

## Tesis de Posgrado

# Influencia de la variedad y del avance de la época de siembra sobre la composición de semilla de lino oleaginoso y sobre rendimiento : Características físico-químicas y composiciones acídicas de los aceites de extracción

Forchieri, Horacio Alberto

1970

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:**

Forchieri, Horacio Alberto. (1970). Influencia de la variedad y del avance de la época de siembra sobre la composición de semilla de lino oleaginoso y sobre rendimiento : Características físico-químicas y composiciones acídicas de los aceites de extracción. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

**Cita tipo Chicago:**

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_1351\\_Forchieri.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1351_Forchieri.pdf)  
Forchieri, Horacio Alberto. "Influencia de la variedad y del avance de la época de siembra sobre la composición de semilla de lino oleaginoso y sobre rendimiento : Características físico-químicas y composiciones acídicas de los aceites de extracción". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1970.

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_1351\\_Forchieri.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1351_Forchieri.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

INFLUENCIA DE LA VARIEDAD Y DEL AVANCE DE LA EPOCA DE  
SIEMBRA SOBRE LA COMPOSICION DE SEMILLA DE LINO  
OLEAGINOSO Y SOBRE RENDIMIENTO, CARACTERISTICAS  
FISICO-QUIMICAS Y COMPOSICIONES ACIDICAS  
DE LOS ACEITES DE EXTRACCION

HORACIO A. FORCHIERI

RESUMEN DE LA TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL  
TITULO DE DOCTOR EN CIENCIAS QUIMICAS

1351

R.  
ej. 4

R E S U M E N

Se presenta un estudio acerca de la influencia del avance de la época de siembra, sobre el rendimiento y composición química de los aceites de semilla de lin. oleaginos. de 10 variedades, cultivadas en la Estación Experimental Pergamino (INTA). Se pudo establecer que:

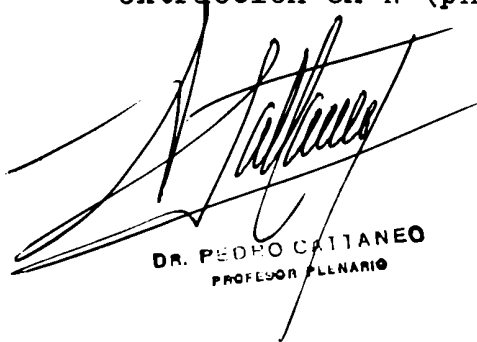
- 1) En todas las variedades los rendimientos en aceite sufren poca variación hasta la sexta época de siembra y disminuyen sensiblemente hacia la séptima y octava. Las variedades Papana INTA, Pergamino Mocoretá INTA y Pergamino PuelcheMAG, presentan los rendimientos más elevados y la Buck 114 los más bajos.
- 2) En las distintas variedades los aceites de semilla correspondientes a la séptima y octava época de siembra presentan valores de índice de yodo sensiblemente menores. Asimismo, acusan un ligero incremento en acidez libre.
- 3) El avance de la época de siembra determina cambios de importancia en los valores de composición acídica de los aceites de semilla correspondientes a las tres últimas épocas de siembra. Estos cambios señalan una significativa disminución de las concentraciones de ácido linolónico y un aumento correlativo de las de oleico. Las variaciones en las concentraciones de ácidos saturados y linoleico son de poca significación. Se evidencia una cierta influencia varietal sobre los valores de composición acídica.

- 4) Los cambios de composición acídica observados se atribuyen a las variaciones de temperatura que rigen el período floración-cosecha para las distintas épocas de siembra. El sentido de tales variaciones y los cambios de composición acídica registrados se justifican teniendo en cuenta hallazgos recientes, que evidencian y explican el efecto de la temperatura sobre la actividad de sistemas desaturantes de ácidos grasos en plantas superiores.
- 5) Los contenidos en escualeno, tocoferoles totales, esteroides totales y fósforo lipídico, no son afectados significativamente por el avance de la época de siembra, ni por el factor varietal.


De los estudios realizados sobre composición de harinas residuales de extracción de aceites de semilla de lino, se deduce:

- 1) El contenido de proteínas de las harinas se incrementa en aquellas que provienen de la semilla correspondiente a la octava época de siembra (coincidente con menores contenidos en aceite de la semilla).
- 2) En ensayos de recuperación de proteínas a partir de harinas integrales mezcla (extracción alcalina a pH 9,5); se pudo establecer:
  - a) El pH isoeléctrico es 4,0, ligeramente afectado (pH 3,5) si previamente se extraen mucílagos a pH 4,0.
  - b) Las proteínas precipitadas a pH isoeléctrico, inicialmente blancas, oscurecen sensiblemente por secado al vacío a 45°C, considerándose de interés esclarecer las causas de este proceso.

- 3) En ensayos practicados sobre harina integral y sobre las fracciones obtenidas a partir de la misma (distinto contenido en nitrógeno total), se puede concluir que:
- a) Independientemente del contenido en nitrógeno, el 21 al 25% del nitrógeno total queda en solución luego de extracción de mucílagos a pH 4,0.
  - b) El mayor rendimiento en nitrógeno precipitado respecto del total, se logra a partir de la harina integral.
  - c) Las proteínas aisladas a partir de fracciones de más alto contenido en nitrógeno total, son de mayor riqueza en nitrógeno.
  - d) Se efectúe o no la separación previa de mucílagos, el nitrógeno sobrenadante (remanente en la precipitación al punto isoeléctrico) oscila alrededor del 10% del nitrógeno total.
  - e) A mayor contenido en nitrógeno total, se logra una mayor extracción en N (pH 9,5)



DR. PEDRO CATTANEO  
PROFESOR PLENARIO



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

INFLUENCIA DE LA VARIEDAD Y DEL AVANCE DE LA EPOCA  
DE SIEMBRA SOBRE LA COMPOSICION DE SEMILLA DE  
LINO OLEAGINOSO Y SOBRE RENDIMIENTO,  
CARACTERISTICAS FISICO- QUIMICAS  
Y COMPOSICIONES ACIDICAS DE  
LOS ACEITES DE EXTRACCION.

HORACIO A. FORCHIERI

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL TITULO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS QUIMICAS

1351  
*g2*

1970

Deseo expresar mi más profundo reconocimiento al Doctor Pedro Cattaneo, padrino de esta tesis por sus valiosos consejos y por la inagotable fuente de experiencia que pusiera a mi disposición.

Hago extensivo también mi agradecimiento a la Doctora María H. Bertoni que no escatimara esfuerzo alguno para el éxito de este trabajo.

Agradezco también:

A las autoridades y técnicos de la Estación Experimental de Pergamino (INTA) por haber facilitado las partidas de semillas de lino oleaginoso y los correspondientes datos fenológicos.

A la Doctora Germaine K. de Sutton por la desinteresada colaboración prestada en todo momento.

A los demás miembros de la Cátedra de Bromatología por su cordial amistad.



P A R T E I

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

Antecedentes sobre efectos ambientales en la composición  
acídica de aceite de semilla de lino

En 1912 Ivanov (1) (2) estableció que en los primeros estados de desarrollo de la semilla de diversas plantas, entre ellas el lino, los lípidos seminales contienen cantidades considerables de ácidos grasos libres y que especialmente en el lino, los mas altos valores de índice de yodo se alcanzan en el estado de maduración final.

De acuerdo a los trabajos de Eyre y Fisher (3) (2), Eyre (4) (2) y Barker (5) (2), la síntesis de aceite en semilla de lino comienza inmediatamente después de la floración y se mantiene a baja velocidad durante los primeros once días. Luego sucede una acumulación rápida de aceite (que alcanza un 3% por día) durante diez días, llegándose a un contenido final del 36%. A partir de este momento no ocurre incremento apreciable del contenido de aceite, mientras los valores de índice de yodo se elevan de 130 a 135 en los siguientes 15 a 20 días.

Tanto Ivanov como Eyre, razonando en base a valores de índice de yodo y composiciones acídicas de los aceites concluyeron que el incremento en insaturación en los estados de madurez derivarían de la desaturación de ácidos menos insaturados (saturados o monoetilénicos). Sin embargo Hilditch (2), teniendo en cuenta el peso de cada ácido presente en un dado peso de semilla, señala que los ácidos saturados,

oleico y linoléico aumentan a medida que la semilla madura, deduciendo que la hipótesis de la desaturación es una explicación derivada de la simple observación de los cambios de composición acídica (% de ácidos totales) de los aceites para distintos estados de desarrollo de la semilla.

Ivanov (6) (2) fué el primero en mostrar que la semilla de lino desarrollada en climas fríos produce aceites con mayores contenidos en ácido linoléico que aquella que lo hace en climas más cálidos, atribuyendo la diferencia a procesos de desaturación.

Según Hilditch (2) esta hipótesis supondría que la desaturación de ácidos saturados u oleico procedería a mayor velocidad a temperaturas menores, lo que sería una demostración de la extrema improbabilidad de tal desaturación en la biosíntesis de ácidos insaturados.

Rose y Jamieson (7) y Painter y Nesbitt (8) sustentaron la opinión de Ivanov. Según Hilditch (2) el factor ambiental que más incide sobre la insaturación de aceites vegetales (entre ellos el de la semilla de lino) sería la temperatura atmosférica durante el período de desarrollo de la semilla (coincidente con el de producción de aceite). En el caso particular del lino, este factor afectaría principalmente los contenidos de ácidos linoléico y oleico (a mayor temperatura menores contenidos en linoléico y mayores en oleico) siendo mucho menores los efectos sobre los contenidos en ácidos saturados y en linoléico.

El efecto de la temperatura en el sentido expuesto fué claramente demostrado por Yermanos y Goodin (9) al estudiar la composición acídica de aceite de semilla de liho (Variedad Dakota 48-94) extraído de semilla madura de plantas mantenidas a temperatura constante en el período de post-floración. En ensayos a 10,0; 15,5; 21,1 y 26,7°C observaron los siguientes valores (% de ácidos totales) para los contenidos en ácido oleico: 18; 20; 28; y 34 y de 57; 54; 48/41 para los de ácido linolénico. En cambio, las concentraciones de ácidos saturados totales y de linolénico mostraron cambios insignificantes.

En 1951 Hilditch (10) propone las siguientes conclusiones respecto de la biosíntesis de grasas durante la maduración de semillas:

- 1) Los ácidos no saturados se sintetizan por mecanismos distintos de los saturados.
- 2) Cada especie de planta sintetiza su propia mezcla específica de ácidos grasos en sus semillas. En semillas de la misma especie las cantidades relativas de ácidos oleico y linolénico pueden variar considerablemente, en función principal de la temperatura de la localidad donde la semilla madura. Los componentes ácidos más insaturados abundan más en semillas que desarrollan a temperaturas bajas a la cual la velocidad de síntesis es relativamente lenta.

Esto sugiere que los ácidos más insaturados (linolénico) o linoléico) o sus inmediatos precursores se forman antes que los monoetilénicos. El orden de síntesis de ácidos insaturados puede sugerirse entonces como sigue: ácidos trienoicos - ácidos dienoicos - ácidos monoenoicos (oléico en el caso de /C18). Este proceso (que supone una biohidrogenación) no proseguirá hacia la producción de ácidos saturados (ácido esteárico).

Dean Dybing y Don Zimmerman (11) en un estudio con plantas de lino que desarrollan en condiciones ambientales controladas, observan que la acumulación de ácidos grasos en la semilla durante su desarrollo es función de dichas condiciones. Así, registran menores valores de índice de yodo y de contenido en aceite para temperaturas elevadas. Estudiando el efecto de la temperatura sobre las composiciones acídicas de aceites de semilla a igual grado de desarrollo de ésta, observan cambios en los mismos sentidos que los registrados por Yermanos y Goodin (9). A una misma temperatura la composición de los aceites es función del grado de desarrollo (edad en días) de la semilla de que procede. En ese sentido, a mayor edad corresponden menores contenidos en ácidos palmítico y linoléico y mayores en oleico y linolénico, con tendencia a estabilización hacia la madurez total. En cambio, semilla de la misma edad desarrollada a temperaturas distintas contiene aceites cuyos contenidos en ácidos palmítico y linoléico no varían significativamente con el aumento de temperatura,

mientras el ácido oleico aumenta notoriamente y el linolénico, por el contrario, disminuye,

Esto parecería indicar que un aumento de temperatura durante el desarrollo de la semilla favorecería la formación de ácido oleico a expensas del linolénico, con disminución del índice de yodo del aceite (lo cual aparecería apoyando la teoría de la biohidrogenación de Hilditch).

Sims, McGregor Plessers y Mes (12) en base a estudios sobre aceites de semilla de lino y cártamo en función de la maduración, encuentran que el contenido en aceite y el grado de no saturación crecen con aquella. El aumento de no saturación podría deberse a una desaturación seriada, acompañada por síntesis de los componentes menos insaturados de la cadena de desaturación o por nueva síntesis de ácidos grasos individuales a velocidad suficientes para producir los cambios observados en composición o a la combinación de ambos sistemas. Un catabolismo concurrente de lípidos haría necesaria una mayor velocidad de síntesis.

El estado dinámico de los lípidos en los tejidos de plantas significa que cualquier cambio observado en la nosaturación sea, necesariamente, el resultado concurrente del anabolismo. Por consiguiente consideran incorrecto especular sobre la ocurrencia de desaturación o atribuir cambios en los valores de índice de yodo a nuevas síntesis sin el conocimiento de los cambios de concentración de los distintos ácidos grasos en los sucesivos estados de desarrollo de la semilla.

Los trabajos mencionados hasta ahora contienen especulaciones basadas principalmente en el análisis de las variaciones de contenido en aceite, grado de no saturación y composiciones acídicas a distintos grados de desarrollo de la semilla y en función principal de la temperatura ambiental durante dicho desarrollo. No se mencionan pruebas directas que justifiquen, ya sea la biohidrogenación o la desaturación.

Simmons y Quackenbush (13) fueron los primeros en dar una prueba directa de un proceso de desaturación en la síntesis del aceite seminal de soya. Operando con tallos nutridos con sacarosa marcada con  $^{14}\text{C}$  pudieron probar que los aceites de semilla incorporaban radioactividad, inicialmente en mayor proporción en el ácido oleico y en mucha menos en el linolénico.

Después de varios días con alimentación a base de sacarosa no marcada, notaron un notable incremento en la radioactividad de los ácidos linoleico y preferentemente linolénico, concluyendo que el ácido oleico podría ser precursor de los ácidos linoleico y linolénico, lo que supone la actividad de un sistema desaturante.

Los mismos autores (14) no pudieron probar en la soya la dehidrogenación de los ácidos saturados.

Operando con células en desarrollo de Torulopsis utilis (una levadura rica en lípidos y en ácido linolénico), Ching, Yuan y Bloch (15) pudieron probar que convierten ácido/I- $^{14}\text{C}$  oleico en linolénico. Este proceso requiere oxígeno y se presenta como una desaturación directa. Los ácidos linoleico

y linolénico fueron los únicos radioactivos formados por este organismo a partir del ácido/I- $^{14}$ C oleico, no encontrando radioactividad en el estearico ni en ácidos de cadena mas corta.

Con posterioridad, Meyer y Block (16) estudiaron el efecto de la temperatura sobre la síntesis enzimática de ácidos grasos no saturados en la Torulopsis utilis.

La transformación por desaturación oxidativa de ácido oleico en linoleico (15) es en este trabajo probada específicamente con oleil-CoA en un sistema libre de células. Las preparaciones de enzimas son especialmente activas cuando la Torulopsis utilis desarrolla microaerobiamente a temperaturas subóptimas (19°C).

Con estearil -CoA como sustrato se producen oleico y linoleico, transformación esta que se ve favorecida a bajas temperaturas (es mayor a 19 que a/30°C).

En estas experiencias se emplearon sustratos marcados en /( $^{14}$ C); ambos sistemas desaturantes requieren NALPH<sub>2</sub> (TPNH).

Stumpf y James (17) analizaron la biosíntesis de ácidos grasos de cadena larga con preparaciones de cloroplastos de lechuga, probando que el lugar de las hojas de mayor actividad en la producción de ácidos saturados en /C10 a/C18 es el cloroplasto, siendo los cofactores requeridos en presencia de luz ATP, CoA, Mg, dióxido de carbono y fosfato inorgánico. En la oscuridad la síntesis disminuyen notoriamente aun en presencia de cofactores completos. En condiciones anaeróbicas la biosíntesis de ácido oleico disminuye marcadamente, sin afectarse mayormente la de ácidos saturados. En consecuencia en este trabajo se prueba que los cloroplastos aislados son capaces de sintetizar ácidos grasos



de cadena larga y lípidos complejos que se observan en la hoja intacta, con la excepción de la conversión de ácido oleico a ácidos linoleico y linolénico. No pueden esclarecer si esto último puede ser debido a daños del complejo enzimático sufridos en el aislamiento del cloroplasto o si tal transformación requiere de un sistema enzimático particular residente en otro lugar de la hoja.

Con posterioridad, Harris y James (18) y Harris, Harris y James (19), trabajando con ácido  $H^{14}C$  - oleico en tejidos de hojas de plantas, y en algas verdes, confirman que los ácidos linoleico y linolénico derivan del ácido oleico en el tejido verde fotosintético. Se sugiere para la Chlorella vulgaris la secuencia estearato  $\rightarrow$  oleato  $\rightarrow$  linoleato  $\rightarrow$  linolenato, quedando firmemente establecido en hojas de plantas la secuencia oleato  $\rightarrow$  linoleato  $\rightarrow$  linolenato, existiendo dudas de la transformación estearato  $\rightarrow$  oleato.

Operando en fracciones subcelulares de Chlorella en un estudio más detallado de la transformación de ácido oleico en linolénico se revela la necesidad de oxígeno molecular, de  $NADPH_2$  y de oleil - CoA como sustrato. Estos requerimientos característicos para la reacción de desaturación oxidativa, también encontrada en levaduras y en hígado de rata, aunque se desconoce el mecanismo preciso de dicho proceso.

La considerable inhibición que ocurre en las tres etapas de la desaturación por exclusión del oxígeno, hace suponer que todas ellas suceden a través del mismo mecanismo.

En las experiencias de fraccionamiento (separación de los cloroplastos y sobrenadante por centrifugaciones sucesivas), se señala al cloroplasto como la fracción donde reside la actividad desaturante, con el requerimiento de oleil - CoA como sustrato. Se indica también la existencia en la fracción sobrenadante de un sistema enzimático activante del ácido oleico que, conjuntamente con la fracción cloroplasto, actuarían en la desaturación de oleil CoA previamente formado.

En la secuencia de dehidrogenación el último término sería el ácido linolénico. Confirmaría la opinión de que los cloroplastos son los centros de desaturación el hecho de que los lípidos de los mismos son ricos en ese componente ácido.

Dutton y Mounts (20) desarrollaron plantas de lino, soya y cártamo (cultivadas en invierno) en ambiente cerrado con refuerzo de luz fluorescente y exposición a atmósfera contenida  $^{14}\text{CO}_2$ . Las semillas maduras (no expuestas a  $^{14}\text{CO}_2$ ) se agotaron por hexano-metanol aislando sus lípidos que se examinaron en sus composiciones acídicas por cromatografía gas-líquido.

En el caso del lino, inicialmente los máximos de radioactividad se verificaron (en los cromatogramas) para los picos de ácidos palmítico y oleico, siendo muy pequeña para los de linoleico y linolénico. En función del tiempo de exposición al  $^{14}\text{CO}_2$  (1 a 192 horas), se observa que la radioactividad del ácido oleico decrece, incrementándose

la de los ácidos linoleico y linolénico. Comportamientos similares se observaron en los casos de soya y cártamo (máxima acumulación de radioactividad en el ácido linoleico en función del tiempo de exposición). Se concluye que el dióxido de carbono es reducido fotosintéticamente en las hojas de las plantas con producción de azúcares y compuestos de bajo peso molecular que se transportan a las semillas (debe tenerse presente que las semillas no fue expuesta al  $^{14}\text{CO}_2$ , sino las hojas). Siendo el lino, la soya y el cártamo representativos de tres órdenes de plantas (Geraniales, Rosales y Campanuales) y comportándose en la misma forma en las experiencias aquí descritas, los autores concluyen que la dehidrogenación comporta un mecanismo general para la producción de ácidos no saturados en  $\text{C}_{18}$  en las plantas superiores.

Del conjunto de trabajos expuestos se desprende que en la biosíntesis de ácido grasos por parte de vegetales, los procesos de desaturación de ácidos saturados y oleico son los responsables de la formación de ácidos linoleico y linolénico. Aunque los mecanismos de la desaturación son desconocidos se sabe que el proceso es de índole oxidativa, desde que se inhibe por disminución de la disponibilidad de oxígeno molecular o se detiene en su ausencia. Por otra parte, también a quedado probada en experiencias controladas, la influencia de la temperatura en la formación de ácidos poliinsaturados (a mayor temperatura menor desaturación). En ese sentido se han mencionado experiencias que atribuyen

una menor actividad de desaturasas a temperaturas de 30oC respecto de la que se observa a 19o. Si la temperatura inhibe directamente la actividad de desaturasas o si al propio tiempo determina cambios en la concentración de cofactores, es tema no esclarecido. Estando este trabajo en redacción el Dr. Rodolfo R. Brenner informó que en la "Twelfth International Conference on the Biochemistry of Lipids", realizada en Loughborough (8-12 de Septiembre 1968), James A.T. y Harris, P. anunciaron un trabajo sobre "The effect of low temperatures on fatty acid biosynthesis in plants". En el resumen de dicho trabajo se postula que "los elevados contenidos de ácidos grasos insaturados que se observan en plantas que desarrollan a menores temperaturas, deben atribuirse a una mayor concentración de oxígeno en solución.

