéridos separados) informan la presencia de todos los glicéridos posibles en este aceite, destacando que no responde al esquema "even distribution" y confirmando la existencia de trilinoleína.

Los rendimientos en precipitado son función de los índices de yodo de los aceites, o sea de sus concentraciones en ácido linoleico. La composición acídica de los glicéridos Vizern es muy similar para los tres aceites y los contenidos en bromo de los precipitados son, en dos de ellos, prácticamente iguales a los de una trilinoleína dodecabromada.

Respecto al fraccionamiento en placa delgada (sílica gel G/ nitrato de plata) de los glicéridos debrominados, hacia la obtención de trilinoleína pura, se informa en la Parte Experimental.

g) Aceite de semilla de Cucumis melo (melón).-

Se dispone de un aceite crudo obtenido por extracción con hexano de semilla de mezcla de distintas variedades comerciales, de índice de yodo 130,7. Se opera directamente con él en los ensayos de Vizern. Los resultados obtenidos figuran en el cuadro siguiente:

		14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Íléc. tot. calc.	Ppdo %	Bromo % calc. det.
Acete (+)	vest.	9,2	5,4	21,7	63,7	-	134,8	-	-	-
Vizern (++)		0,1	1,6	1,1	6,2	89,7	0,1	162,8	11,2	50,3

(+) Se registran rastros de 17:0 y 17:1 y posiblemente rastros de 18:3.

(++) Incluye componentes ácidos no identificados cuyos ésteres metílicos poseen tiempos de retención inferiores al del miristato de metilo y uno de ellos entre los del palmitato y estearato de metilo; sus concentraciones respectivas son 0,1; 0,6; 0,4 y 0,1%.



Se observa un aumento notable en la concentración de ácido linoleico y una disminución importante en los demás ácidos.

El valor para LLL calculado según distribución "random" es 25,2 y - el calculado por Gunstone 24,6%.

h) aceite de semilla de Vitis vinifera (uva).-

Se dispone de un aceite crudo obtenido por extracción de semilla de la var. "Barbera D'Asti" (Mendoza) de índice de yodo - 137,3. El aceite percolado por alúmina presenta índice de yodo 136,9. El cuadro siguiente resume las composiciones ácidas del aceite percolado y de los glicéridos según Vizern:

		Hác. Ppdo						Bromo	
		tot. %						%	
		14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	calc.	calc. det.
Aceto	vest.	8,1	-	4,1	20,1	67,7	140,8	-	-
(+)									
Vizern	-	1,4	0,4	0,9	4,5	89,7	166,8	11,4	50,2
(++)									50,0

(+) Valores acordes con los indicados para aceites de uva argentinos (52).

(++) Se registra un componente ácido (3,1%) cuyo éster metílico tiene un tiempo de retención algo inferior al del miristato de metilo. Los glicéridos Vizern contienen ácido linoleico en mucha mayor proporción que en los aceites de origen, siendo notable la disminución de los otros ácidos. El valor de (LLL) calculado por el modelo "random" es 31,7 y por el de Gunstone 31,1%.

i) Aceto de semilla de Melia azedarach (paraíso).-

Se opera sobre un aceite (extracción con hexano) de endo-

-carpios molidos, de índice de yodo 137,3. El cuadro siguiente resume las composiciones del aceite y de los glicéridos Vizern.

							Íaac.	Ppdo	Bromo	
							tot.	%	%	P/
		14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	calc.	calc.	det.
aceite	vest.	8,2	0,2	3,5	18,7	69,4	142,6	-	-	-
(+)										
Vizern		0,1	1,8	0,1	1,3	8,2	88,5	167,7	34,2	50,3 48,5

(+) Valores acordes con los registrados en un estudio argentino anterior (53).

Los glicéridos Vizern contienen ácido linoleico en mayor proporción que el aceite de origen y correlativamente disminuyen los demás componentes ácidos.

El rendimiento en precipitado (34,2%) es sumamente elevado. Teniendo en cuenta que los aceites de girasol, cártamo y uva, - con composiciones acídicas similares a la del paraíso rinden mucho menos precipitado, se tuvo la impresión que este aceite respondía a un esquema de composición glicerídica distinto al de aquellos. Sobre el particular se informa más adelante.

El valor de (LLL) calculado para el aceite según distribución acídica "random" es 33,1 y según el esquema Gunstone 32,7%.

j) aceite de semilla de Carthamus tinctorius (cártamo).-

Se dispone de un aceite (extraído por hexano) de semilla, mezcla de las variedades Nebraska 6, Nebraska 10, Inerme Jaune, Pacific 1 y Gila (Pergamino) de índice de yodo 142,1; percolado por - alúmina da índice de yodo 140,4. Los valores de composición acídica del aceite percolado y de los glicéridos Vizern figuran a continua-

-ción:

	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	liác. tot. calc.	Ppdo %	Bromo %	
								calc.	det.
aceite (+)	0,1	8,0	2,7	15,0	74,2	147,6	-	-	-
Vizern (++)	-	1,1	0,6	2,3	95,6	175,1	18,5	51,3	52,0

(+) Valores acordes con los registrados para aceite de semilla de cártamo argentinos (54).

(++) Se registran dos componentes ácidos (0,1 y 0,3%) con tiempos de retención para sus ésteres metílicos menores que el de miristato de metilo; además rastros de 14:0.

La composición de los glicéridos Vizern presenta las mismas características que las que se registran para aceites de girasol (elevada concentración de linoleico), pudiéndose afirmar que ocurre la principal precipitación de trilinoleína dodecabromada. La concentración de (LLL) del aceite calculada según el esquema "random" es 40,0 y según Gunstone 39,5%.

A los efectos de discutir el conjunto de aceites considerados hasta aquí, se presenta el CUADRO -1- que resume los principales valores mencionados en particular al describir el ensayo de Vizern de cada aceite.

La representación gráfica de los valores de rendimiento en precipitado en función de los contenidos en ácido linoleico de los tres aceites de girasol y del aceite de cártamo, indica que no

existe una relación lineal entre ellos; se obtiene una curva en la que se observa un mayor incremento de precipitación para las concentraciones más elevadas de ácido linoleico, del mismo modo se comporta la curva que vincula rendimiento en precipitado en función de la concentración de LLL "random" o Gunstone (Gráfico -1-).

El Gráfico -2- se refiere a las vinculaciones entre precipitado % de aceite, según Vizern, y contenido en ácido linoleico y (LLL) para todos los aceites tratados hasta aquí, señalando un comportamiento similar.

CULDRO -1- Ensayo de Vizern en aceites carentes de ácido linolénico o con no más de 1,5% de este ácido en los glicéridos precipitados

Aceite	II del aceite	18,2 % ác. tot. aceite	18,2 % molar aceite	(LLL) % molar según esquemas "random"	% molar según Gunstone	Ppdo % aceite
Té	92,5	25,8	25,2	1,6	1,5	0,8
Maní	101,7	36,4	36,5	4,9	4,7	2,0
Algodón	109,7	51,6	50,3	12,7	11,1	4,0
Zapallo	113,1	50,9	50,4	12,8	12,0	2,3
Mafz	113,5	47,8	47,3	10,6	10,3	3,6
Girasol	118,0	48,5	48,3	11,3	11,2	2,0
Melón	130,7	63,7	63,2	25,2	24,6	11,2
Girasol	133,9	67,4	67,8	31,2	30,8	10,7
Uva	136,9	67,7	68,2	31,7	31,1	11,4
Paraíso	137,3	69,4	69,2	33,1	32,7	34,2 +
Girasol	138,2	72,9	72,0	37,3	36,9	15,1 ~
Cártamo	140,4	74,2	73,7	40,0	39,5	18,5

Se concluye que el factor determinante de la precipitación

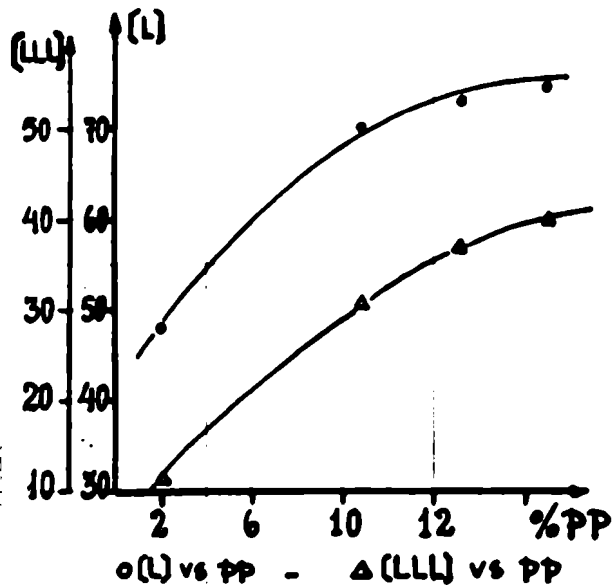


Gráfico-1- Precipitado % sobre aceite vs. concentración de ácido linoleico y vs. concentración de trilinoleína de los aceites de cártamo y girasol.

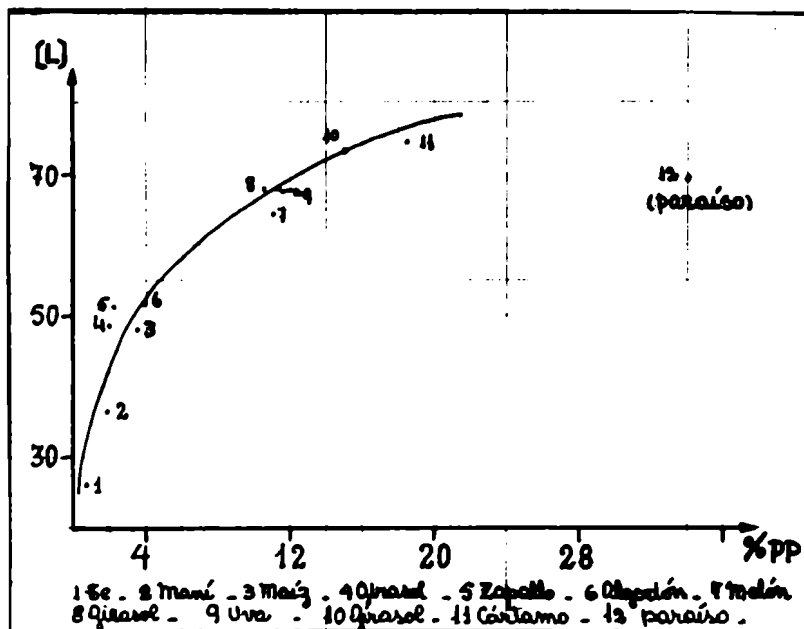


Gráfico-2- Rendimiento en precipitado % sobre aceite vs. concentración de ácido linoleico en el aceite (ácido % ácidos totales).

en los ensayos de Vizern sobre los aceites mencionados (prácticamente carentes de ácido linolénico), estaría estrechamente vinculado a la principal precipitación de trilinolefina dodecabromada. Por otra parte el Gráfico -2- indicaría que los aceites considerados responden muy aproximadamente al esquema "random" de configuración glicéridica.

El comportamiento del aceite de paraíso en el ensayo de - Vizern merece un comentario aparte. En efecto, poseyendo una composición acídica muy similar a la de un aceite de girasol de alto índice de yodo o a la de un aceite de cártamo, rinde mucho más precipitado (34,2%), de contenido en bromo próximo al 50% (ver Gráfico -2-), con una principal precipitación de trilinolefina dodecabromada.

Si los aceites de girasol y de cártamo responden aproximadamente al esquema "random", surge que el de paraíso debe conformar otro esquema distinto que conduzca a una mayor concentración de trilinolefina en dicho aceite. Con el fin de confirmar esta suposición se sometió el aceite de paraíso a un proceso de interesterificación (ver Parte Experimental) según lo indicado por Norris y Mattil (10) pero reemplazando el hidróxido estannoso por cloruro estannoso como catalizador (55).

El aceite así interesterificado se sometió al ensayo de - Vizern pudiéndose notar una gran disminución en el rendimiento de - precipitado con relación al del aceite no interesterificado. El valor obtenido fue de 13%, cifra esta que conforma la curva del Gráfico -2-. Este hecho prueba la no configuración "random" del aceite de paraíso y lo señala como un aceite de semilla muy rico en trilinolefina (tema que merece un examen aparte).

Además, el hecho de que el aceite de paraíso sometido a - interesterificación conduzca a un valor de precipitado % acorde con la curva del Gráfico -2- daría más seguridad a la presunción sobre

configuración "random" de los aceites que permitieron el trazado de dicha curva.

Se prosigue con el análisis de los resultados observados en los ensayos de Vizern practicados sobre aquellos aceites que con tienen ácido linolénico y que lo involucran en los glicéridos Vizern en cantidades significativas. Al considerarlos se los expone según contenidos crecientes de ácido linolénico en el aceite.

Así como en los aceites carentes de linolénico la concentración de trilinoleína parece determinar la formación y rendimiento en precipitado Vizern, los aceites que además de ácido linoleico poseen linolénico presentan "prima facie" la posibilidad de involucrar glicéridos con radicales de ácido linolénico en dicho precipitado. Desde que en los ensayos anteriores la trilinoleína se vincula a los rendimientos en precipitado, en aceites con ácido linolénico cabe esperar que además de la trilinoleína intervendrán todos aquellos glicéridos que contengan seis o más dobles enlaces por mol de glicérido. Esto supone tener en cuenta los siguientes triglicéridos: (LLL), (LLLn), (LLnLn), (LLnO), (LnLnLn), (LnLnO) y (LnLnS) que contienen respectivamente seis, siete, ocho, seis, nueve, siete y - seis dobles enlaces por mol.

Se han calculado las concentraciones molares de estos tipos de glicéridos (que en algunos casos representan la suma de isómeros) de acuerdo al esquema "random" de distribución acídica con las siguientes expresiones;

$$\begin{aligned}
 (LLL) &= (L)^3 \cdot 10^{-4} & ; & & (LLLn) &= 3 \cdot (L)^2 \cdot (Ln) \cdot 10^{-4} & ; \\
 (LLnLn) &= 3 \cdot (L) \cdot (Ln)^2 \cdot 10^{-4} & ; & & (LLnO) &= 6 \cdot (L) \cdot (Ln) \cdot (O) \cdot 10^{-4} & ; \\
 (LnLnLn) &= (Ln)^3 \cdot 10^{-4} & ; & & (LnLnO) &= 3 \cdot (Ln)^2 \cdot (O) \cdot 10^{-4} & y \\
 & & & & (LnLnS) &= 3 \cdot (Ln)^2 \cdot (S) \cdot 10^{-4}
 \end{aligned}$$

k) Aceite de fruto de Olea europea (oliva).-

Se opera sobre dos aceites de oliva, var. Chapidorado y -  
Picudillo, obtenidos por extracción con hexano de frutos enteros no  
lidos y deshidratados. Ambos aceites son Vizern netamente positivos.  
El de la var. Chapidorado presenta índice de yodo 98,2 y el de var.  
Picudillo 87,9. El cuadro siguiente resume las composiciones acídicas de los aceites:

Variedad	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	II ácidos
							tot. (calc.)
Chapidorado (+)	15,4	1,7	1,4	57,8	23,4	0,3	96,8
Picudillo (+)	20,5	2,5	1,6	55,2	20,0	0,2	88,9

(+), Valores acordes con los mencionados en la literatura para aceites de oliva argentinos (41). Aparecen vestigios de 14:0.

Las composiciones acídicas de los glicéridos Vizern son las siguientes:

	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	IIác. Ppdo Bromo		
								tot. % calc.		% calc.
Chapidorado	0,2	3,7	0,6	1,5	18,3	60,0	15,7	168,6	0,2	50,4
Picudillo	0,6	6,0	0,8	2,7	17,7	61,4	10,8	157,4	0,6	48,7

El bajo rendimiento en precipitado no permitió la determinación del contenido en bromo, el cual se calculó en base a los cromatogramas correspondientes a los glicéridos Vizern.

Se verifica un aumento considerable en las concentraciones de ácidos linoleico y linolénico en los glicéridos precipitados, tam



-bién de ácido mirístico (computado como rastros en los aceites de origen). Los aumentos más notables de concentración corresponden al ácido linolénico: 54 veces mayor en la var. Picudillo y 52 en la var. Chapidorado.

En un trabajo reciente Catalano (56) estudia la composición glicerídica de aceites de oliva vírgenes, por aplicación combinada de cromatografía en columna, en capa delgada, hidrólisis selectiva con lipasa pancreática y C.G.L. de ésteres metílicos, de triglicéridos y de azelao-glicéridos. La composición encontrada responde al esquema 1,3 "random", 2 "random", estando constituida en un 90% por siete triglicéridos: <sup>ooo,</sup> P00, 0L0, L00, P10, S00 y POP; alrededor de un 5% por veintitrés glicéridos con insaturaciones variables (1 a 4 dobles enlaces por mol) y otro 5% por quince triglicéridos que contienen 5 ó más dobles enlaces, entre los que se encuentran: L0L, -Ln00, L0Ln, Ln0Ln, LLO, LLL, 0LLn, LnLL, LnLLn, 0LnL, LLnL, LnLnL, -LnLnLn, 0Ln0 y 0LnLn. Estos últimos en razón de su alta insaturación (5 a 9 dobles enlaces/mol) justificarían ensayos Vizern positivos en aceites de oliva, dependiendo ello de sus concentraciones molares, a su vez función de las concentraciones acídicas de los ácidos linoleico y linolénico y del esquema de configuración glicerídica presente.

1) Aceite de germen de Sorghum vulgare Pers. (sorgo).-

Se dispone un aceite obtenido en laboratorio (por extracción de germen separado por procedimiento húmedo) de grano de la var. Combine Kafir 60. El índice de yodo del aceite crudo es 122,1 y el del percolado por alúmina 120,9.

El cuadro siguiente ilustra sobre las composiciones acídicas del aceite percolado y de los glicéridos Vizern.

	r16:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	IIác. tot. calc.	Ppdo %	Bromo %	calc.	det.
aceite (+)	-	13,5	0,2	1,5	35,9	47,6	1,3	122,2	-	-	-	-
Vizern (++)	0,1	2,3	0,2	0,6	9,4	81,9	4,3	168,6	6,3	50,4	49,9	

(+) Valores acordes con los registrados en la literatura para aceites de germen de sorgos argentinos (57).

(++) Se observa un componente ácido cuyo éster metílico tiene un tiempo de retención muy cercano al del miristato de metilo (1,2%).

El examen de composición acídica de los glicéridos Vizern muestra aumentos de concentración significativos para ácidos linoleico y linolénico, la presencia de un ácido presumiblemente ramificado en 16:0 (r16:0) y de 1,2% de un ácido no identificado.

1) Aceite de semilla de Lycopersicum esculentum (tomate).-

Se trabaja sobre un aceite (extraído en hexano) de semilla de la var. "Redondo". El aceite crudo presenta índice de yodo 120,2 y el percolado por alúmina 120,9. Los valores de composición acídica del aceite percolado y de los glicéridos Vizern son los siguientes:

	14:0	16:0	16:1	r18:0	18:0	18:1	18:2	18:3	IIác. tot. calc.	Ppdo %	Bromo %	calc.	det.
aceite (+)	0,1	15,2	0,3	0,3	5,5	20,7	56,3	1,6	125,9	-	-	-	-
Vizern (++)	1,4	4,4	1,1	-	vest.	6,1	70,6	13,9	172,4	7,3	50,9	50,3	

(+) Valores acordes con los indicados para aceites de semilla de tomate argentinos (58).

(++) Se observa un ácido no identificado (1,0%) cuyo éster metílico posee tiempo de retención inferior al del miristato de metilo y la presencia de un ácido ramificado 16:0 (1,5%).

La composición de los glicéridos Vizern muestra un aumento importante en la concentración de ácido linolénico (8,7 veces) y un incremento significativo en la de ácido linoleico.

Acerca de un examen exhaustivo de un aceite de semilla de tomate se informan más adelante.

m) Aceite de semilla de Lupinus multiflorus.-

Se dispone un aceite bruto de extracción de índice de yodo 123,3 que se percola por alúmina. Se obtienen los siguientes valores de composición acídica para los ácidos totales del aceite percolado y de los glicéridos Vizern:

	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	Íác. tot. calc.	Ppdo %	Bromo %	
										calc.	det.
Aceite vest.	8,3	0,2	5,8	26,5	56,5	2,7	133,7	-	-	-	-
Vizern	-	2,6	-	1,7	12,9	71,7	11,1	171,7	14,6	50,9	50,0

Sobre la composición acídica exhaustiva de este aceite se informa más adelante. Los glicéridos Vizern no presentan ácido mirístico ni hexadecenoico. Muestran un incremento importante en las concentraciones de ácidos linoleico y linolénico.

n) Aceite de semilla de Glycine max (soya).-

Se opera sobre un aceite de semilla de var. desconocida -

cosechada en la provincia de Corrientes. El índice de yodo del aceite es 119,0 y se lo percola por alúmina. Las composiciones acídicas del aceite y de los glicéridos Vizern figuran a continuación:

	14:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	18:2	18:3	IIác. tot. calc.	Ppdo %	Bromo %	calc. det.
Aceite	0,1	14,5	vest.	-	3,7	31,1	46,9	3,7	122,9	-	-	-
Vizern (+)	vest.	3,5	-	vest.	1,1	11,9	68,8	14,5	174,7	18,2	51,2	50,7

(+) Se observa la presencia de 0,2% de un ácido ramificado (r16:0) y vestigios de 17:0; además un aumento notable en las concentraciones de ácidos linoleico y linolénico.

o) aceite de germen de Triticum sativum (trigo).-

Se trabaja sobre aceite (extraído con hexano) de germen fresco remitido por un molino harinero. El aceite bruto presenta índice de yodo 131,4 y el percolado por alúmina 131,6. Se obtienen los siguientes valores de composiciones acídicas:

	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	IIác. tot. calc.	Ppdo %	Bromo %	calc. det.
Aceite	0,1	18,2	0,2	0,6	15,7	57,2	6,2	vest.	1,8	136,3	-	-	-
Vizern	0,2	4,5	0,2	0,2	4,5	71,2	17,9	-	0,5	182,5	9,8	52,4	50,6

Acerca de la composición exhaustiva en ácidos grasos del aceite de germen de trigo se informa más adelante.

En los glicéridos Vizern están significativamente incrementadas las concentraciones de ácidos linoleico y linolénico; paralela

-mente aparecen en muy bajas concentraciones ácidos no registrados en el análisis directo del aceite: 13:0 (0,1), 15:0 (0,3), 17:0 (0,2) y 17:2 (0,2%).

p) Aceite de semilla de Brassica nigra (mostaza).-

Se trabaja sobre un aceite de extracción remitido por un establecimiento industrial, de índice de yodo 110,6 que se percola por alúmina sin observarse cambio en el índice de yodo. Se obtienen los siguientes valores de composición acídica (en % de ácidos totales):

	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:1	20:2	22:1	24:0	24:1
Aceite (+)	vest. 3,3	0,2	1,2	25,1	14,6	12,1	10,6	0,7	30,3	0,1	1,6	
Vizern	0,1	1,9	0,2	0,3	9,4	10,2	44,7	6,9	0,8	22,8	0,2	2,3

(+) se observan además 17:0 (0,1%) y rastros de 12:0, 14:0, 15:0, - de un ácido con tiempo de retención entre 15:0 y 16:0; 17:1, 20:0 y 22:0. Acerca de la composición acídica del aceite de mostaza, incluyendo componentes menores, se informa más adelante.

Los índices de yodo de los ácidos totales calculados a partir de los cromatogramas del aceite y de los glicéridos precipitados son, respectivamente, 114,6 y 175,1. El % de precipitado: 10,5 y el % de bromo en dicho precipitado: 51,4 (calc.), 48,9 (det.).