Esta posición estaría de acuerdo con una mayor solubilidad del oxígeno en fluidos acuosos a menor temperatura. La mayor disponibilidad de oxígeno acrecentaría la actividad de los sistemas de desaturasas, desde que éstos catalizan procesos de desaturación oxidativa.

#### Antecedentes sobre proteínas de semilla de lino

Durante muchos años los residuos de extracción del aceite de semillas de oleaginosas, que se cultivan principalmente por su elevado contenido en el mismo, no fueron considerados de importancia como fuente de valor nutritivo para el hombre.

Muchas semillas de oleaginosas son, relativamente, ricas fuentes de proteínas y frente al problema de producción insuficiente de productos concentrados en las mismas, de bajo costo, se ha dirigido la atención hacia las mejoras en los métodos de producción y en estudios para determinar el valor nutricional de sus proteínas a los fines de su utilización en la industria alimentaria.

Es evidente que la gran demanda, durante años, por proteínas de origen animal para la alimentación, limitó el interés en la utilización y expansión de los vegetales como fuente de las mismas y así el aislamiento de sus proteínas en gran escala, es de desarrollo comparativamente reciente.

El cultivo de lino tiene dos finalidades: semilla y fibra. El lino para uso textil corresponde a una variedad diferente de aquella destinada para semilla y esta última se cultiva principalmente por su contenido en aceite altamente no saturado, que halla uso en pinturas, barnices, tintas de imprenta y otros productos a base de aceites secantes. La harina residual de la extracción del aceite sirve de alimento para animales y como fertilizante, en menor extensión.

En la producción de semilla de lino, la Argentina tiene un lugar preponderante en el mundo y dentro de nuestro país ocupa el segundo lugar en la producción de oleaginosos, después del girasol.

Los datos registrados en literatura (21) señalan que en base libre de humedad, la semilla de lino contiene 40 a 43%

de aceite, 26 a 28% de proteínas y alrededor de 3,5% de cenizas. Así, en base seca, la harina resultante de la extracción con solvente, contiene 40 a 48% de proteínas y es una posible fuente a considerar en la obtención de las mismas, particularmente destinadas a suplementación de dietas, en la industria alimentaria,

Se señala que el desarrollo de importantes aplicaciones industriales para la proteína y/o para el mucilago del lino, beneficiaría la producción económica de su cosecha.

Existen en la literatura numerosos trabajos sobre proteínas purificadas a partir de distintas semillas de valor comercial, pero resulta sorprendente, lo poco que se conoce sobre proteínas de lino, pese a su elevado contenido en nitrógeno y a su abundante cosecha en variadas regiones del mundo.

Las primeras referencias sobre proteínas de lino se deben a Osborne (22) quien en 1892 las extrajo de la harina libre de lípidos, por distintos caminos: agua, solución de cloruro de sodio al 10% o alcalí diluido, trabajando preferentemente con su técnica de extracción salina. Señala que los extractos contienen una globulina, un compuesto similar a la albúmina y otros de características de las proteosas y peptonas. De los porcentajes de nitrógeno y las cantidades estimadas de proteínas para cada fracción, llegó a establecer un factor de conversión de 5,5 (18% de nitrógeno).

Ningún otro intento de separación de proteínas del lino llama la atención desde esta época aunque la literatura contiene algunos estudios de peptisación con solventes acuosos

y análisis parciales de aminoácidos sobre el total de proteínas crudas) hasta 1945/46, en que surge una serie de trabajos que merecen consideración.

Vassel y Nesbitt (23) presentan una descripción del aislamiento, purificación y de algunas de las propiedades físicas y químicas de una de las proteínas de lino, que de acuerdo a sus investigaciones, aparecería como el componente proteico principal de la semilla (punto isoeléctrico cercano a 5,7; contiene 17% de nitrógeno; 0,6% de azufre y 0,54% de carbohidratos). Esta proteína purificada, a la que dan el nombre de "linina" (derivado del nombre botánico del lino: Linum usitatissimum) la consideran un producto homogéneo en base a sus datos de solubilidad.

Señalan también la presencia de otras proteínas, una de ellas identificada como globulina, a la que designan "conlinina".

Entre los estudios de quienes exploran principalmente la posibilidad de aislar las proteínas de las semilla de lino por extracción alcalina y precipitación ácida, figuran los trabajos publicados en 1946 por Kodangekar y colaboradores (24) y Smith y colaboradores (25) basados en los antecedentes registrados para la soya (considerados como los más convenientes para operaciones en gran escala).

Teniendo en cuenta la posición importante que ocupa la India respecto a la variedad y cantidad de semillas de oleaginosos, Kodangekar y colaboradores (24) estudian la utilización de las tortas y "expellers" residuales, para la producción

de proteínas (maní, castor, lino, sésamo). Las muestras las muelen a polvo fino antes de eliminar los aceites residuales (extracción con mezcla azeotrópica de benceno-metanol). Conducen una serie de experiencias para peptizar las proteínas a partir de la harina libre de aceite, con soluciones acuosas conteniendo variados porcentajes de hidróxido de sodio y sulfito de sodio, investigando la influencia del pH del solvente. El máximo de peptización (95%) ocurre a pH 7,5 con solución de sulfito de sodio al 0,4% y una relación de 1:40 de harina: solvente, en dos extracciones sucesivas. Bajo condiciones similares, usando solución acuosa de hidróxido de sodio (0,3%) el 96% se peptiza a pH más alcalino (11,7). Señalan entre sus conclusiones, que la extracción de proteínas depende del tamaño de las partículas de la muestra, hasta un grado de división de 150 mallas. Una mayor finura de partícula no contribuye a una mayor peptización.

La precipitación de las proteínas se lleva a cabo con ácido sulfuroso a 30°C y a pH 4,5, en razón que el cuáguilo resulta satisfactoriamente manipulado durante el subsiguiente lavado y secado. Las proteínas se lavan con alcohol y éter y secan en estufa de vacío a 48°C, obteniendo un polvo amorfo de color blanco.

Los ensayos preliminares en el aislamiento de proteínas conducidos por Smith y colaboradores (25), muestran que el mucílago que ocurre en la cáscara en relativa abundancia,



interfiere en la sedimentación de la proteína precipitada.

La cáscara también contiene pigmentos de color oscuro, los cuales de no ser eliminados, se extraen con las proteínas y les comunican un color objeccionable. De ahí que un método eficiente para la remoción de cáscara sería la etapa preliminar en la obtención de proteínas más puras.

Un exámen de la estructura de la semilla de lino permite ver con más claridad la distribución de estos materiales interferentes (26). La capa más externa de las cinco que componen la cáscara (spermodermo), conocida como epidermo está constituida por células transparentes, quebradizas con cutícula granular y contenido mucilaginoso. A continuación de la zona de células redondas de escasa adherencia que le sigue, se encuentran dos capas de fibras (longitudinales y transversas) finalizando con una hilera de células grandes, casi cuadradas que contienen el pigmento oscuro. Se sostiene que comunmente las primeras cuatro capas permanecen juntas en el material molido. El tratamiento con cloruro férrico imparte un color azul oscuro al contenido de las células pigmentarias, mostrando la presencia de taninos.

El endospermo, de paredes algo espesas y los cotiledones (embrión) de mayor espesor aún que forman el grueso de la semilla, contienen granos de aleurona y constituyen la fracción mas rica en aceite,

Smith y colaboradores (25) investigan dos métodos de fraccionamiento de la semilla molido, el simple proceso de separar por tamizado gradual y el método de aventamiento. En ambos

casos la semilla es previamente molida entre rollos lisos para evitar en lo posible la ruptura de la cáscara. Resulta evidente que el método de molienda y el grado de humedad de la semilla tienen marcado efecto en la finura de la partícula de la fracción endosperma-embrión y en la ruptura de la cáscara. Así, los mejores resultados en pureza y rendimiento (mayor porcentaje en nitrógeno y aceite), se logran para semillas ajustadas a un contenido de humedad entre 8 y 10% al momento de su molienda, en rollos lisos. También logran separar fracciones similares después de la extracción del aceite por hexano. En este caso, los mayores contenidos en nitrógeno (8%) se registran para harinas separadas por tamizado y provenientes de granos que al momento de la molienda tenían un tenor del 8 al 12% de humedad, pero los rendimientos en fracción fueron ya demasiado pequeños para tener valor práctico.

Para lograr una información que sirviese de guía en los estudios de decorticado mecánico, Smith y colaboradores eliminan manualmente la cáscara de una muestra de semilla de lino (tipo Bison) y analizan las fracciones. Para la semilla conteniendo todo el aceite, las cáscaras representan el 41,4% del peso de la semilla. Son de mayor contenido de humedad y ligero menor contenido en nitrógeno que la fracción endosperma-embrión y contienen solamente 1,84% de aceite. En base libre de humedad y aceite, algunos de estos valores se invierten, las cáscaras constituyen el 60% de la harina y tienen un valor en nitrógeno de aproximadamente 1/3 del de la fracción

endosperma-embrión. El hecho más notorio reside en que el 96,7% del total del aceite está en esta última fracción.

En sus ensayos preliminares para llevar a cabo la extracción de proteínas, los autores presentan las curvas de dispersión para la harina de semilla entera agotada por hexano y para la harina de semilla decortificada mecánicamente y agotada por hexano, en función del pH del solvente de extracción. Observaron que al punto isoeléctrico de proteínas (pH 3,8) queda el 21 al 23% del nitrógeno total de la harina en solución, que no sería recuperable en un proceso por extracción en medio alcalino y precipitación ácida. Esas mismas curvas señalan que el máximo de peptización ocurre a pH alcalino (aproximadamente 10).

Otra serie de experiencias sirve para demostrar que prácticamente en dos extracciones sucesivas y a 25°C se logra peptizar y recuperar entre 80 y 87% del nitrógeno total, siempre que se use una relación de harina:agua superior a 1:10 y con un período de agitación mínimo de 30 minutos (mayores tiempos no incrementan la cantidad de nitrógeno dispersado). El residuo insoluble se separa por centrifugación y en alícuota del sobrenadante se determina nitrógeno por método Kjeldahl.

Los resultados de comparar las curvas de precipitación de las proteínas luego de una peptización alcalina, les permite señalar al ácido sulfúrico como agente acidificante con mayor rango de precipitación que el ácido clorídrico, hallando en ambos casos el mínimo de solubilidad a pH 5,1

(punto isoeléctrico), bastante desplazado del valor 3,8 señalado en la curva de dispersibilidad. También en este caso se demuestra que el 20 al 23% del nitrógeno total no es precipitado por ácidos. Los más bajos valores de nitrógeno en el sobrenadante corresponden a la fracciones más puras en endosperma-embrión. La solución remanente después de separar las proteínas precipitadas por ácido, contiene azúcares y compuestos de nitrógeno solubles. No hay evidencia de la presencia de proteínas soluble en agua, coagulable por calor (ausencia de albúmina).

Por extracción en medio alcalino y precipitación ácida de una fracción rica en proteínas, el rendimiento en esta última (en base al peso de la fracción de harina decorticada y agotada por hexano) resulta, en el mejor de los casos, de 38%, con un valor de nitrógeno del 14% (corregido por cenizas y humedad), que no mejora por reprecipitación sucesivas.

Con fines comparativos, los autores proceden a aislar las proteínas por otros caminos, distintos al de extracción alcalina y precipitación ácida, señalando los rendimientos y contenidos en nitrógeno respectivos. Así, por extracción salina (cloruro de sodio) y precipitación por diálisis se logra para la misma fracción de harina, un rendimiento en proteína del 18% con un contenido en nitrógeno de 17,4% y para la preparación obtenida por extracción acuosa, precipitación por sulfato de amonio y diálisis, un rendimiento del 6% con un contenido en nitrógeno del 18% (en ambos casos corregidos por cenizas y humedad). Estos resultados llevan

a la conclusión que el factor calculado para la conversión a proteínas depende del método usado en la obtención, oscilando entre 7,2 y 5,5. El contenido en nitrógeno de la última preparación es similar al valor promedio logrado por Osborne (18% de nitrógeno, factor 5,5). En ningún caso los autores hacen referencia al secado de las proteínas precipitadas, ya que la cantidad de nitrógeno fué calculada como diferencia entre el nitrógeno en la dispersión original y la cantidad dejada en solución después de la precipitación de las proteínas.

En vista de lo dificultoso que resulta remover las impurezas mucilaginosas de las proteínas extraídas por agua y soluciones salinas, Vassel y Nesbitt (23) dirigen su atención hacia los solventes orgánicos con la esperanza de hallar uno que pudiera precipitar las proteínas del lino, o los mucílagos, sin precipitar ambos a la vez.

El uso de una mezcla buffer (pH 7,2)-etilenglicol (1:1;4) permite extraer el 65% del nitrógeno total removiendo parte de la materia mucilaginosa. El extracto glicólico diluído convenientemente, llevado a pH 10 y adicionado de dioxano completa la floculación del mucílago, dentro de las 24 horas.

El sobrenadante después de centrifugar, es diluído con agua destilada y acidificado a pH 4,5 con ácido clorídrico 5N, sedimentando las proteínas de color blanco. Por sucesivas disoluciones y precipitaciones, los autores llegan a obtener un precipitado purificado que contiene 17% de nitrógeno.

Si bien el uso de ciertos solventes orgánicos ofrece las ventajas mencionadas, la técnica descrita no resulta de interés práctico para operar en gran escala sino, como lo señalan los autores, conveniente ~~en~~ aquellos casos en que se presta más atención a la pureza que al rendimiento,

Por esa época aparecen algunos trabajos que intentan aislar el mucílago. Erskine y Jones (27) por maceración y lavado de las semillas de lino enteras, logran separar una solución de la que aislan los mucílagos precipitándolos con etanol y acetato de cobre. Por disolución del complejo cúprico en ácido clorídrico, los polisacáridos que lo constituyen se precipitan con etanol, disuelven en agua y reprecipitan con etanol hasta eliminar los restos cúpricos.

En 1948, Mason y Hall (28) hacen referencia a la obtención del mucílago a partir de las tortas de semilla de lino que quedan después del prensado en la extracción de aceite, señalando un camino para su purificación. Presentan valores de composición del producto obtenido y describen una serie de propiedades físicas de los mucílagos y de sus soluciones acuosas que consideran de valor para su uso en la industria (textil, farmacéutica, cosmética, papelería). Contemplan el aprovechamiento del residuo (después de separar el mucílago) en la alimentación, como un factor que tiende a reducir el costo del proceso en base a los resultados del análisis de su composición:

Posteriormente Bolley y Mc Cormack (29) separan por sбраción la fracción cáscara rica en mucílago (que contiene un

11% de proteínas) del resto de la harina extraída con solvente. Agotan la cáscara en medio acuoso a pH 4,5 y a 60-80°C, concentrando a presión reducida el líquido de extracción (previamente llevado a pH 7) y secando finalmente por spray.

Los estudios sobre estructura del mucílago (27) (30) (31) lo revelan como un polisacárido muy ramificado con elevado contenido en xilosa y arabinosa, señalándose también la presencia de galactosa y de ramnosa.

Se señala en la literatura que la semilla de lino contiene un glucósido (linamarina o linara) y que la enzima linasa, es la responsable de su degradación cuando la semilla se somete a maceración acuosa a temperatura moderada (32). La linasa cataliza la hidrólisis de la linamarina en ácido cianhídrico acetona, y glucosa.

La comparación entre valores de contenido en ácido cianhídrico libre sobre semilla fresca de lino y tortas residuales de la extracción del aceite, permite señalar que la enzima es destruída en distintos procesos, quedando el principio activo sin hidrolizar. Posteriormente los mismos autores (33) (34) llevan a cabo un estudio mas exhaustivo mostrando la distribución del principio en la semilla (mayor proporción desde la periferia hacia el centro). La linamarina se descompone por calentamiento de la suspensión acuosa de semilla de lino molida por 3-4 horas a 60°C quedando un 10% de los valores iniciales (contenido inicial: 0,20-0,26% de ácido cianhídrico). La descomposición total ocurre con 12 horas de maceración. En un trabajo reciente Mays (35) al

referir la separación de proteínas del lino por extracción con solución buffera pH 9,5y precipitación en medio ácido, sostiene que dicho precipitado no contiene linamaria.

Más recientemente, la literatura refiere la presencia en la semilla de lino de un factor antipiridoxínico (bloqueador de vitamina B6) (36). El compuesto se extrae de la harina de lino con etanol 70% y está presente en concentración del 0,002 al 0,005%. Se lo describe como un compuesto de fórmula  $C_{10} H_8 N_3 O_5$ , soluble en agua e insoluble en solventes no polares. Contiene 50% de ácido glutámico. Se destruye por maceración en agua y en autoclave, no teniendo efecto el calor seco (110°C). En ensayos biológicos, incorporando harina de lino a las raciones alimenticias de pollos jóvenes, se prueba su presencia y efecto por la inhibición del crecimiento.

La obtención de este factor a partir de la semilla de lino y su caracterización y síntesis N' ( - L - glutamil D-N aminoprolina) , se describen en un trabajo presentado por Samoureux y Lee (37).



En el presente estudio se complementa otro realizado en la Estación Experimental de Pergamino (INTA), acerca del rendimiento en semilla por hectárea de 10 variedades de lino oleaginoso cultivadas en esa Estación Experimental en ocho épocas de siembra para cada variedad, en 1965. Las variedades consideradas son: Klein 11, Querandí M., Buck 114, Oliveros Timbú SAG, Tezanos Pinto Taragúí SAG, Paraná INTA, Pergamino Mocoretá INTA, Pergamino Puelche M.G., Rancagua INTA y Reconquista INTA (\*) cuyas épocas de siembra, germinación, floración, madurez y cosecha de la semilla y rendimiento de ésta por hectárea figuran en el cuadro I (\*\*).

La experimentación así presentada y realizada por la Estación Experimental Pergamino ofrece una oportunidad muy singular para realizar estudios acerca de la influencia varietal sobre rendimientos en semilla por hectárea, contenido de aceite en semilla y valores de características fisico-químicas y de composiciones acídicas, desde que todas las variedades han desarrollado en la misma época, en la misma localidad, bajo idénticas condiciones agroclimáticas y habiéndose cosechado la semilla, en cada caso, al mismo grado de madurez. En consecuencia, es posible examinar la influencia varietal y la del avance de la época de siembra (esto último para cada variedad) desde que los demás factores de influencia (condiciones agroclimáticas, grado de maduración) quedan excluidos. El Cuadro I (tomado de los valores remitidos por INTA) resume los rendimientos en semilla por hectárea

(\*) No reconocida oficialmente como variedad (pedigree H. p 856/60-8; línea Reconquista).

(\*\*) Valores proporcionados por la Estación Experimental Pergamino (INTA).

para cada variedad correspondientes a las ocho épocas de siembra. De su observación surge que ocho de las diez variedades presentan los máximos de rendimiento en semilla para la tercera época de siembra, una variedad para la quinta época y otra para la sexta. Nueve de las diez variedades muestran el menor rendimiento en semilla por hectárea para la octava época de siembra y una para la cuarta. La última columna del Cuadro I ilustra sobre las mermas en rendimiento de semilla por hectárea en función varietal y de la época de siembra; las variedades Pergamino Mocoretá INTA, Pergamino Puelche M.G., y Rancagua INTA acusan, en ese sentido, las mayores mermas.

La exposición que sigue comprende dos aspectos diferentes de la experimentación: estudios sobre rendimientos, características físico-químicas y composiciones acídicas de los aceites extraídos de cada una de las ochenta partidas de semillas y examen de composición de las harinas residuales de extracción, con énfasis en el aislamiento de proteínas.

### ESTUDIOS SOBRE ACEITES DE EXTRACCION

#### Rendimientos en aceite y características físico-químicas -

En operaciones separadas el aceite de cada partida de semilla se obtiene por extracción con hexano técnico (ver Parte Experimental), determinando los rendimientos (aceite por ciento de semilla tal cual), los valores de índice de yodo (Wijs), de índice de refracción a 25°C y de acidez

libre (miligramos de hidróxido de potasio por gramo) sobre cada aceite. Todos estos valores figuran en el Cuadro II. De su consideración surge:

a) Los rendimientos en aceite para cada variedad se mantienen, en general, hasta la sexta época de siembra, notándose una disminución sensible hacia la séptima y octava época.

b) La variedad Buck 114 mantiene bajos rendimientos en aceite através de todas las épocas de siembra.

c) Las variedades Paraná INTA, Pergamino Mocoetá INTA y Pergamino Puelche M/G presentan los mayores rendimientos en aceite a través de las diferentes épocas de siembra.

d) Las mermas en rendimiento oscilan entre 1,6 y 4,4 %, señalándose que los máximos y mínimos no ocurren, en las distintas variedades, para las mismas épocas de siembra,

e) Los valores de acidez libre resultan ser bajos y parejos en todas las variedades. En general se nota un ligero incremento para los aceites de semilla correspondientes a las séptima y octava épocas de siembra.

f) El aceite de la variedad Reconquista INTA presenta los mayores valores de índice de yodo (130,7 a 190,4), siguiendo los de las variedades Rancagua INTA (169,2 a 198,2) y Oliveros Timbú SAG (168,9 a 193,8). Los aceites de las variedades Buck 114, Tezanos Pinto Taraguf SAG y Pergamino Puelche MAG presentan los valores más bajos de índice de yodo (160,7 a 187,0), (161,9 a 138,1) y (163,0 a 187,0), respectivamente.

g) En general y en cada variedad, los valores más altos de índice de yodo corresponden a los aceites de semilla procedentes de la primera a cuarta época de siembra.

h) En todas las variedades los aceites procedentes de semilla de la séptima y octava época de siembra, presentan valores de índice de yodo sensiblemente menores. La disminución de los valores de índice de yodo oscila entre 18,7 y 29,0 unidades, siendo la variedad Reconquista INTA la menos sensible y la variedad Rancagua INTA la más influenciada en tal sentido por la época de siembra.

i) Las variaciones observadas sobre valores de índice de yodo son correlativas a las variaciones de los respectivos índices de refracción a 25°C. En ese sentido la Figura 1 es suficiente ilustrativa (en ella se han representado los valores de índice de refracción y de yodo de los 80 aceites, trazando la recta por el método de los cuadrados mínimos). El factor de correlación, significativo, es - 0,77.

En el Quadro 2 se incluyen los valores de temperatura mínima media (valor promedio de todas las temperaturas mínimas diarias en el período que va desde el comienzo de floración hasta la fecha de cosecha), de temperatura máxima media (valor promedio de las temperaturas máximas diarias en el mismo período) y el valor promedio de las anteriores (\*), así como la duración del período de post-floración, en días.

Desde que la semilla correspondiente a la sexta, séptima y octava época de siembra fue cosechada el 21 de diciembre surge (según se expone más adelante y de la observación de los valores de temperatura consignados en el Cuadro 2) que durante su desarrollo ha experimentado la influencia de mayores tiempos a un régimen de temperaturas más elevadas. Si se correlaciona esto último con lo señalado respecto de rendimiento en semilla /Ha, del contenido en aceite de la semilla y de los valores de sus índices de yodo, surge que el desarrollo de la semilla a un régimen de mayor temperatura incide desfavorablemente sobre el rendimiento en semilla por Hectárea y sobre el contenido de aceite % de semilla estos últimos resultando de menores valores en índice de yodo. Este comportamiento, observado a través del examen en cultivos de 10 variedades distintas de lino oleaginoso y de los rendimientos y características de sus aceites seminales, son concordantes con los registrados en la literatura y especialmente con los señalados por Dean Dybing y Don Zimmerman (11) (ver Introducción).

#### Componentes menores de los aceites seminales.-

Operando sobre aceite (mezcla de partes iguales en peso de los aceites de las ocho épocas de siembra para cada variedad) se determinan los contenidos en insaponificable total y

---

(\*) Valores diarios proporcionados por la Oficina Meteorológica Nacional. No disponiendo los correspondientes a Pergamino para el año 1965, se consignaron los registrados en la Localidad de Junín, que presenta valores muy similares a los de Pergamino.

27

en escualeno y partiendo de los aceites correspondientes a las segunda y séptima época de siembra de cada variedad, los contenidos es esteroides totales, en tocoferoles totales y en fósforo lipídico con las técnicas que se mencionan en la Parte Experimental y con los resultados que figuran en el Cuadro 3.

Puede apreciarse que se obtienen valores muy parejos para todas estas determinaciones, concluyéndose que no existe una influencia varietal sobre los mismos.

Los valores de tocoferoles totales (57 a 77 mg%g) están comprendidos dentro de los extremos compilados por Dicks (38) (23 a 265 mg%g, con una mayor concentración de valores entre 30 y 150); los números de escualeno hallados (9 a 27 mg%g) son superiores al valor consignado por Mehlenbacher (39) (4 mg%g) y los valores de esteroides totales (493 a 635 mg%g) son superiores a los registrados por Lange (40) (370 a 416 mg%g). Operando sobre los aceites de semilla procedentes de las ocho épocas de siembra de la variedad Klein 11 se determinaron sus contenidos en tocoferoles totales, registrando las siguientes cifras para los aceites de la primera a la octava época: 63,2; 56,5; 59,1; 57,7; 52,7; 65,1; 58,6 y 65,7 mg%g. Asimismo y para esta misma variedad, los valores de fósforo lipídico registrados en los aceites de la semilla de la primera a octava época fueron: 25,0; 26,1; 19,7; 20,8; 21,8; 19,5; 25,5 y 26,7 mg de fósforo %g. Del mismo modo, los contenidos en esteroides totales de los aceites de las ocho épocas de siembra de esta variedad fueron: 546, 635, 516, 546, 522, 585, 585 y 584, mg%g.

De estas experiencias se concluye que el avance de la época de siembra no incide significativamente sobre los contenidos de esos componentes menores.

COMPOSICIONES ACIDICAS

Experiencias de control previas

En la Parte Experimental se detallan las experiencias realizadas para encontrar las condiciones óptimas de análisis por C.G.L. de los ésteres metílicos de los ácidos totales de aceite de lino. Este aspecto del análisis hubo de considerarse especialmente, en razón de la aparición en los cromatogramas de "artefactos" (el principal como un pico con tiempo de retención similar al del monadecenoato de metilo, que aparece nítidamente entre los picos del linoleato y linolenato de metilo). La solución se encontró disminuyendo progresivamente la temperatura del "block" de inyección, hasta observar la total desaparición de dicho pico. Como confirmación de la influencia de la temperatura del "block" de inyección en la formación de "artefactos" se comprobó la ausencia de los mismos en un cromatógrafo Pye, que carece de dicho "block" (la muestra se deposita sobre la superficie del relleno de la columna en la zona de entrada del "carrier" y se volatiliza a la temperatura de la columna). Finalmente, el aspecto cuantitativo en base a cromatogramas fue ajustado multiplicando por el factor 1,05 el área total del pico correspondiente al linolenato de metilo antes de calcular los valores porcentuales. La composición acídica hallada así por C.G.L. de una

fracción de destilación de ésteres metílicos de ácidos totales de aceite de lino (rica en linolenato, linoleato y oleato), mostró valores para linolénico y linolénico concordantes con los determinados por espectrofotometría en U.V. luego de isomerización alcalina. Asimismo, hubo concordancia entre el contenido de ácidos saturados totales (C.G.L.) y el determinado según Bertram (41). De igual modo concordaron los valores de índice de yodo determinado y calculado en base a la composición C.G.L. El conjunto de estos controles se resume a continuación:

- Composición acídica hallada por C.G.L. (% ácidos totales) 16:0 (vest); 18:0 (4,6); 18:1 (17,1); 18:2 (15,5) y 18:3 (62,8).
- Valores encontrados por U.V. (% ácidos totales): 18:2 (15,6); 18:3 (63,0).
- Ácidos saturados totales (Bertram) (% ácidos totales): 4,9.
- Índice de yodo de la fracción analizada: Determinado: 204,0; calc. (según C.G.L.): 204,9.

Composiciones acídicas de los aceites de semilla de lino considerados.-

Con los detalles que figuran en la Parte Experimental, se obtienen los ésteres metílicos de los ácidos totales de cada una de las ochenta muestras de aceite (metanólisis), que se examinan por C.G.L. empleando el equipo, columna y condiciones operatorias que se detallan más adelante.



Por triangulación y corrigiendo el área del pico correspondiente a linolenato en la forma ya señalada, se calculan las composiciones acídicas de cada aceite. A modo de control y por espectrofotometría en U.V. se determinan los contenidos en ácidos linoleico y linolénico operando sobre los aceites de dos épocas de siembra de cada variedad. Las composiciones acídicas encontradas figuran en el Cuadro 2.

La consideración de estos valores permite señalar:

- a) - En todas las variedades las concentraciones en ácidos oleico y linolenico experimentan cambios de importancia respecto de la época de siembra. A medida que ésta avanza, aumentan los contenidos de ácido oleico y disminuyen los de linolénico. En general y en los aceites de semilla de las tres últimas épocas de siembra, ocurre una disminución importante en la concentración de ácido linolénico y un aumento correlativo en la de oleico.
- b) - Las concentraciones en ácido linoleico experimentan poca variación. Las concentraciones de ácido palmítico muestran un suave incremento con el avance de la época de siembra. En las concentraciones de ácido estearico se observa un comportamiento similar al del ácido palmítico, siendo el incremento más acentuado.
- c) - En general y en todas las variedades la menor concentración en ácido esteárico ocurre para los aceites de la tercera época de siembra, en los que también se observan los mayores valores para ácido linolénico.

d) - Las menores variaciones para los contenidos en ácidos oleico y linolénico ocurren en los aceites de la variedad Reconquista INTA, que también muestran las menores variaciones en los valores de índice de yodo. En los aceites de la variedad Rancagua INTA (que mostraban las mayores variaciones de índice de yodo) ocurren importantes cambios en las concentraciones de los ácidos oleico y linolénico.

e) - En general no se observa una correlación completa entre las variaciones de índice de yodo de los aceites y las concentraciones en ácidos oleico y linolénico; probablemente tienen influencia sobre los primeros las variaciones menores que ocurre en las concentraciones de ácidos saturados y linoleico.

f) - La representación gráfica de los contenidos en ácidos saturados totales oleico, linoleico y linolénico (% de ácidos totales) en función de los índices de yodo de todos los aceites considerados, permite observar correlaciones muy significativas para las relaciones II: oleico, II: linolénico, e II: saturados totales y no significativa para la relación II: linoleico. Las Figuras 2, 3, 4, 5 y 6 son demostrativas de estas relaciones y en ellas las rectas han sido trazadas por el método de los cuadrados mínimos.

Los resultados sobre variaciones de composiciones acídicas señaladas precedentemente (aumento significativo de la concentración de ácido oleico y disminución, también significativa

de la de ácido linolénico), señalan un comportamiento del mismo tipo que el encontrado por Yermanos y Goodin (9) al estudiar la influencia de la temperatura ambiental sobre las composiciones acídicas de aceite de lino (ver Introducción). En el Cuadro 2 figuran los valores de temperaturas mínimas medias y máximas medias (valores promedio de todas las temperaturas mínimas diarias y máximas diarias registradas desde el comienzo de la floración hasta la cosecha), así como las temperaturas promedio de las anteriores.

También se incluye en el Cuadro 2 la duración en días de dicho período. Se observa que en todas las variedades la máxima duración de este período corresponde a las tres últimas épocas de siembra (sexta, séptima y octava) si bien también fue de mayor duración el período correspondiente a la primer época de siembra).

Se señala que en todas las variedades las mayores concentraciones de ácido oleico y menores de linolénico (que ocurren en los aceites de la semilla correspondiente a las tres épocas de siembra), coinciden con las épocas de siembra para las que en el desarrollo de la semilla rigieron los mayores valores de temperatura mínima media, siendo menos visibles los aumentos en las temperaturas máximas medias y por consiguiente, en los respectivos valores promedio. Sin embargo, la probable influencia de la temperatura en el sentido señalado por Yermanos y Goodin aparece más claramente si se consideran las temperaturas mínimas y máximas diarias que rigieron el período floración-cosecha.

A título de ejemplo se presenta el detalle correspondiente a las primera (20/9-24/11) y octava (23/10-21/12) épocas de siembra para la variedad Reconquista INTA .

Las temperaturas mínimas diarias registradas para la primera época de siembra fueron:

3,8; 10,0; 9,0; 10,2; 9,0; 1,2; 2,0; 10,0; 8,0; 8,4; 1,0; 2,0; 1,8; 6,0; 2,3; 15,0; 12,0; 13,0; 7,7; 9,3; 1,4; 3,0; 9,8; 6,0; 9,2; 13,3; 16,2; 16,2; 11,9; 10,8; 7,0; 14,3; 14,4; 13,3; 9,8; 8,7; 12,0; 14,9; 5,0; 8,0 ; 9,0; 11,0; 11,2; 14,1; 10,4; 6,4; 7,8; 11,0; 10,8; 15,4; 14,2; 16,4; 8,0; 7,5; 10,0; 5,6; 8,0; 9,9; 13,0; 17,4; 14,7; 19,0; 18,8; 18,0; 15,2 y 8,0°C.

Las temperaturas mínimas diarias registradas para la octava época de siembra fueron:

13,3; 9,8; 12,0; 14,9; 5,0; 8,0; 9,0; 11,0; 11,2; 14,1; 10,4; 6,4; 7,8; 11,0; 10,8; 15,4; 14,2; 16,4; 8,0; 7,5; 10,0; 5,6; 8,0; 9,9; 13,0; 17,4; 14,7; 19,0; 18,8; 18,0; 15,2; 8,0; 7,0; 13,3; 15,3; 19,9; 18,7; 16,0; 11,6; 13,4; 21,0; 18,0; 13,6; 16,4; 15,3; 9,7; 13,0; 16,2; 15,2; 8,0; 11,4; 8,4; 8,4; 14,4; 18,0; 18,1; 15,3; 13,0 y 12,0°C.

El cuadro siguiente ilustra con claridad acerca de las diferencias de las temperaturas mínimas diarias registradas para la primera y octava épocas de siembra de la variedad Reconquista:

	PRIMERA EPOCA	OCTAVA EPOCA
T. mínima menor (°C)	1,0	5,0
T. mínima mayor (°C)	19,0	21,0
Días con T. mínima de hasta 5°C	10	1
Días con T. mínima mayor de 5° y hasta 10°C	26	18
Días con T. mínima mayor de 10° y hasta 15°C	21	21
Días con T. mínima superior a 15°C	9	20

Un análisis similar respecto de las temperaturas máximas diarias observadas para los mismos períodos de la primera y octava épocas de siembra, se presenta en el cuadro siguiente:

	PRIMERA EPOCA	OCTAVA EPOCA
T. máxima menor (°C)	15,8	15,8
T. máxima mayor (°C)	36,6	36,6
Días con T. máxima de hasta 20°C	12	7
Días con T. máxima mayor de 20° y hasta 25°C	25	23
Días con T. máxima mayor de 25° hasta 30°C	21	22
Días con T. máxima superior a 30°C	8	8

Surge del análisis del cuadro de temperaturas mínimas que el período floración-cosecha de la primera época de siembra ha estado regido por un régimen de temperaturas mínimas diarias menores durante un mayor número de días que el mismo período para la octava época de siembra (téngase presente, además, que la duración de dicho período para la primera época fue de 66 días y de 60 para la octava).

El cuadro de temperaturas máximas correspondientes señala diferencias mucho menores para la primera y octava épocas, debiendo destacarse la probable incidencia derivada de la menor duración del período floración-cosecha para la octava época.

Lo expuesto muestra que la incidencia de la temperatura sobre las composiciones acídicas obraría en el sentido señalado por Yermanos y Goodin. Sin embargo, cabe pensar que un análisis más completo requeriría una información horaria por un día de las variaciones de temperatura, desde que es seguro que en los meses más fríos ocurra mayor número de horas de menores temperaturas y menor número de mayores, que en los meses más cálidos.

Las Figuras 7 y 8 muestran las curvas (muy cercanas a rectas) trazadas matemáticamente y representativas de las variaciones de contenidos en ácidos oleico y linolénico en función de las temperaturas promedio (promedio de las mínimas medias y máximas medias) del período floración-cosecha en las ocho épocas de siembra para la variedad Paraná INTA y Rancagua INTA, respectivamente.

Desde un punto de vista industrial el aceite de lino debe su valor a su elevado contenido en ácido linolénico. Podría ampliarse el campo de sus aplicaciones si se dispusiera aceites de lino de bajos contenidos en ácidos linolénico. En ese sentido los resultados de este trabajo muestran que con el avance de la época de siembra algunas variedades de lino pueden producir aceites conteniendo 18% de ácido linolénico, lo que puede tener significación en procesos de hidrogenación catalítica.

Yermanos (42) estudió la composición acídica de aceites de semilla de 43 especies de lino, procedentes de 28 jardines botánicos de 20 países de los cinco continentes. Diez especies producen aceite seminal con menos del 10% de ácido linolénico

y seis entre 11 y 17% de dicho ácido.

Estas dieciseis especies producen aceites con 50 a 82% de ácido linoleico. Por el contrario, dos especies dan aceites con más de 63% de ácido linolénico y las 5 restantes aceites de composiciones intermedias entre los extremos señalados.

En resumen, las 43 especies podrían formar dos grupos, a saber:

- 1)- especies productoras de aceite seminal rico en ácido linolénico y de bajos contenidos en linoleico y oleico (este grupo comprende las especies cultivadas de L.usitatissimum) y
- 2)- especies productoras de aceite seminal de alto contenido en linoleico y bajos contenidos en linolénico y oleico.

#### Examen de composición acídica exhaustiva de un aceite de lino

Como se expone en la Parte Experimental y operando sobre un aceite de lino extraído en laboratorio con butano líquido a partir de semilla comercial, se obtienen los ácidos totales libres de **la mayor parte del insaponificable que se transforman en los ésteres metílicos. Dado que el examen directo por C.G.L. de los ésteres metílicos de**

---

ácidos totales de aceites vegetales presenta dificultades para revelar la presencia de muy pequeños componentes por C.G.L., se fracciona por destilación los ésteres metílicos (ver Parte Experimental), analizando cada fracción y el residuo de destilación por C.G.L. Los componentes se identifican y calculan las composiciones de cada fracción y del residuo. Con estos valores se calcula la composición final de los ácidos totales del aceite con los siguientes resultados (ácidos % de ácidos totales): 12:0 (vest); 13:0 (vest); 14:0 (0,06); 15:0 (0,02); 16:0 (0,02); 16:0 (5,74); 17:0 (0,04); 18:0 (4,66); 20:0 (0,37); 22:0 (0,25); 23:0



(0,04); 24:0 (0,14); 14:1 (vest); 15:1 (vest); 16:1 (0,28);  
17:1 (0,02); 18:1 (15,22); 20:1 (0,22); 22:1 (0,07); 18:2 (14,76)  
y 18:3 (58,09).

Esta composición es muy similar (excepto los componentes en muy pequeña concentración) a la encontrada por C.G.L. directa de los ésteres metílicos de los ácidos totales: 16:0 (5,7); 18:0 (4,8); 18:1 (16,4); 18:2 (14,9) y 18:3 (58,2). En la Parte Experimental se discuten los controles que aseguran la corrección de estos análisis.

#### Estudios sobre harinas de semilla de lino.-

En la Parte I de este trabajo se ha hecho referencia a los escasos antecedentes bibliográficos registrados sobre proteínas de lino, a la posición que ocupa nuestro país en la producción de semilla de lino y a la necesidad de encarar el aislamiento de sus proteínas con fines de utilización en alimentos para humanos.

El propósito del trabajo presente fue el de aprovechar las harinas resultantes de la extracción del aceite (hexano) de las diferentes variedades de semilla de lino ya mencionadas, para conducir una serie de experiencias preliminares, a fin de obtener valores de composición y un panorama de su comportamiento frente a la extracción alcalina y precipitación ácida. Asimismo observar probable influencia de diversos factores (grado de tamizado, presencia de mucílago, variación de pH, contenido en fibra).

### Composición general de las harinas-Harina integral.-

Como primer paso, se resuelve encarar el conocimiento de la composición de las harinas de semilla correspondiente a las ocho épocas de siembra en dos variedades de lino (Klein 11 y Reconquista INTA). Las harinas de las ocho variedades restantes, se analizan solamente para dos épocas de siembra (segunda y séptima).

Con los detalles que figuran en la Parte Experimental, se determinan los contenidos en humedad, cenizas y nitrógeno total que figuran en el Cuadro 4.

Los valores extremos registrados al final del mismo (máximo y mínimo) dan idea de la poca variabilidad de los datos individuales. Los contenidos en proteínas, resultan de multiplicar el porcentaje de nitrógeno por el factor convencional 6,25. De su observación surge que dichos valores también son poco variables, si se tiene en cuenta que las cifras extremas sólo se dan una vez, mientras que de las de mayor frecuencia son las que oscilan entre 42 y 44%.

Con excepción de dos variedades (Querandí MA y Buck 114), en todas las restantes se registra un aumento del contenido proteico hacia la última época de siembra.

Es decir, que se acusa un incremento en proteínas (2-4%) para las semillas de siembra tardía, coincidiendo con un decremento en el rendimiento en aceite de las mismas. Los valores logrados para proteínas están dentro de los que ilustra la literatura (40-48%) para harinas de lino libres de aceite y de humedad, al igual que los contenidos en humedad y cenizas (25), (21), (24).

A fin de disponer mayor cantidad de muestra y considerando la estrecha variación en los resultados antes mencionados, se mezclaron, en partes iguales, las 80 harinas correspondientes a las partidas de semilla remitidas. Esta muestra, que llamaremos "harina integral" pasa en su totalidad por malla 20 (tamiz Tyler Standard) como resultado de la molienda efectuada al momento de la extracción del aceite. Sobre ella se explora la posibilidad de aislar las proteínas por el método de extracción alcalina y precipitación ácida, procedimiento que la literatura señala como más conveniente para operar en gran escala.

Se considera como primer paso, el análisis de su composición, la que figura en el cuadro siguiente a los métodos señalados en la Parte Experimental.