El cromatograma de los ésteres metílicos de los glicéridos Vizern muestra la mayoría de los ácidos registrados en el aceite y - un ramificado en  $C_{18}$  (0,2%). A diferencia con todos los aceites hasta ahora considerados, los glicéridos Vizern presentan una concentración en ácido linoleico menor que la del aceite de origen (10,2 fren

-te a 14,6%), en cambio se registra un fuerte incremento en la concentración de linolénico. El ácido eicosadienoico (20:2) observa comportamiento similar al del linoleico.

q) Aceite de semilla de Colliquaya intertétrica (duraznillo).-

Se opera sobre un aceite (extraído por hexano) de semilla cosechada en Trelew (Cubut), de índice de yodo 144,2 y que se somete a percolación por alúmina. A continuación figuran los valores de composición acídica.

	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:1	20:2	Índ. tot. calc.	Ppdo %	Bromo % calc. det.
Aceite vest.	12,0	0,3	1,8	24,1	36,3	21,0	4,0	0,5	149,2	-	-	-
Wizern	-	7,2	-	1,2	18,5	37,2	32,1	3,2	0,6	175,4	75,7	51,3 49,7

Un examen exhaustivo de la composición acídica de este aceite se comenta más adelante.

Este aceite presenta un comportamiento distinto a la mayoría de los vistos ya que la composición acídica de los glicéridos - Wizern muestra prácticamente las mismas concentraciones en ácido linoleico (36,3 y 37,2%) que el aceite, la diferencia más importante radica en una mayor concentración en ácido linolénico (32,1 frente a 21,0% del aceite), aunque no tan significativa como en aceites anteriores.

r) Aceite de semilla de *Linum usitatissimum* (lino).-

Se trabaja sobre un aceite extraído con butano líquido de semilla industrial. El índice de yodo del aceite bruto es 186,4 y el del percolado por alúmina 184,4. Las composiciones acídicas del

aceite percolado, de los glicéridos según Vizern (éter de petróleo) y de los obtenidos del precipitado por bromación en éter etílico a 0°C son los siguientes:

	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Ilác. tot. calc.	Ppdo %	Bromo %	Bromo calc. set.
Aceite	5,7	4,8	16,4	14,9	58,2	200,9	-	-	-
Vizern	4,1	2,5	12,1	13,5	67,8	220,7	123,0	57,1	54,6
Bromación en EtOEt	3,2	2,7	6,7	8,8	78,6	236,7	57,0	58,8	59,5

Un examen más exhaustivo de la composición acídica del aceite de lino utilizado en estas experiencias ha sido realizado por Forchieri (59).

En el aceite de lino el ensayo de Vizern muestra un comportamiento parecido al observado en el de Colliguaya intergerrima (poca variación en la concentración de ácido linoleico y ligero aumento en la de linolénico en los glicéridos Vizern respecto del aceite).

El ensayo de bromación a 0°C en éter etílico acentúa este comportamiento notándose, en los glicéridos regenerados de los precipitados, un mayor aumento en la concentración de ácido linolénico y una sensible disminución de los ácidos restantes. El rendimiento en precipitado es mucho menor pero de contenido en bromo superior al registrado en el ensayo de Vizern (éter de petróleo).

Como el valor de bromo % en precipitado según Vizern, calculado en base a la composición acídica (57,1%) es sensiblemente superior al determinado (54,6%, confirmado en varias determinaciones) se sugiere que en los ensayos de bromación en éter de petróleo a 0°C

podría ocurrir la insolubilización de glicéridos ricos en ácido linolénico antes de una saturación total con bromo.

---

En el Cuadro -2-, referido a este grupo de aceites que contienen ácido linolénico, se resumen los valores particulares de cada aceite en relación a los ensayos de Vizern. En el mismo se consignan las concentraciones molares de los glicéridos con seis o más dobles enlaces, calculados según el esquema "random".

Si se consideran los contenidos en bromo de los precipitados Vizern de estos aceites se observa que, con excepción del caso del aceite de lino, oscilan entre 48,7 y 52,4 %, con una mayor concentración de valores entre 50 y 52%. Estas cifras son del orden correspondiente a una trilinoleína dodecabromada (seis dobles enlaces por mol de glicérido); sin embargo, es razonable pensar en la ocurrencia de precipitación de derivados bromados de glicéridos poseyendo más de seis dobles ligaduras por mol, los que necesariamente incluirían radicales de ácido linolénico. En tal sentido se han calculado para cada aceite las concentraciones molares de los glicéridos que figuran en el Cuadro -2-. En los aceites de mostaza y de duzaznillo las concentraciones de los glicéridos tabulados se obtienen en base a la suma de las concentraciones molares de ácidos mono y dietilénicos, como se indica al pie del cuadro.

La circunstancia de que los precipitados contengan en su mayoría 50-52% de bromo hace pensar que, además de la precipitación de glicéridos con seis o más dobles enlaces, ocurre la de glicéridos con menos de seis dobles ligaduras por mol pero con al menos un radical de ácido linolénico.

Otra explicación a los valores de 50-52% de bromo en los precipitados sería la expuesta para el caso del ensayo de Vizern en



CUADRO -2- Ensayos de Vizern en aceites conteniendo ácido linoléico

Aceite	Moles % de ács. tot.			Moles % de glicéridos ("random")						Suma de Pdo				
	18:1	18:2	18:3	LLL	LLLn	LLLnLn	LLnLnLn	LnLnLnLn	LnLnLnLn	LnLnLnLn	glic.	%		
Oliva	87,9	23,4	54,0	19,7	0,2	0,76	0,02	$2.10^{-4}$	$0,13$	$8.10^{-7}$	$7.10^{-4}$	$3.10^{-4}$	0,91	0,6
Oliva	98,2	17,9	56,8	23,2	0,3	1,25	0,05	$6.10^{-4}$	$0,23$	$3.10^{-6}$	0,002	$3.10^{-4}$	1,53	0,2
Sorbo	120,9	15,9	35,4	47,2	1,3	10,5	0,86	0,02	$1,30$	$3.10^{-4}$	0,02	0,008	12,71	6,3
Tomate	120,9	22,2	20,3	55,6	1,5	17,2	1,38	0,04	$1,02$	$3.10^{-4}$	0,013	0,005	19,66	7,3
Lupinus	123,3	14,7	26,2	56,2	2,7	17,7	2,5	0,12	2,4	0,002	0,06	0,03	22,8	14,6
Soya	119,0	19,4	30,5	46,4	3,7	9,9	2,4	0,19	3,1	0,005	0,12	0,08	15,9	18,2
Trigo	131,6	19,7	14,9	54,8	6,0	16,4	5,4	0,60	2,9	0,01	0,15	0,21	25,7	9,8
Mostaza (+)	110,6	5,2	26,6	15,5	13,0	0,43	1,01	0,81	8,1	0,22	3,2	0,60	13,8	10,5
Duraznillo (:)	144,2	14,8	23,7	36,1	20,9	4,94	8,4	4,8	12,5	0,91	3,6	1,94	37,1	75,7
Linno	186,4	9,4	16,3	14,8	57,6	0,32	4,8	14,7	8,3	19,1	16,2	9,3	81,7	123,0

(+) En el cálculo de composición glicéridica se computan junto a la concentración de 18:1 las con centraciones molares de 20:1 (10,1%), 22:1 (26,6%) y 24:1 (1,3%) y junto a la de 18:2 la de 20:2 (0,7%).

(:) En el cálculo de composición glicéridica se incrementa la concentración molar de 18:1 (23,7%) con la de 20:1 (3,6%) y se suma a la concentración de 18:2 (36,1%) la de 20:2 (0,6%).

aceite de lino (bromo determinado 54,6% frente al calculado 57,1%); a este respecto se argumenta la probable precipitación de productos insolubles de bromo adición antes de lograrse la saturación total. La comprobación de estas suposiciones requerirá preparar diversos glicéridos puros y examinar sus comportamientos por bromación según el ensayo de Vizern.

El Gráfico -3- se refiere a la representación de los valores de precipitado % de estos aceites en función de la suma de concentraciones molares de glicéridos conteniendo seis o más dobles enlaces, indicados en el Cuadro -2-. Es notoria la tendencia a un aumento mayor de la precipitación en función de esas sumas. La dispersión que se observa lleva a pensar en una estructura glicerídica no estrictamente "random" (Gráfico -3-).

Grasa animal.-

Si bien el ensayo de Vizern solo se ha practicado en aceites vegetales, se consideró de interés realizarlo sobre una grasa animal y observar la constitución acídica de los glicéridos involucrados en el precipitado. En ese sentido se eligió grasa integral de gallina con II 75,8 (ver Parte Experimental). Las composiciones acídicas de la grasa integral pasada por alúmina y de los glicéridos - Vizern son:

	14:0	14:1	15:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:1
Grasa (+)	0,8	0,3	0,1	26,8	8,8	0,1	4,8	41,4	15,7	1,0	0,2
Vizern (++)	0,8	0,1	-	29,5	5,7	0,2	8,7	28,7	16,8	3,8	1,4

(+) Vestigios de 12:0, 17:1 y seguramente de 20:2, 20:3 y 20:4 (no registrados).

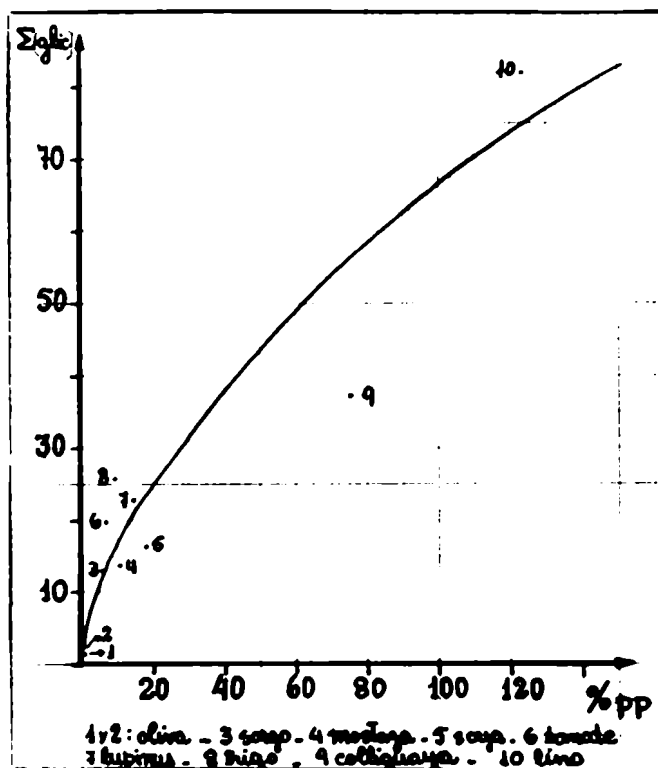


Gráfico-3- Rendimiento del ensayo de Vizern en precipitado % vs. sumatoria de concentraciones molares de glicéridos con seis ó más dobles enlaces posibles en el aceite.

(++) Además se observa la presencia de 15:1 (0,1), 20:2 (0,6), 20:3 (2,6) 20:4 (1,0%) y vestigios de 12:0, 13:0 y 17:1.

Los índices de yodo de los ácidos totales, calculados, son: 77,7 (aceite) y 84,3 (Vizern); el % de precipitado: 0,9 y el contenido en bromo %, calculado, 33,7.

Se nota en los glicéridos Vizern un incremento de 16:0 y 18:0 contrariamente a lo observado en la mayoría de los aceites vegetales; en cambio varía muy poco la concentración de 18:2 y disminuye la de 18:1. Se observa un aumento general de las concentraciones de los demás ácidos.

#### 4) Composición exhaustiva de algunos aceites de semilla.-

Durante el curso de este trabajo se tuvo ocasión de repetir exámenes de composición acídica de algunos aceites de semilla o de germen que habían sido motivo de estudios anteriores.

Como se expone en la Parte Experimental se decidió combinar técnicas de destilación a presión reducida (de los ésteres metílicos de los ácidos totales) con el examen por C.G.L. de cada fracción de destilación; ello, con el objeto de obtener una información amplia respecto de componentes ácidos en muy pequeñas concentraciones. El Cuadro -3- resume las composiciones así encontradas, expresadas en % de ácidos totales.

El aceite de germen de sorgo (Sorghum vulgare Pers) estudiado, corresponde a un aceite crudo de grano de var. "Combine Kafir 60" cosechado en Manfredi (Córdoba). Los valores de composición hallados están comprendidos entre los extremos señalados para aceites de sorgo argentinos (57) (Saturados totales (14,7-23,2); 18:1 (13,8-37,3); 18:2 (46,2-59,5) y 18:3 (0,8-3,0% de ácidos totales).

Se ha constatado la presencia de varios ácidos como componentes menores en concentraciones inferiores al 0,5%: 14:0; 15:0; -

CUADRO -3- Composiciones acídicas, incluyendo componentes en muy bajas concentraciones, de varios aceites de semilla y de germe (% de ácidos totales)

	Sorgo	Tomate	maíz	Lupinus	Colliaguaya	Trigo	Mostaza
10:0	-	-	-	-	-	-	vest.
11:0	-	vest.	-	-	-	-	vest.
12:0	-	vest.	-	vest.	-	vest.	0,02
13:0	-	-	-	vest.	-	-	vest.
14:0	0,02	0,10	0,03	0,11	0,03	0,08	0,06
15:0	0,01	0,01	vest.	0,04	0,01	0,03	0,02
16:0	12,30	14,68	10,88	8,4	10,96	16,51	3,35
17:0	0,03	0,01	0,01	0,01	-	vest.	0,05
18:0	1,12	6,13	3,40	6,38	2,03	0,66	1,17
20:0	0,16	0,43	1,69	1,28	0,03	0,01	0,18
21:0	-	-	0,02	0,12	-	0,12	-
22:0	0,10	0,11	3,58	2,00	0,01	0,11	0,30
23:0	-	-	0,02	0,13	-	0,02	-
24:0	0,10	0,14	1,38	0,27	-	0,13	0,14
r14:0	-	-	-	-	-	-	vest.
r16:0	-	0,01	-	-	-	-	vest.
r18:0	-	0,26	-	-	-	0,05	-
r24:0	-	0,01	-	-	-	-	-
14:1	vest.	-	-	-	vest.	-	vest.
15:1	vest.	-	vest.	0,01	vest.	0,05	0,01
16:1	0,50	0,62	0,33	0,30	0,28	0,65	0,20
17:1	vest.	vest.	vest.	0,01	-	vest.	vest.
18:1	35,71	21,18	41,21	24,53	23,88	15,38	21,67
20:1	0,37	0,10	1,62	0,36	6,98	1,78	10,78
22:1	-	-	-	-	0,16	0,58	33,74
24:1	0,07	-	0,02	0,01	-	-	1,89
14:2	-	-	-	-	-	-	vest.
17:2	-	-	-	-	-	-	0,01
18:2	48,62	55,14	35,79	53,28	35,03	59,64	14,02
20:2	-	-	-	-	-	-	0,55
22:2	-	-	-	-	0,48	-	0,24
18:3	0,89	1,07	0,02	2,72	20,12	4,20	11,60

17:0; 20:0; 22:0; 24:0, 14:1; 15:1, 16:1; 17:1, 20:1 y 24:1.

El aceite de semilla de tomate (*Lycopersicon esculentum*) - analizado, fue un aceite bruto de extracción de semilla de la var. "Redondo", cosechado en Pedro Luro (Bs. Aires). La composición acídica encontrada corresponde a los extremos señalados para aceites de semilla de tomates argentinos (58) (Saturados totales: 23,0-26,3; 18:1 (13,2-20,3); 18:2 (53,7-58,3); y 18:3 (1,7-2,4%). En el orden de los vestigios o en muy bajas concentraciones se mencionan los siguientes ácidos: 11:0, 12:0; 14:0, 15:0; 17:0, 20:0; 22:0; 24:0, - 17:1, 20:1 y tres ácidos ramificados (r16:0; r18:0 y r24:0).

El aceite de semilla de maní (*Arachis hypogaea*) examinado fue un aceite bruto de extracción de maní rojo comercial. Se consideró de interés este examen para obtener una información por C.G.L. sobre los ácidos en más de C<sub>18</sub>. La composición encontrada cae dentro de los extremos señalados para aceites de maní argentinos (47): 14:0 (0,1-1,4); 16:0 (8,2-12,9); 18:0 (1,6-3,8); 20:0 (0,9-2,0); 22:0 (2,3-5,0); 24:0 (1,3-2,5); 16:1 (0,2-1,0), 18:1 (36,1-54,0) y 18:2 (25,7-42,8). En el presente trabajo se destaca una sensible disminución en la concentración de 14:0, rastros o muy bajas concentraciones de 15:0; 17:0, 21:0; 23:0, 15:1, 17:1, 24:1, 18:3 y la existencia de - 1,6% de un ácido eicosenoico. En relación a la composición acídica de aceites de maní de distintas variedades, Worthington y Holley (60) mencionan los siguientes valores extremos: 16:0 (7,40-12,45); 16:1 - (0,08-0,14); 17:0 (0,05-0,11); 17:1 (0,01-0,07); 18:0 (2,77-4,92); - 18:1 (41,35-67,44); 18:2 (13,90-35,13); 18:3 (0,02-0,04); 20:0 (1,25-1,88); 20:1 (0,84-1,45); 22:0 (2,16-3,59) y 24:0 (0,98-1,67).

El aceite de semilla de Lupinus multiflorus fue extraído de semilla cosechada en Santa Fé. La composición encontrada es típicamente la de un aceite de semilla de leguminosa, como se desprende de la observación del Cuadro -3- en relación con la del aceite de

maní (presencia de ácidos saturados en  $C_{20}$ ,  $C_{22}$  y  $C_{24}$ . En este aceite, al igual que en el de maní, el ácido behénico ( $C_{22}$ ) es el componente principal entre los saturados de más de  $C_{18}$  (47 y 60). Un análisis reciente de Snoeb (61) para la composición acídica del aceite de semilla de Lupinus termis es el siguiente: 16:0 (8,2); 16:1 (vest.); 18:0 (2,0); 18:1 (52,1), 18:2 (21,9); 18:3 (11,1), 20:0 (4,7) y 22:0 (vest.).

El aceite de semilla de Colliguaya interpererrima se obtuvo por extracción de semilla cosechada en Trelew (Chubut). Este examen se hizo como ampliación de un estudio anterior (62) con el fin de determinar la composición acídica por técnicas modernas. Los resultados obtenidos concuerdan en general con los entonces hallados encontrándose concentraciones diferentes para los ácidos eicosenoico (20:1) y docosenoico (22:1), en cambio se señalan vestigios o muy bajas concentraciones de 14:0, 15:0, 14:1, 15:1 y 22:2.

El aceite de germen de trigo (Triticum sativum) analizado (extraído de germen fresco), presentó un índice de yodo muy elevado (131,4). Los estudios de composición acídica de estos aceites son poco numerosos, en el presentado en este trabajo se encuentra una composición más compleja que la señalada por Guitarte (63) para otro aceite de germen de trigo. Se registran como componentes en muy baja concentración los ácidos 12:0, 14:0, 15:0, 17:0, 20:0, 21:0, 22:0, 23:0, 24:0, 18:0, 15:1, 17:1 y 22:1.

Un análisis reciente de la literatura debido a Lotti y Galoppini (64) indica los siguientes valores: 14:0 (0,4), 16:0 (21,52), 16:1 (0,32), 18:0 (1,07), 18:1 (21,02), 18:2 (50,78), 18:3 (4,36) y 22:1 (0,89%).

El aceite de semilla de mostaza (Brassica nigra) fue remitido por un establecimiento industrial. La composición hallada, compleja como se esperaba, comprende los siguientes ácidos en el orden

de vestigios o muy bajas concentraciones: 10.0, 11:0, 12:0, 13:0, -  
14.0, 15:0, 17.0, 20:0, 22.0, 24:0, r14.0, r16 0, 14.1, 15 1, 16.1,  
17 1, 14 2, 17 2 y 22.2. Un análisis reciente publicado por Sreeni-  
visan (65) responde a los siguientes valores: 10.0 (vest.), 12:0 -  
(0,2), 14:0 (0,1), 16:0 (2,6), 18:0 (1,1), 20:0 (0,7), 22.0 (1,0),  
24:0 (0,1), 16:1 (0,2), 18:1 (12,9), 20:1 (7,3), 22:1 (4,87), 24:1  
(0,3), 16:2 (0,2), 18:2 (13,8), 22.2 (10,7), 24:2 (1,3) y 18:3 (8,8).

Las composiciones acídicas encontradas para estos aceites conforman adecuadamente, por cálculo, los valores de índice de yodo determinados sobre ácidos totales y sobre los respectivos aceites.

---



PART B - III

PART B EXPERIMENTAL

1) Materia prima - Obtención de los aceites.-

Las experiencias con el ensayo de Vizern se practican sobre diversos aceites de semilla y de pulpa de frutos, la mayoría de ellos aislados en el laboratorio por extracción. A los fines de esta última, las semillas se muelen finamente y agotan con hexano técnico en aparato Soxhlet. Los extractos se concentran al baño de María recuperando el hexano y arrastrando las últimas porciones del mismo con vapor de agua. Los aceites crudos se toman por éter etílico lavando en ampolla con solución acuosa semisaturada de sulfato de sodio. De la solución etérea final, tratada con sulfato de sodio anhidro y filtrada, se recupera el éter a baño de María y el aceite residual se lleva a constancia de peso en estufa de vacío (50 mm) a 100°C.

Los aceites de oliva ensayados habían sido obtenidos en un trabajo anterior (41) a partir de frutos cosechados en la Estación Experimental Agrícola de Catamarca, de las variedades Chapido y Picudillo. En esa oportunidad, los frutos fueron desmenuzados (incluyendo los carozcos) en mortero, tratados con suficiente cantidad de sulfato de sodio anhidro para obtener una masa sólida que, una vez molida, se sometió a extracción en Soxhlet con hexano técnico. Las fases finales de aislamiento de estos últimos aceites son las mencionadas anteriormente. El aceite de semilla de lino fue aislado en la forma señalada, a partir de semillas remitidas por una empresa industrial, por extracción con butano líquido.

El Cuadro -4- resume la obtención de los aceites, rendimientos observados, valores de índice de yodo, índice de saponificación y acidez libre de los mismos. Todos los aceites crudos se conservan en ampollas de vidrio cerradas sin espacio muerto significativo, a temperaturas inferiores a 5°C y en la oscuridad hasta el momento de sus exámenes.