Humedad %	11,63
Cenizas %	5,46
Nitrógeno%	5,95
Fibra %	7,98
Extracto en eter etílico%	0,97
Proteína % (N% 6,25)	37,2 (b.s. 42,0)

"Harina integral" - Composición  
química % harina tal cual

## Estudios sobre extracción de proteínas.-

Teniendo en cuenta que la harina de lino presenta problemas en la extracción y precipitación de sus proteínas por la presencia de mucílago, se decide conducir una serie de ensayos previos a fin de ajustar las condiciones operatorias de acuerdo a la técnica practicada en los Laboratorios del Centro Investigaciones de Grasas y Aceites (C.I.G.A.) (43), siendo la secuencia de operaciones la siguiente:

a)- Extracción de proteínas en medio alcalino (pH 9,5) y precipitación en medio ácido, considerando la elección del pH al punto isoelectrico -

El Cuadro 5 ilustra sobre el conjunto de valores obtenidos por aplicación de la técnica detallada en la Parte Experimental y de su observación surge que el pH 4,0 es aquel donde se logra la máxima precipitación (punto isoelectrico). La representación gráfica (Figura 9) de las cifras consignadas en la cuarta columna (nitrógeno sobrenadante, después de precipitación, % harina) en función del valor de pH de precipitación, muestra una curva cuyo mínimo está prácticamente a pH 4,0, elevándose rápidamente a mayores y menores valores de pH.

b)- Extracción de mucílagos a pH isoelectrico de proteínas- Estudio de la influencia del pH en su extracción -

Las mismas consideraciones que en el caso a) llevan a señalar como óptimo operar la extracción previa de mucílagos a pH 4,0 (punto isoelectrico de proteínas). En el ocurre una mínima solubilización de compuestos nitrogenados, (como puede verse en los resultados consignados en el Cuadro 6) correspondiendo también a un menor valor en productos extractivos, cifra

esta última que aumenta a otros valores de pH y prácticamente a expensas del material nitrogenado. La Figura 10 ilustra sobre la representación de valores de nitrógeno extraído (% de harina) en función del pH de extracción; también en este caso, la curva pasa por un valor mínimo a pH 4,0.

Una amplia variación en el pH (9,5 a 2,0) ensayada sobre el líquido proveniente de la extracción de mucílagos al pH isoelectrico de proteínas (4,0), no provoca precipitación ni turbidez en el mismo. Se concluye que grandes diferencias en el pH no producen cambios en la solubilidad del mucílago extraído.

c)- Obtención de proteínas, previa extracción de mucílago a pH 4,0 - Revisión del pH isoelectrico -

Por aplicación sucesiva de las técnicas señaladas en la Parte Experimental, se extraen las proteínas a pH 9,5 en el residuo proveniente de la separación previa de mucílagos a pH 4,0. Se observa la influencia de la extracción de estos últimos en el pH isoelectrico de las proteínas a precipitar.

El Cuadro 7 reúne los resultados obtenidos y la Figura 11 representa los valores de nitrógeno soluble (después de precipitar) % de harina en función de los valores de pH de precipitación, donde se observa un desplazamiento en el pH isoelectrico hacia la zona ácida (3,5).

Esto podría explicarse, admitiendo que una fracción proteica haya entrado en solución en mayor proporción en la primera extracción, quedando una mezcla de distinta composición en el líquido final a precipitar (nuevo valor en el pH isoelectrico).

La suma de nitrógeno extraído (% de nitrógeno total) correspondiente a los dos tipos de extracciones (pH 4,0 y 9,5) efectuadas sobre la misma muestra, representa el 74,2% valor similar al logrado operando directamente (en muestra aparte por extracción a pH 9,5 (72,3%) con el agravante; en el primer caso, de perder parte del material nitrogenado (no recuperable) junto al mucílago.

Así el rendimiento en proteína precipitada (nitrógeno precipitado % nitrógeno total) disminuye cuando se aíslan previamente los mucílagos, aunque aparentemente el precipitado obtenido es de mayor contenido en nitrógeno. Es también evidente, que alrededor de un 10% de nitrógeno total queda en solución después de precipitar las proteínas al pH isoelectrico correspondiente, se efectuó o no la extracción previa del mucílagos.

d)- Aplicación de las técnicas ensayadas a fracciones de la "harina integral", con diferente contenido en cáscara -

Partiendo de la idea de que los resultados habrían de ser favorables al rendimiento y pureza de las proteínas precipitadas se trató de ensayar la extracción y precipitación de proteínas en fracciones con diferente contenido en cáscaras obtenidas a partir de la "harina integral" por sucesivos tamizados.

A tal fin, se separaron algunas fracciones mayores que se analizaron determinando sus contenidos en fibra, cenizas, humedad y nitrógeno total. Sobre ellas se practicó por separado la extracción directa del mucílago al pH isoelectrico de proteínas (4,0) y la extracción de proteínas en medio alcalino y precipita-

ción ácida, manteniendo igualdad de condiciones operatorias y relaciones de harinas: solvente de extracción, de acuerdo a las experiencias preliminares (ver Parte Experimental).

El Cuadro 8 ilustra sobre los resultados obtenidos, que se ordenan según contenido en nitrógeno total creciente (% harina en cada fracción).

De la observación de los valores surge el distinto comportamiento de las mismas:

-- Los contenidos en fibra disminuyen a medida que aumentan los respectivos contenidos en nitrógeno total. Paralelamente aumentan los valores de cenizas ya que las pepas son más ricas en materias minerales que las cáscaras (25).

El porcentaje de nitrógeno extraído en medio alcalino (peptización de proteínas) aumenta a mayor contenido en nitrógeno total en la fracción, respetando igualdad de condiciones operatorias en la extracción (tiempo, temperatura, pH, relación harina: solvente). Así, para una fracción con 3,32% de nitrógeno, se extrae un 44% respecto del total y para la fracción de 8,4% de nitrógeno se logra peptizar el 92%. Las demás fracciones presentan valores intermedios. Ello parece mostrar la dependencia, en gran parte, del grado de finura de las partículas del material a extraer (ya que las fracciones fueron obtenidas por tamizados sucesivos) y de la menor proporción de cáscara (fibra) (esta última contiene, según datos de literatura, aproximadamente 1/3 del nitrógeno de la pepa, en base seca y sin aceite (25)). Es evidente que aquí juegan dos variables simultáneamente y en el mismo sentido (grado de división y

contenido en fibra). La influencia del primer factor ha sido registrada en trabajos ya citados.

-- El 21 al 25% del nitrógeno total queda en solución acuosa cuando se extrae el material de partida a pH 4,0 (mínimo de solubilidad de proteínas). Este valor es poco variable para las distintas fracciones consideradas. No obstante se observa un ligero aumento hacia las de mayor contenido en nitrógeno total.

Aquí también podría interpretarse ese aumento como función del mayor grado de división y del menor contenido en fibra, aunque ello no ha sido demostrado experimentalmente.

--La precipitación al punto isoeléctrico de proteínas (pH 4,0) en el material previamente extraído en medio alcalino (pH 9,5) es de máximo rendimiento para la "harina integral".

Inversamente, el material nitrogenado sobrenadante al pH de precipitación (nitrógeno sobrenadante % nitrógeno total), es mínimo para dicha harina (13%) elevándose notablemente a mayores y menores contenidos en nitrógeno en las fracciones de harina restantes para iguales condiciones operatorias (pH de precipitación, relación harina: solvente, etc.). Esto es, para una fracción con 8,40% de nitrógeno total, el 45% del mismo queda en el sobrenadante después de precipitación y centrifugación en el aislamiento de proteínas y en el caso de la fracción de menor contenido en nitrógeno total (3,32%), prácticamente no ocurre sedimentación y sólo se separan cantidades despreciables de material precipitado al centrifugar. Si bien es difícil hallar una explicación que interprete tales comportamientos,



podría sugerirse que en las fracciones de mayor tenor en fibra con respecto a la "muestra integral", la presencia de cantidades sustanciales de mucílagos, impediría la sedimentación de las proteínas precipitadas, no hallándose explicación para el caso opuesto.

-- Una posterior precipitación por etanol 50% practicada únicamente en el líquido sobrenadante de la precipitación pH 4,0 de la "harina integral", mostró que es de valor despreciable (0,87% del nitrógeno total). Esto prueba que prácticamente no queda material nitrogenado precipitable por etanol 50%. Por lo tanto, prácticamente, todo el nitrógeno sobrenadante queda en solución hidro-alcohólica.

-- Los contenidos de nitrógeno % de proteínas precipitadas a pH 4,0, registran un aumento hacia las fracciones mas ricas en nitrógeno total, que podría ser atribuido a una mayor pureza en el precipitado (menor proporción de contaminantes en el líquido de extracción tales como mucílagos, pigmentos etc.). Sin embargo, no se puede excluir la posibilidad de la influencia de algún otro **factor**.

Cabe señalar que los precipitados, una vez separados por centrifugación, son blancos. Al ser lavados con etanol eliminan un líquido amarillo (pigmentos), pero durante el secado en vacío a 45°C hasta peso constante, se observa un incremento progresivo de color hasta el amarillo-pardo variable.

-- También se pudo probar, tanto en el líquido proveniente de la extracción de proteínas a pH 9,5, como en el sobrenadante después de precipitar a pH 4,0, que por calentamiento hasta

ebullición no se produce coagulación, en concordancia con lo señalado en la literatura respecto a la ausencia de albúmina en las proteínas del lino (22) (25).

-- En la última columna se registran los valores logrados aplicando las mismas técnicas de extracción de mucílagos y aislamiento de proteínas (medio alcalino y precipitación en medio ácido) a la harina obtenida de un "expeller" industrial (agotado con hexano técnico y posteriormente molido hasta pasar totalmente por malla 100) (muestra remitida por C.I.G.A.). Resulta de interés su comparación con los datos correspondientes a la "harina integral". Para un contenido en nitrógeno total similar al de la "harina integral" (5,8-5,9%) se registran valores menores en la extracción (peptización) y precipitación de proteínas, particularmente si se tiene en cuenta su mayor grado de división.

El valor observado en la precipitación por etanol 50% (pH 4,0) sobre el líquido decantado de la precipitación ácida, muestra un incremento apreciable en el mismo (13,68% del nitrógeno total), quedando aún material nitrogenado sobrenadante en cantidad no despreciable (7,12% del nitrógeno total).

No obstante, el hecho más significativo, es la disminución de material nitrogenado soluble en la extracción directa de la harina a pH 4,0, (11,9% del nitrógeno total) manteniendo por otra parte, un valor concordante en el porcentaje de sustancias extractivas totales. No sería improbable que estas marcadas diferencias de comportamiento frente a las distintas etapas señaladas, fuesen el resultado de la influencia de condiciones

drásticas en la obtención de este subproducto de la industria acceitera, ya que la temperatura elevada en la obtención del aceite, es de gran influencia en las propiedades de las proteínas y en las de sus productos de interacción.

-- Las experiencias descritas muestran el comportamiento del proceso de extracción de proteínas empleado respecto de rendimientos para el caso de operarse sobre "harina integral" o sobre derivados de la misma, con distinto contenido en cáscara. También y en forma comparativa, el comportamiento de un "expeller" integral de producción industrial, por aplicación del mismo proceso. Estas experiencias, que se consideran preliminares se continuarán a fin de esclarecer dos puntos principales, a saber:

1)- Naturaleza del o de los procesos que determinan el gradual oscurecimiento de las proteínas aisladas (inicialmente blancas), por secado en vacío y a temperatura de 45°C.

2)- Influencia del grado de división de la cáscara sobre el valor de extracción en medio alcalino del material nitrogenado que contiene. Valor de recuperación de los extractivos nitrogenados de la cáscara por precipitación a pH isoelectrico.

Estos puntos a resolver, surgen de la conveniencia de emplear harinas integrales como materia prima en la recuperación de proteínas, desde que el fraccionamiento inicial de la semilla con separación de cáscara importaría un proceso dificultoso y costoso.

PARTE II.

DISCUSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL

1) Materia prima - Se dispone de partidas de 50g de semilla de lino cosechada en la Estación Experimental Pergamino (INTA) correspondientes a 10 variedades de lino oleaginoso (Klein 11, Querandí MA, Buck 114, Oliveros Timbú SAG, Tezanos Pinto Taragüí SAG, Paraná INTA, Pergamino Mocoretá INTA, Pergamino Puelche MAG, Rancagua INTA y Reconquista INTA), cuyas épocas de siembra, germinación, floración, madurez y cosecha figuran en el Cuadro 1 consignándose además los rendimientos en semilla, en Kg/Ha.

2) Estudios sobre aceites - Extracción de los aceites y aislamiento de las harinas - En operaciones separadas cada partida de semilla (alrededor de 50g) se muele finamente (los productos de molienda pasan totalmente por tamiz Nº 20 Tyler Standard) y se agotan en Soxhlet con hexano técnico. De los extractos se recupera el solvente por destilación a B.M., completando esta operación en estufa de vacío a 100°C y 5 mm hasta constancia de peso y calculando los rendimientos (ver Cuadro 2).

Las harinas resultantes se secan al aire espontáneamente y reservan para sus estudios posteriores. Los aceites obtenidos se conservan en ampollas de vidrio a temperatura inferior a 7°C hasta su análisis.

Sobre los aceites se determinan los valores de índice de yodo (Wijs, A.O.C.S. Official Method Da 15-48). Índice de refracción a 25°C (A.O.C.S. Official Method Cc 7-25) y de acidéz libre como mgKOH/g (I.U.P.A.C., II.D.1, sobre 0,5g de

aceite) que figuran en el Cuadro 2.

3) - Otras determinaciones sobre aceite - Operando sobre aceite (mezcla de partes iguales en peso de los aceites de las ocho épocas de siembra para cada variedad) se determinan los contenidos en insaponificable total (A.O.C.S. Tentative Method Ca 6b-53) y en escualeno (J.A.O.A.C., 29, 247, 1946) -

Operando sobre los aceites correspondientes a la segunda y séptima época de siembra de cada variedad se determinan esteroles totales, como digitónido, (39) tocoferoles totales (44) y de fósforo lipídico aplicando la técnica de Bartlett (45) adaptada por Longo (46) con los resultados que se consignan en el Cuadro 3. Las determinaciones de fósforo lipídico se conducen sobre 0,2g de aceite que se disuelven en hexano completando a 25 ml. De esta solución se mide 2ml en una cápsula de platino, agregando 0,3ml de una solución acuosa de carbonato de sodio al 1%. Se evapora lentamente y calcina en mufla a 500-550°C. Las cenizas se toman con un total de 4,1 ml de agua destilada, trasladando cuantitativamente a un tubo de centrifuga donde se agrega en forma sucesiva los siguientes reactivos (homogeneizando por agitación):

0,5 ml de ácido sulfúrico 10 normal; 0,2 de solución de molibdato de amonio al 5% y 0,2 ml de reactivo de Fiske-Subbarow. Se cubre con una bolita de vidrio y calienta 7 minutos en baño de agua hirviente. Se enfría y lee en cubetas de vidrio de 1 cm. de espesor en espectrofotómetro a 830 milimicrones, usando agua como referencia. Se ensaya un blanco paralelamente.

Blanco: 0,034 de absorbancia; factor 5,40.

4) - Examen de composición acídica exhaustiva de una aceite de lino - Con carácter previo al análisis de composición acídica de los aceites de cada partida de semilla correspondiente a cada variedad, se estudian las condiciones de análisis a través del examen similar de un aceite extraído en laboratorio con butano líquido, a partir de semilla de lino oleaginoso comercial. Las características químicas de este aceite son: índice de yodo (Wijs) 186,4; índice de saponificación 186,2; acidez libre (mgKOH/g) 1,1; insaponificable % 1,65 de índice de yodo (Rosenmund-Kühnhenn) 110,8; ácidos totales 94,05%.

a) Determinación de los contenidos en ácidos linoléico y linolénico por espectrofotometría -

Por aplicación del método A.O.C.S. (Official Method Cd 7-58, 1960), se determinan estos contenidos operando sobre el aceite y sobre sus ácidos totales libres de insaponificable. Se obtienen los siguientes valores:

linoleico % aceite: 13,1

linolénico % aceite: 52,3

linoleico % ácidos totales: 14,2

linolénico % ácidos totales: 57,6

b) Destilación fraccionada de ésteres metílicos de ácidos totales.

42,40 de aceite se saponifican según (2) obteniendo 0,5814g de insaponificable y 38,95g de ácidos totales que se esterifican

con metanol anhidro conteniendo 1,0% en peso de ácido sulfúrico como catalizador, según (2). Se obtienen 40,15g de ésteres de índice de yodo 188,2 e índice saponificación 192,7 que se fraccionan por destilación a 0,5-1,0 mm en un equipo adiabático según Longenecker (47). Se obtienen 10 fracciones y un residuo de destilación. Este último se saponifica, libera del insaponificable residual y recuperan sus ácidos totales que se reesterifican con metanol. (El Cuadro 9 resume la marcha de esta destilación.

c) Examen por C.G.L. de fracciones de destilación

Utilizando un equipo Perkin-Elmer Vapor Fractometer Mod.154, equipado con detector de ionización de llama, columna de 2 metros (diámetro interno 4,5mm) con material de relleno Chromosorb W lavado ácido (100-120) y adipato de polietilenglicol (13% sobre relleno total), temperatura 190°C, nitrógeno como "carrier" (presión de entrada 25 psi), "power" 100, velocidad del papel 13 pulgada/hora e inyecciones de 2 microlitros de solución de ésteres al 5% en éter etílico, se examina la fracción 8 de la destilación anterior obteniendo el cromatograma de la Figura 12. En el mismo se identifican (tiempos de retención) 7 componentes a saber: 16:0 (vest); 18:0 (4,9%); 18:1 (19,1%); 18:2 (20,7%); 19:1 (1,6%) y 18:3 (53,7%) y un pequeño pico (?) con tiempo de retención de 1,12 cm. Tanto este último como el atribuido a nonadecenoato de metilo (19:1) resultan ser componentes no mencionados en la literatura en aceites de semilla de lino.



El examen espectrofotométrico en U.V. luego de isomerización alcalina, indica que en esta fracción la concentración en ácido linoleico es de 15,6 y en ácido linolónico de 63,0%. Estas anomalías hacen sospechar una posible modificación de los ésteres en su composición en el proceso de examen por C.G.L. No encontrando referencias en la literatura respecto de esta posible transformación, se decide estudiar por C.G.L. (mismo equipo y columna anterior) la composición de esta fracción 8 operando con menores temperaturas en el "block" de inyección (menores cifras en el registro del "power") (\*). De este modo y disminuyendo la posición del "power" de 100 a 80-85 se obtuvieron cromatogramas en los que los picos de componentes atribuidos a nonadecenoato de metilo (19:1) y al de tiempo de retención muy próximo al origen desaparecían (véase el cromatograma de la Figura 13).

El cálculo de composición de este cromatograma señala los siguientes valores (% de ácidos totales): 18:0 (4,0); 18:1 (17,6); 18:2 (16,0) y 18:3 (61,6). El valor de 16% para ácido linoleico es concordante con el valor hallado por espectrofotometría (15,6%), mientras el de 61,6% para el de ácido linolónico es inferior al observado por espectrofotometría (63,0%). A través de la comparación sistemática de muchos otros valores de contenido en ácido linolónico encontrados por C.G.L. (en condiciones operatorias de este último ensayo) respecto de los (\*) En el equipo empleado las indicaciones del power se vinculan a la temperatura del "block" de inyección. No existe una forma segura de registrar las temperaturas de este último que siempre son significativamente superiores a las temperaturas del régimen de la columna,

correspondientes hallados por espectrofotometría en U.V. surgió como solución más correcta multiplicar el valor del área total del pico correspondiente al linolenato de metilo por el factor 1,05 (valor promedio de los calculados en cada caso particular, que oscilan entre 1,03 y 1,07), antes de calcular los valores porcentuales. La composición así calculada para la fracción 8 mencionada en base al cromatograma de la Figura 13 es (% de ácidos totales): 18:0 (4,6); 18:1 (17,1); 18:2 (15,5) y 18:3 (62,8). En esta última composición los valores para ácido linoleico y linolónico son prácticamente concordantes con los determinados por espectrofotometría en U.V. (15,6 y 63,0 respectivamente).

Como una confirmación de la influencia de la temperatura del "block" de inyección en la formación de "artefactos" se analiza la misma fracción 8 en un cromatógrafo "Pye" que, como se sabe, carece de "block" de inyección (la muestra se posa sobre la superficie del relleno de la columna en la zona de entrada, siendo arrastrada por el "carrier" y volatilizada a la temperatura de la columna, 190°C en este caso). Se obtiene un cromatograma en el que no figuran los picos ("artefactos") que hemos señalado. (Ver cromatograma de la Figura 14).

Con el fin de reunir más evidencias acerca de la corrección de la composición ácida encontrada por C.G.L. se determina el índice de yodo de la fracción 8 que resulta ser 204,0 (el valor calculado en base a la composición C.G.L. es 204,9). Así mismo se determina el contenido en ácidos saturados totales de la fracción 8 por el método de Bertram (41) (1,0402g de frac-

ción rinden 0,0484 g de ácidos saturados, equivalentes a 4,65g. de ácidos saturados % de fracción y a 4,90 de ácidos saturados % de ácidos totales en fracción). Esta última cifra es concordante con el valor encontrado por C.G.L. (4,6% para el ácido esteárico, sin contar rastros de ácido palmítico).

Establecidas las condiciones operatorias y de cálculo de las composiciones acídicas se examinan por C.G.L. en ese sentido las 10 fracciones de destilación y el residuo, identificando los componentes através de sus tiempos de retención y por representación gráfica de los logaritmos de estos últimos en función del número de átomos de carbono para las distintas series.

El Cuadro 10 resume las composiciones encontradas en ácidos % de ácidos totales en cada fracción con cuyos valores se calcula la composición final mencionada en Discusión de la Parte Experimental.

En base a esta última se calcula el índice de yodo de los ésteres metílicos de los ácidos totales de partida encontrando un valor de 190,3 (determinado 108,2). Asimismo, el índice de saponificación de los ésteres de partida, calculado en base a la composición por C.G.L., es 192,4 (determinado 192,7-).

También se examina por C.G.L. y en forma directa los ésteres metílicos de los ácidos totales de este mismo aceite, obtenidos por esterificación con metanol y ácido sulfúrico (2) (ver cromatograma de la Figura 4). La composición calculada (% de ácidos totales) es: 16:0 (5,7); 18:0 (4,8); 18:1 (16,4); 18:2 (14,9) y 18:3 (58,2).

Asimismo se realiza un examen similar de los ésteres metílicos de los ácidos totales del aceite obtenidos por metanólisis según (48) (ver cromatograma de la Figura 15). La composición encontrada (% ácidos totales) es: 16:0 (5,8); 18:0 (5,0) 18:1 (16,8); 18:2 (14,8) y 18:3 (57,6). Estos dos análisis además de concordar entre sí presentan cifras muy similares a las encontradas a través de destilación fraccionada y C.G.L. Asimismo, los valores para ácidos linoleico y linolénico son prácticamente coincidentes con los determinados por espectrofotometría en U.V. del aceite (14,2 y 57,6% de ácidos totales respectivamente).

5) - Composiciones acídicas de los aceites de semilla de lino de 10 variedades

Se determinan por C.G.L. operando sobre los ésteres metílicos de los ácidos totales de cada una de las 80 muestras de aceite obtenidas a partir de la semilla correspondiente a cada época de siembra en las diez variedades.

a) Metanólisis - Se procede por aplicación de la técnica de Harris, Magne y Skan (48). A tal fin a 1 g. de aceite se adiciona 10 ml. de solución de metilato de sodio en metanol absoluto (se prepara disolviendo 0,1 g. de sodio metálico en 100 ml. de alcohol metílico absoluto); se hierve a reflujo suave por 30 minutos, enfría, agrega 10 ml. de solución acuosa de ácido clorídrico 1-4 V/V y 10 ml. de agua. En ampollas se extrae dos veces por éter etílico (50 ml por vez), lavando los extractos reunidos con agua. Se agregan gotas solución de fenolftaleína

y gotas de solución al 40% de hidróxido de potasio en etanol hasta coloración roja (neutralización de productos acídicos). Se lava nuevamente por agua hasta reacción neutra al tornasol de los líquidos acuosos, filtra la solución etérea y recupera el éter al baño de agua, eliminando las últimas porciones con suave corriente de nitrógeno. Los ésteres así obtenidos se conservan en pequeñas ampollas de vidrio (sin espacio muerto) a temperatura inferior a 7°C hasta el momento de su análisis.

Los ésteres metílicos obtenidos por metanólisis a partir de aceite contienen los componentes del insaponificable. Como ha sido probado experimentalmente estos últimos no interfieren en los análisis por C.G.L.

b)- Los productos de metanólisis de cada aceite se examinan por C.G.L. empleando el equipo, columna y condiciones mencionadas en 4c), calculando las composiciones acídicas (ácidos % de ácidos totales) por triangulación. En todos los casos el área correspondiente al linolenato de metilo se multiplica por el factor 1,05 antes del cálculo porcentual.

Como controles y para cada aceite, se reconstruyen los valores de índice de yodo en base a las composiciones acídicas halladas por C.G.L., encontrando valores razonablemente concordantes con los determinados. Asimismo y operando sobre las muestras de aceite de dos épocas de siembra de cada variedad, se determinan las concentraciones en ácidos linoleico y linoléico por espectrofotometría en U.V. (A.O.C.S. Official method Cd 7-58, 1960) que, expresadas en % de ácidos totales, resultan ser suficientemente concordantes con los valores determinados por C.G.L.

A modo de ejemplo se presentan las Figuras 16 a 23 correspondientes a los cromatogramas de los aceites de las ocho épocas de siembra de la variedad Buck 114.

El conjunto de valores de composición acídica correspondientes a los ochenta aceites considerados figura en el Cuadro 2 (Discusión de la Parte Experimental).

#### 6)- Estudios sobre harinas

##### a)- Obtención de muestras y análisis de su composición

Las harinas resultantes, una vez eliminando el solvente remanente al aire, se analizan para su contenido en humedad, cenizas y nitrógeno total.

Las harinas de dos variedades (Klein 11 y Reconquista INTA) se analizan en las ocho épocas de siembra, mientras que las variedades restantes, sólo en las correspondientes a dos épocas (segunda y séptima).

##### Técnicas:

Las determinaciones de humedad se efectúan sobre aproximadamente 2g de muestra en estufa de vacío a 100°C, hasta peso constante.

Las cenizas se obtienen por incineración de aproximadamente 1g de muestra en mufla (500-550°C) hasta lograr un residuo prácticamente blanco y constancia de peso.

Para la determinación de nitrógeno total el método macro-Kjeldahl de digestión (A.O.A.C. 1945 ) con mezcla ácido sulfúrico-sulfato de cobre-sulfato de potasio, operando sobre 0,3-0,4g de harina.

Los valores registrados, expresados en % de harina tal cual, se reúnen en el Cuadro 4 donde también figuran los respectivos para proteínas, resultantes de multiplicar el % de nitrógeno total por el factor convencional 6,25 - (Ver Discusión de la Parte Experimental).

b)- Obtención de la "harina integral" Análisis de su composición.

A fin de reunir el máximo de muestra (aproximadamente 4 Kg) se mezclan, en partes iguales, las ochenta harinas anteriormente citadas. Esta muestra que llamaremos "harina integral" pasa (por la molienda efectuada previa a la extracción de los aceites) en su totalidad por malla N° 20 (Tyler Standard) y es la que se utiliza para el estudio de su composición y en ensayos previos destinados al aislamiento de sus proteínas.

Se determinana los contenidos de humedad, cenizas, nitrógeno total, extracto en éter etílico y fibra (% de harina tal cual) según se señala en Discusión de la Parte Experimental.

Técnicas:

Las determinaciones de humedad, cenizas y nitrógeno total se conducen según a).

El valor de extracto en éter etílico se obtiene operando en Soxhlet sobre 5g de muestra (24 horas) y secando el extracto etéreo en estufa de vacío a 100°C, después de la recuperación del solvente por destilación.

El dato de fibra se logra por aplicación de la técnica oficial A.O.A.C. p. 332 (1965).

c)- Ensayos previos en la obtención de proteínas

Se practican sobre "harina integral", a fin de ajustar las condiciones de extracción y precipitación de proteínas.

Materiales - Reactivos y Técnicas

En los ajustes de pH se usan soluciones de ácido clorídrico 5 normal e hidróxido de sodio 5 normal y se controlan con electrodo de vidrio (pH-Meter E 396B, Metrohm)

Las temperaturas de extracción se mantienen con baño termostático (Sargent Heater and Circulator)

En las etapas de extracción y precipitación se utiliza un agitador mecánico

En las separaciones por centrifugación se usa una centrífuga Universal Junior IIIS.

Las determinaciones de nitrógeno en los distintos materiales se conducen por duplicado, de acuerdo a la técnica señalada en a) y los valores que figuran en las tablas respectivas son los promedios,

7) Técnica de extracción de proteínas y elección del pH de precipitación (punto isoelectrico).

Se fija como esquema de trabajo el practicado en los Laboratorios del Centro de Investigaciones de Grasas y Aceites (C.I. G.A.) (43), que utilizó como materia prima un "expeller" de lino previamente molido y agotado por hexano.

No obstante, teniendo presente que se podrían presentar variaciones en las condiciones operatorias, se prevee la revisión de las mismas, ya que en el presente caso la muestra proviene de una extracción directa por hexano de la semilla molida en



laboratorio y no de un subproducto de la industria aceitera ("expeller") donde por acción de altas temperaturas se pueden alterar las propiedades de las proteínas y las de sus productos de interacción.

En balón de tres bocas, provisto de agitador, se colocan 100g. de harina que se suspenden en 2000ml. de agua destilada previamente ajustada a pH 9,5 (relación harina:solvente 1:20). Se agita durante una hora a 45°C, manteniendo el pH en el valor señalado por agregado de hidróxido de sodio. El conjunto se trasvasa a tubos de centrifuga y centrifuga a 3000 R.P.M. durante 20 minutos.

El líquido sobrenadante (muy viscoso y de color amarillo-parduzco) se trasvasa a otro recipiente y el residuo se lava una vez por agitación con 400ml. de agua ajustada a pH 9,5, centrifugando nuevamente (3000 R.P.M., 20 minutos). El líquido de lavado decantado se reúne al anterior y el residuo se trasvasa al balón de extracción, donde se procede a dos nuevas extracciones sucesivas en las mismas condiciones (pH 9,5, 1 hora agitación, 45°C) pero con relación harina:solvente 1:5 (500 ml. de agua destilada llevada a pH 9,5), centrifugando al final de cada período fijado. No se efectúan lavados. Los líquidos provenientes de las tres extracciones y del primer lavado reunido, se lleva a volumen conveniente (3000ml.).

Es de notar que durante la primer extracción, la mezcla tiende constantemente a la disminución de pH, haciéndose necesario agregar álcali de tiempo en tiempo para mantener el valor elegido para la extracción (9,5). Esa tendencia es sólo ligera

en las extracciones posteriores. Los extractos protéicos no deben dejarse mas de 24 horas, aunque se preserven en lugar fresco.

Sobre una alícuota del mismo se determina nitrógeno extraído a pH 9,5. El residuo remanente de las tres extracciones se pasa a un cristizador tarado y seca en estufa a 100-110°C hasta constancia de peso. En alícuota, una vez molido fino, se determina su contenido en nitrógeno. El líquido de extracción a pH 9,5 se fracciona en alícuotas iguales (en vasos de precipitado) a fin de ensayar la precipitación de proteínas a distintos pH, cubriendo un ámbito de 3,0 a 5,5. Se opera a temperatura ambiente, agregando ácido clorídrico 5 normal con agitación que se continúa hasta 5 minutos después de alcanzado el valor de pH deseado.

Los precipitados obtenidos se separan por centrifugación (previo pasaje del material a tubos de centrífuga, lavando con agua destilada ajustada al pH correspondiente) (3000 R.P.M. 20 minutos) y los líquidos sobrenadantes respectivos se decantan en matraces aforados.

Los precipitados se lavan dos veces por agitación con solución acuosa llevada al pH correspondiente (20-30ml. cada lavado), centrifugando luego 12 minutos a 3000 R.P.M. Los líquidos sobrenadantes decantados y reunidos, para cada valor de pH, se llevan a volúmen y se miden alícuotas para determinar nitrógeno en los sobrenadantes.

Los precipitados, de consistencia gomosa y prácticamente blancos, se lavan nuevamente y por dos veces, con etanol 96%

(20 ml. cada vez) separando la capa alcohólica, de color amarillo, por centrifugación (8 minutos, 3000 R.P.M.).

Los precipitados respectivos, se secan en vacío a 45°C hasta peso constante. Los productos obtenidos resultan de consistencia dura y de color amarillo-pardo. El color se intensifica durante el calentamiento. Se muelen finamente en molinillo y en alícuota determina el contenido en nitrógeno.

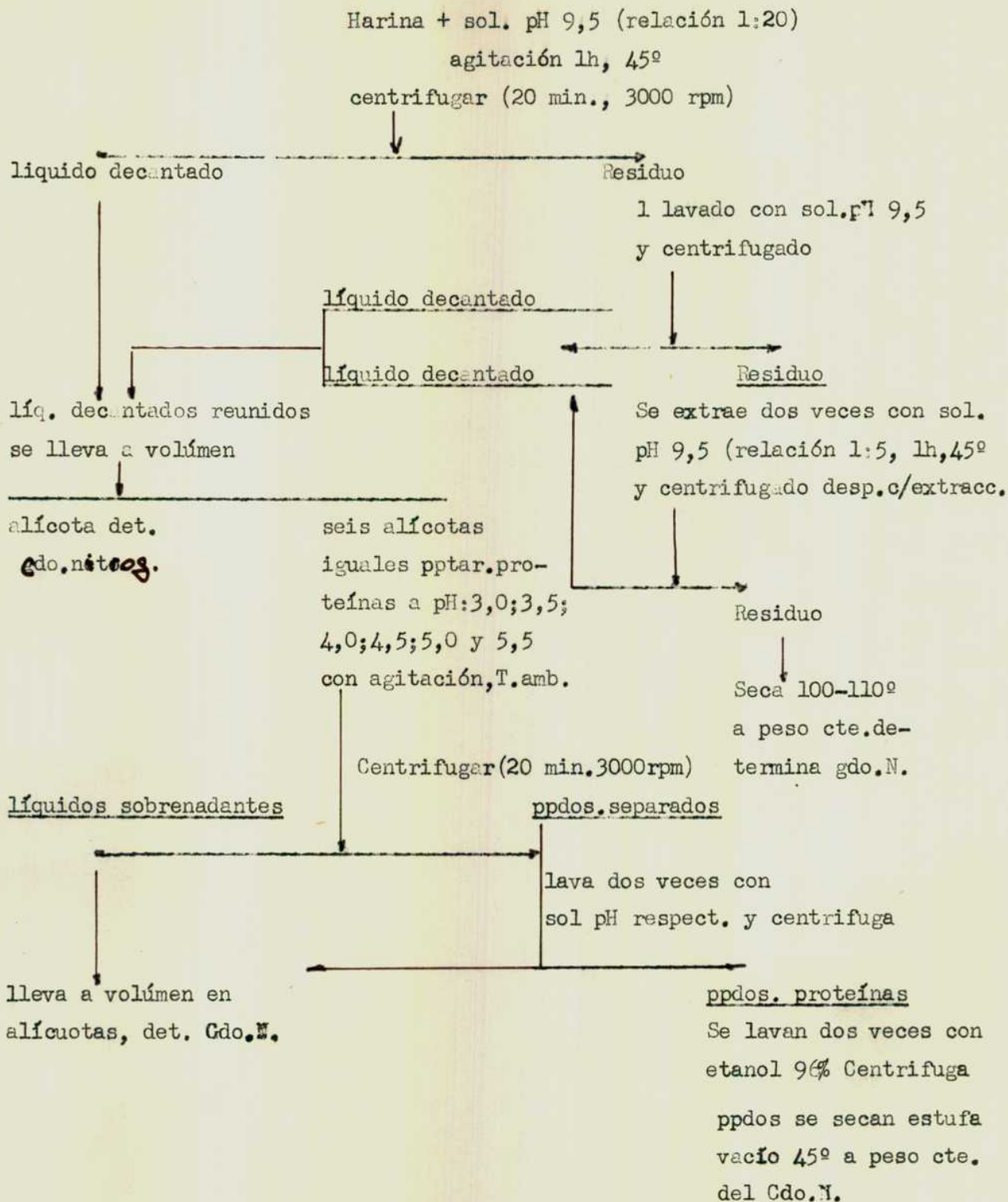
La observación de las características de los líquidos sobrenadantes permite señalar que los separados en las precipitaciones a pH 3,5 y 4,0 resultan lípidos y de color amarillo, mientras que el correspondiente a pH 3,0 resulta turbio y de color amarillo-parduzco y a pH superiores a 4,0 de turbiedad creciente (lechosos) debido a la suspensión remanente.

Los valores obtenidos reunidos en el Cuadro 5 y la figura 9, muestran un máximo de precipitación a pH 4,0 (mínimo de nitrógeno sobrenadante) (punto isoeléctrico). A continuación se presenta un esquema del procedimiento anteriormente descrito.

#### 8) Separación de mucílago al pH isoeléctrico de proteínas Ensayos de su extracción a distintos pH

En una serie de experiencias para cubrir el ámbito de pH entre 3,0 y 5,5, se aplica la siguiente técnica de extracción:

10g. de "harina integral", colocados en balón de tres bocas, se adicionan de 200ml. de agua destilada llevada al pH deseado (relación harina:solvente 1:20). El conjunto se mantiene a 40°C durante 1 hora con agitación, ajustando el pH con solución de ácido clorídrico 5 normal. Se trasvasa el conjunto a

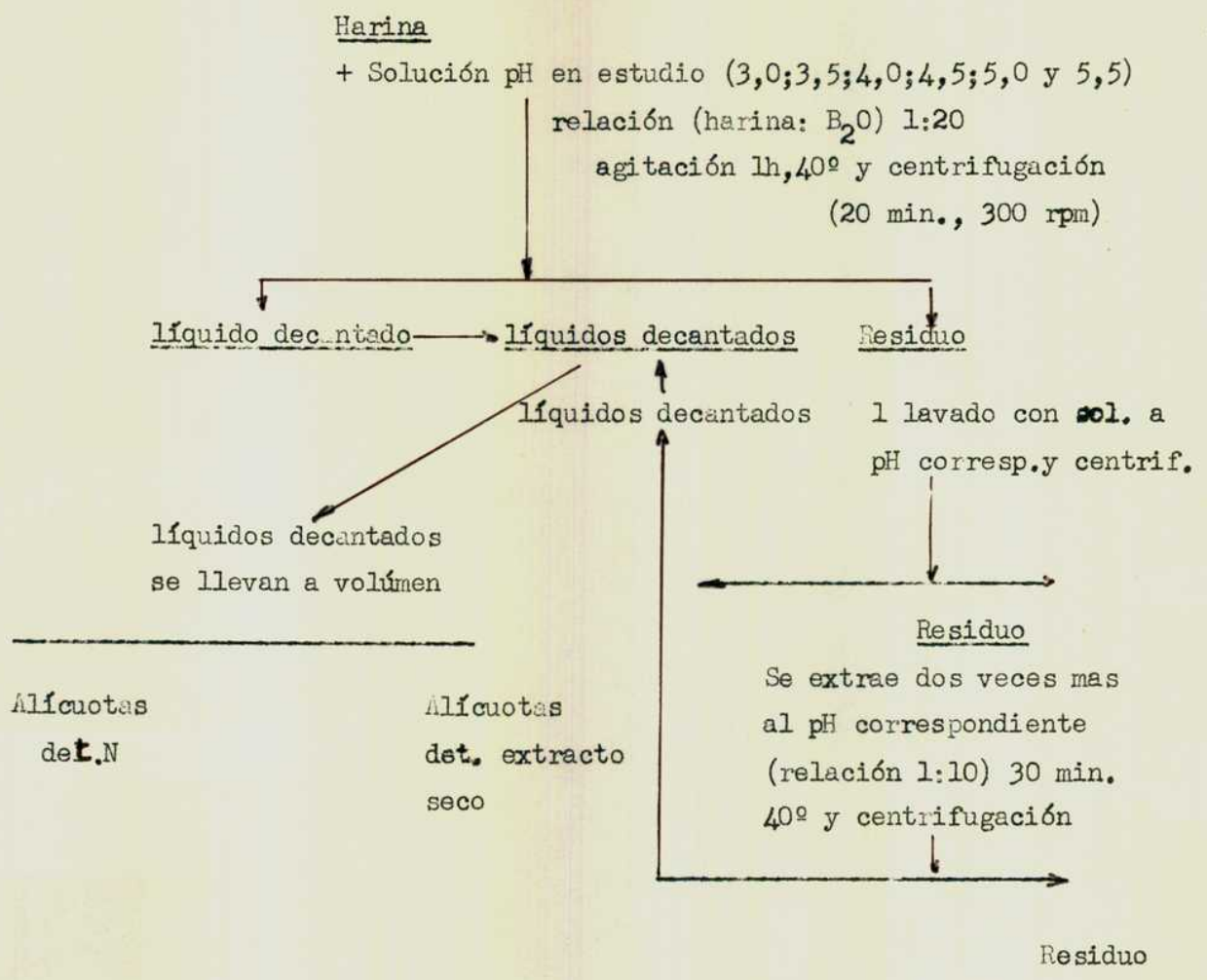


ESQUEMA I: Extracción de proteínas a pH 9,5 y pptación a diferentes pH (elección del pH isoelectrico).

a tubo de cetrífuga y separa por centrifugación a 3000 R.P.M. (20 minutos). El líquido sobrenadante se trasvasa a otro recipiente y el residuo se lava una vez por agitación con solución acuosa de igual pH (40ml.) y se vuelve a centrifugar (16 minutos, 3000 R.P.M.). El líquido separado se une al anterior y el residuo se vuelve al balón. Se procede a dos extracciones más con solución acuosa al pH correspondiente, usando relación harina:solvente (1:10), agitando durante 30 minutos a 40°C y centrifugando después de cada extracción. No se procede al lavado del residuo.

Los líquidos decantados reunidos (ligeramente turbios, de color amarillo y algo viscosos) se llevan a volúmen y mide alícuota para determinar contenido en nitrógeno y extracto seco. El Cuadro 6 y la figura 10 ilustran sobre los resultados obtenidos observando que el mínimo de solubilización de materiales extractivos y nitrogenado ocurre a pH 4,0 (punto isoeléctrico de proteínas). El siguiente esquema resume las etapas anteriormente descriptas.

Para observar el comportamiento de la solución extraída a pH 4,0, frente a un amplio cambio de pH se opera, en otra experiencia, partiendo de mayor cantidad de harina (40 g.), la que se extrae respetando las condiciones ya señaladas. Sobre el líquido sobrenadante de extracción a pH 4,0 se examina el efecto de distintos niveles de pH desde 9,5 hasta 2,0, dejando reposar 15 minutos después de alcanzado cada valor de pH. En ningún caso ocurre precipitación o ligera turbiedad.