CUADRO -4- Extracción de diversos aceites de semillas, de germen o de pulpa de fruto

Designación botánica	Nombre vulgar	en car- trac- ción (g)	ácido obtenido (g)	rendimen- to (aceite % semilla o fruto)	Iodo (Hjjs) percola- de por alúmina	I. Sap. ácidez (mg KOH por g)	
<i>Carthamus tinctorius</i>	Cártamo (a)	774,0	233,5	30,2	142,1	190,4	3,7
<i>Helianthus annuus</i>	Girasol (b)	430,0	127,5	29,7	118,0	189,6	4,4
<i>Helianthus annuus</i>	Girasol (c)	425,0	114,2	26,8	133,9	190,8	3,6
<i>Helianthus annuus</i>	Girasol (d)	220,0	59,0	26,1	138,2	190,4	9,3
<i>Vitis vinifera</i>	Uva (e)	938,3	104,0	13,2	137,3	193,7	1,0
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Tomate (f)	440,0	114,4	26,0	120,2	190,6	4,2
<i>Sorghum vulgare Pers.</i>	Sorgo (g)	478,0	122,6	25,6	122,1	185,6	18,5
<i>Araucis hypogaea</i>	Maní (h)	200,3	84,8	43,3	101,7	188,1	0,9
<i>Gossypium hirsutum</i>	Algodón (i)	-	-	-	109,8	-	25,4
<i>Melic azedarech</i>	Parafiso (j)	2.730	274,0	10,0	13,3	186,8	2,1
<i>Lupinus multiflorus</i>	- (k)	5.500	333,6	6,0	123,3	177,1	-
<i>Colliguaya intermedia</i>	Durañillo (l)	135,5	67,1	49,5	144,2	189,9	1,8
<i>Linum usitatissimum</i>	Lino (m)	-	-	-	186,4	186,2	1,1
<i>Brassica nigra</i>	Mostaza (n)	-	-	-	110,6	177,7	-
<i>Triticum sativum</i>	Trigo (o)	1.942	199,0	10,2	131,4	-	-
<i>Zea mays</i>	Mafz (p)	1.340	672,5	50,2	111,3	185,5	4,9
<i>Glycine max</i>	Soya (q)	243,0	43,1	17,7	119,0	192,6	3,7
<i>Cucumis melo</i>	Melón (r)	202,5	51,4	25,4	130,7	189,2	0,6
<i>Cucurbita maxima</i>	Zapallo (s)	189,0	95,7	50,6	113,1	191,0	1,6
<i>Phaca sinensis</i>	Tú (t)	1.327	348,5	26,3	92,3	192,8	7,7
<i>Olea europea</i>	Olive (u)	580,0	77,7	15,5	98,2	187,7	1,4
<i>Olea europea</i>	Olive (v)	500,0	72,5	14,5	87,9	191,5	1,3

(continúa)

CUADRO -4- (continuación)

- a) Mezcla de las variedades Nebraska 6, Nebraska 10, Inerte Jaune, Pacific 1 y Gila (INFA, Perg.)
- b) Aceite de semilla entera de var. desconocida, cosechada en Bandera (Santiago del Estero)
- c) Aceite de semilla entera de var. Manfredi, cosechada en Río IV (Córdoba)
- d) Aceite de semilla entera de var. Klein, cosechada en Olavarría (Buenos Aires)
- e) Aceite de pepa de var. Barbera D'Asti (Mendoza)
- f) Aceite de semilla var. Redondo (Pedro Luro Buenos Aires)
- g) Aceite de germen de sorgo de var. Combine Kafir 60
- h) Aceite de semilla de maní rojo comercial, var. desconocida
- i) Aceite crudo de extracción industrial
- j) Aceite extraído sobre endocarpios molidos
- l) Aceite extraído de semilla de frutos cosechados en Tirelew (Jhubut)
- m) Aceite extraído de semilla industrial con butano líquido
- n) Aceite remitido por un Establecimiento Industrial
- o) Aceite extraído de germen fresco remitido por un Molino Harinero
- p) Aceite extraído de germen fresco remitido por un Establecimiento Industrial
- q) Aceite extraído de semilla var. desconocida, cosechada en la provincia de Corrientes
- r) Aceite extraído de semilla de mezcla de variedades comerciales
- s) Aceite extraído de pepa de semilla var. Inglés (Mendoza)
- t) Aceite extraído de semilla cosechada en Alba Posse (Misiones)
- u) Aceite extraído de frutos maduros enteros, var. Chapidorado (Est. Exptal. Agr. Catamarca, INFA)

2) Tratamiento previo de los aceites.-

La totalidad de los aceites que se consideran en este trabajo son aceites crudos de extracción. Algunos de ellos, según surge del Cuadro -4-, tienen valores de acidez libre elevados y otros son de color intensamente oscuro. La elevada acidez libre puede determinar anomalías en los ensayos de Vizern (ver Discusión de la Parte Experimental) y la presencia de pigmentos y/o sustancias no lipídicas (mucílagos) puede contaminar los precipitados según Vizern, de ahí la necesidad de la eliminación de estas sustancias de los aceites crudos, antes de someterlos a estudio. A tal fin se aplica la técnica AOCs (44) consistente en la percolación de una solución del aceite en éter etílico:metanol a través de una columna de alúmina activada.

El procedimiento comprende:

- a) Solvente: Se prepara con 25 ml de metanol anhidro y 975 ml de éter etílico anhidro (tratado con virutas de sodio).
- b) Alúmina activada: Óxido de aluminio estandarizado para análisis cromatográfico por adsorción, según Brockman (Merck). Se activa por calentamiento durante cuatro horas a 200-205°C.
- c) Preparación de la columna: A una columna cromatográfica (según medidas establecidas en la técnica AOCs) cargada con el solvente según a), se transfiere de a pequeñas porciones la alúmina activada ( $20 \text{ g} \pm 1 \text{ g}$  para 5 g del aceite), dejando correr el solvente hasta formar una capa de 0,5 cm por encima del material adsorbente.
- d) Percolación: Pesar 5 g de aceite (con la precaución de solubilizar totalmente cualquier insoluble por calentamiento suave) y disolver en 10 ml del solvente a). Lavar la varilla con 5 ml del mismo, transferir la solución a la columna, regular la percolación a una velocidad de 4-6 ml por minuto y en fun

-ción del drenado, añadir 50 ml de solvente en porciones de 10 ml lavando el vaso que contenía la muestra, tres porciones más de 10 ml lavando el tope de la columna y finalmente otros 50 ml de solvente. Los percolados reunidos se tratan con agua en ampolla (eliminación del metanol) y de la capa etérea remanente, tratada por sulfato de sodio anhidro, se elimina el solvente a baño de María llevando el aceite residual a peso constante en estufa de vacío a 100°C.

Los aceites así obtenidos son traslúcidos y ligeramente amarillos. Los valores de acidez libre de los aceites crudos se reducen significativamente.

### 3) Determinación de composiciones acídicas.-

Con carácter previo a los ensayos de Vizern se determinan las composiciones acídicas de todos los aceites tabulados en el Cuadro -4-. Estas se practican, en la mayoría de los casos, por C.G.L. de los ésteres metílicos de cada aceite obtenidos por metanólisis directa sobre los aceites purificados por percolación a través de alúmina, según se ha explicado. Aquellos aceites de muy poca intensidad de color y bajos valores de acidez libre se analizan sin previa percolación.

En otros casos los exámenes de composición acídica han comprendido la combinación de técnicas de destilación fraccionada de los ésteres metílicos de ácidos totales libres de insaponificable, y el examen C.G.L. de cada fracción de destilación. Estos casos respondieron al deseo de obtener composiciones acídicas incluyendo muy pequeños componentes.

Los aceites de semilla de cártamo, Lupinus, paraíso, uva, algodón, zapallo, maní, té, sorgo, tomate, soya, germen de trigo, semilla de mostaza, duraznillo y lino fueron percolados por alúmina.

Los de semilla de melón, girasol, germen de maíz y aceites de oliva se examinaron sin ese tratamiento.

El examen de composición acídica comprende:

- a) Metanólisis: Se opera por adaptación de la técnica de Harris, -  
Layne y Skau (66). Aproximadamente 1 g de aceite se hierve suave-  
mente a reflujo sobre tela durante 30 minutos con 10 ml de una -  
solución de metóxido de sodio en metanol, que se prepara por di-  
solución de 0,1 g de sodio en 100 ml de metanol absoluto. La can-  
tidad de solución de metilato en metanol agregada debe ser sufi-  
ciente para neutralizar la acidez libre y dejar un excedente de  
sodio (como metilato) de aproximadamente 0,1% respecto del meta-  
nol presente. Se enfría, coloca 5 ml de solución de ClH (1:4) -  
(destrucción del catalizador), diluye con 10 ml de agua y extrae  
dos veces en ampolla de decantación con 30 ml de éter etílico por  
vez. Los extractos etéreos reunidos se lavan con agua (elimina-  
ción de acidez, glicerina y metanol), agrega unas gotas de solu-  
ción alcohólica de renolftaleína, gotas de solución de hidróxido  
de potasio en etanol al 40% (neutralización de los ácidos no es-  
terificados), lava repetidamente con agua (eliminación del álca-  
li), filtra, recupera el éter a baño de María y elimina las últi-  
mas porciones de éter en corriente de nitrógeno. Los ésteres se  
conservan en pequeñas ampollas de vidrio sin espacio muerto sig-  
nificativo, por debajo de 5°C y en la oscuridad hasta el momento  
de su análisis. Los ésteres metílicos obtenidos por metanólisis  
contienen el insaponificable de los aceites de origen. Estos últi-  
mos no interfieren en los exámenes de composición acídica por  
C.G.L.
- b) Exámenes por cromatografía gas-líquido: Todas las cromatografías  
se han realizado utilizando un cromatógrafo Perkin Elmer modelo  
154 provisto con columna de dos metros de largo y de 4,5 mm de -

diámetro interno, conteniendo material de relleno formado por - Chromosorb W lavado ácido (100/120 ó 60/80 mallas según el caso) como soporte y adipato de polietilenglicol como fase fija polar (el relleno contiene 13% de fase fija). Se emplea nitrógeno tres bandas como fase móvil (presión de entrada 19, 21 ó 11 psi, según la columna), detector de ionización de llama (presión de entrada del hidrógeno 10-14 psi, del aire 30-35 psi) y opera con - inyecciones de 1 a 3 microlitros de solución de ésteres al 5% en éter etílico. En los respectivos cromatogramas se especifican los grados de atenuación empleados en cada caso.

A continuación se detalla el método de obtención de la fase fija utilizada (adipato de polietilenglicol) y la preparación de columnas cromatográficas:

- Preparación de adipato de polietilenglicol: Se emplea el procedimiento señalado por James (67). Una mezcla de 6,5 g de etilenglicol, 14,6 g de ácido adípico (1,05 moles de etilenglicol por mol de ácido adípico) y 3 mg de ácido para-toluen-sulfónico (catalizador) se calienta por dos horas a 180°C (baño de aceite) en lenta corriente de nitrógeno libre de oxígeno. Siempre a 180°C - se hace vacío (50 mm, bomba de aceite), que se mantiene por una hora. Se obtiene un producto viscoso e incoloro que solidifica - lentamente en una masa cerosa y blanca que funde a 40-60°C (fase fija final).

- Preparación de la columna cromatográfica: A modo de ejemplo se cita la preparación de un material de relleno. En cápsula de porcelana se colocan 40 g de Chromosorb W (100/120) lavado ácido - (Johns-Manville Products) y 6 g de adipato de polietilenglicol. Se cubre con cloroformo puro redestilado y homogeneiza con varilla de vidrio calentando suavemente sobre manto eléctrico (disolución de la fase fija). Operando en campana, se prosigue el ca-



-lentamiento con agitación permanente (varilla) hasta eliminación del cloroformo, evitando ebullición y proyecciones. El producto-pulverulento así obtenido se mantiene en estufa de vacío por 1 hora a 100°C (eliminación total del cloroformo y de algunos productos volátiles).

Como columna se emplean tubos de vidrio Pyrex (dos metros de largo por 4,5 mm de diámetro interno) dobladas de forma que permita su introducción en el termostato del equipo. En uno de los extremos se coloca un pequeño tapón de lana de vidrio silinizada (Analabs JU6 Silanized glass Wool) y un pequeño resorte de acero inoxidable que lo fija. Se conecta ese extremo a una trompa de agua y por el otro se introduce gradualmente y de a pequeñas porciones el material de relleno. La aspiración de la trompa va produciendo la acumulación del relleno sobre el extremo obturado con lana de vidrio, y así se prosigue hasta la carga total de la columna. Finalmente se cierra el extremo libre con lana de vidrio y otro resorte de acero. La experiencia muestra que para columnas de dos metros se emplean entre 9 y 13 g de relleno, dependiendo ello de la granulometría del Chromosorb usado. Las columnas se instalan en el cromatógrafo y purgan con gasnitrógeno a 200-205°C durante varias horas, hasta obtención de línea de base correcta.

En los cromatogramas, los componentes responsables de cada pico se identifican a través de sus tiempos de retención y por representación gráfica de los logaritmos de estos últimos en función de los números de átomos de carbono para distintas series. Las composiciones acídicas se calculan por triangulación; el porcentaje de superficie de cada pico representa la concentración del componente respectivo expresada en % de ácidos totales.

Los cromatogramas de las Figuras 1 a 22 se refieren a

las composiciones acídicas así encontradas para los aceites tabu-  
lados en el Cuadro -4-.

4) Composiciones acídicas, incluyendo componentes menores, de algu-  
nos aceites de semillas.-

Desde que el examen de composición acídica por C.G.L. ope-  
rando sobre ésteres metílicos de ácidos totales, no se presta para  
revelar la presencia de componentes en muy bajas concentraciones, -  
se efectúan análisis exhaustivos de las composiciones de diversos a-  
ceites de semillas utilizados en este trabajo.

A esos fines los aceites crudos se saponifican por refluo-  
jo con solución alcohólica de hidróxido de potasio según (6). Los -  
líquidos resultantes, previa disolución acuosa, se extraen repetida-  
mente en ampollas con éter etílico separando la mayor parte del ma-  
terial insaponificable. De las soluciones hidroalcohólicas que con-  
tienen los jabones se aíslan los ácidos totales, que se transforman  
en ésteres metílicos (6) con metanol conteniendo 1,5% en peso de á-  
cido sulfúrico como catalizador. Los ésteres metílicos así obtenidos  
se destilan fraccionadamente en vacío (0,5-1,0 mm) empleando un equi-  
po adiabático según Longenecker (68) cuya eficiencia equivale a 12 -  
platos teóricos (medida con mezcla benceno-tetracloruro de carbono).

Se obtienen series de fracciones ordenadas según sus pesos  
moleculares medios crecientes y residuos de destilación. Estos últi-  
mos se saponifican, separan los insaponificables residuales y aíslan  
los ácidos totales que, en cada caso, se reesterifican con metanol y  
ácido sulfúrico. Las series de fracciones y los ésteres de los resi-  
duos se examinan por C.G.L. empleando el equipo, columna y condicio-  
nes ya mencionadas.

El Cuadro -5- se refiere a las saponificaciones previas a  
estos análisis, para los aceites sometidos a examen exhaustivo de -

composiciones acídicas, en él figuran los rendimientos en ácidos totales e insaponificable. Los valores de insaponificable % son algo inferiores a los contenidos en insaponificable total, desde que en estos análisis sólo se persigue separar la mayor parte de él (entre el 80 y 95% del total).

CUADRO -5- Exámenes de composición acídica

Saponificaciones previas

Aceite de	Aceite en saponificación (g)	Insaponificable obtenido		Ácidos totales obtenidos	
		(g)	%	(g)	%
Trigo	21,0	2,0517	9,77	18,5	88,1
Maní	34,4	0,4851	1,41	32,6	94,8
Duraznillo	26,3	0,2800	1,07	24,7	93,8
Tomate	25,0	0,3775	1,51	24,1	96,2
Lupinus	35,0	1,7482	5,00	31,9	91,1
Sorgo	32,0	0,6510	2,03	29,9	93,4
Mostaza	152,2	1,7255	1,13	147,9	97,2

Los Cuadros -6- a -12- se refieren a las destilaciones - fraccionadas de los ésteres metílicos de estos aceites, figurando - en ellos las composiciones acídicas (en % de ácidos totales) de cada fracción y de los residuos de destilación. Teniendo en cuenta es- tas últimas y los porcentajes de cada fracción, se calculan las com- posiciones de los ácidos totales de los aceites del Cuadro -3- (ver Discusión de la Parte Experimental).

En las Figuras -24- a -30- se muestran los cromatogramas particulares de algunas fracciones y residuos de destilación. Son - aquellos en los que figuran picos que por sus tiempos de retención

resultan de dificultosa identificación. En esos casos las fracciones fueron hidrogenadas y examinadas nuevamente por C.G.L. Al pie de los cromatogramas se hace referencia a los resultados obtenidos.

Las hidrogenaciones se practican sobre 40-60 mg de fracción en el equipo descrito por Tion y Waterman (69), empleando paladio sobre carbón como catalizador y ciclohexano como solvente.

#### 5) Ensayos de Vizern.-

a) Bromación - se emplean los siguientes reactivos:

- Éter de petróleo: libre de olefinas (tratado con ácido sulfúrico concentrado), con p.eb. 40-70°C.
- Reactivo de bromación: se prepara agregando gota a gota y con agitación 4 ml de bromo a 100 ml de éter de petróleo enfriado a 0°C. Se conserva en hielo fundente para evitar la formación de productos de sustitución (la preservación en la forma indicada permite el empleo de este reactivo hasta 10 días después de su preparación.
- Modo operativo: en tubos de vidrio de 2 cm de diámetro y 10 cm de altura bien secos y previamente tarados, se vierte 1 g del aceite (crudo o purificado por alúmina, según el caso) y se lo disuelve en 10 ml de éter de petróleo. Se cierra con tapón de goma y mantiene en hielo fundente 15 minutos. Gota a gota (manteniendo siempre los tubos en hielo fundente) se agrega el reactivo de bromación agitando con varilla, hasta coloración fuertemente naranja y se deja reposar a 0°C 1 hora.

Los precipitados se separan por centrifugación (5 minutos a 2.000 rpm.) lavándolos cuatro veces con 20 ml de éter de petróleo frío (se procede disgregando bien el precipitado y centrifugando cada vez por 5 minutos a 2.000 rpm.). El éter de petróleo del cuarto lavado es incoloro (en todas estas operacio-

-nes de lavado los tubos deben mantenerse en hielo fundente antes de cada centrifugación).

Con el objeto de obtener los precipitados en forma de película sobre las paredes del tubo (para facilitar el secado) - se suspenden en algunos mililitros de acetona anhidra, dejando evaporar en forma espontánea con rotaciones periódicas. Finalmente los precipitados se llevan a peso constante en estufa de vacío (5 mm) a 40-45°C.

Los ensayos para cada aceite se realizan por cuadruplicado, cuando la precipitación es escasa se llevan a cabo hasta doce ensayos con el fin de obtener bromoderivados insolubles en cantidad suficiente para las distintas determinaciones analíticas. Estos ensayos permiten calcular el rendimiento en precipitado, que se expresa en % de aceite (ver Discusión de la Parte Experimental).

En el caso de aceite de semilla de lino se practica, además, una bromación empleando éter etílico anhidro como solvente, y solución de bromo en éter etílico como reactivo de bromación (Figura 13). La concentración de bromo en este último es análoga a la del reactivo de bromación en éter de petróleo y la cantidad de éter etílico empleada en la disolución del aceite es la misma señalada para el caso de las bromaciones en éter de petróleo.

b) Determinación del contenido en bromo de los precipitados.-

Se sigue el método de Stepanow (70). A tal fin 0,10 a 0,25 g de bromoderivado se colocan en un Erlenmeyer de 150-250 ml, añade 20 ml de et. nol absoluto, adapta un tubo pararrayos (esmeril) y calienta a baño de María. En el transcurso de 20 minutos se añaden pequeños trozos de sodio metálico recién cortados (a razón

de 0,9 g de sodio por cada 0,1 g de bromoderivado), calentando a suave reflujo por 30 minutos más. Se diluye con 20 ml de agua bidestilada y neutraliza al tornasol con ácido nítrico (1:1 <sup>v</sup>/v).

Se agregan 3,5 a 4 ml de ácido nítrico (1:1 <sup>v</sup>/v) y se procede a la titulación de halógenos según la técnica de Charpentier-Volhard; para ello se agregan 18 a 25 ml de solución 0,1 N de nitrato de plata exactamente medidos, 1 ml de nitrobenzoceno puro, se agita y titula con solución 0,1 N de tiocianato de potasio en presencia de solución de alumbre férrico como indicador. Los resultados se expresan en bromo % de precipitado (ver aceites en particular, Discusión de la Parte Experimental).

c) Debrominación de los precipitados.--

Se procede por adaptación de la técnica de Catras (71). Con ese objeto 0,05 a 0,1 g de bromoderivado (exactamente pesado) se disuelven en 5 ml de acetona en un Erlenmeyer de 50 ml - provisto de tubo pararrayos (esmeril). Se calienta a baño de María y cuando comienza la ebullición se agrega 0,05-0,1 g de zinc en polvo y una gota de ácido clorhídrico concentrado como catalizador. Se sigue calentando a reflujo por 30 minutos, filtra - por papel y lava exhaustivamente con pequeñas porciones de acetona; se elimina ésta a baño de María, añade 15 ml de agua destilada y acidifica con ácido clorhídrico concentrado (heliantina). Los glicéridos liberados se extraen con éter de petróleo - en ampolla de decantación. Los extractos etéreos se lavan con agua destilada, tratan por sulfato de sodio anhidro, filtran y recupera el éter por destilación a baño de María, eliminando - los últimos restos en corriente de nitrógeno y en caliente.

d) Metanólisis de los glicéridos aislados.--

Se aplica la técnica de Magne, Harris y Skau (66) operan-

-do sobre alrededor de 50 mg de glicéridos que se hierven a reflujo con 5 ml de solución de metóxido de sodio en metanol absoluto (preparada por disolución de 0,1 g de sodio en 100 ml de metanol). El aislamiento final de los ésteres metílicos ya ha sido descrito en 3 a).

e) Examen de composición acídica de los glicéridos involucrados en los precipitados según Vizern.-

Se efectúa operando sobre los ésteres metílicos aislados por metanólisis de los glicéridos procedentes de la debrominación. Se determinan por C.G.L. utilizando el equipo, columnas y condiciones ya mencionadas. Las composiciones (% de ácidos totales), calculadas por triangulación, figuran para cada aceite en particular junto con los valores de índice de yodo de los ácidos totales y los contenidos en bromo de los precipitados, calculados en base a las composiciones acídicas por C.G.L. (ver Discusión de la Parte Experimental).

Las Figuras -1'- a -22'- se refieren a los cromatogramas correspondientes a estas composiciones acídicas. Los resultados obtenidos respecto de las composiciones acídicas de los aceites de partida han sido discutidos (Discusión de la Parte Experimental).

6) Ensayo de Vizern sobre grasa de depósito de gallina.-

Como grasa animal se elige la grasa de depósito de gallina, aislada en el laboratorio por calentamiento en baño de María de los depósitos diversos de un ejemplar, finamente cortados. La grasa fundida se trata por sulfato de sodio anhidro y filtra en caliente.

El índice de yodo (Wijs) es 75,8, el índice de saponificación 196,0 y el valor de acidez libre 1,5 mg KOH/g. Contiene 2,46% de insaponificable. Por metanólisis se obtienen los ésteres metíli-

-cos que se analizan por C.G.L. (Figura -23-), calculando la composición acídica.

Sobre la grasa se practica el ensayo de Vizern en la forma señalada para el caso de aceites vegetales (en éter de petróleo), aislando el precipitado, debrominándolo, efectuando la metanólisis de los glicéridos y determinando por C.G.L. la composición acídica de ésteres metílicos (Figura-23'-).

7) Cromatografía en placa delgada de los glicéridos separados por debromación de bromoderivados Vizern del aceite de girasol.-

La Figura -4'- señala la presencia principal de ácido linoleico (97,6%) y cantidades mucho menores de oleico (1,8%) y palmítico (0,6% sobre ácidos totales) en la composición acídica de los glicéridos involucrados en los bromoderivados Vizern de un aceite de girasol. Esto señala que tales glicéridos estarían fundamentalmente constituidos por trilinoleína. Con el fin de confirmar la existencia de trilinoleína se resuelve fraccionar por cromatografía en capa delgada a los glicéridos señalados.

Se opera con placas de vidrio 20 x 20 cm utilizando como adsorbente una suspensión formada por sílica gel G (Merck), nitrato de plata y agua destilada (4:1:10<sup>D</sup>/p) según lo indicado por Privett, Blank y Romanus (72), extendida con equipo Desaga (espesor de placa 325 micrones).

Las placas se estacionan al aire (oscuridad) y una vez que toman tono mate se activan una hora a 110°C de acuerdo a lo recomendado por Barrett, Tallas y Padley (73) y se preservan en desecador y al abrigo de la luz. Como solvente de saturación y desarrollo se utiliza una mezcla de cloroformo:metanol de acuerdo a lo señalado por Blank, Verdine y Privett (74), en la relación 97:3<sup>V</sup>/v encontrada en el laboratorio como más conveniente.



Las operaciones de tipo general se cumplen en base a las recomendaciones de Randerath (75).

Se siembran tres placas (17 siembras por placa), empleando 4 microlitros de solución de glicéridos al 5% en hexano en cada siembra, según la indicación de Galanos, Kapoulas y Voudouris (76), desarrollando el cromatograma en forma ascendente por 30-35 minutos. El revelado se efectúa con solución en etanol 50% de 2,7 diclorofluoresceína al 0,1%, observando bajo luz ultravioleta.