ESQUEMA Nº 2:

Extracción de mucílago al pH isoeléctrico de proteínas - Ensayos en su extracción a distintos pH.-

9) Aislamiento de proteínas previa extracción de mucílago a pH 4,0 - Revisión del pH al punto isoelectrico de proteínas

Sobre 100 g. de "harina integral" y por aplicación de la técnica señalada en 3), manteniendo la relación harina: solvente, se extraen los mucílagos al pH isoelectrico de las proteínas (4,0). El residuo se somete a un nuevo proceso de extracción de proteínas según la técnica señalada en 7) y se estudia la influencia de la primer separación sobre el pH al punto isoelectrico de las proteínas a precipitar. Sobre alícuotas iguales, se procede a aislar las proteínas precipitadas dentro del ámbito de pH entre 3,0 y 5,5, de acuerdo a los detalles de técnica ya descriptos. El Cuadro 7 al igual que la figura 11, permiten observar un desplazamiento del pH en el punto isoelectrico hacia la zona ácida (3,5). También en la presente experiencia, los líquidos sobrenadantes, separados por centrifugación después de precipitar las proteínas a distintos pH, difieren en sus características: el aspecto límpido solo corresponde al de pH 3,5, presentando los de pH 3,0 y 4,0 muy ligera turbiedad, la que aumenta notablemente a mayores valores de pH. Los líquidos correspondientes a pH 3,5 y 4,0 tienen color amarillo, amarillo-pardo, a pH 3,0 y los de valor mayor de 4,0 blanco (lechoso) por la suspensión.

10) Obtención de fracciones a partir de la "harina integral" con distinto contenido en cáscara - Aplicación de las técnicas estudiadas a las distintas fracciones-

A partir de la "harina integral", por tamizado gradual (desde malla 30 a 200 Tyler Standard), se separan algunas fracciones

mayores que se analizan para su contenido en fibra, humedad, cenizas y nitrógeno total. Sobre cada una de estas fracciones se opera la extracción directa de mucílagos a pH 4,0 y en muestra aparte, la extracción de proteínas a pH 9,5 y precipitación de las mismas al pH elegido (4,0), manteniendo igualdad de condiciones operatorias y relaciones de harina:solvente de acuerdo a las experiencias previas. Sobre las proteínas precipitadas y secas se determinan su contenido en cenizas, a fin de poder consignar el valor de nitrógeno corregido (Libre de cenizas).

El Cuadro 8 ordenado según contenidos en nitrógeno total crecientes, ilustra sobre el distinto comportamiento de las fracciones estudiadas. (ver discusión Parte Experimental).

11) Precipitación por Etanol 50% en el líquido sobrenadante de la separación de proteínas a pH 4,0, a partir de "harina integral"

A fin de observar el comportamiento del líquido sobrenadante una vez separadas las proteínas precipitadas a pH 4,0, frente a un agente coagulante como el etanol se resuelve practicar la experiencia a partir de la "harina integral", de acuerdo al siguiente procedimiento:

Sobre 10g. de "harina integral" y de acuerdo a la técnica detallada en 7), se extraen las proteínas a pH 9,5 y precipitan a pH 4,0. Los líquidos sobrenadantes, separados después de centrifugación, reunidos y llevados a volumen, se adicionan de la cantidad correspondiente de etanol 96% para llevarlos a una concentración final de 50%. El pH (4,0) de la solución se ajusta con solución diluida de hidróxido de sodio. Se observa



ligera turbiedad y deja de sedimentar 48 horas a temperatura ambiente. Separa la mayor parte del líquido sobrenadante (límpido y de color amarillo claro) trasvasando finalmente las últimas porciones y el precipitado a un tubo de centrífuga, ayudando con unos pocos ml. de solución de etanol 50% ajustada a pH 4,0. Centrifuga 4 minutos (2000 R.P.M.), lava dos veces por agitación con 10 - 20 ml. de etanol 50% (pH 4,0) centrifugando cada vez. Los líquidos se reúnen, llevan a volumen conveniente y mide alícuotas para determinar su contenido en nitrógeno, previa eliminación del etanol a baño maría.

El precipitado separado, se seca en estufa de vacío a 45°C hasta peso constante y se determina su contenido en nitrógeno.

Paralelamente se miden alícuotas de los líquidos de extracción a pH 9,5 del sobrenadante de la precipitación a pH 4,0 y del remanente de la precipitación con etanol 50% (pH 4,0) para determinar los respectivos extractos secos.

Los valores obtenidos figuran en el Cuadro 8, en la columna correspondiente a "harina integral" (5,95%N). (ver Discusión Parte Experimental).

12) Aplicación de las técnicas descriptas a una harina obtenida a partir de un "expeller" de lino industrial.

La muestra, constituida por un "expeller" de lino industrial, que se somete a un proceso de molienda hasta pasar totalmente por malla 100 antes de proceder a su agotamiento por hexano técnico, fué remitida por el Centro de Investigaciones de Grasas y Aceites (C.I.G.A.).

Los resultados obtenidos de aplicar las técnicas anteriormente descritas en 7), 8) y 11) , figuran en el Cuadro 8 última columna. (ver Discusión Parte Experimental).

P A R T E V

R E S U L T A D O S Y C O N C L U S I O N E S

Se presenta un estudio complementario de otro realizado en la Estación Experimental Pergamino (INTA), acerca del rendimiento en semilla por hectáreas de las variedades de lino oleaginoso Klein 11, Querandí MA, Buck 114, Oliveros Timbú SAG, Tezanos Pinto Taragüí SAG, Paraná INTA, Pergamino Puelche MAG, Pergamino Mocoretá INTA, Rancagua INTA, Reconquista INTA, cultivadas en esa Estación Experimental en ocho épocas de siembra para cada variedad, en 1965. Respecto del avance de la época de siembra sobre el rendimiento en semilla por hectárea (valores proporcionados por INTA) surge que estos últimos presentan los máximos valores para la tercera época de siembra y los más bajos para la octava. Las variedades Pergamino Mocoretá INTA y Rancagua INTA mostraron las mayores mermas en rendimiento de semilla en función de la época de siembra.

De los estudios realizados sobre los aceites de extracción de todas las partidas de semilla se desprende:

1)- En general los rendimientos en aceite (% de semilla tal cual) en cada variedad, se mantienen hasta la sexta época de siembra, disminuyendo sensiblemente en la semilla de la séptima y octava época.

2)- La variedad Buck 114 es de bajos rendimiento en aceite en todas las épocas de siembra. Las variedades Paraná INTA, Pergamino Mocoretá INTA, y Pergamino Puelche MAG presentan los mayores rendimientos en aceite a través de todas las épocas de siembra.

3)- Las mermas en rendimiento de aceite oscilan entre 1,5 y 4,4%. Los máximos y mínimos de rendimiento no ocurren, en

las distintas variedades para las mismas épocas de siembra.

4)- Los valores de acidez libre de los aceites de extracción de todas las partidas de semilla son bajos y parejos en todas las variedades.

En general se observa un ligero incremento de acidez libre en los aceites de semilla de séptima y octava época de siembra.

5)- Las variedades Reconquista INTA, Rancagua INTA y Oliveros Timbú SAG producen aceites de los mayores valores de índice de yodo. Las variedades Buck 114, Tezanos Pinto Taragüi SAG, y Pergamino Puelche MAG proveen los aceites de más bajos valores de índice de yodo.

6)- Para cada variedad y en general, los valores más altos de índice de yodo corresponden a los aceites de la semilla de la primera a cuarta época de siembra. Los aceites de semilla de la séptima y octava época de siembra presentan, en las distintas variedades, valores de índice de yodo sensiblemente menores. La variedad Reconquista INTA aparece como la menos sensible y la variedad Rancagua INTA como la más influenciada en ese sentido por la época de siembra.

7)- Existe una estrecha correlación entre los valores de índice de yodo de todos los aceites de lino considerados y los respectivos índices de refracción a 25°C (factor de correlación - 0,77).

8)- El avance de la época de siembra no incide significativamente sobre los contenidos de algunos componentes menores de aceites de lino (tocoferoles totales, escualeno, esteroides totales y fósforo lipídico).

9)- En los aceites de todas las variedades las concentraciones de los ácidos oleico y linolénico experimentan cambios de importancia respecto de la época de siembra. Con el avance de esta se registran mayores contenidos de ácido oleico y menores de linolénico. En los aceites de semilla de las tres últimas épocas de siembra ocurre una disminución importante en la concentración de ácido linolénico y un aumento correlativo en la de oleico.

10)- Las concentraciones de ácido linoleico experimentan poca variación con el avance de la época de siembra. Se observa un suave incremento en las concentraciones de ácidos palmítico y esteárico con dicho avance. La menor concentración en ácido esteárico en las distintas variedades ocurre en los aceites de semilla de la tercera época de siembra, coincidente con los mayores valores de contenido en ácido linolénico.

11)- Los aceites de semilla de la variedad Reconquista INTA observaron las menores variaciones de contenidos en ácidos oleico y linolénico con el avance de la época de siembra, al igual que las menores variaciones de índice de yodo de los aceites.

12)- La representación gráfica de los valores de composición acídica (saturados totales, oleico, linoleico y linolénico en función de los índices de yodo de todos los aceites considerados, permite observar correlaciones muy significativas para las relaciones II:oleico (factor de correlación - 0,97), II:linolénico (factor de correlación: - 0,97), e II:saturados totales (factor de correlación - 0,87) y no significativas para la relación II:linoleico (factor de correlación:- 0,03).

13)- La consideración de las temperaturas mínimas y máximas diarias que rigen el período floración - cosecha para todas las variedades consideradas en las distintas épocas de siembra, señala que en la semilla de épocas tardías de siembra (séptima y octava) los menores rendimientos en semilla por hectáreas y contenidos de aceite (% semilla tal cual) se deberían a efectos de mayores temperaturas en períodos post-floración mas prolongados. Asimismo, los mayores contenidos en ácido oleico y menores en linolénico de los aceites de semilla de épocas tardías de siembra (séptima y octava) se deberían a la influencia de las mayores temperaturas registradas en los períodos de post-floración. Esto indica que los procesos de saturación en aceites seminales de oleaginosas, en cultivos normales, se ven disminuidos al aumentar la temperatura que rige el desarrollo de la semilla.

14)- Un examen de composición acídica de un aceite de lino combinando la destilación fraccionada en vacío (sobre ésteres metílicos de ácidos totales) y el examen C.G.L. de las fracciones de destilación ha permitido evidenciar la presencia de los siguientes componentes ácidos menores: 12:0, 13:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 20:0, 23:0, 24:0, 14:1, 15:1 y 16:1, 17:1, 20:1 , 22:1.

De los estudios realizados sobre la composición de las harinas residuales de la extracción de aceites, se concluye:

1)- Se observa un incremento en el contenido de proteínas en las harinas de semilla de la octava época de siembra, coincidente con menores contenidos de aceite en semilla.

2)- En ensayos sobre "harina integral" (mezcla de todas las harinas residuales) las proteínas aisladas por extracción alcalina, muestran máximo de precipitación a pH 4,0 (punto isoelectrico). El pH de máxima precipitación es ligeramente afectado (pH 3,5) si previamente se extraen los mucílagos a pH 4,0.

3)- De los ensayos efectuados sobre harina integral y sobre fracciones de la misma con distinto contenido en cáscara (menores y mayores contenidos en nitrógeno total), se deduce:

a)- que el nitrógeno extraído en medio alcalino (% de nitrógeno total) aumenta a mayor contenido en nitrógeno total.

b)- Comparativamente, sobre "harina integral", se logra el mayor rendimiento en nitrógeno precipitado, respecto del nitrógeno total.

c)- Las proteínas precipitadas contienen mayor porcentaje de nitrógeno cuando se aíslan a partir de harinas con mayores contenidos en nitrógeno total.

d)- Entre el 21 y el 25 % del nitrógeno total queda en solución cuando se extraen las harinas a pH 4,0, independientemente del contenido en nitrógeno total de las mismas.

e)- El nitrógeno sobrenadante, luego de precipitar proteínas a pH isoelectrico, es aproximadamente el 10% del nitrógeno total, con o sin extracción previa de mucílagos.

f)- En todos los ensayos efectuados las proteínas aisladas precipitadas de soluciones alcalinas, son inicialmente blancas y progresivamente oscurecen por secado en vacío a 45°C. Se considera de interés esclarecer los causales de este último proceso.



P A R T E I V

C U A D R O S Y F I G U R A S

orden siembra germinación Ploración plena madurez cosecha semilla kg/ha

E1/65 - PRIMERA época

1	Klein 11	30-4-65	6/5	16-9	25-9	16-11	24-11	1264
2	Querandí M.A.	"	"	21-9	28-9	19-11	"	1407
3	Buck 114	"	"	23-9	2-10	20-11	"	1616
4	Oliv. Timbú SAG	"	"	21-9	27-9	21-11	"	1912
5	T. Pinto Taragüí SAG	"	"	20-9	27-9	19-11	"	1639
6	Paraná INTA	"	"	19-9	27-9	19-11	"	1782
7	Perg. Mocoretá INTA	"	"	22-9	2-10	22-11	"	1704
8	Perg. Puelche MAG	"	"	21-9	27-9	18-11	"	1847
9	Rancagua INTA	"	"	20-9	28-9	18-11	"	1727
10	Reconquista INTA	"	"	20-9	27-9	16-11	"	1495

E2/65 - Segunda época

1	Klein 11	18-5-65	28-5	24-9	4-10	16-11	24-11	1634
2	Querandí M. A.	"	"	29-9	6-10	20-11	"	1630
3	Buck 114	"	"	2-10	8-10	22-11	"	1542
4	Oliv. Timbú SAG	"	"	28-9	5-10	21-11	"	1977
5	T. Pinto Taragüí SAG	"	"	29-9	5-10	20-11	"	1648
6	Paraná INTA	"	"	30-10	9-10	22-11	"	1508
7	Perg. Mocoretá INTA	"	"	30-10	8-10	21-11	"	1384
8	Perg. Puelche MAG	"	"	28-9	6-10	20-11	"	1833
9	Rancagua INTA	"	"	2-10	10-10	21-11	"	1949
10	Reconquista INTA	"	"	26-9	4-10	18-11	"	1528

E3/65 - Tercera época

1	Klein 11	1-6-65	12-6	23-9	30-9	16-11	24-11	1782
2	Querandía M. A.	"	"	30-9	6-10	20-11	"	1954
3	Buck 114	"	"	3-10	11-10	22-11	"	1768
4	Oliv. Timbú SAG	"	"	23-9	5-10	21-11	"	2028
5	T. Pinto Taragüí SAG	"	"	29-9	6-10	20-11	"	1671
6	Paraná INTA	"	"	28-9	4-10	20-11	"	1824
7	Perg. Mocoretá INTA	"	"	30-10	8-10	21-11	"	1543
8	Perg. Puelche MAG	"	"	29-9	6-10	20-11	"	2130
9	Rancagua INTA	"	"	30-9	7-10	20-11	"	2227
10	Reconquista INTA	"	"	27-9	5-10	19-11	"	1852

E4/65 - Cuarta época

1	Klein 11	15-6-65	21-6	2-10	9-10	20-11	1-12	1305
2	Querandí M.A.	"	"	4-10	12-10	22-11	"	1661
3	Buck 114	"	"	8-10	16-10	28-11	"	1236
4	Oliv. Timbú INTA	"	"	6-10	12-10	26-11	"	1875
5	T. Pinto Taragüí SAG	"	"	5-10	13-10	23-11	"	1449
6	Paraná INTA	"	"	5-10	13-10	25-11	"	1301
7	Perg. Mocoretá INTA	"	"	7-10	18-10	29-11	"	932
8	Perg. Puelche MAG	"	"	5-10	13-10	24-11	"	1723
9	Rancagua INTA	"	"	7-10	15-10	26-11	"	1755
10	Reconquista INTA	"	"	4-10	11-10	21-11	"	1491

E5/65 - Quinta época

1	Klein 11	6-7-65	26-7	6-10	14-10	22-11	1-12	1477
2	Querandí M. A.	"	"	6-10	14-10	24-11	"	1643
3	Buck 114	"	"	12-10	18-10	1-12	"	1729
4	Oliv. Timbú SAG	"	"	11-10	18-10	27-11	"	1720
5	T. Pinto Taragüí SAG	"	"	9-10	16-10	26-11	"	1773
6	Paraná INTA	"	"	9-10	16-10	27-11	"	1625
7	Perg. Mocoretá INTA	"	"	12-10	19-10	29-11	"	1676
8	Perg. Puelche MAG	"	"	10-10	17-10	28-11	"	1792
9	Rancagua INTA	"	"	11-10	17-10	24-11	"	2092
10	Reconquista INTA	"	"	8-10	16-10	24-11	"	1481

Nº de orden	VARIETADES	DATOS FENOLOGICOS					Rendim. semilla Kg/ha	
		siembra	germi- nación	princ.	plena	madurez	cosecha	
E6/65 - Sexta época								
1	Klein 11	15-7-65	26-7	9-10	17-10	4-12	21-12	1467
2	Querandí MA	"	"	11-10	17-10	9-12	"	1648
3	Buck 114	"	"	14-10	19-10	12-12	"	1745
4	Oliv. Timbú SAG	"	"	14-10	19-10	9-12	"	1884
5	T. Pinto Taragüi SAG	"	"	12-10	17-10	9-12	"	1741
6	Paraná INTA	"	"	12-10	18-10	8-12	"	1727
7	Perg. Mocoretá INTA	"	"	15-10	21-10	10-12	"	1801
8	Perg. Puelche MAG	"	"	13-10	20-10	8-12	"	1699
9	Rancagua INTA	"	"	14-10	20-10	10-12	"	1745
10	Reconquista INTA	"	"	11-10	17-10	7-12	"	1722
E7/65 - Séptima época								
1	Klein 11	2-8-65	10-8	17-10	25-10	5-12	21-12	1319
2	Querandí MA	"	"	18-10	25-10	10-12	"	1481
3	Buck 114	"	"	23-10	30-10	13-12	"	1245
4	Oliv. Timbú SAG	"	"	20-10	26-10	11-12	"	1435
5	T. Pinto Taragüi SAG	"	"	19-10	26-10	9-12	"	1440
6	Paraná INTA	"	"	20-10	26-10	10-12	"	1370
7	Perg. Mocoretá INTA	"	"	22-10	29-10	13-12	"	1467
8	Perg. Puelche MAG	"	"	21-10	27-10	11-12	"	1055
9	Rancagua INTA	"	"	22-10	31-10	12-12	"	1222
10	Reconquista INTA	"	"	18-10	24-10	8-12	"	1481
E8/65 - Octava época								
1	Klein 11	14-8-65	26-8	20-10	26-10	7-12	"	1111
2	Querandí MA	"	"	22-10	28-10	10-12	"	1278
3	Buck 114	"	"	24-10	30-10	14-12	"	1088
4	Oliv. Timbú SAG	"	"	24-10	30-10	14-12	"	1278
5	T. Pinto Taragüi SAG	"	"	21-10	28-10	12-12	"	1315
6	Paraná INTA	"	"	22-10	28-10	12-12	"	1231
7	Perg. Mocoretá INTA	"	"	25-10	1-11	14-12	"	1106
8	Perg. Puelche MAG	"	"	24-10	30-10	13-12	"	990
9	Rancagua INTA	"	"	26-10	4-11	13-12	"	1074
10	Reconquista INTA	"	"	23-10	29-10	9-12	"	1231

CUADRO Nº 1 - SEMILLA DE LINO OLEAGINOSO (10 Var.) en 8 épocas de siembra - Datos FENOLOGICOS (\*)

(\*) Valores proporcionales por la estación Experimental Pergamino (INTA).

Variedad	Epoca de siembra	Aceite % semilla	II (Wj's)	IR 25°C	Acidez (mg KOH/g)	Composición acídica				Temperatura		Periodo floracion cosecha (dias)		
						16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Mfn, Med. Mgx, Med. Promedio			
Klein II	1	38,34	185,1	1,4790	2,1	6,3	4,8	20,7	13,8	54,4	9,4	23,9	16,7	70
	2	38,35	190,4	1,4794	2,0	5,6	4,4	17,6	15,3	57,1	9,1	24,0	16,5	62
	3	37,88	189,4	1,4795	1,9	5,3	3,4	19,0	14,7	57,6	9,3	24,3	16,8	63
	4	39,22	189,5	1,4796	2,0	5,9	4,2	18,2	15,5	56,2	11,4	25,1	18,2	61
	5	38,92	187,0	1,4790	2,2	5,2	4,8	20,2	15,0	54,8	11,5	25,0	18,3	57
	6	38,90	184,5	1,4790	1,9	5,6	4,7	19,9	15,4	54,4	12,3	25,1	18,7	74
	7	37,18	169,1	1,4772	2,6	6,1	6,2	25,6	15,3	46,8	12,7	25,0	18,4	66
	8	36,34	166,5	1,4769	2,8	6,1	7,1	28,2	15,1	43,5	12,5	25,0	18,8	63
Quarandí MA	1	37,92	186,8	1,4791	2,2	6,3	4,2	19,0	12,9	57,6	9,5	24,4	17,0	65
	2	38,21	189,2	1,4792	2,3	6,2	4,5	18,9	12,8	57,6	8,8	23,4	16,1	57
	3	38,52	189,8	1,4791	2,2	5,9	3,7	19,2	13,2	58,0	7,5	24,7	16,1	56
	4	38,50	187,1	1,4790	2,5	6,2	4,6	20,2	14,1	54,9	11,5	25,0	18,3	59
	5	38,54	186,5	1,4788	2,4	7,0	4,3	20,0	13,9	54,8	11,5	25,0	18,3	57
	6	38,47	182,8	1,4785	2,4	7,0	4,4	20,2	14,5	54,1	12,6	25,3	19,0	72
	7	35,95	166,2	1,4770	2,5	7,1	6,7	27,3	14,2	44,7	12,4	24,9	18,7	65
	8	36,91	166,0	1,4765	2,9	7,4	6,0	26,9	13,3	46,4	12,4	25,0	18,7	61

CUADRO 2.- Influencia del avance de la época de siembra sobre los valores de índice de vodo y composiciones acídicas de los aceites de semilla de 10 variedades de lino.

Variedad	Epoa de siembra	Acete de semilla	II (71,5)	IR 25°C	Acidez (% KOH/g)	Composición acídica			Temperatura			Período floración cosecha (días)		
						16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Inf. Med.		Max. Med.	Promedio
Buck	1	36,94	186,2	1,4793	2,3	6,6	4,5	18,0	12,7	58,2	9,3	25,1	17,2	63
	2	36,14	187,0	1,4795	2,3	7,0	4,3	18,2	15,1	55,4	10,9	24,7	17,8	54
	3	36,45	186,4	1,4795	1,9	6,5	3,9	18,7	16,4	54,5	11,1	24,7	17,9	53
	4	36,79	178,6	1,4784	2,2	7,0	4,6	21,0	16,1	51,3	11,5	25,1	18,3	55
	5	36,43	175,9	1,4782	2,1	7,2	5,1	21,8	17,1	48,8	11,8	25,3	18,5	51
	6	36,46	173,0	1,4776	2,2	7,3	6,4	23,2	16,5	46,6	13,3	27,2	20,0	69
	7	33,98	161,8	1,4765	2,0	7,1	7,8	28,5	14,8	41,8	12,3	25,1	18,7	60
	8	33,68	160,7	1,4763	2,5	7,4	7,4	28,8	15,4	41,0	12,1	25,2	18,7	59
Oliveros Timbú SAG	1	37,34	190,8	1,4797	1,9	6,1	4,7	16,9	14,7	57,6	9,5	24,4	17,0	65
	2	37,04	193,8	1,4802	2,0	6,3	4,2	15,0	13,7	60,8	9,1	24,1	16,6	57
	3	36,91	193,4	1,4801	1,9	6,5	4,0	14,9	13,4	61,2	9,1	24,1	16,6	57
	4	37,4	187,6	1,4794	2,1	6,6	5,5	17,6	14,0	56,3	11,5	25,0	18,3	57
	5	37,19	183,2	1,4787	2,4	6,8	5,2	17,9	15,7	54,4	11,7	25,2	18,4	52
	6	37,45	180,3	1,4785	2,3	7,1	6,3	21,3	16,0	49,3	12,7	25,4	19,6	69
	7	36,00	168,9	1,4774	3,3	6,9	7,4	25,6	13,2	46,9	12,5	25,0	18,8	63
	8	35,81	170,1	1,4774	3,1	6,8	8,0	24,9	12,5	47,8	12,1	25,2	18,7	59

Variedad	Epoca de siembra	Aceite % semilla	II (Wj)s	IR 25°C	Acidez (mg KOH/g)	Composición acética			Temperatura		Período floración cosecha (días)			
						16:0	18:0	18:1	18:2	18:3		Mín. med.	Máx. med.	Promedio
Tezanos Pinto Taragüí SAG	1	36,10	185,4	1,4794	2,0	7,1	5,2	19,5	12,4	65,8	9,4	24,5	16,9	66
	2	37,54	188,1	1,4795	2,0	6,4	5,1	18,5	12,2	57,8	8,8	23,4	16,1	57
	3	36,85	187,9	1,4795	1,7	6,1	4,9	18,2	15,0	55,8	8,8	23,4	16,1	57
	4	38,48	184,4	1,4790	2,1	6,5	5,3	19,8	13,7	54,7	11,6	25,0	18,3	58
	5	38,35	177,5	1,4780	2,2	6,8	5,8	22,0	13,6	51,8	11,5	25,0	18,3	54
	6	37,11	173,4	1,4778	2,0	6,9	6,4	23,9	12,5	50,3	12,5	25,4	19,0	71
	7	36,63	163,4	1,4765	2,3	7,4	7,8	27,6	11,2	46,0	12,4	25,0	18,7	64
	8	36,22	161,9	1,4764	2,8	7,1	7,7	28,5	12,0	44,7	12,5	24,9	18,7	62
Paraná INTA	1	39,64	189,0	1,4798	1,8	6,2	4,7	19,7	12,2	57,2	9,4	24,4	16,9	67
	2	38,60	191,2	1,4800	1,8	5,9	5,6	19,1	12,6	56,8	11,1	24,7	17,9	53
	3	39,82	189,7	1,4798	2,0	5,6	4,6	19,0	12,3	58,5	9,1	24,1	16,6	58
	4	38,91	186,6	1,4794	2,3	5,9	5,1	21,1	13,3	54,6	11,6	25,0	18,3	58
	5	39,19	185,4	1,4792	2,3	6,1	5,4	20,5	12,7	55,3	11,5	25,0	18,3	54
	6	39,24	180,9	1,4788	2,4	5,6	5,5	21,8	11,9	55,2	12,5	25,4	19,0	71
	7	37,58	165,7	1,4772	2,5	6,0	7,9	27,9	12,1	46,1	12,5	25,0	18,8	63
	8	37,85	166,6	1,4770	2,5	5,8	7,2	28,0	11,8	47,2	12,4	25,0	18,7	51

Variedad	Epoa de siembra	Aceite % semilla	II (Wijs)	IR 25°C	Acidez (mg KOH/g)	Composición acídica			Temperatura		Periodo floración cosecha (dias)			
						16:0	18:0	18:1	18:2	18:3		Min. med.	Max. med. Promedio	
Pergamino Mooreta INTA	1	41,30	190,9	1,4796	2,0	6,2	4,7	17,4	15,4	56,3	9,4	24,4	16,9	64
	2	40,37	189,2	1,4799	1,9	7,0	3,9	17,8	16,2	55,1	11,1	24,7	17,9	53
	3	41,76	189,1	1,4792	2,1	6,0	3,8	17,3	15,9	57,0	11,1	24,7	17,9	53
	4	39,56	180,2	1,4786	2,4	7,1	4,4	20,4	16,3	51,8	11,5	25,0	18,3	56
	5	40,36	179,6	1,4784	2,0	6,3	5,0	20,4	15,5	52,8	11,8	25,3	18,5	51
	6	40,00	172,8	1,4778	2,4	6,5	5,9	23,3	17,9	46,4	12,5	24,9	18,7	68
	7	38,91	167,7	1,4770	2,6	7,2	7,0	25,0	16,5	44,3	12,4	25,0	18,7	61
	8	38,54	167,4	1,4770	2,8	7,7	6,8	24,9	16,2	44,4	12,1	25,2	18,7	58
Pergamino Fueche MAG	1	39,60	186,0	1,4790	2,3	5,7	4,7	18,5	15,7	55,4	9,5	24,4	17,0	65
	2	40,00	187,0	1,4793	2,1	5,9	5,1	19,1	15,2	54,7	9,1	24,1	16,6	58
	3	41,13	186,6	1,4788	2,2	5,6	4,9	17,9	16,0	55,6	8,8	23,4	16,1	58
	4	39,64	179,5	1,4784	2,2	6,1	5,4	21,2	16,3	51,0	11,6	25,0	18,3	58
	5	40,02	179,3	1,4782	2,4	6,2	5,6	21,8	16,2	50,2	11,5	25,1	18,3	53
	6	39,49	172,6	1,4776	2,3	6,5	6,4	23,2	16,8	47,1	12,6	25,5	19,0	70
	7	37,53	163,0	1,4765	2,3	6,2	7,9	27,5	16,1	42,3	12,5	24,9	18,7	62
	8	37,30	163,7	1,4768	2,8	6,5	7,5	27,2	15,6	43,2	12,1	25,1	18,7	59

CUADRO 2 - continuación

Variedad	Epoca de siembra	Aceite % semilla	II (Wijs)	IR 25°C	Acidez (mg KOH/g)	Composición acidica				Temperatura			
						16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Mfn.Med. Máx.med. Promedio		
Ranocagua INTA	1	39,64	198,2	1,4805	1,5	6,5	3,6	14,4	13,8	67,1	9,4	24,5	16,9
	2	38,22	193,7	1,4798	1,8	7,2	4,3	15,8	12,5	60,2	10,9	24,7	17,8
	3	39,12	192,3	1,4794	1,4	7,0	4,3	16,3	12,1	60,3	7,5	24,7	16,1
	4	38,55	186,3	1,4789	1,7	7,2	4,9	19,1	12,7	56,1	11,5	25,0	18,3
	5	38,33	187,1	1,4792	1,8	7,3	5,0	18,3	12,9	56,5	11,7	25,2	18,4
	6	37,34	176,9	1,4774	2,0	7,9	6,3	22,4	13,1	50,3	12,7	25,4	19,6
	7	36,24	169,2	1,4769	2,2	7,4	7,2	25,4	11,9	48,1	12,4	25,0	18,7
	8	35,22	172,4	1,4776	2,5	7,4	7,2	23,1	11,3	51,0	12,2	25,1	18,7
Reconquista INTA	1	36,07	193,2	1,4806	1,6	6,9	4,5	16,2	12,0	60,4	9,4	24,5	16,9
	2	37,93	199,4	1,4800	1,7	6,1	3,3	13,2	14,8	62,6	9,2	24,5	16,8
	3	39,20	199,0	1,4794	2,2	6,3	3,1	13,1	14,4	63,1	9,5	24,6	17,0
	4	38,16	198,1	1,4804	1,6	6,2	3,2	13,3	14,4	62,9	11,5	25,0	18,3
	5	37,30	193,5	1,4792	2,0	6,3	3,7	15,6	16,3	58,1	11,5	25,1	16,3
	6	37,81	191,4	1,4780	1,8	6,6	3,9	15,9	15,9	57,7	12,6	25,7	19,1
	7	36,45	180,7	1,4789	2,0	6,4	4,7	20,8	16,8	51,3	12,4	24,9	18,7
	8	36,28	181,1	1,4787	1,9	5,6	5,0	20,9	15,4	53,1	12,3	25,1	18,7



Variedad	Todoterpenos	Esteroles	Escualeno	Insaponif.	I.I.	Fosforo
	Totales	Totales	(mg% g)	Total	Insaponi	Lipídico
	(mg% g)	(mg% g)		%	ficable	(mg% g)
	(*)	(*)	(**)	(**)		(*)
Klein 11	57	610	9	1,48	70,1	25,8
Querandí M.A.	59	588	27	1,48	83,3	23,6
Buck 114	64	579	17	1,58	72,0	22,4
Oliveros Timbú SAG	68	552	19	1,38	97,9	19,1
Tez. Pinto Taragüí SAG	62	535	12	1,57	93,6	24,3
Paraná INTA	56	543	22	1,51	78,4	25,3
Pergamino Mocoretá INTA	67	549	15	1,33	94,3	22,7
Pergamino Pualche MAG	64	493	15	1,60	71,5	27,0
Rancagua INTA	77	545	9	1,32	106,4	18,4
Reconquista INTA	77	635	12	1,75	79,4	22,8

(\*) Valor promedio de determinaciones sobre 2a. y 7a. época (elegidas por presentar la máxima diferencia en I.I.)

(\*\*) Valor obtenido sobre la mezcla de partes iguales de las 8 épocas, para cada variedad.

CUADRO Nro. 3 - COMPONENTES MENORES EN ACEITES DE SEMILLA DE LINO DE DIEZ VARIEDADES

VARIEDAD

KLEIN 11

RECONQUISTA INTA

	1a.	2a.	3a.	4a.	5a.	6a.	7a.	8a.	1a.	2a.	3a.	4a.	5a.	6a.	7a.	8a.
Epoca de siembra																
Humedad %	9,80	9,67	9,59	9,73	9,67	9,55	9,62	9,73	9,35	9,65	9,80	9,62	8,57	9,69	9,00	9,60
Cenizas % (b.s.)	6,06	5,52	5,72	5,86	5,71	5,54	5,66	6,03	6,06	5,70	5,66	5,74	5,34	5,37	5,43	5,88
Nitrógeno % (b.s.)	7,05	6,52	6,96	6,52	6,69	7,00	7,33	7,33	6,14	6,71	6,50	6,80	6,70	6,82	7,10	7,03
Proteínas % (b.s.)																
(N x 6,25)	44,1	40,8	43,6	40,8	41,9	43,8	45,9	45,9	38,4	42,0	40,5	42,5	41,9	42,6	44,4	44,0

VARIEDAD

Querandí  
MA

Oliveros  
Timbí  
SAG

Buck  
114

Tezanos  
Pinto  
Taragüí

Parand  
INTA

Pergami-  
no Mooo-  
retá INTA

Pergami-  
no Puel-  
che SAG

Ranoagua  
INTA

	2a.	7a.	2a.	7a.	2a.	7a.	2a.	7a.	2a.	7a.	2a.	7a.	2a.	7a.	2a.	7a.	2a.	7a.
Epoca de siembra																		
Humedad %	9,36	9,12	8,87	9,49	9,49	9,53	9,00	9,20	9,04	9,01	8,95	9,36	9,52	8,99	8,81	8,64	9,80	8,57
Cenizas % (b.s.)	5,73	5,34	5,78	5,61	5,70	5,28	5,18	5,22	5,84	5,96	6,01	5,62	5,67	6,17	5,46	5,73	6,17	5,18
Nitrógeno % (b.s.)	6,80	6,77	6,85	6,72	6,63	7,14	6,93	7,25	6,93	7,30	7,13	7,63	6,91	7,24	6,57	7,17	7,63	6,14
(N x 6,25)	42,5	42,3	42,8	42,0	41,4	44,6	43,3	45,3	43,3	45,6	44,6	47,7	43,2	45,2	41,1	44,8	47,7	38,4

CUADRO 4. COMPOSICION % HARINA - INFLUENCIA DEL AVANCE DE LA EPOCA DE SIEMBRA.

pH de precipitación	N extraído (pH 9,5) % harina	N precipitado % harina	N sobrena-dante % harina	N extraído % total	N precipitado % total	N % en proteína precipitada (b.S.)	N sobrena-dante % extraído	N sobrena-dante % total
3,0	4,30	2,74	1,79	72,3	46,0	13,23	41,6	30,1
3,5	4,30	3,23	0,68	72,3	54,3	12,00	15,8	11,4
4,0	4,30	3,48 (*)	0,65	72,3	58,5	12,17	15,1	10,9
4,5	4,30	2,93	1,15	72,3	49,3	12,28	26,7	19,3
5,0	4,30	2,80	1,33	72,3	47,1	13,49	30,9	22,3
5,5	4,30	1,67	2,36	72,3	28,1	13,39	54,9	39,7

N % harina integral : 5,95

N en residuo (pH 9,5): 3,71 % N residuo % harina : 1,50: (representa 25,2% del N total)

(\*) - elegido como punto de máxima precipitación (pH isoelectrónico).

CUADRO 5.- EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS SOBRE "HARINA INTEGRAL" -ELECCIÓN DEL pH ISOELECTRICO DE PRECIPITACION.-

CUADRO 6

pH de extracción	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5
N extraído % harina	2,40	1,70	1,39	1,41	1,54	1,98
N extraído % N total	40,33	28,57	23,36	23,69	25,88	33,28
Extracto seco % harina	35,7	31,7	26,5	27,7	28,1	31,3
N extraído % extracto seco	6,72	5,36	5,24	5,09	5,48	6,32

EXTRACCION DE MUCILAGO SOBRE "HARINA INTEGRAL" - INFLUENCIA DEL pH EN LA

EXTRACCION

pH de precipitación	N extraído (pH 9,5) % harina	N extraído % total	N precipitado % harina	N sobrenadante % harina	N% en proteína precipitada (b.s.)	N precipitado % total	N sobrenadante % extraído	N sobrenadante % total
3,0	3,15	52,9	2,41	0,67	12,73	40,5	21,3	11,3
3,5	3,15	52,9	2,52 (*)	0,55	13,24	42,4	17,4	9,2
4,0	3,15	52,9	2,27	0,80	13,28	38,2	25,4	13,4
4,5	3,15	52,9	1,94	1,17	13,18	32,6	37,1	19,7
5,0	3,15	52,9	0,81	2,34	12,98	13,6	74,3	39,3
5,5	3,15	52,9	0,19	3,04	13,15	3,2	96,5	51,1

N % harina integral: 5,95

N en residuo (pH 9,5): 3,73% (N residuo % harina: 1,26; representa 21,2 % del N total)

N extraído en separación de mucilagos, a pH 4,0, % harina: 1,27 ( representa 21,3 % del N total)

(\*) = punto de máxima precipitación (pH isoelectrico)

CUADRO 7 - EXTRACCION DE PROTEINAS, PREVIA SEPARACION DE MUCILAGOS SOBRE "HARINA INTEGRAL" -

REVISION DEL PH ISOELECTRICO

HARINA	Integral				(CIGA) (x)			
N total % harina	3,32	5,00	5,24	5,95	7,35	8,40	5,83	
Cenizas % harina	4,63	5,04	5,33	5,43	6,04	6,67	5,39	
Humedad % harina	10,63	10,57	10,82	11,63	10,06	8,85	9,09	
Fibra % harina	14,31	10,27	10,73	7,98	5,28	-	8,82	
N extraído (pH 9,5)% harina	1,46	3,06	3,85	4,69	6,05	7,74	3,70	
N extraído (pH 9,5) % N total	44,0	61,2	73,4	78,8	82,3	92,1	63,5	
Residuo (pH 9,5)% harina	49,9	-	45,6	40,4	34,5	31,0	45,5	
N % residuo (PH 9,5)	3,43	-	3,39	3,46	2,75	1,30	4,20	
N residuo (pH 9,5)% harina	1,71	-	1,54	1,40	0,95	0,40	1,91	
N residuo (pH 9,5) % N total	5,5	-	29,4	23,5	12,9	4,8	32,7	
Extracto seco (liq.pH 9,5)% harina	-	-	-	49,4	-	-	45,4	
Ppdo.pH 4,0(de extr.pH 9,5)% harina	-	11,1	16,5	29,1	33,8	25,9	20,2	
N % ppdo. (pH 4,0)	-	11,78	11,73	12,50	13,40	14,57	12,69	
N ppdo.pH 4,0(de extr.pH 9,5)% N tot.	-	26,2	36,8	61,2	61,2	45,2	43,9	
N ppdo.pH 4,0(de extr.pH 9,5)% N extr.	-	42,8	50,1	77,6	74,3	49,1	47,4	
N ppdo.pH 4,0(de extr.pH 9,5)% harina	-	1,31	1,93	3,64	4,50	3,80	2,56	
Cenizas % ppdo. (pH 4,0	-	-	1,20	0,44	0,97	0,46	1,13	
N % ppdo.(pH 4,0) libre cenizas	-	-	11,87	12,55	13,53	14,63	12,83	
Extr.seco (liq.pH 4,0) post. pp.% harina	-	-	-	-	-	-	27,95	
N sobren.(pH 4,0 de extr.pH 9,5)% har.	-	1,65	1,70	0,81	1,63	3,80	1,22	
N sobren.(pH. 4,0 de extr.pH 9,5)% N extr.	-	53,9	44,2	17,3	27,0	49,1	33,0	
N sobren.(pH 4,0 de extr.pH 9,5)% N tot.	-	33,0	32,4	13,6	22,2	45,2	20,9	
N extr. pH 4,0 % harina	0,69	1,17	1,27	1,39	1,87	2,12	0,69	
N extr. pH 4,0 % N total	21,0	23,4	24,2	23,4	25,4	25,2	11,9	
Extracto seco (liq.pH 4,0)% harina	-	-	28,2	26,9	-	-	26,3	
Ppdo. en EtOH 50%(liq.pH 4,0)% harina	-	-	-	3,06	-	-	11,20	
N % ppdo. en EtOH 50%	-	-	-	1,70	-	-	7,12	
N ppdo. en EtOH 50%, % harina	-	-	-	0,05	-	-	0,80	
N ppdo. en EtOH 50%, % N total	-	-	-	0,87	-	-	13,68	
Extr. seco (liq.sobren.EtOH)% harina	-	-	-	19,73	-	-	17,75	
N sobren. (liq.sobren.EtOH)% harina	-	-	-	0,80	-	-	0,42	
N sobren. (liq.sobren.EtOH)% N total	-	-	-	13,44	-	-	7,20	

**CUADRO 8: Composición química y aislamiento de proteínas de harinas de lino con diferente contenido en oscoara**

(x) "Expeller" molido y agotado por hexano, enviado por CIGA.

Fracción Nº	Peso Fracción (g)	temperatura (°C)		
		Baño	Medio	Cabeza
1	0,29	200-208	180-187	72-90
2	0,39	208-209	187-187	90-106
3	0,77	209-211	187-187	106-116
4	0,93	211-213	187-190	116-126
5	1,46	213-217	190-192	126-140
6	2,68	217-220	192-195	140-152
7	3,91	220-222	195-198	152-164
8	6,82	222-222	198-200	164-166
9	6,10	222-224	200-208	166-166
10	3,74	224-230	208-227	166-
Residuo	3,12 (+)	-----	-----	-----

Total Recuperado: 33,14 g - Puesto en balón: 36,26 g - Presión 0,5 -  
1,0 mm Hg

(+) El residuo total contiene 0,14 g de insaponificable-ésteres en  
residuo 2,98 g)

CUADRO 9 - DESTILACION DE ESTERES METILICOS DE ACIDOS TOTALES DE ACEITE  
DE LINO.-

FRACCION N°	PESO g	ACIDOS					ACIDOS EN FRACCION							
		12:0	13:0	14:0	15:0	16:0	%	16:0	17:0	18:0	20:0	22:0	23:0	24:0
1	0,29	0,5	0,2	5,0	1,0	2,3	81,7							
2	0,39			1,4	0,6	Vest.	90,0	Vest.						
3	0,77			0,2	0,1	Vest.	91,2	Vest.	Vest.					
4	0,98						61,2	0,5	0,5					
5	1,46						10,9	0,5	1,8					
6	2,68						0,9	0,1	2,5					
7	3,91								3,8					
8	6,82								4,6					
9	6,10								6,1					
10	9,74								5,8					
Residuo	2,98								6,2	4,5	3,0	0,5	1,7	
	(+)													

(+) Corregido de insaponificable.