En la Figura -31- se representa un cromatograma obtenido en la forma indicada operando con glicéridos Vizern de aceite de girasol (parte izquierda) y con el aceite de girasol (parte derecha).

De las manchas 1 y 2 de las tres placas iniciales (formadas por los glicéridos más insaturados) se aíslan los glicéridos con éter etílico evaporando el solvente en corriente de nitrógeno. Los glicéridos se someten a metanólisis y examinan por C.G.L. obteniendo los cromatogramas de las Figuras -32- y -33-. En ambos, y según tiempos de retención, se señalan como muy pequeños componentes los ésteres de los ácidos mirfístico, palmítico, palmitoleico (?), esteárico, oleico y linoléico además del principal componente linoleato de metilo.

Las composiciones acídicas calculadas son:

Mancha 1: 14:0 ( 0,05), 16:0 (0,3), 16:1 (0,1), 18:0 (0,3),  
18:1 (1,2), 18:2 (97,8) y 18:3 (0,2%).

Mancha 2: 14:0 (0,4), 16:0 (2,0), 16:1 (1,9), 18:0 (0,6), 18:1  
(3,6), 18:2 (91,0) y 18:3 ( 0,05%).

En ambos cromatogramas se registra un pico desconocido inmediatamente antes de 15:0 en concentración de 0,1% en la mancha 1 y de 0,5% en la mancha 2. Esto indica que, aparentemente, la técnica empleada en la cromatografía en placa delgada no ha sido suficiente para separar la trilinoleína de otros glicéridos. Se decide entonces la rea

-lización de un blanco sobre placas no sembradas, extrayendo por éter etílico la zona de adsorbente de Rf similar al de la mancha 1. Se prosigue con metanólisis y C.G.L., registrando el cromatograma de la Figura -34- en el que se observan todos los componentes menores (excepto 18:3) mencionados en el cromatograma de los glicéridos de la mancha 1 (Figura -32-). Esto hace suponer que al menos, y en gran parte, los picos de este último cromatograma con tiempos de retención menores al del linoleato de metilo no provienen de la muestra, con lo cual se daría más fuerza a la opinión en favor de la existencia de trilinoleína prácticamente pura en los glicéridos de la mancha 1.

---

FIGURAS

I- Exámenes por Cromatografía Gas-Líquido referentes a los ensayos de Vizern.-

Las Figuras -1- a -23- y -1'- a -23'- que se exponen a continuación se refieren a los cromatogramas logrados sobre ésteres metílicos de ácidos totales de todos los aceites considerados y a los correspondientes a los ésteres metílicos de los ácidos totales de los glicéridos Vizern respectivos.

Los correspondientes valores de composiciones acídicas figuran en la Discusión de la Parte Experimental. Las condiciones operatorias (equipo, columna, temperatura, cantidades inyectadas y otras) se exponen en la Parte Experimental.

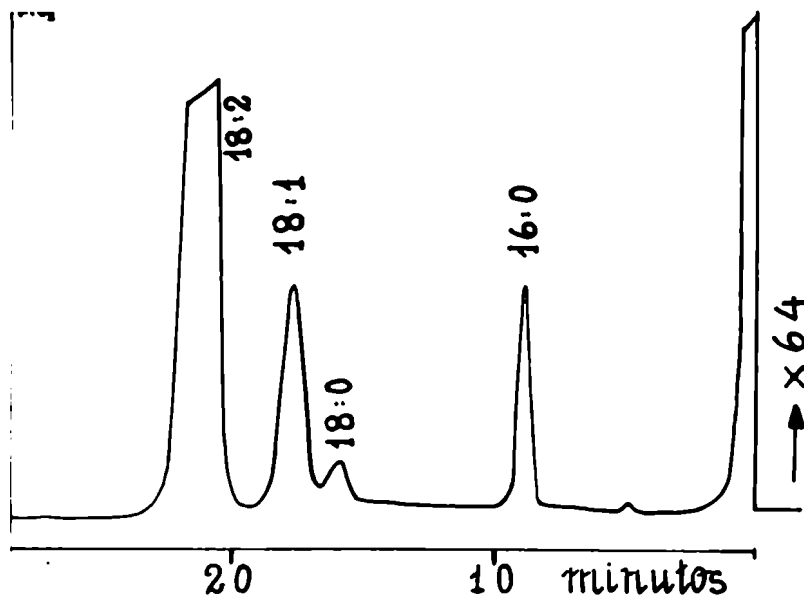


Fig. -1- Aceite de semilla de cártamo: ésteres metílicos de ácidos totales.-

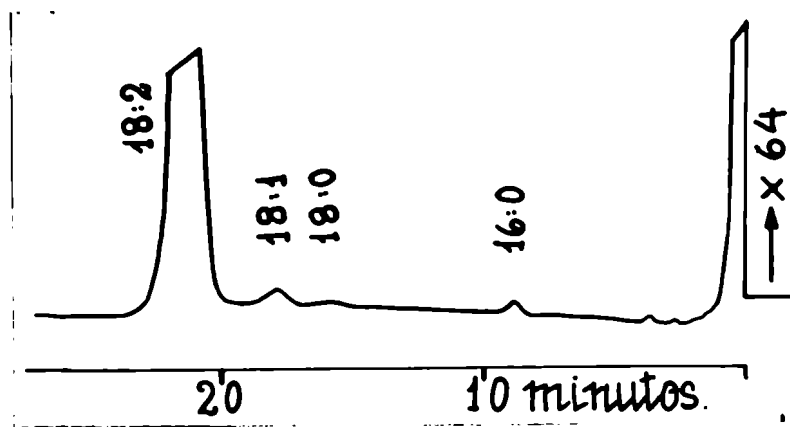


Fig. -1'- Aceite de cártamo: ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

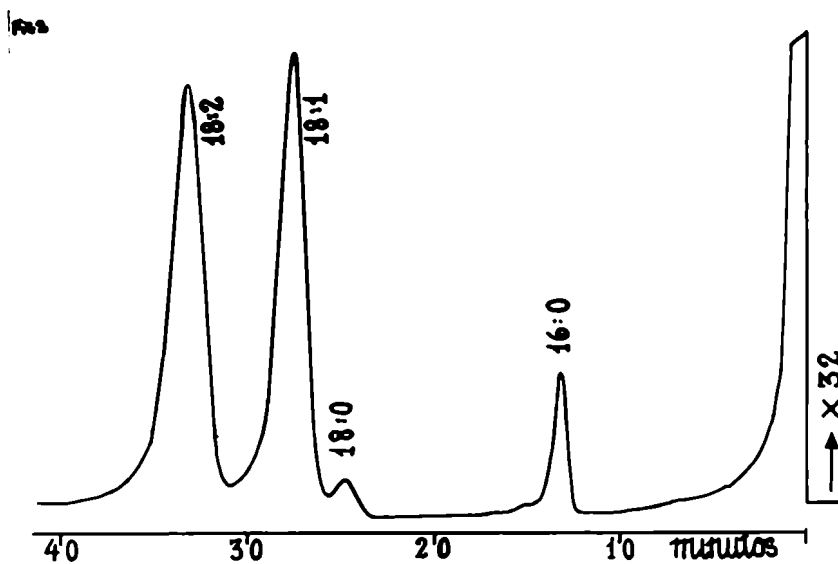


Fig. -2- Aceite de semilla de girasol (II 118): ésteres metílicos de ácidos totales.-

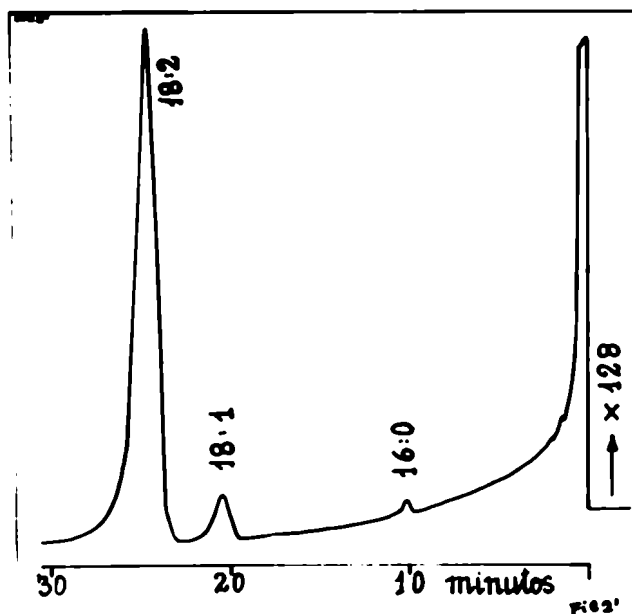


Fig. -2'- Aceite de semilla de girasol (II 118): ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

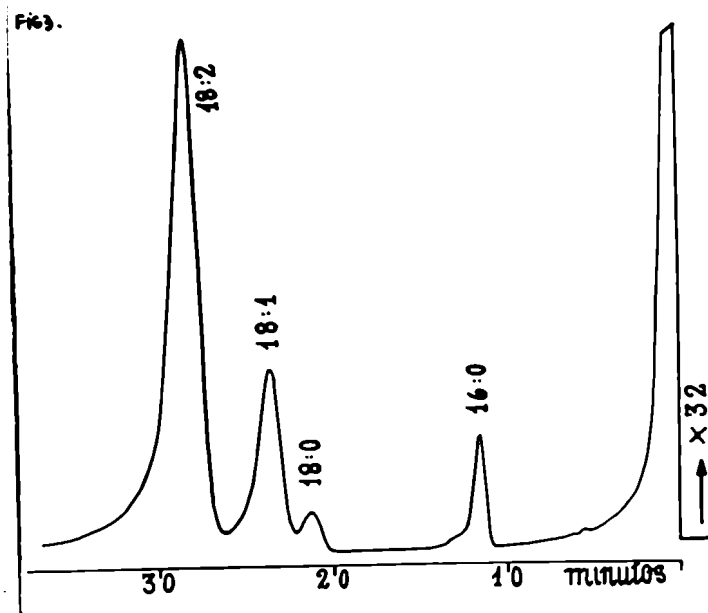


Fig. -3- Aceite de semilla de girasol (II 133,9): ésteres metílicos de ácidos totales.-

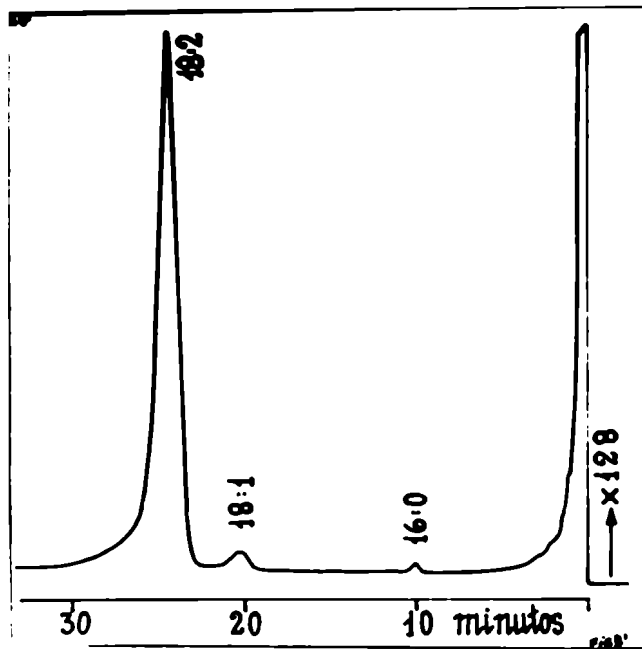


Fig. -3'- Aceite de semilla de girasol (II 133,9): ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

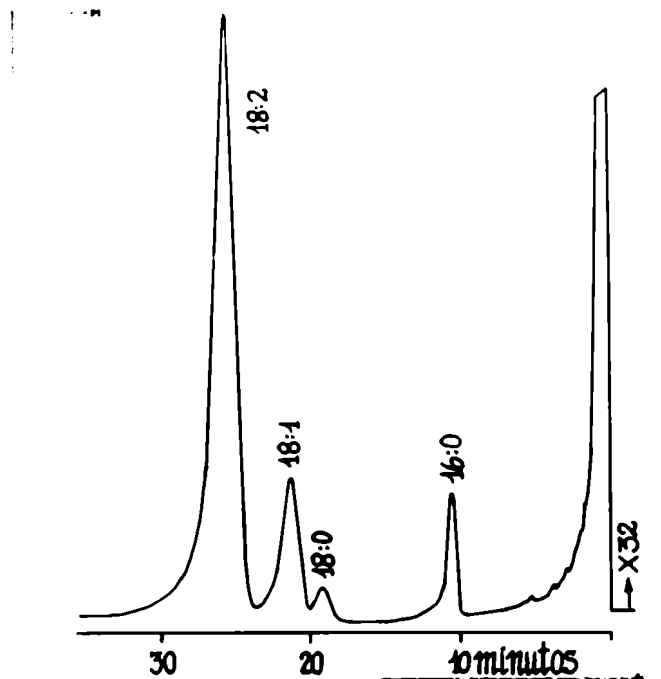


Fig. -4- Aceite de semilla de girasol (II 138,2): ésteres metílicos de ácidos totales.-

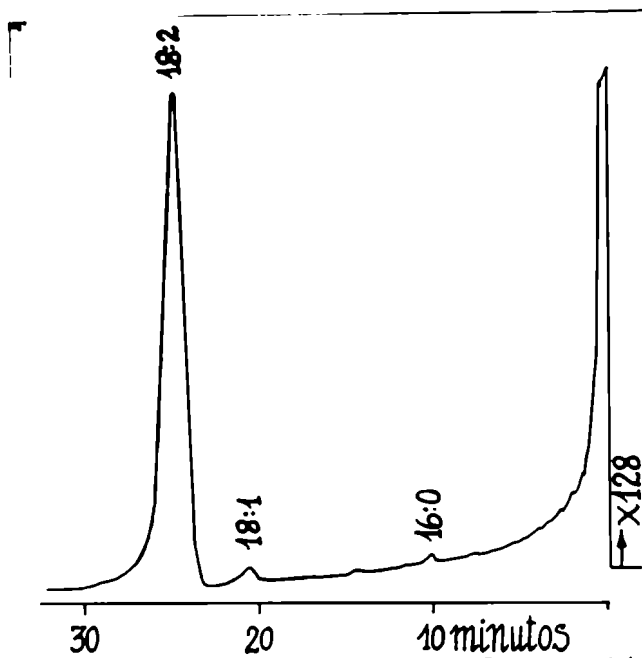


Fig. -4'- Aceite de semilla de girasol (II 138,2): ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-



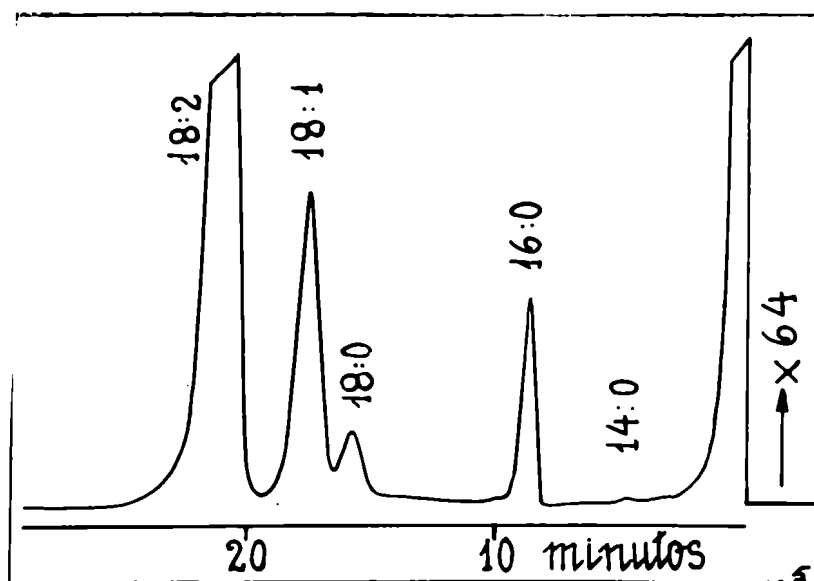


Fig. -5- Aceite de semilla de uva: ésteres metílicos de ácidos totales.-

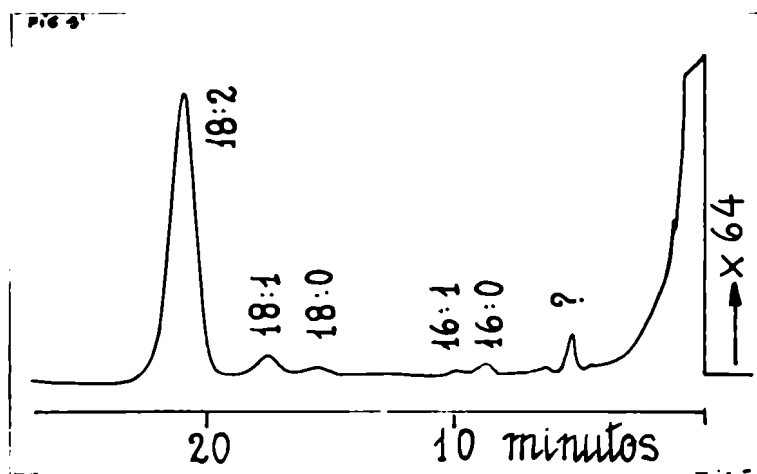


Fig. -5<sup>i</sup> Aceite de semilla de uva: ésteres metílicos de ácidos de gli céridos Vizern.-

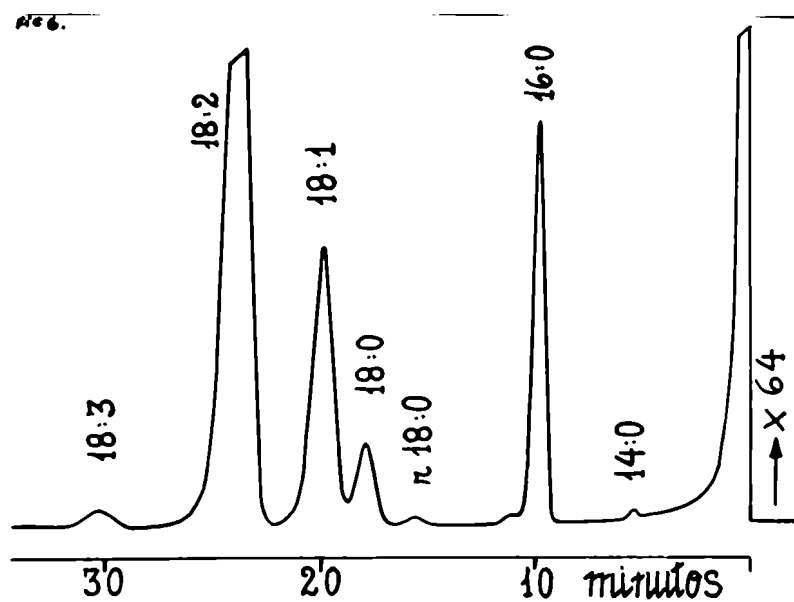


Fig. -6- Aceite de semilla de tomate: ésteres metílicos de ácidos totales.-

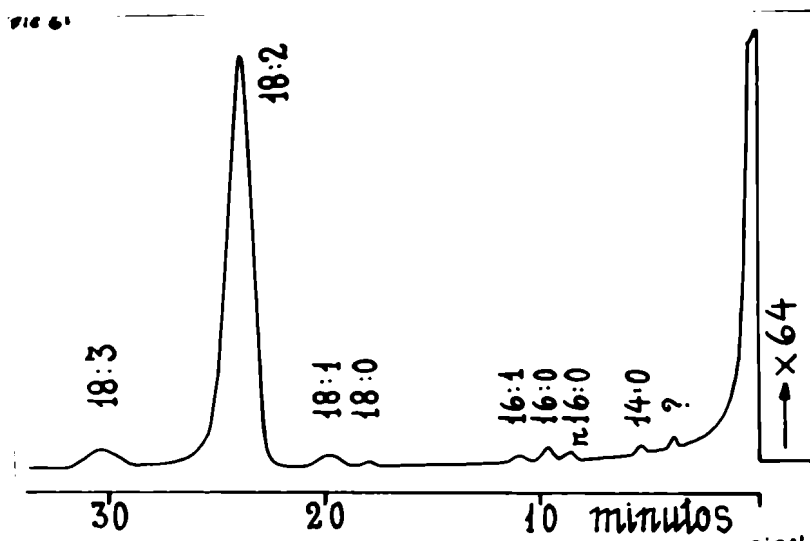


Fig. -6'- Aceite de semilla de tomate: ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

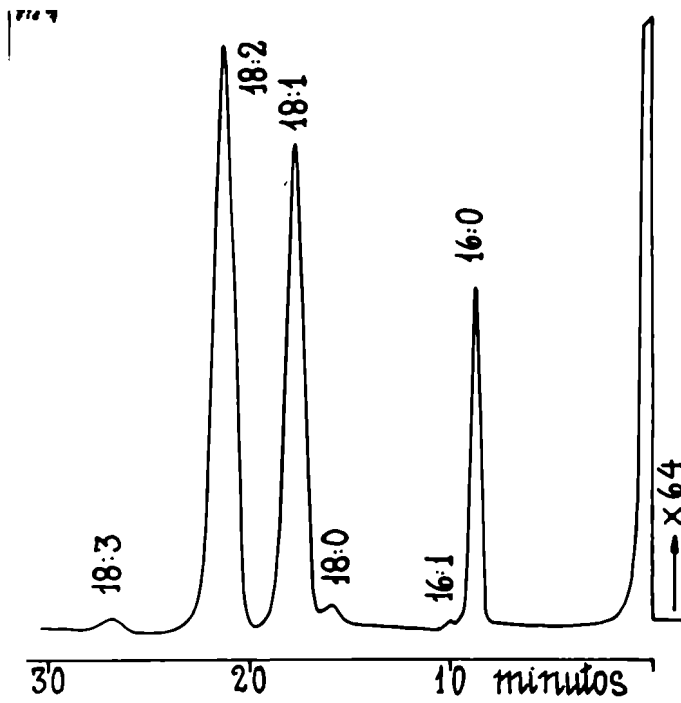


Fig. -7- Aceite de germen de sorgo: ésteres metílicos de ácidos totales.-

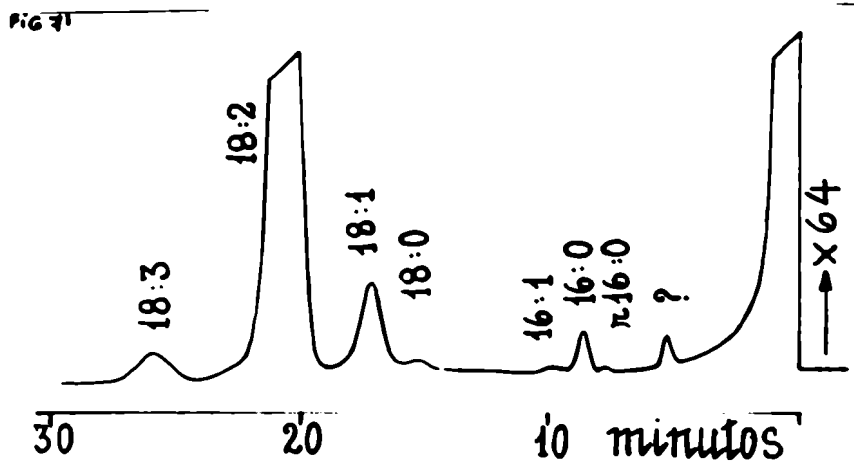


Fig. -7<sup>1</sup>- Aceite de germen de sorgo: ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

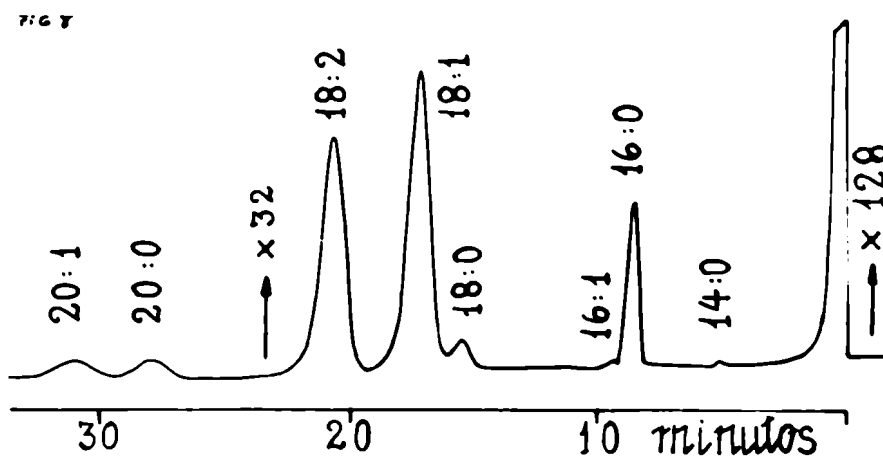


Fig. -8- Aceite de semilla de maní: ésteres metílicos de ácidos totales.-

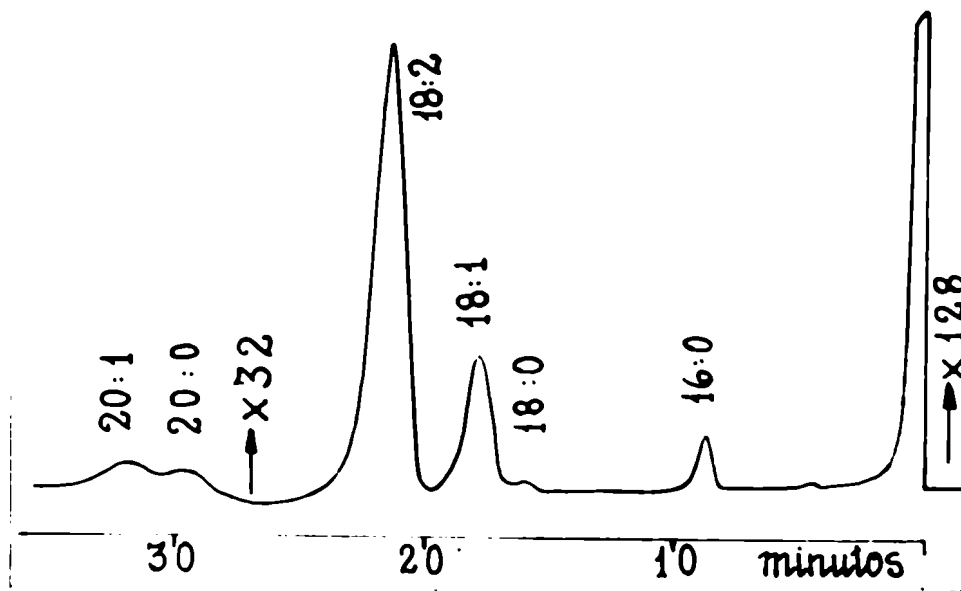


Fig. -8'- Aceite de semilla de maní: ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

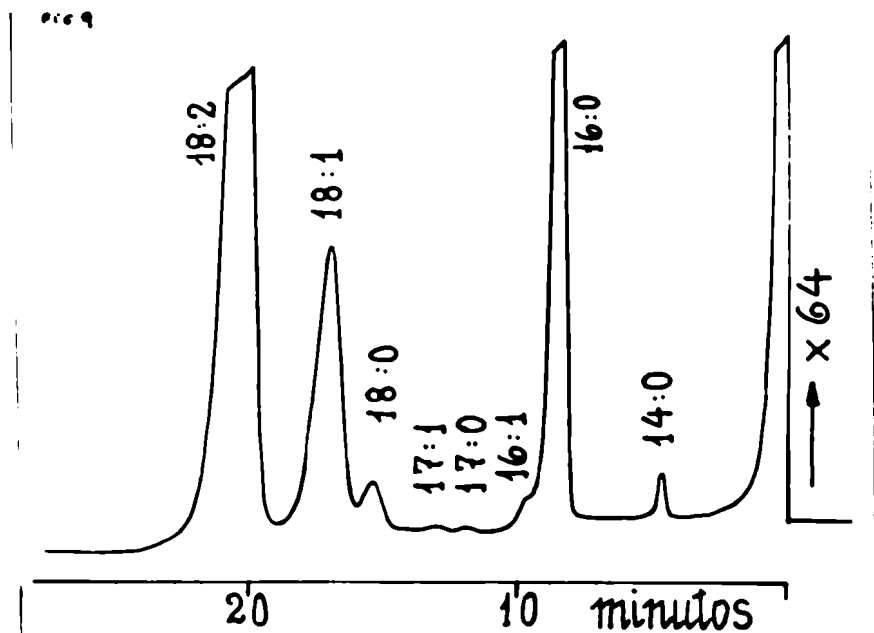


Fig. -9- Aceite de semilla de algodón: ésteres metílicos de ácidos -  
totales.-

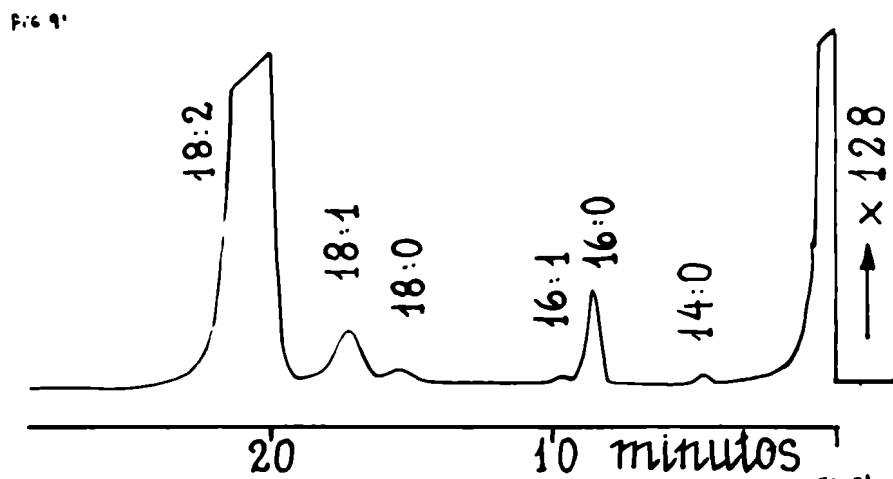


Fig. -9'- Aceite de semilla de algodón: ésteres metílicos de ácidos  
de glicéridos Vizern.-

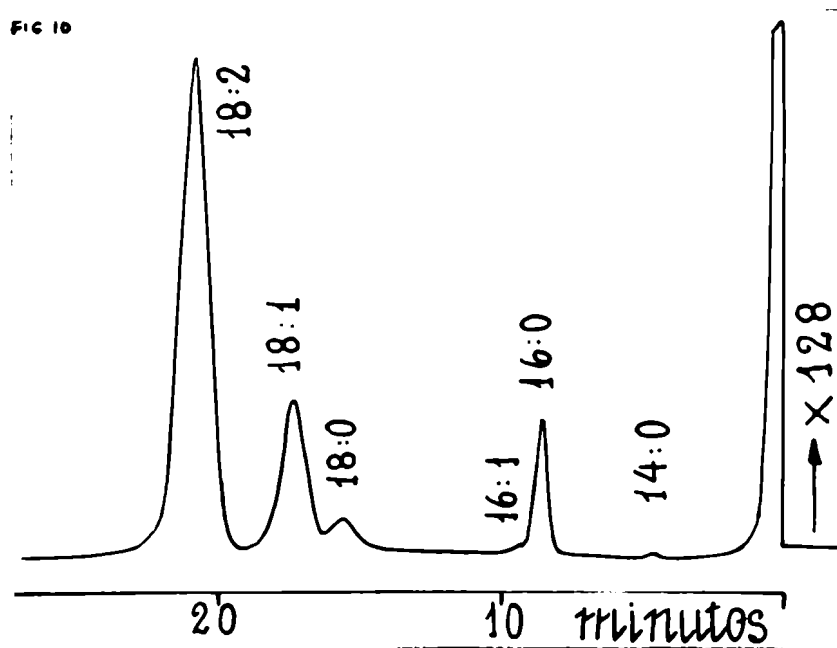


Fig. -10- Aceite de semilla de paraíso: ésteres metílicos de ácidos totales.-

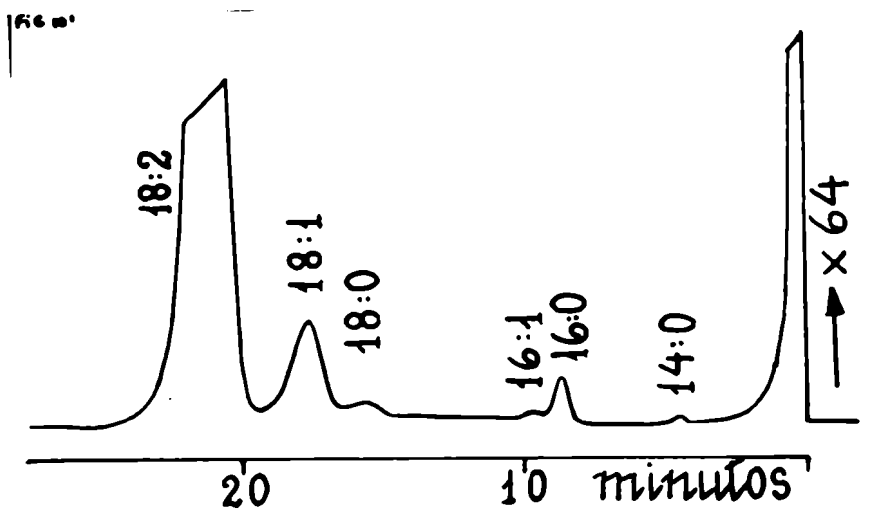


Fig. -10'- Aceite de semilla de paraíso: ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

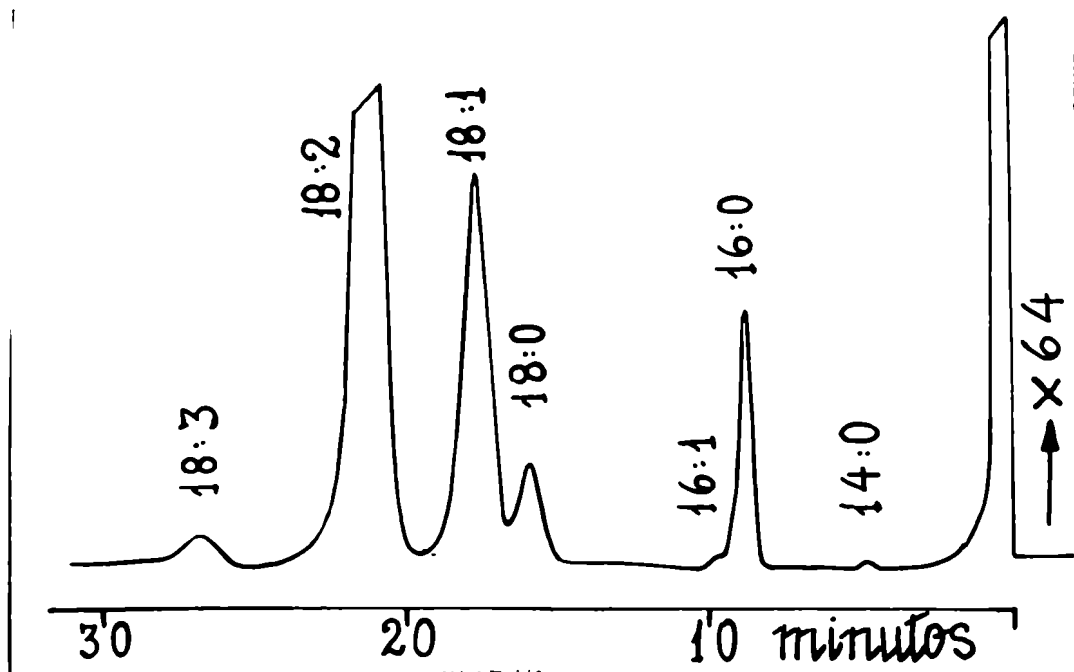


Fig. -11- Aceite de semilla de Lupinus Mult.: ésteres metílicos de ácidos totales.-

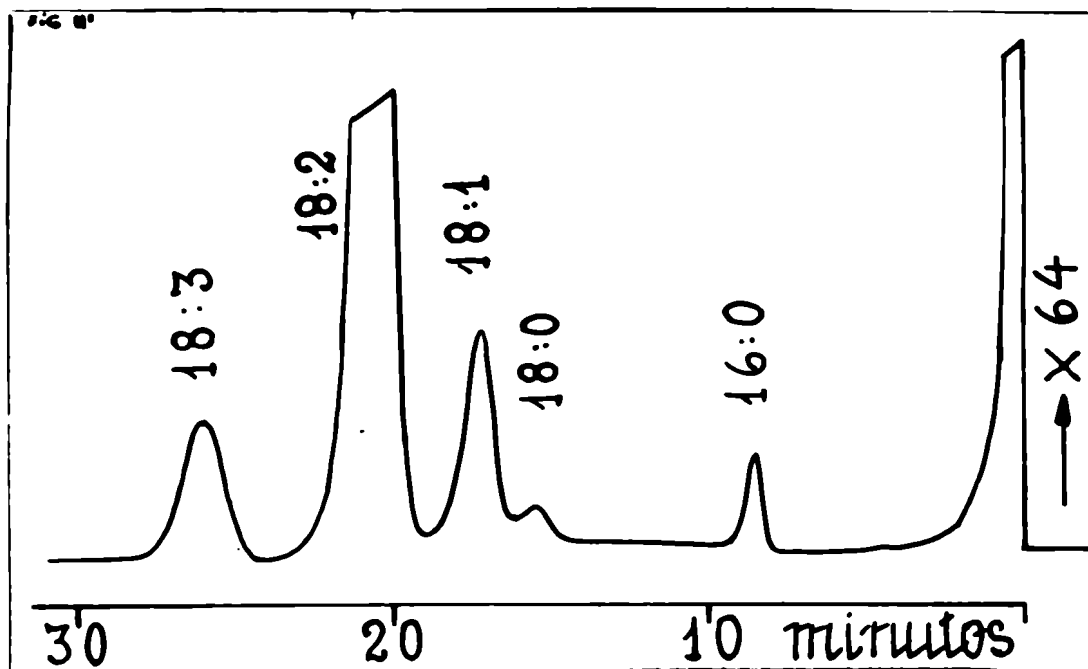


Fig. -11'- Aceite de Lupinus Mult.: ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

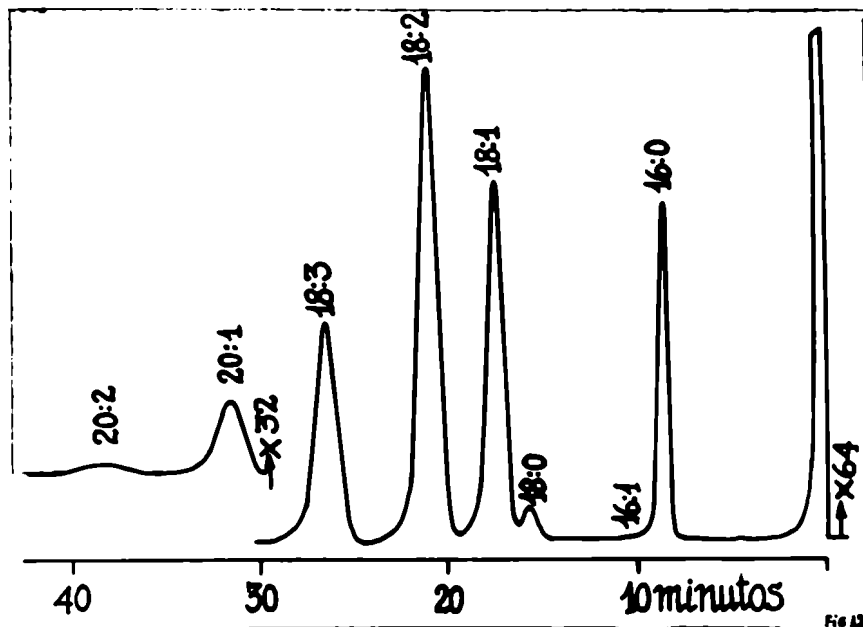


Fig. -12- Aceite de semilla de duraznillo: ésteres metílicos de ácidos totales.-

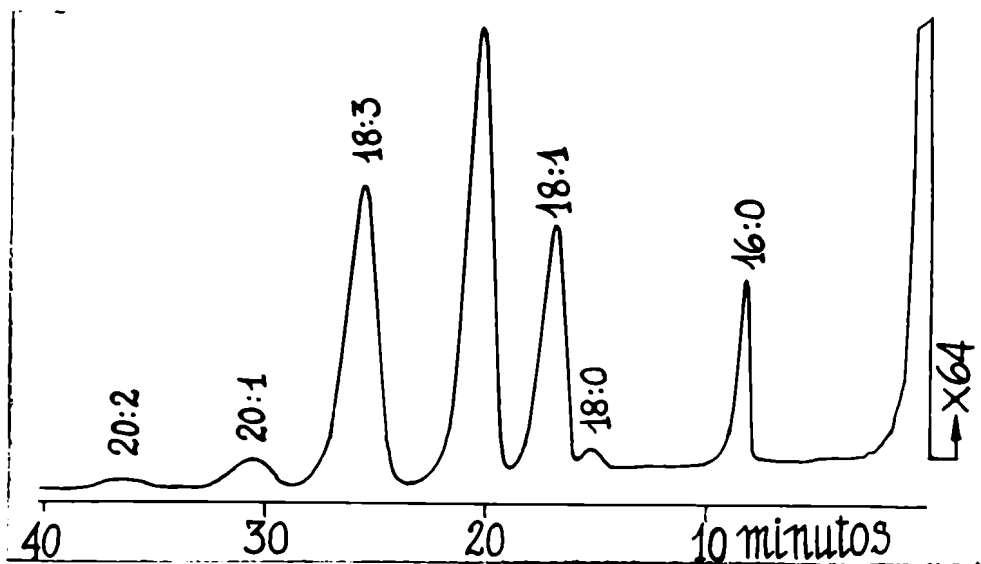


Fig. -12'- Aceite de semilla de duraznillo: ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-



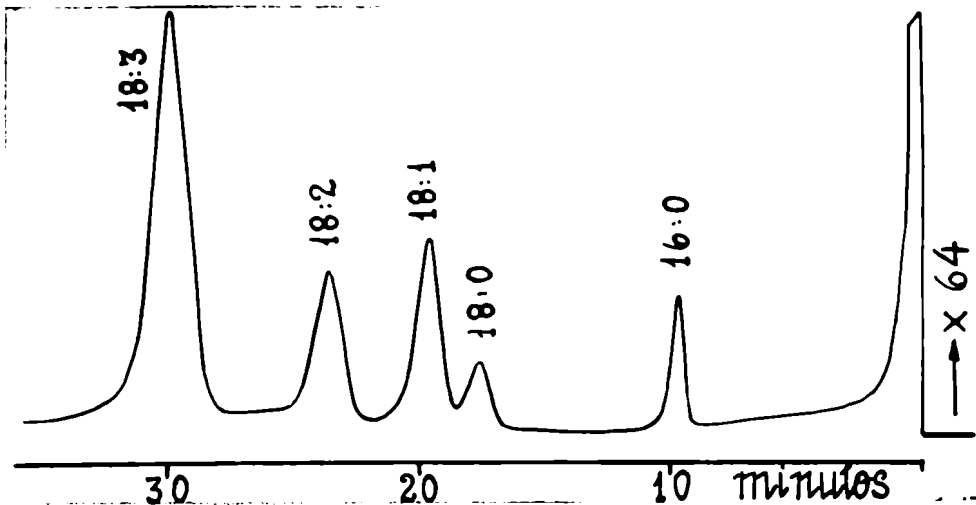


Fig. -13- Aceite de semilla de lino: ésteres de ácidos totales.-

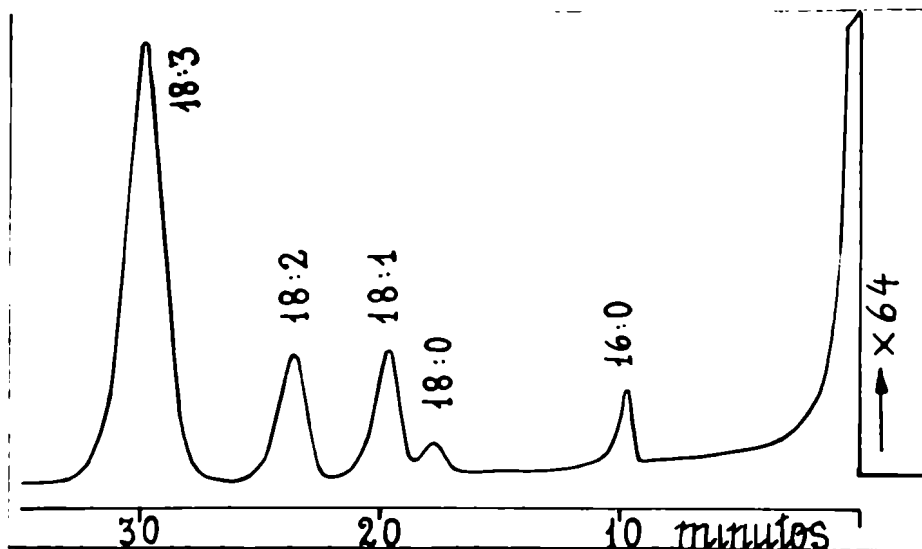


Fig. -13'- Aceite de lino: ésteres de ácidos de glicéridos Vizern.-

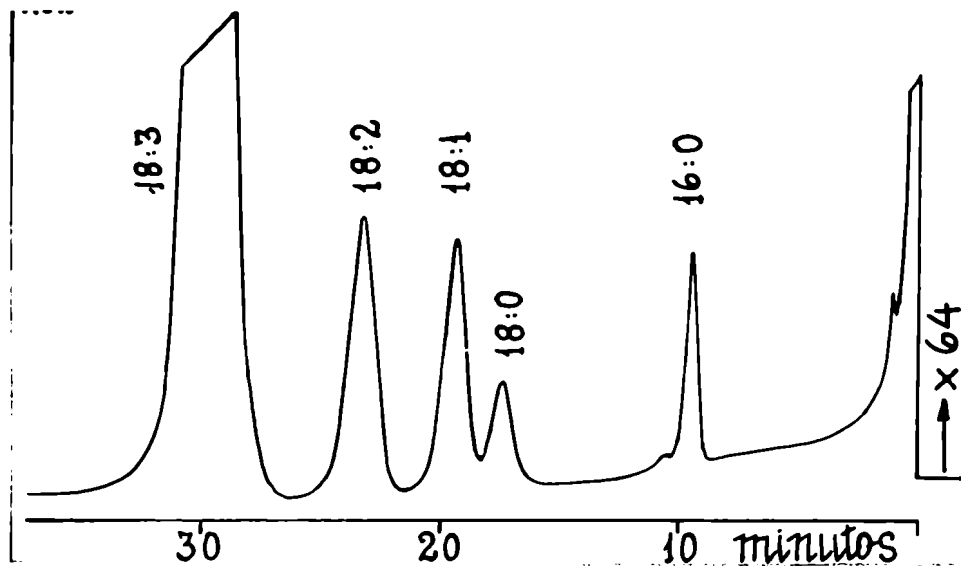


Fig. -13''- Aceite de lino: ésteres de ácidos de glicéridos bromados y precipitados en éter etílico.-

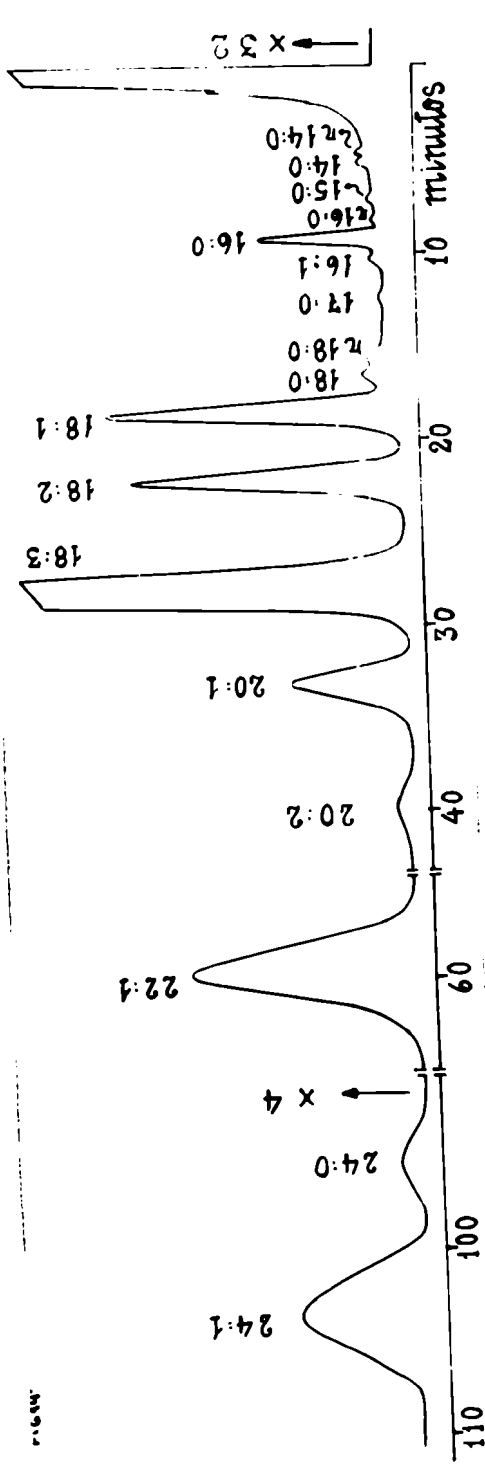


Fig. -14- Aceite de semilla de mostaza: ésteres metílicos de ácidos totales.-

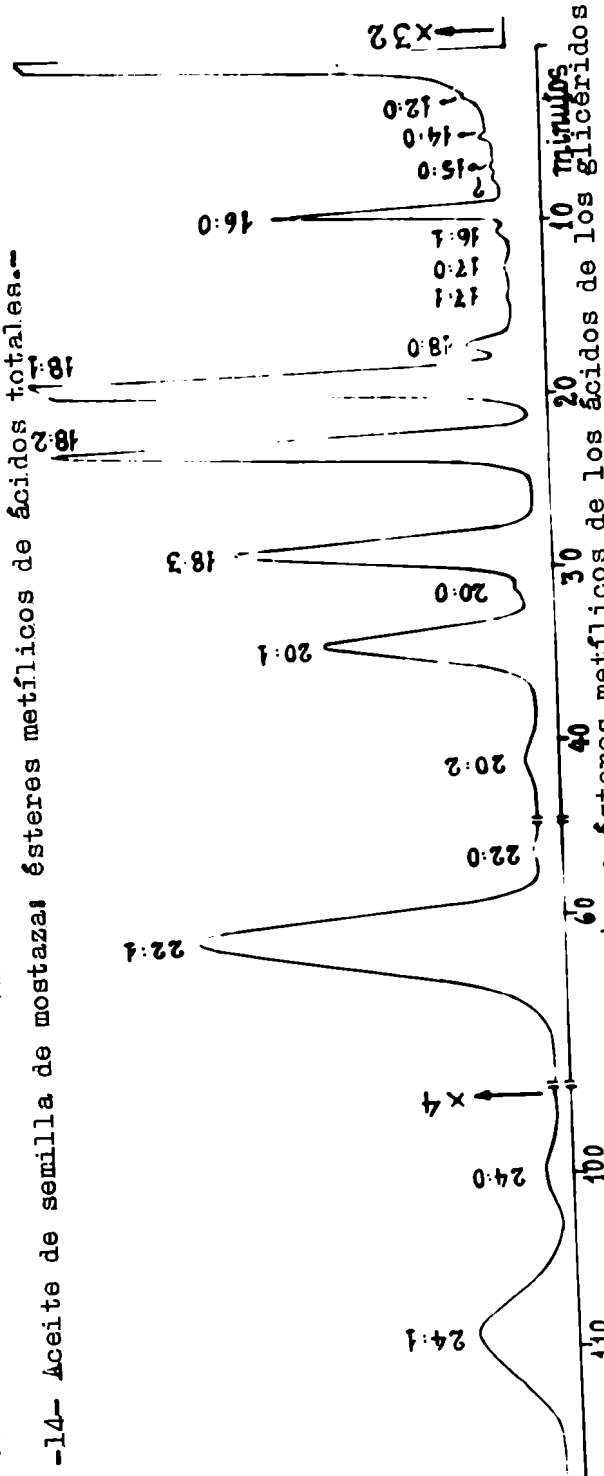


Fig. -14'- Aceite de semilla de mostaza: ésteres metílicos de los ácidos de los glicéridos Vizern.-

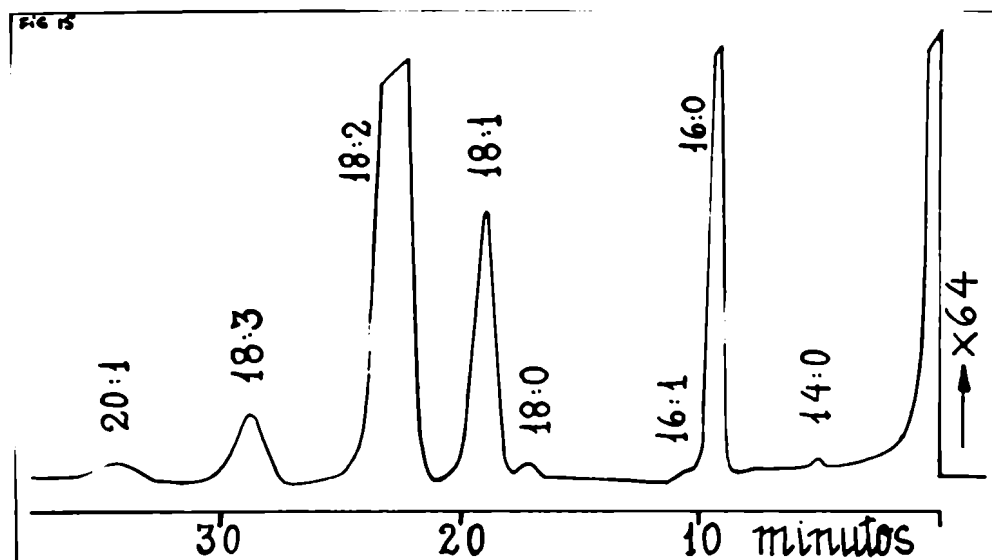


Fig. -15- Aceite de germen de trigo: ésteres metílicos de ácidos totales.-

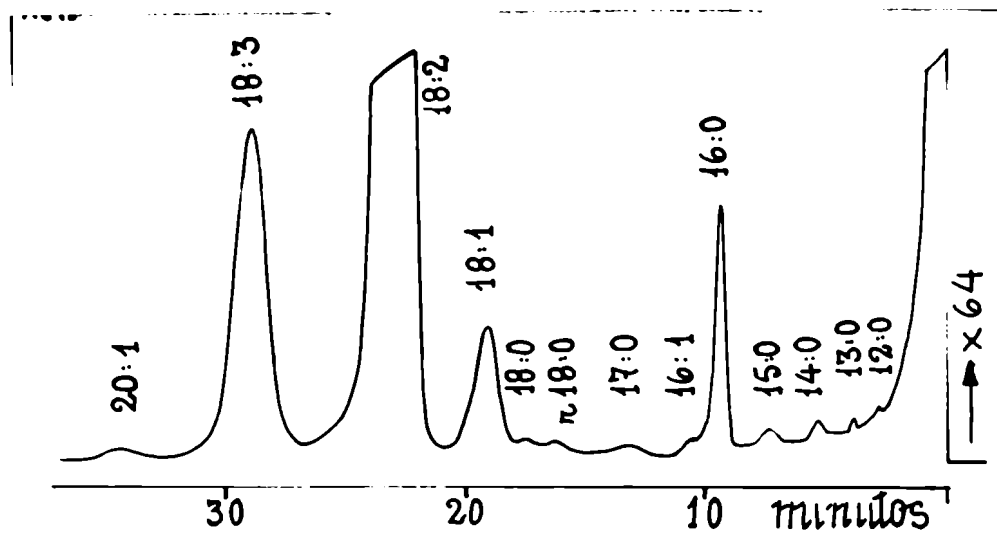


Fig. -15'- Aceite de germen de trigo: ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

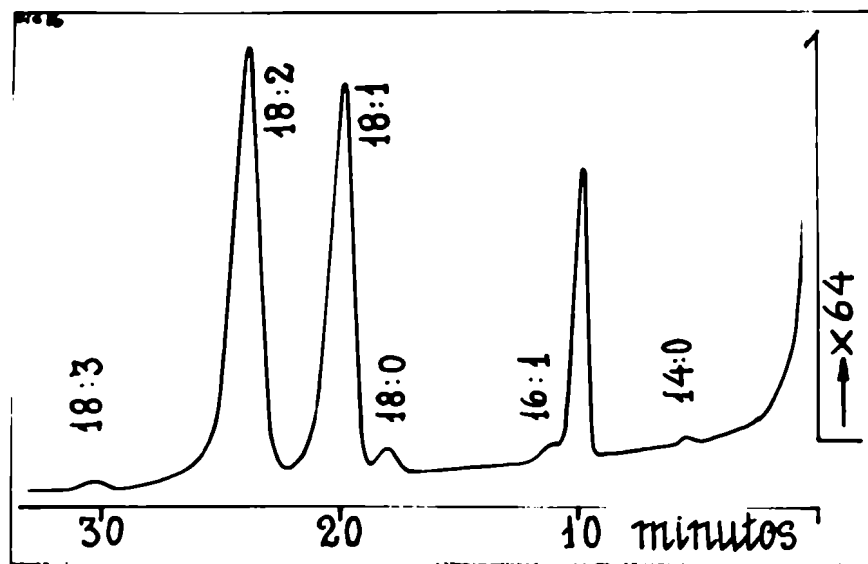


Fig. -16- Aceite de germen de maíz: ésteres metílicos de ácidos totales.-

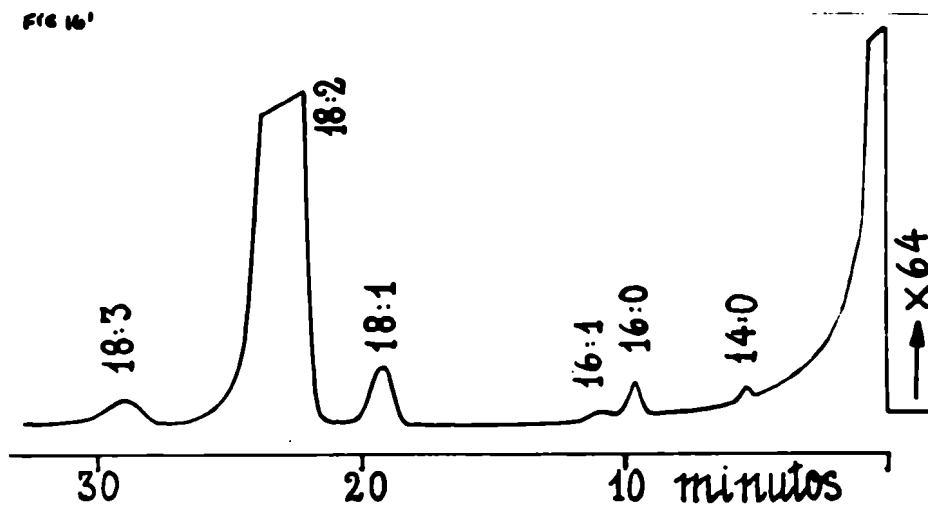


Fig. -16'- Aceite de germen de maíz: ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

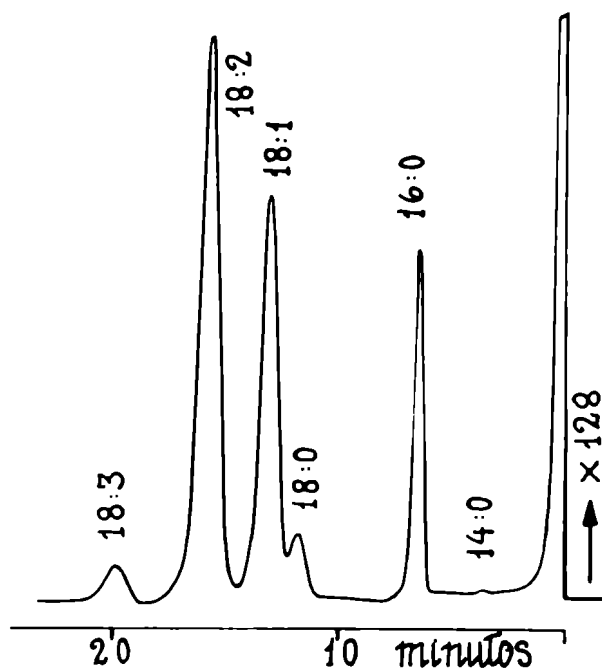


Fig. -17- Aceite de semilla de soya: ésteres metílicos de ácidos totales.-

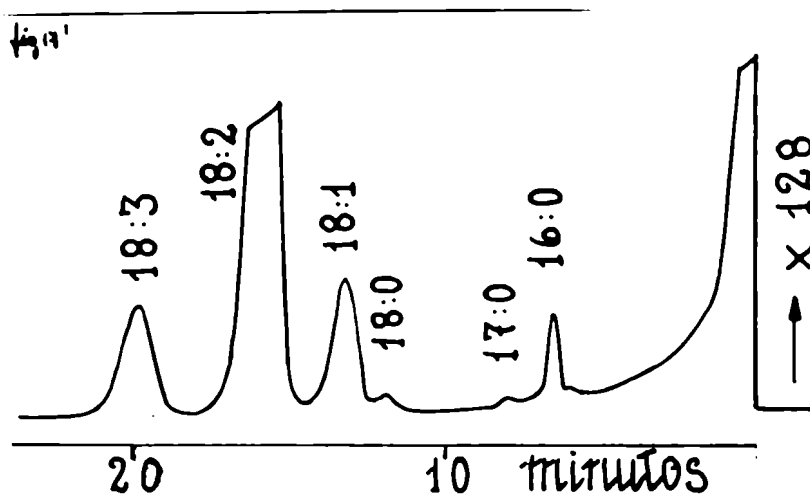


Fig. -17'- Aceite de semilla de soya: ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

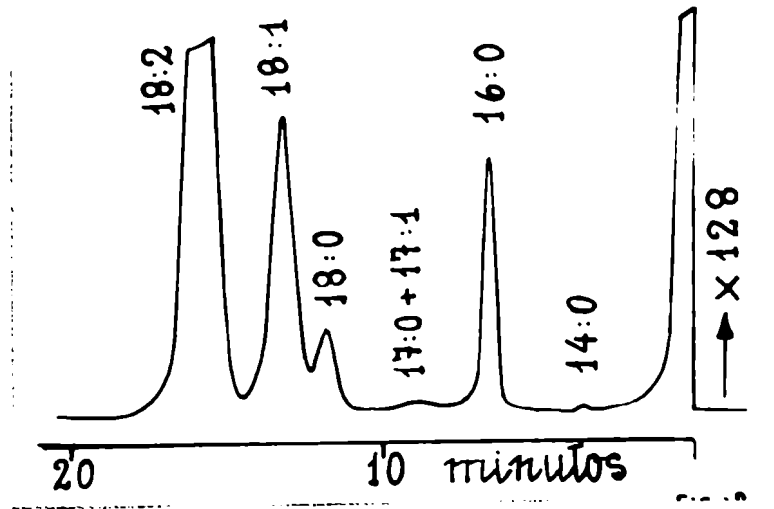


Fig. -18- Aceite de semilla de melón: ésteres metílicos de ácidos -  
totales.-

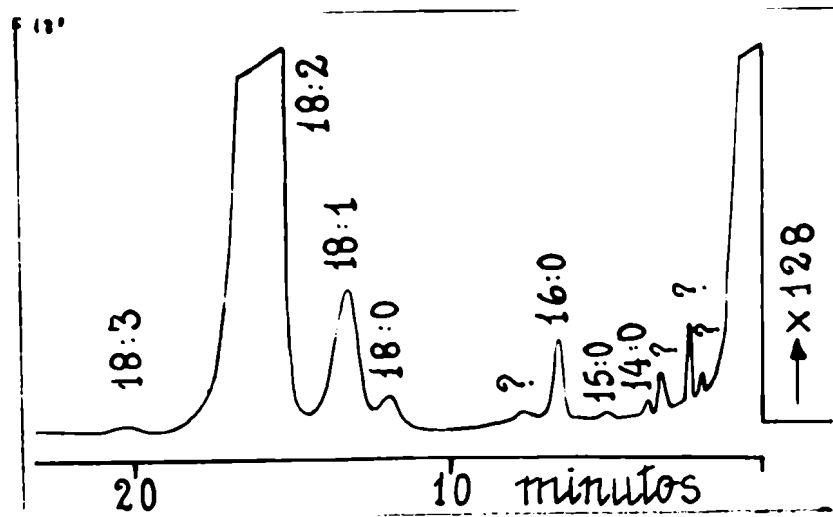


Fig. -18'- Aceite de semilla de melón: ésteres metílicos de ácidos  
de glicéridos Vizern.-

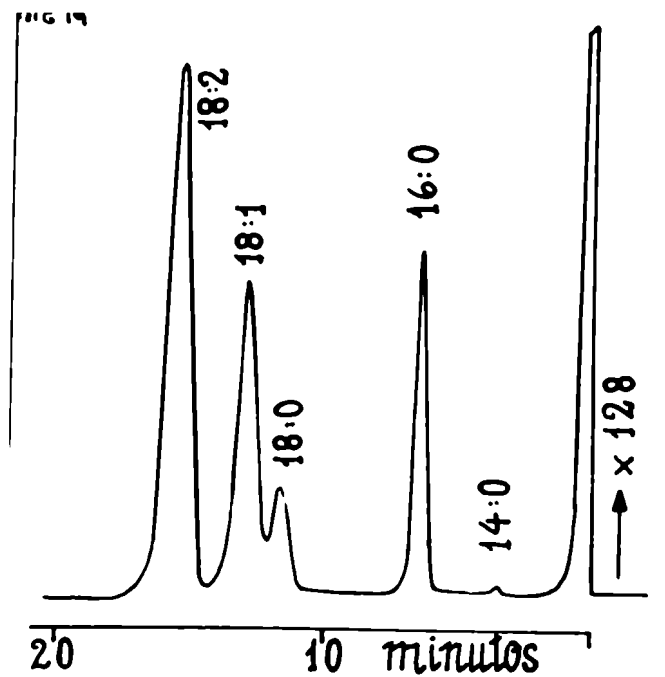


Fig. -19- Aceite de semilla de zapallo: ésteres metílicos de ácidos totales.-

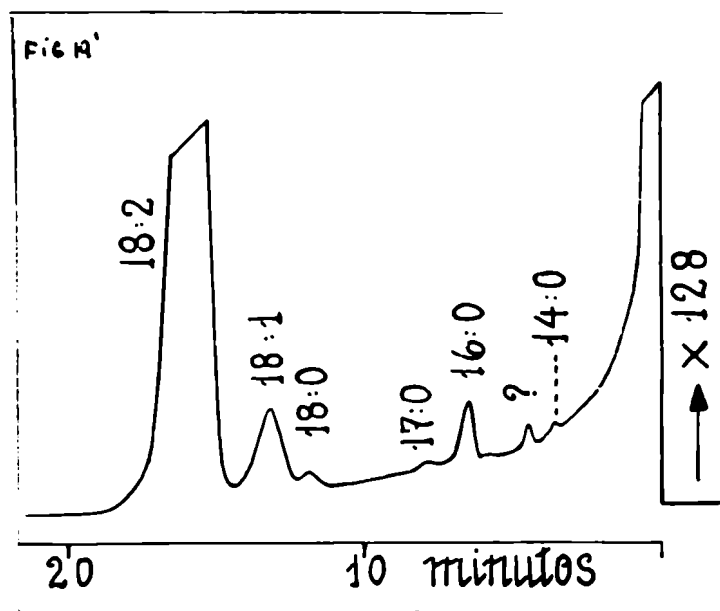


Fig. -19'- Aceite de semilla de zapallo: ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

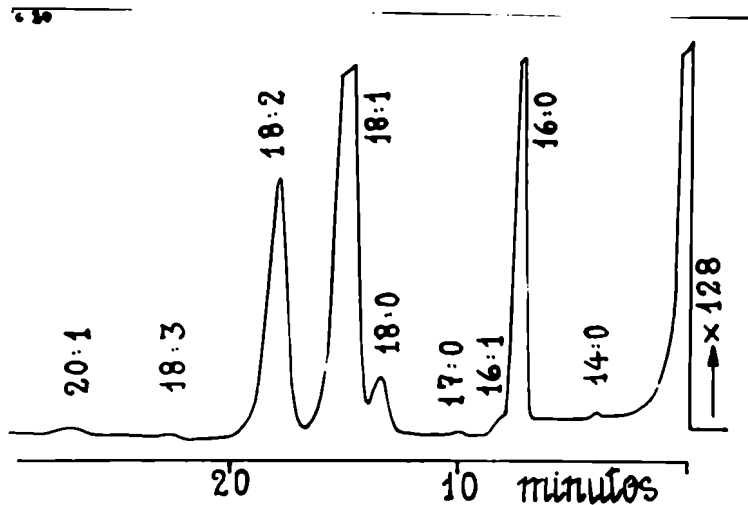


Fig. -20- Aceite de semilla de té; ésteres metílicos de ácidos totales.-

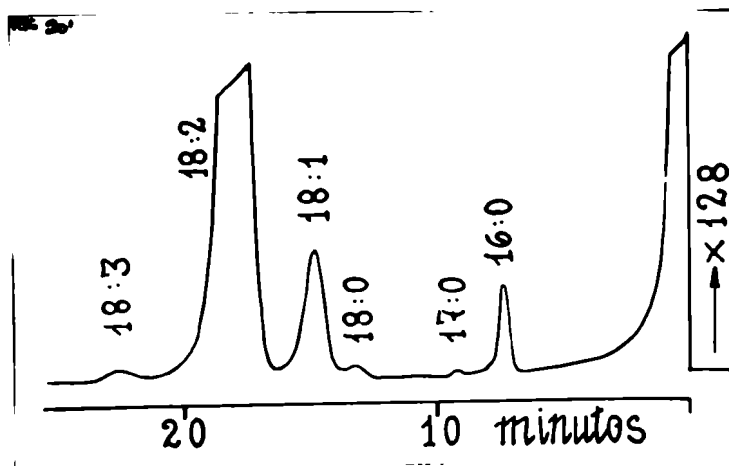


Fig. -20'- Aceite de semilla de té; ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-



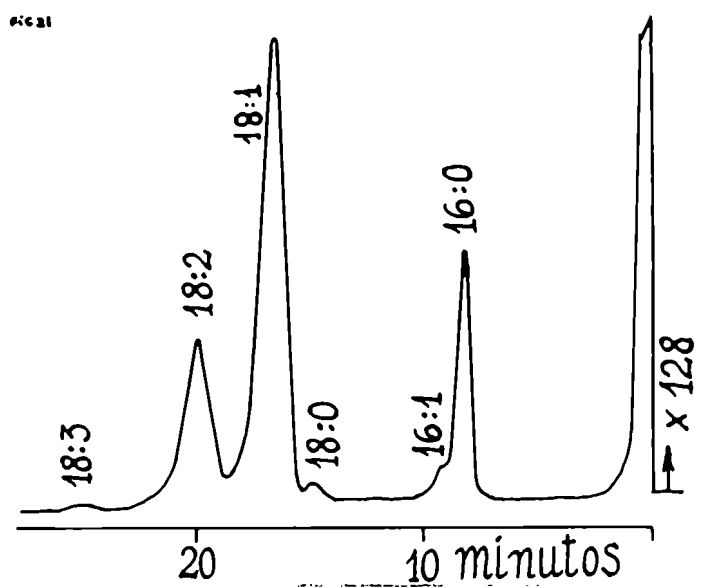


Fig. -21- Aceite de oliva (Chapidorado): Ésteres metílicos de ácidos totales.-

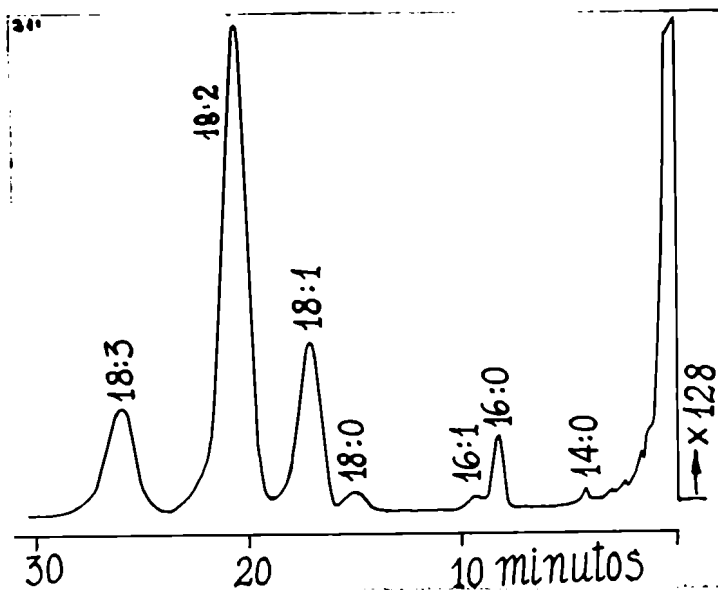


Fig. -21'- Aceite de oliva (Chapidorado): Ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

FIG 22

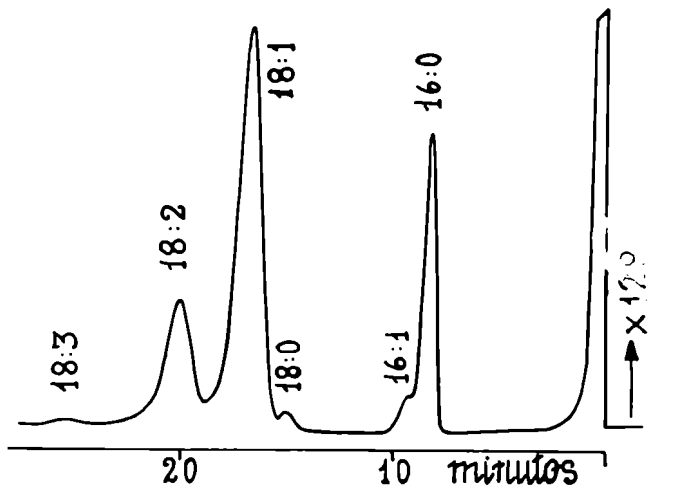


Fig. -22- Aceite de oliva (Picudillo): ésteres metílicos de ácidos totales.-

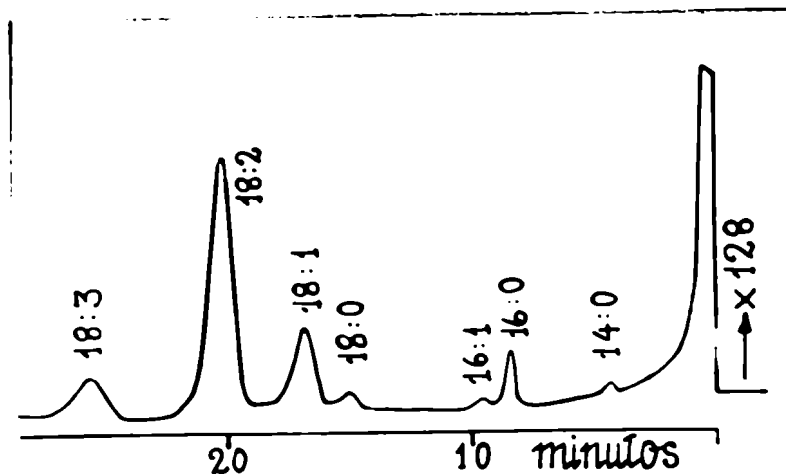


Fig. -22- Aceite de oliva (Picudillo): ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

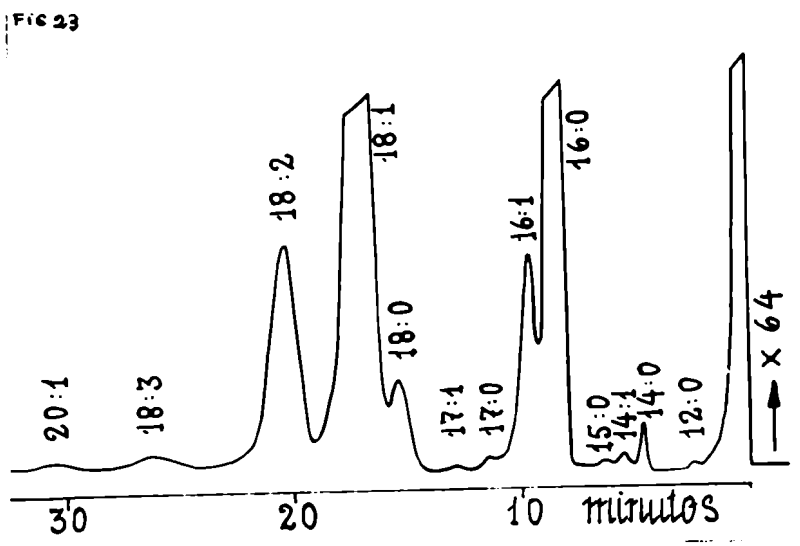


Fig. -23- Grasa de depósito de gallina: ésteres metílicos de ácidos totales.-

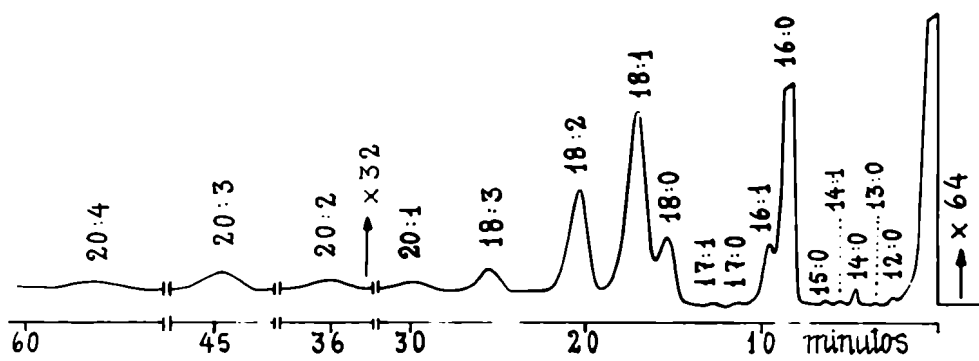
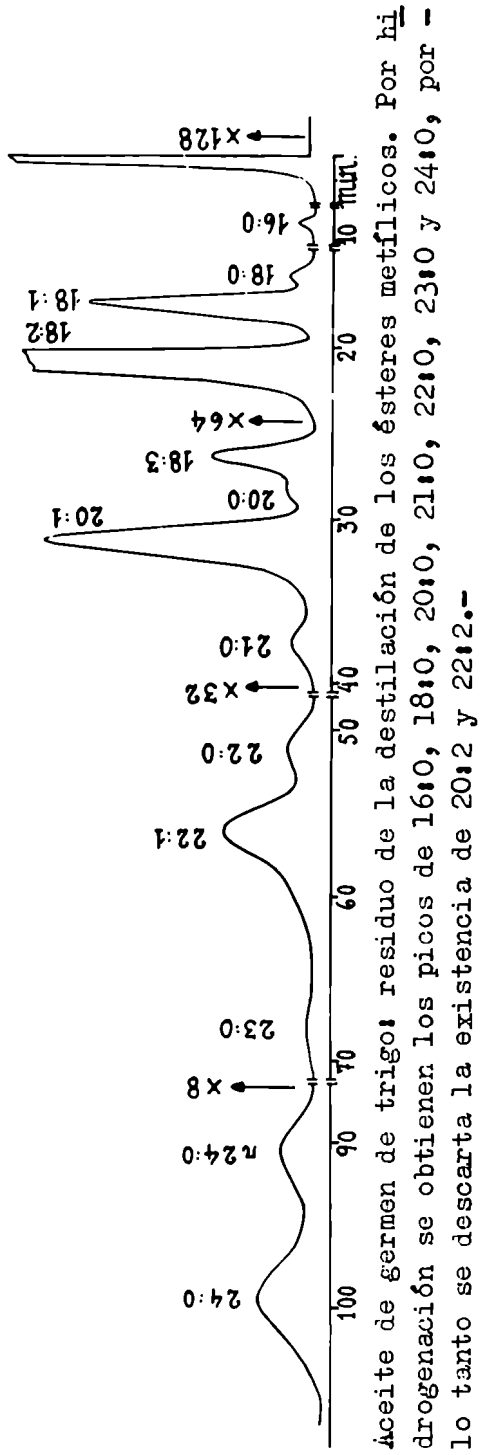
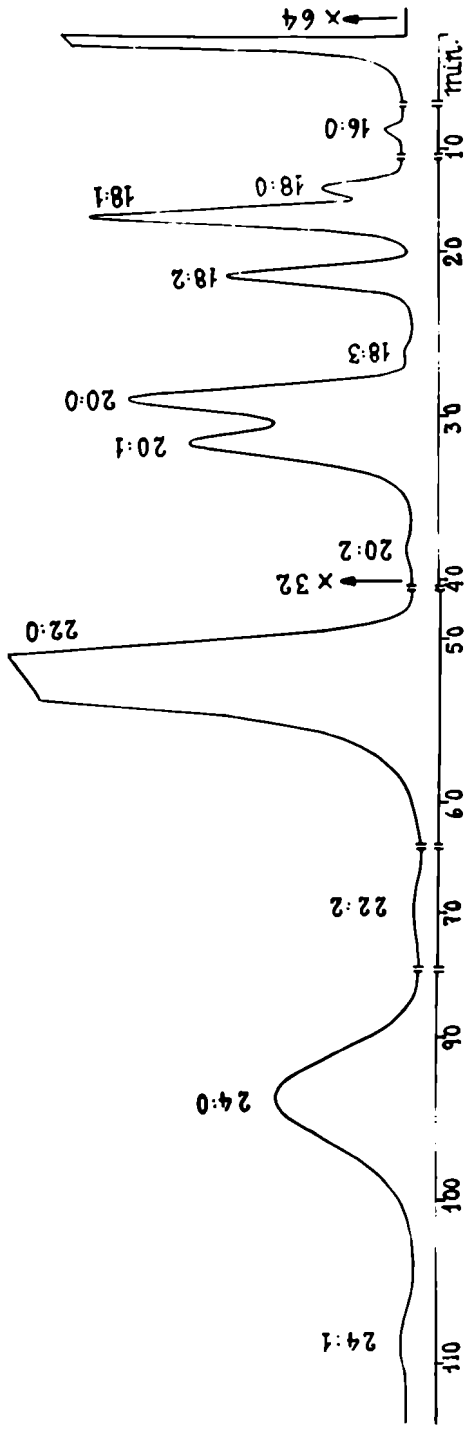


Fig. -23'- Grasa de depósito de gallina: ésteres metílicos de ácidos de glicéridos Vizern.-

II- Figuras de los exámenes por cromatografía gas-líquido de algunas fracciones y residuos de destilación de ésteres metílicos de ácidos totales de diversos aceites.-



**Fig. -24-** Aceite de germen de trigo; residuo de la destilación de los ésteres metílicos. Por hidrogenación se obtienen los picos de 16:0, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3, 20:0, 20:1, 21:0, 22:0, 23:0 y 24:0, por lo tanto se descarta la existencia de 20:2 y 22:2.



**Fig. -25-** Aceite de semilla de maní; residuo de la destilación de los ésteres metílicos. Por hidrogenación se obtienen los picos de 16:0, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3, 20:0, 20:1, 22:0, 23:0 y 24:0, descartándose se la presencia de 21:0 y 22:0.

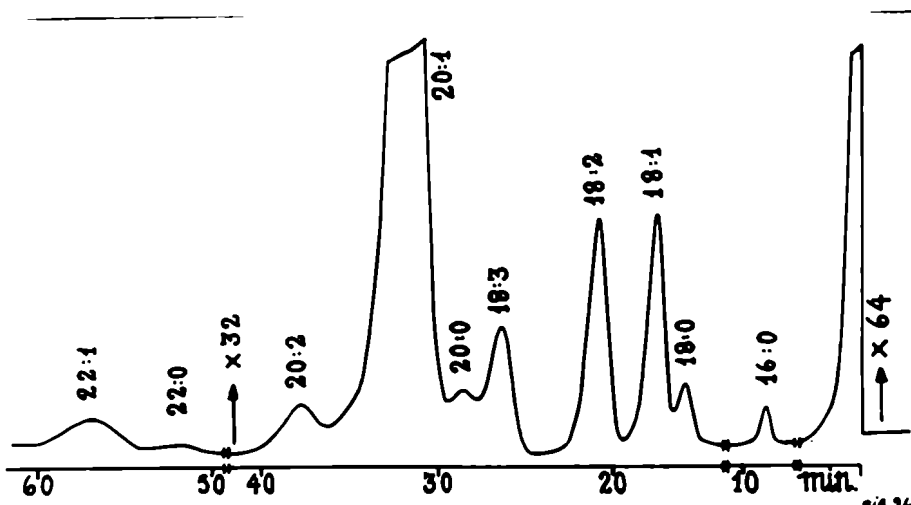


Fig. -26- Aceite de semilla de duraznillo: residuo de destilación de los ésteres metílicos-Por hidrogenación se observan los picos de 16:0, 18:0, 20:0 y 22:0. Se descarta la existencia de 21:0.-

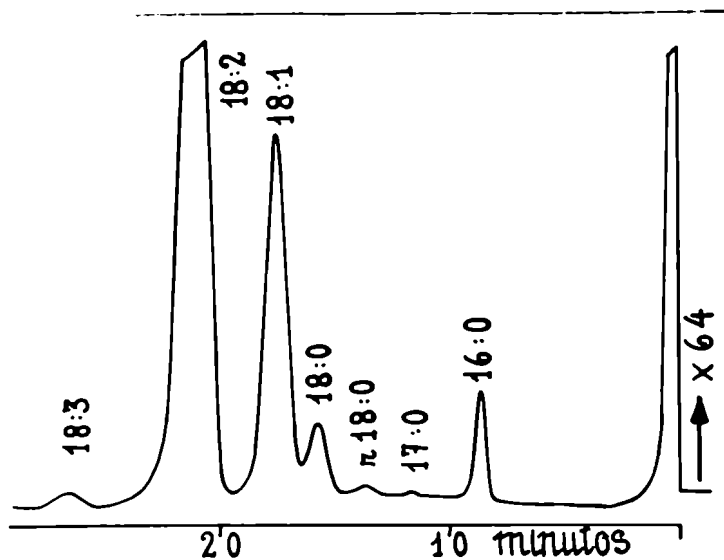


Fig. -27- Aceite de semilla de tomate: Fracción 6 de la destilación de los ésteres metílicos-Por hidrogenación persiste el pico supuesto 18:0, descartándose la existencia de componentes más insaturados en C<sub>17</sub>.

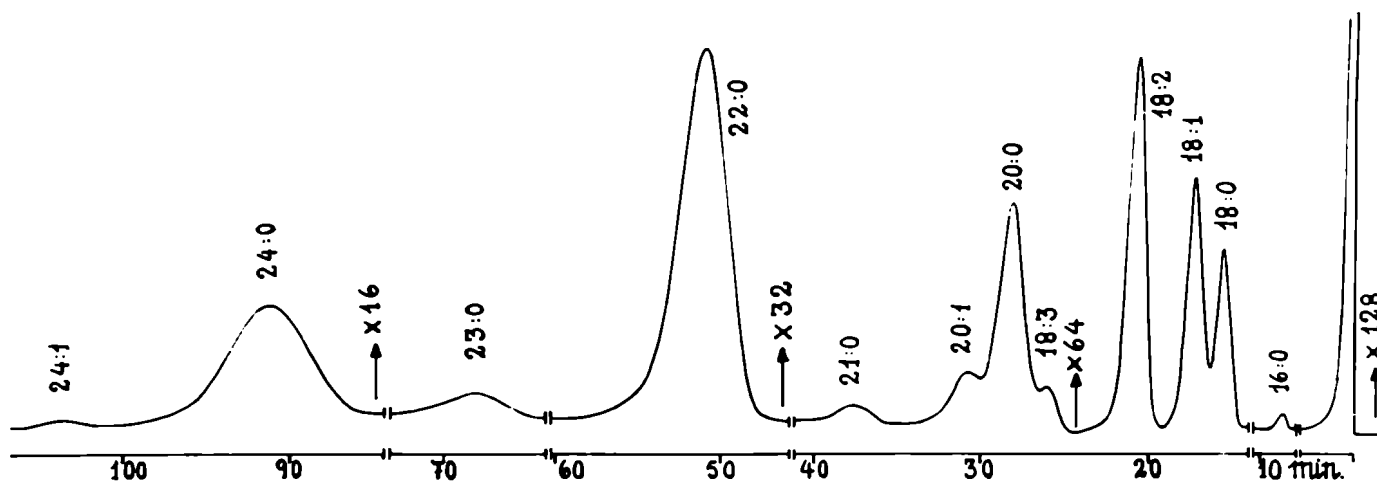


Fig. -28- Aceite de semilla de Lupinus mult.: residuo de la destilación. Por hidrogenación se registran los picos de 16:0, - 18:0, 19:0 (vest.), 20:0, 21:0, 22:0, 23:0 y 24:0. Se descarta la existencia de 20:2 y 22:2.

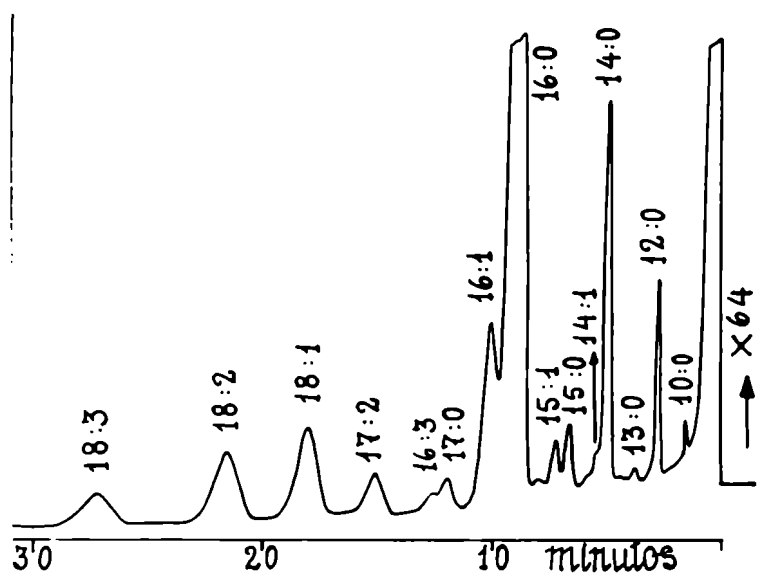
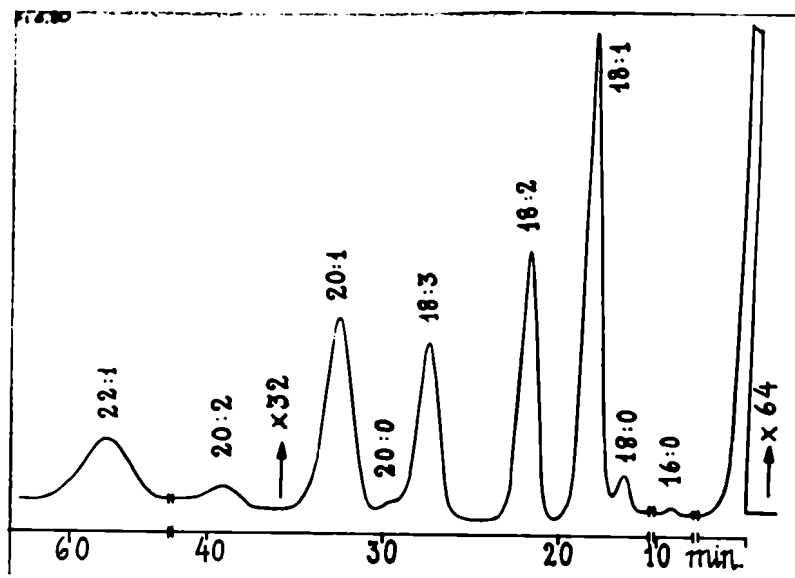


Fig. -29- Aceite de semilla de mostaza: Fracción 1 de la destilación -Por hidrogenación se registran los picos de 10:0, 11:0, - 12:0, 13:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0 y 18:0.

Fig. -30- Aceite de semilla de mostaza: Fracción 8 de la destilación  
-Por hidrogenación se registran picos de ésteres saturados en 16:0, 18:0, 20:0 y 22:0. Se descarta la existencia de -  
21:0.-





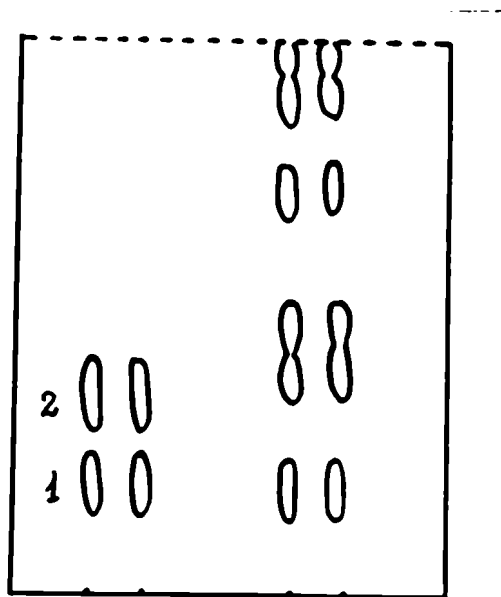


Fig. 31- Cromatografía en placa delgada (sílica gel/ $\text{NO}_3\text{Ag}$ ) de los glicéridos del aceite de girasol de II 138 (der.) y de los glicéridos del Vizern (izq.) correspondiente. Solvente:  $\text{Cl}_3\text{H}:\text{CH}_3\text{OH}$  (97:3 v/v) Siembra: 4:1 al 5% en hexano.

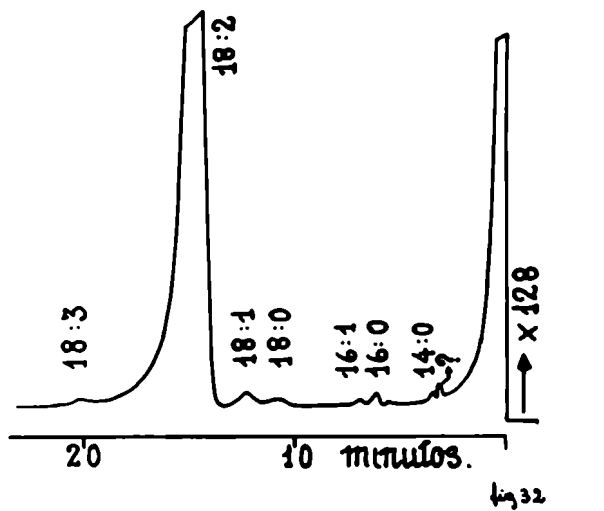


Fig. 32- C.G.L. de los ésteres metílicos de los ácidos de la mancha 1 (glicéridos Vizern) de la Fig. 31.

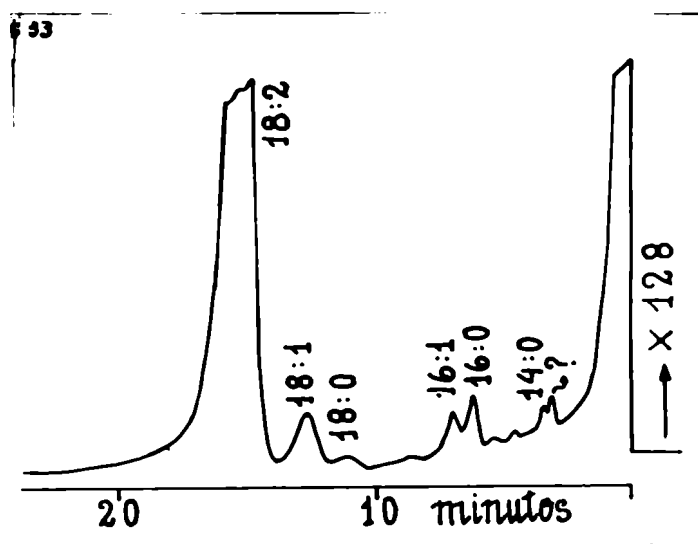


Fig.33- C.G.L. de los ésteres metílicos de los ácidos de la mancha 2 (glicéridos Vizern) de la Fig. 31.

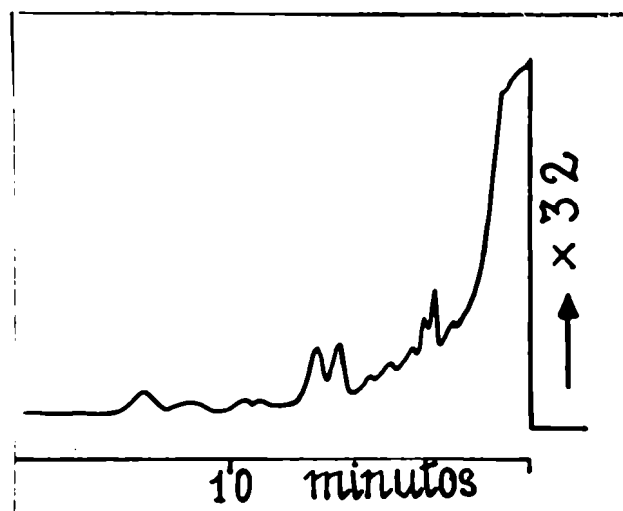


Fig.34-C.G.L. de ur. blanco (incluidas todas las operaciones) de los reactivos usados en la corrida correspondiente a la Fig.31.

CUADRO -6- Aceite de semilla de Colliguaya intergérrima. Destilación fraccionada de los ésteres metílicos de ácidos totales y exámenes C.G.L. de las fracciones (ácidos % ácidos en fracción)

	F r a c c i ó n n°								
	1	2	3	4	5	6	7	8	residuo
Peso	(g) 0,44	0,77	1,05	1,43	2,55	4,62	5,43	4,82	2,47
	% 1,87	3,27	4,45	6,06	10,81	19,59	23,03	20,44	10,48
14:0	1,2	0,2	-	-	-	-	-	-	-
15:0	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
16:0	95,4	97,1	84,7	21,5	5,1	1,2	0,3	-	0,7
18:0	-	-	-	0,8	1,3	2,0	2,3	3,5	1,9
20:0	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3
22:0	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
14:1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
15:1	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-
16:1	2,6	2,7	2,6	0,4	-	-	-	-	-
18:1	-	-	3,2	22,1	27,2	29,3	29,7	29,2	8,7
20:1	-	-	-	-	-	-	-	0,5	65,7
22:1	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5
18:2	-	-	7,1	38,5	44,7	43,8	43,1	39,4	9,4
20:2	-	-	-	-	-	-	-	-	4,6
18:3	-	-	2,4	16,7	21,7	23,7	24,6	27,4	7,1

CUADRO -7- Aceite de germen de trigo. Destilación fraccionada de ésteres metílicos de ácidos totales y exámenes C.G.L. de las fracciones (ácidos % ácidos en fracción)

		Fracción n°								
		1	2	3	4	5	6	7	8	residuo
Peso	(g)	0,44	0,70	0,81	1,27	1,74	3,15	<b>2,75</b>	4,84	1,84
	%	2,51	4,00	4,63	7,26	9,94	18,00	15,71	27,66	10,29
12:0		0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
14:0		3,0	0,3	vest.	-	-	-	-	-	-
15:0		0,6	0,3	vest.	-	-	-	-	-	-
16:0		90,3	93,1	93,8	71,0	7,5	1,1	0,2	vest.	0,5
17:0		vest.	-	-	vest.	vest.	-	-	-	-
18:0		-	-	-	vest.	0,2	0,5	0,9	1,0	1,3
20:0		-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
21:0		-	-	-	-	-	-	-	-	1,2
22:0		-	-	-	-	-	-	-	-	1,1
23:0		-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
r24:0(?)		-	-	-	-	-	-	-	-	0,5
24:0		-	-	-	-	-	-	-	-	1,3
15:1		1,4	0,3	vest.	-	-	-	-	-	-
16:1		4,6	6,0	3,2	2,0	-	-	-	-	-
17:1		-	-	-	vest.	vest.	-	-	-	-
18:1		-	-	0,4	3,9	7,5	19,0	21,2	21,1	17,0
20:1		-	-	-	-	-	-	-	-	17,3
22:1		-	-	-	-	-	-	-	-	5,7
18:2		-	-	2,6	22,0	82,9	74,4	72,2	71,9	48,9
18:3		-	-	-	1,1	1,9	5,0	5,5	6,0	4,2



CUADRO -9- Aceite de semilla de tomate. Destilación fraccionada de  
ésteres metílicos de ácidos totales y exámenes C.G.L. de  
las fracciones (ácidos % ácidos en fracción)

	F r a c c i ó n n°								
	1	2	3	4	5	6	7	8	residuo
Peso	(g) 0,42	0,65	0,86	1,76	2,66	5,41	5,41	4,83	2,29
	% 1,73	2,68	3,54	7,25	10,95	22,27	22,27	19,88	9,43
11:0	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
12:0	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
14:0	4,7	0,7	vest.	-	-	-	-	-	-
15:0	0,3	0,1	vest.	-	-	-	-	-	-
r16:0	0,2	0,1	vest.	vest.	-	-	-	-	-
16:0	89,2	94,1	95,4	67,9	12,0	3,3	1,0	vest.	0,5
17:0	0,1	0,1	-	vest.	vest.	vest.	-	-	-
r18:0	-	-	-	-	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2
18:0	-	-	-	0,5	2,8	3,9	6,1	9,9	16,9
20:0	-	-	-	-	-	-	-	-	4,6
22:0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2
r24:0	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
24:0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5
16:1	5,3	4,9	4,6	3,2	-	-	-	-	-
17:1	-	-	vest.	-	-	-	-	-	-
18:1	-	-	-	6,3	21,1	22,8	25,7	26,6	24,6
20:1	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1
18:2	-	-	-	21,6	63,2	68,5	65,5	61,7	48,2
18:3	-	-	-	0,5	0,7	1,1	1,3	1,6	1,1







CUADRO -12- Destilación fraccionada correspondiente al aceite de semilla de mostaza

y exámenes C.G.L. (ácidos % ácidos fracción)

	Fracción n°													res.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
Peso	1,0	2,5	4,1	7,5	8,9	16,2	14,2	9,3	9,2	9,4	8,9	5,5	14,2	4,0
%	0,9	2,2	3,6	6,5	7,7	14,1	12,4	8,1	8,0	8,2	7,8	4,8	12,3	3,5
10:0	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11:0	vest.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12:0	2,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13:0	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14:0	5,7	0,2	vest.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15:0	1,2	0,2	vest.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:0	67,9	38,9	14,1	8,8	4,9	2,4	0,7	0,2	-	-	-	-	-	-
17:0	1,1	0,4	0,1	0,3	0,1	vest.	-	-	-	-	-	-	-	-
18:0	-	0,3	1,2	1,8	1,9	2,1	2,2	2,2	1,0	0,2	-	-	-	vest.
20:0	-	-	-	-	-	vest.	vest.	vest.	0,3	0,6	1,1	0,5	vest.	vest.
22:0	-	-	-	-	-	vest.	vest.	vest.	vest.	0,4	0,3	0,8	1,5	0,6
24:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	3,6

(continúa)

(continuación)

		Fracción nº													res.
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
14:1	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15:1	0,9	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:1	6,7	2,3	0,8	0,6	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17:1	-	vest.	vest.	vest.	vest.	vest.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:1	4,7	23,7	38,7	41,0	42,1	39,9	35,0	31,4	13,0	2,0	0,3	vest.	vest.	0,1	1,8
20:1	-	-	-	0,9	2,6	9,1	12,5	23,2	30,4	21,3	13,4	6,0	6,0	1,8	2,2
22:1	-	-	-	-	-	2,0	7,6	5,7	39,0	62,3	83,6	91,2	90,6	53,2	
24:1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,1	36,4
14:2	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15:2	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17:2	1,6	0,6	vest.	vest.	vest.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:2	4,3	20,1	26,5	26,6	27,0	25,1	22,8	19,4	7,5	2,1	0,1	vest.	vest.	vest.	1,3
20:2	-	-	-	-	-	0,4	0,8	1,1	1,5	1,2	0,9	0,3	0,3	-	-
22:2	-	-	-	-	-	-	-	-	vest.	0,7	0,3	1,2	0,7	0,3	
16:3	0,4	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:3	2,6	13,0	18,6	20,0	21,2	18,9	18,4	16,8	7,3	9,2	vest.	-	-	-	0,6

PARTS - IV

CONCLUSIONS

1) Se presenta una revisión acerca de las diversas teorías desarrolladas hasta el presente respecto de la constitución glicéridica de grasas naturales, destacando la evolución de las mismas como resultado del progreso registrado en los métodos de análisis y de evaluación de glicéridos componentes. Se informa el estado actual y tendencias futuras de este campo.

2) Se profundiza el estudio del ensayo de Vizern y Guillot (bromación de aceites vegetales en éter de petróleo a 0°C), en el sentido de esclarecer qué tipos de glicéridos contribuyen a la formación de productos insolubles de bromo adición en las condiciones del ensayo. En este sentido se ha procedido a:

- a) Bromación de aceites según la técnica de Vizern y Guillot.
- b) Aislamiento de los precipitados libres de líquido madre (por lavados controlados, lo que supone una cierta solubilización del precipitado original).
- c) Rendimiento en precipitado y determinación de contenidos en bromo.
- d) Debrominación de los precipitados y aislamiento de los glicéridos constituyentes.
- e) Metanólisis de tales glicéridos, determinación de sus composiciones acídicas por C.G.L. y cálculo del contenido en bromo de los precipitados en base a los valores así hallados.
- f) Examen por C.G.L. de las composiciones acídicas de los aceites de partida.

3, El plan de experimentación así expuesto se aplica a un total de veintidós aceites de semilla, de germen o de pulpa de fruto (obtenidos en laboratorio y sometidos a ensayos de decoloración y desacidificación) correspondientes a las siguientes familias botánicas: - Compuestas (*Carthamus tinctorius*, *Helianthus annuus*), Vitáceas (*Vitis*

vinifera), Solanáceas (*Lycopersicon esculentum*), Gramíneas (*Sorghum vulgare*, *Zea mays*, *Triticum sativum*), Leguminosas (*Arachis hypogaea*, *Lupinus multiflorus*, *Glycine max*), Malváceas (*Gossypium hirsutum*), Meliáceas (*Melia azedarach*), Euforbiáceas (*Colliguaya intergerrima*), Lináceas (*Linum usitatissimum*), Crucíferas (*Brassica nigra*), Cucurbitáceas (*Cucumis melo*, *Cucúrbita máxima*), Teáceas (*Thea sinensis*) y Oleáceas (*Olea europea*).

4) Los resultados obtenidos en un grupo de aceites carentes de ácido linolénico o con no más de 1,5% de este ácido en los glicéridos según Vizern y Guillot (aceite de té, maní, algodón, zapallo, maíz, girasol, cártamo, melón, uva y paraíso), señalan:

- a) Los valores de rendimientos en precipitado son aproximadamente función de los valores de índice de yodo de los aceites y por ende de sus contenidos en ácido linoleico.
- b) Los rendimientos en precipitado son aproximadamente función de la concentración molar de trilinoleína de los aceites (calculada según el esquema "random").
- c) Los contenidos en bromo de los precipitados (calculados en base a las composiciones acídicas de los glicéridos involucrados en los precipitados) oscilan entre 48,2 y 51,9% con una mayor concentración de valores entre 50,0 y 51,9%. Estas cifras son muy próximas al contenido en bromo de una trilinoleína dodecabromada (52,0%).
- d) Las composiciones acídicas de los glicéridos regenerados de los precipitados indican concentraciones (% de ácidos totales) para el ácido linoleico comprendidas entre 75,3 y 97,6% con una mayor concentración de valores entre 86,2 y 97,6%.
- e) El aceite de semilla de paraíso se ajusta a los resultados anteriores, con excepción del rendimiento en precipitado, -

que es muy superior al deducido de la curva que cumplen los demás aceites.

De la consideración de estos resultados se desprende:

- a) En aceites carentes de ácido linolénico el triglicérido determinante de la mayor parte del precipitado según Vizern y Guillot (aislado según la técnica adoptada en este trabajo) es trilinoleína. Su presencia se demuestra para el caso de aceite de girasol por cromatografía en placa delgada.
- b) Los aceites considerados responderían muy aproximadamente - al esquema "random" de configuración glicerídica.
- c) El aceite de semilla de paraíso respondería a otro esquema (distinto del "random") que conduce a una mayor concentración en trilinoleína. Ello se prueba por interesterificación (conversión al esquema "random"), desde que el aceite así - modificado se comporta en los ensayos de bromación en forma acorde a los demás. (valor ~~característico~~ de rendimiento en precipitado) x

5) Los resultados obtenidos en un grupo de aceites que contienen ácido linolénico (aceites de oliva, sorgo, tomate, Lupinus, soya, trigo, mostaza, duraznillo y lino), señalan:

- a) Los valores de rendimiento en precipitado, en general, aumentan para mayores concentraciones molares en la suma de - glicéridos conteniendo seis o más dobles enlaces por mol - (calculados según el esquema "random").
- b) Los contenidos en bromo de los precipitados oscilan, en su mayoría, entre 50 y 52,0 (valores del orden de una trilinoleína dodecabromada).

Se concluye que en aceites conteniendo ácido linolénico, los triglicéridos

-céridos determinantes de la precipitación según la técnica de Vizern y Guillot (adecuada al aislamiento de precipitados), comprenden glicéridos con seis o más dobles enlaces por mol. Paralelamente, corresponderían glicéridos con menos de seis dobles enlaces, a condición de contener, al menos, un radical de ácido linolénico.

6) Se presentan valores de composición acídica exhaustiva de aceites de semilla de tomate, maní, Lupinus multiflorus, mostaza, Colliguaya intergerrima y de germen de sorgo y de trigo, logrados por combinación de técnicas de destilación fraccionada en vacío de ésteres metílicos y cromatografía de partición gas-líquido.

---

P A R T E V .

BIBLIOGRAFIA

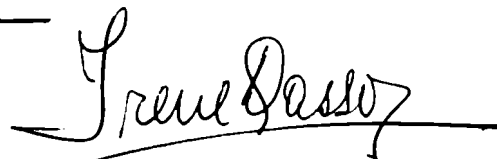


- (1) B. Suzuki y Y. Masuda, Proc. Imp. Acad. Tokyo, 7, 9 (1931).-
- (2) N.L. Vidyarthi y M.V. Mallya, J. Indian Chem. Soc. 16, 443 (1939).-
- (3) N.L. Vidyarthi y M.V. Mallya, *ibid.* 17, 87 (1940).-
- (4) C. Venkataro, N. Narasingarao y A. Wenkateswarlu, *ibid.* 21, 249 (1944).-
- (5) T.P. Hilditch y Ch. Lea, J. Chem. Soc., 3106 (1927).-
- (6) T.P. Hilditch y P.N. Williams, "The Chemical Constitution of Natural Fats", p. 372, 4a. ed., Chapman & Hall, Londres 1964.-
- (7) G. Collin y T.P. Hilditch, Biochem. J., 23, 1273 (1929).-
- (8) K.F. Mattil y F.A. Norris, Science, 105, 257 (1938).-
- (9) F.A. Norris y K.F. Mattil, Oil and Soap, 23, 289 (1946).-
- (10) F.A. Norris y K.F. Mattil, J.A.O.C.S., 24, 274 (1947).-
- (11) T.P. Hilditch, *ibid.*, 26, 41 (1949).-
- (12) A.P. Doerschuk y B.F. Daubert, *ibid.*, 25, 425 (1948).-
- (13) A.R.S. Kartha, *ibid.*, 30, 326 (1953).-
- (14) A.R.S. Kartha, *ibid.*, 31, 85 (1954).-
- (15) A.R.S. Kartha, *ibid.*, 39, 272 (1962).-
- (16) G. Lakshminarayana y D. Rebello, *ibid.*, 37, 274 (1960).-
- (17) C.G. Youngs, *ibid.*, 36, 664, (1959).-
- (18) F.H. Mattson y L.W. Beck, J. Biol. Chem., 219, 735 (1956).-
- (19) A.S. Richardson, nota al pie de página en (20).-
- (20) R.J. Vander Wal, J.A.O.C.S., 37, 18 (1960).-
- (21) C.G. Youngs, *ibid.*, 38, 62 (1961).-
- (22) H.J. Dutton, C.R. Scholfield y F.L. Mounts, *ibid.*, 38, 96 (1961).-
- (23) G.V. Jones y E.G. Hammond, *ibid.*, 38, 69 (1961).-
- (24) F.D. Gunstone, Chem. & Ind. n° 27, 1214 (1962).-
- (25) T.P. Hilditch, J.A.O.C.S. 42, 745 (1965).-
- (26) J.R. Senior y K.J. Iselbacher, J. Biol. Chem. 237, 1454 (1962).-
- (27) P. Savary y P. Desnuelle, Biochem. Biophys Acta, 50, 319 (1961).-

- (28) A.R.S. Kartha, J. Sci. Ind. Res. (India) 21, 577 (1962).-
- (29) R.J. Vander Wal, J.A.O.C.S. 40, 256 (1963).-
- (30) R.J. Vander Wal, "Recent Advances in Lipid Research", vol. II, pag. 1-16, Academic Press, N.Y. 1964.-
- (31) A.R.S. Kartha, J. Sci. Pd. Agric., 14, 515 (1963).-
- (32) A.R.S. Kartha, J.A.O.C.S. 44, 350 (1967).-
- (33) A.R.S. Kartha, J. Sci. Pd. Agric., 19, 286 (1968).-
- (34) C. Litchfield y R. Reiser, J.A.O.C.S., 42, 757 (1965).-
- (35) M.H. Coleman, *ibid*, 42, 751 (1965).-
- (36) Vizern y Guillot, Ann. des Fals et des Fraudes, 32, 253 (1939).-
- (37) Vizern y Guillot, Chin. Anal. 40, 118 (1958).-
- (38) V. Toubol, Olü min. Grassi e Saponi, Col e Vernici, 35, 114 (1958).-
- (39) R.A. Macchi, Tesis, Fac. de Cienc. Exactas y Nat. Univ. Buenos Aires 1960.-
- (40) R.A. Macchi, Rev. Argentina de Grasas y Aceites, 3, 60 (1961).-
- (41) G.K. de Sutton, M.H. Bertoni, P. Cattaneo, J. Abitbol y M.J. Denett, Anales Asoc. Quím. Argentina, 53, 87 (1965).-
- (42) Norma IRAM N° 5523 para aceite de oliva.-
- (43) Programa conjunto FAO/OMS, Comisión Codex Alimentarius. Alinorm 69/11 (trámite 5).-
- (44) A.O.C.S. Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists Society, Ca 9f 57 (1963).-
- (45) J.P. Martos, Tesis, Fac. Cienc. Exactas y Nat., Univ. Buenos Aires (1960).-
- (46) J.P. Martos, Rev. Argentina de Grasas y Aceites, 5, 71 (1963).-
- (47) P. Cattaneo y G.K. de Sutton, Anales Asoc. Quím. Argentina, 46, 96 (1958).-
- (48) P. Cattaneo, G.K. de Sutton, N.C. Constanzo, M.H. Bertoni y J.M. Canal, *ibid.*, 49, 192 (1961).-
- (49) P. Cattaneo, G.K. de Sutton, J.A. Burguette, M.H. Bertoni y N.H. di Tomaso, *ibid*, 48, 169 (1960).-
- (50) M.H. Bertoni, G.K. de Sutton, P. Cattaneo y J.C. Gómez Artero, - *ibid*, 54, 101 (1966).-

- (51) H.P. Kaufman y H. Wessels, Fette Seifen Anstrichmittel, 66, 81 - (1964).-
- (52) M.H. Bertoni, G.K. de Sutton y P. Cattaneo, Anales Asoc. Quim. - Argentina, 54, 89 (1966).-
- (53) P. Cattaneo, G.K. de Sutton y M.H. Bertoni, *ibid*, 48, 101 (1960).-
- (54) G.K. de Sutton, M.H. Bertoni, S.A. Longo y P. Cattaneo, *ibid*, 54, 79 (1966).-
- (55) R.O. Fudge, E.A. Kraemer y A.E. Bailey, Oil and Soap, 22, 202 (1945).-
- (56) M. Catalano, Rivista Ital. Sost. Grasse, 45, 799 (1968).-
- (57) M.H. Bertoni, G.K. de Sutton, A.M. Berretta, J.A. Burguette y P. Cattaneo, Anales Asoc. Quim. Argentina, 51, 29 (1963).-
- (58) M.H. Bertoni, G.K. de Sutton y P. Cattaneo, *ibid*, 51, 149 (1963).-
- (59) H.A. Forchieri, Tesis, Fac. de Cienc. Exactas y Nat. comunicación privada.-
- (60) R.E. Worthington y K.T. Holley, J.A.O.C.S., 44, 515 (1967).-
- (61) Z.E. Shoeb, Grasas y Aceites, 19, 60 (1968).-
- (62) A.R. Riganti, P. Cattaneo y G. Karman, Anales Asoc. Quim. Argentina, 35, 21 (1947).-
- (63) E.J. Guitarte, Industria y Química, 10, 127, (1948).-
- (64) G. Lotti y C. Galoppini, Riv. Ital. Sost. Grasse, 42, 289 (1965).-
- (65) B. Sreenivasan, J.A.O.C.S., 45, 259 (1968).-
- (66) J.A. Harris, F.C. Magne y E.L. Skau, *ibid*, 41, 309 (1964).-
- (67) A.T. James, J. Chromatography, 2, 552 (1959).-
- (68) H.E. Longenecker, J. Soc. Chem. Ind., 56, 199 T, (1939).-
- (69) S.S. Tiong y H.I. Waterman, Chimie et Industrie, 81, 204 (1959).-
- (70) A. Stepanow, Ber. 39, 4056 (1906).-
- (71) G.N. Catravas, Comptes Rendues Academic des Sciences, 237, 1250 (1953).-
- (72) O.S. Privett, M.L. Blank y O. Romanus, J. Lipid Res., 4, 260 - (1963).-
- (73) C.B. Barrett, L.S.J. Dallas y F.B. Padley, J.A.O.C.S., 40, 580 (1963).-

- (74) M.L. Blank, B. Verdino y O.S. Privett, ibid, 42, 87 (1965).-
- (75) K. Randerath, "Thin Layer Chromatography", Academic Press, N.Y. 1963.-
- (76) D.S. Galanos, V.M. Kapoulas y E.C. Voudouris, J.A.O.C.S., 45, 825 (1968).-

A handwritten signature in cursive script, appearing to read "A. Galanos". The signature is written in dark ink and is positioned on the left side of the page, below the list of references.A handwritten signature in cursive script, appearing to read "Irene Gasso". The signature is written in dark ink and is positioned on the right side of the page, below the list of references. A horizontal line is drawn above the signature.