CUADRO 10 - ACEITES DE LINO - DESTILACION Y EXAMEN C.G.I. DE FRACCIONES DE DESTILACION



Fracción Nº	Acidos % Acidos en Fracción									
	14:1	15:1	16:1	17:1	18:1	20:1	22:1	18:2	18:3	
1			9,3							
2	Vest.	Vest.	8,0	Vest.						
3			3,7	Vest.	0,9			0,9	3,0	
4			1,4	0,4	7,4			10,5	18,1	
5			Vest.	0,2	18,3			18,8	49,5	
6					19,2			20,3	57,0	
7					19,2			18,3	58,7	
8					17,1			15,5	62,8	
9					17,9			14,8	61,2	
10					14,5			14,2	65,5	
Residuo					7,2	2,7	0,9	11,6	61,7	

Índice de yodo Esteres Metilicos Acidos Totales (Wijs)  
 Determinado 188,2; Calculado 190,3  
 Índice de yodo Acidos totales (Wijs); Calculado 199,8  
 Índice de saponificación Esteres metilicos Acidos totales  
 Determinado 192,7; Calculado 192,4  
 Índice de Saponificación Acidos totales Calculado 202,3

CUADRO 10 - Continuación

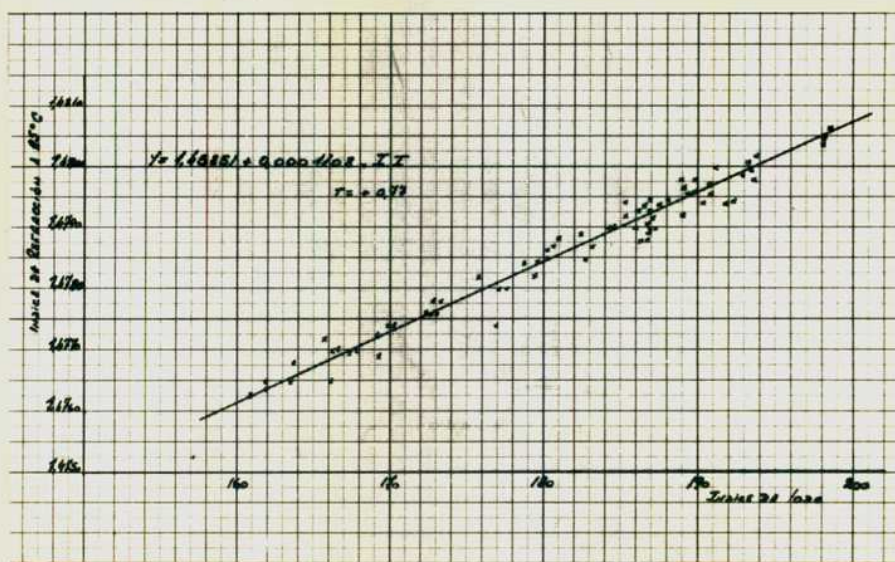


FIGURA 1: ACEITES DE LINC Indices de Refracción (25°C) vs. Índice de Yodo  
 $x = 1,45851 + 0,0001108 I I$

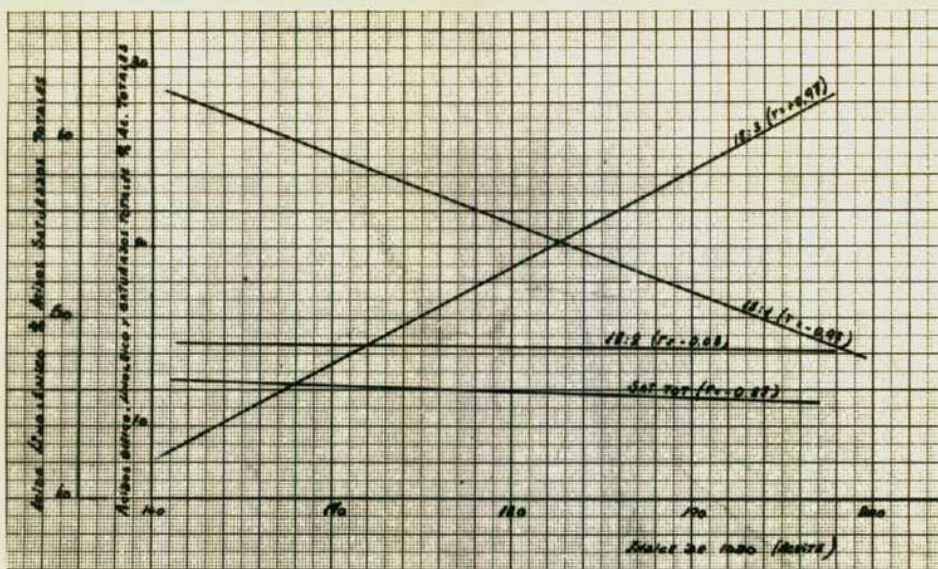


FIGURA 2: ACEITES DE LINO - Relaciones entre Índice de Yodo de aceites y composiciones ácidas.

Ecuaciones

18:1  $y=9,05 - 0,382 \text{ I I}$

18:2  $y=15,48 - 0,006 \text{ I I}$

18:3  $y=4,2,66 + 0,53 \text{ I I}$

Sat. totales  $y=15,77 - 0,0216 \text{ I I}$

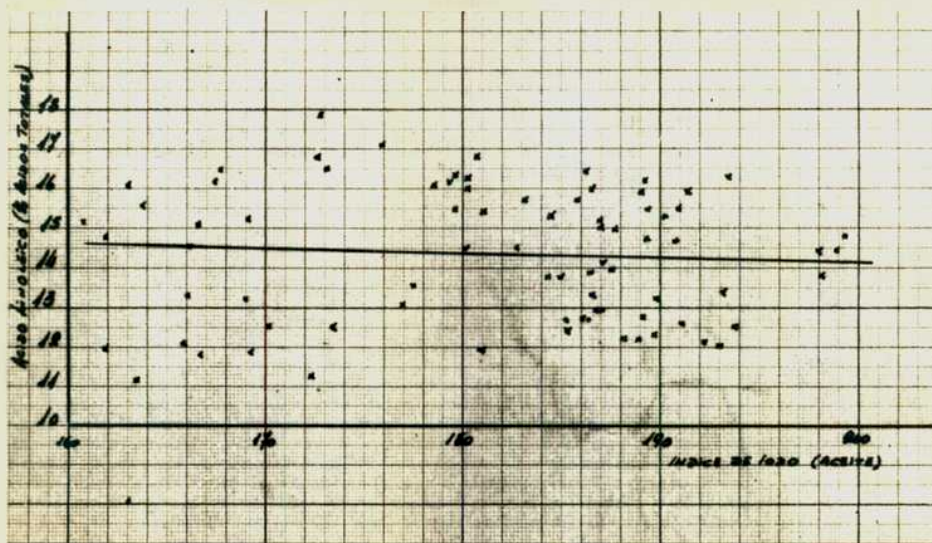


FIGURA 3: ACEITES DE LINO - Índicos de yodo aceites vs. ácido linoleico %  
ácidos totales.

$$y = 15,48 - 0,006 I I$$

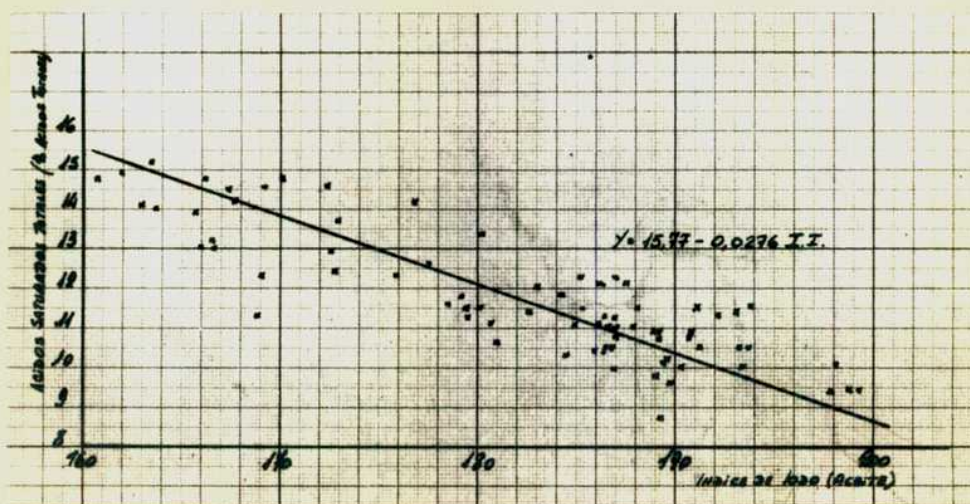


FIGURA 4: ACEITES DE LINO - Índices de yodo aceites vs. ácido saturados totales % ácidos totales.

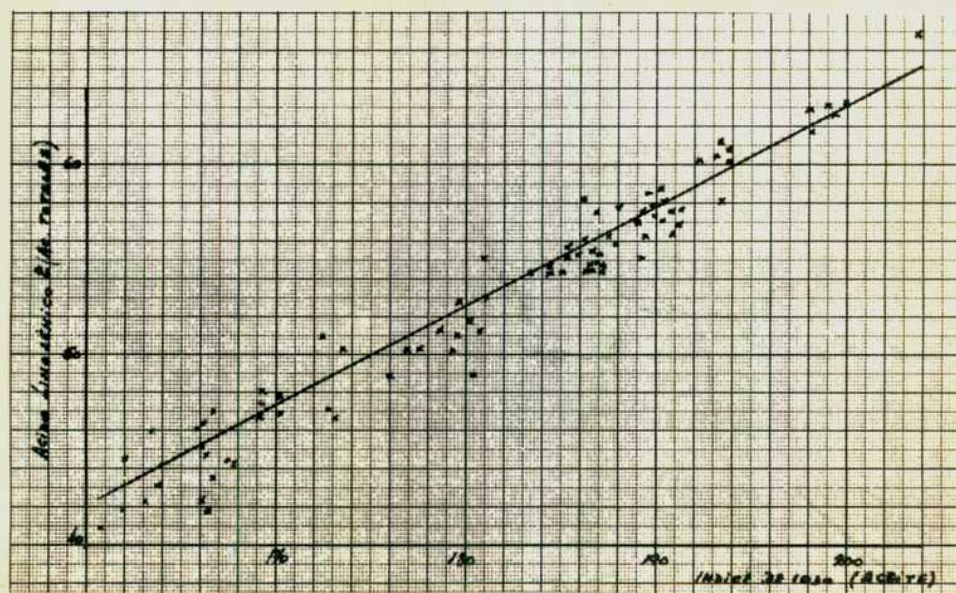


FIGURA 5: ACEITES DE LINO - Índices de yodo aceites vs. ácido linolénico  
(% ácidos totales)

$$y = 42,66 + 0,53 I I$$

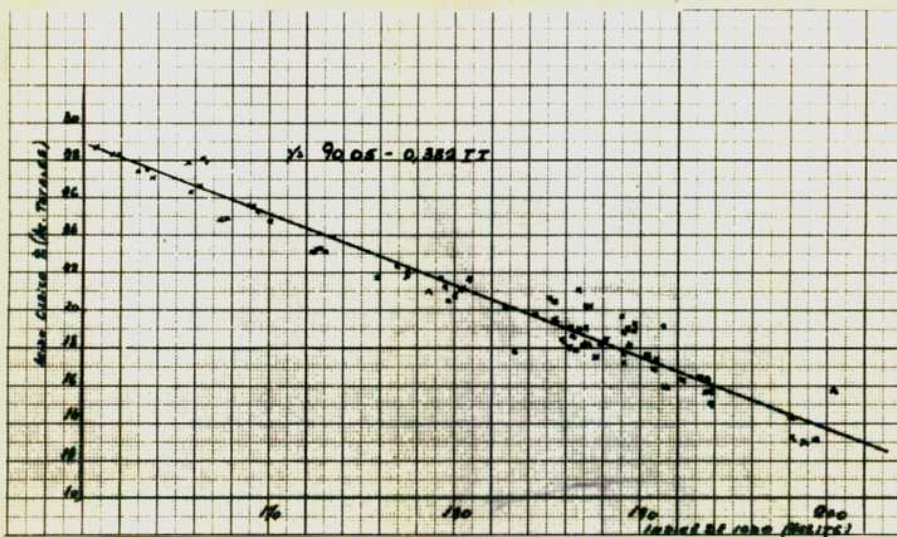


FIGURA 6: ACEITES DE LINO -- Indices de yodo aceites vs. ácido oleico  
(% ácidos totales)

$$y = 90,05 - 0,382 I I$$

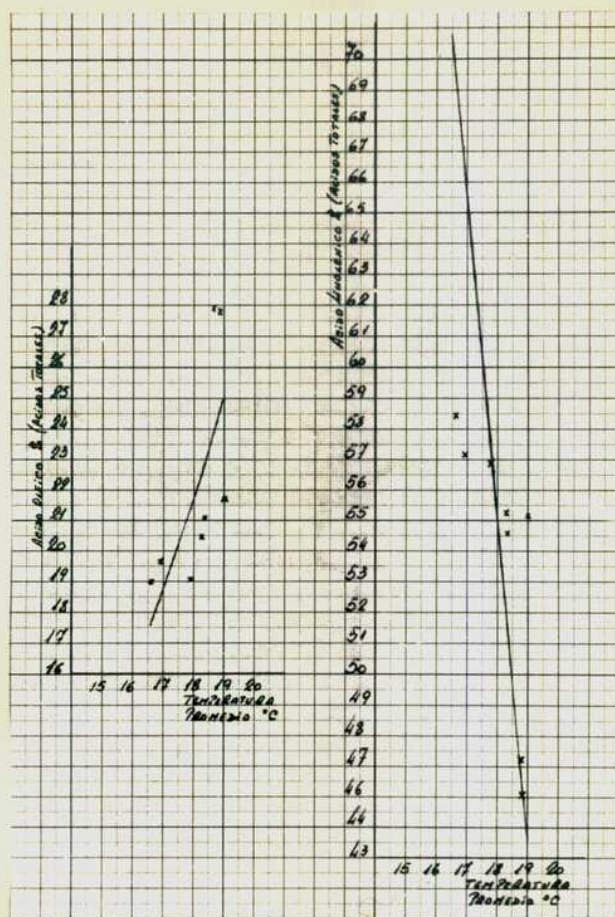


FIGURA 7: ACEITES DE LINO - Contenido en ácidos oleico y linolénico (% ácidos totales) vs. temperatura promedio del período floración-cosecha. (Ver. Paraná INTA)



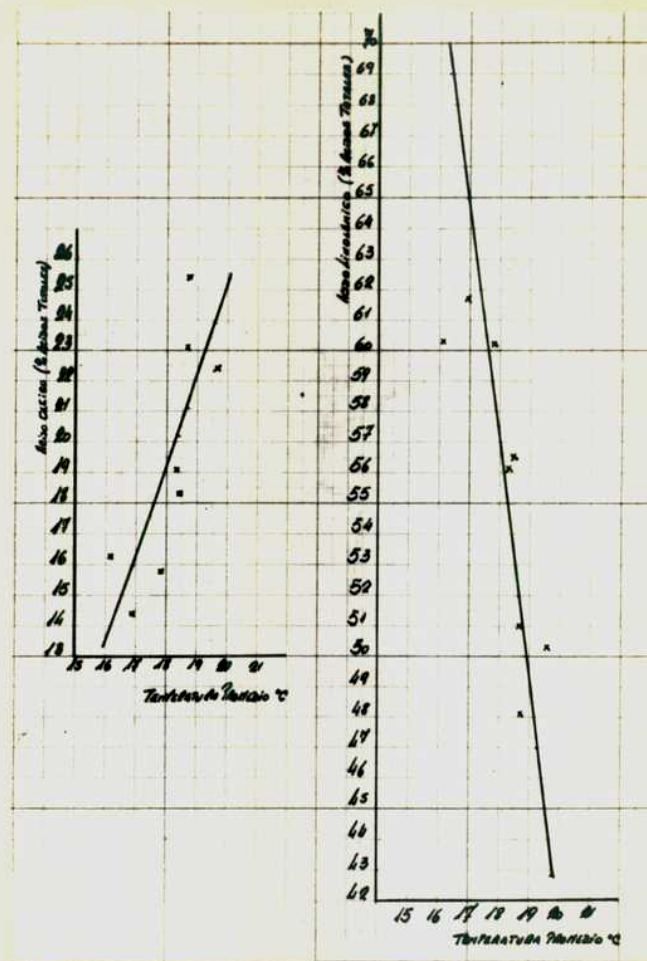


FIGURA 8: ACEITES DE LINO - Contenidos en ácidos oleico y linolénico (% ácidos totales) vs. temperatura promedio del período floración-cosecha. (Var. Rancagua INTA)

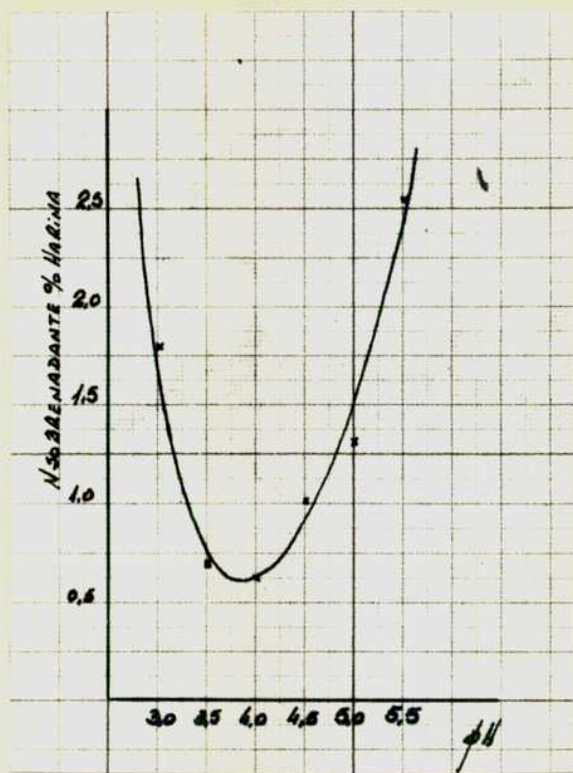


FIGURA 9: PROTEINAS DE HARINA DE SEMILLA DE LINO - Nitrógeno sobrenadante después de precipitación (% harina), en función del pH de precipitación.

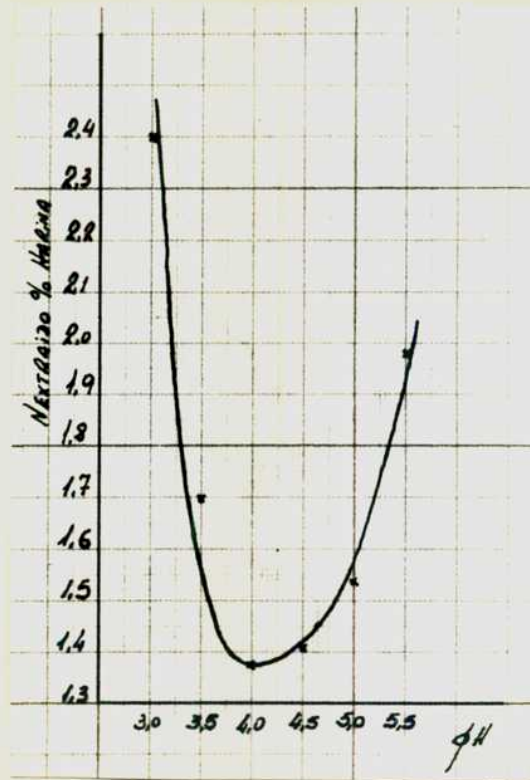


FIGURA 10: PROTEINAS DE HARINA DE SEMILLA DE LINO - Extracción de mucílago-  
Nitrógeno extraído (% harina) en función del pH de extracción.

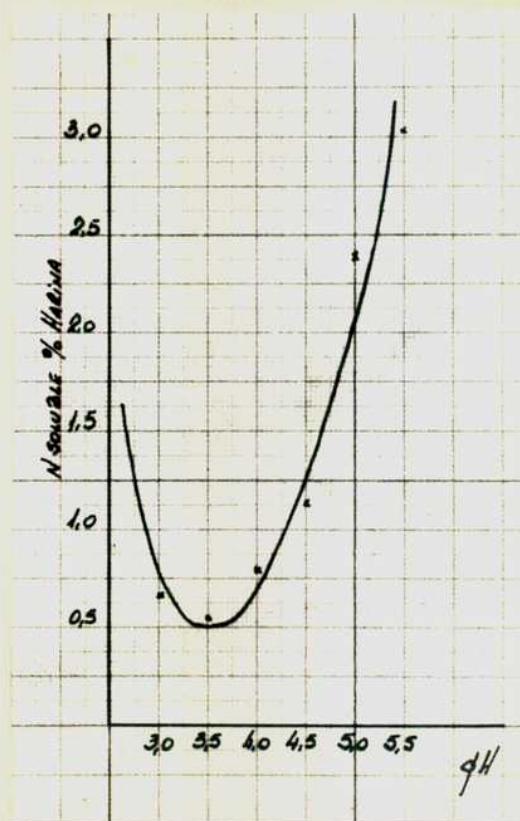


FIGURA 11: PROTEINAS DE HARINA DE SEMILLA DE LINO - Extracción de proteínas sobre harina integral previa extracción de mucílagos. Nitrógeno soluble (% harina) en función del pH de precipitación.

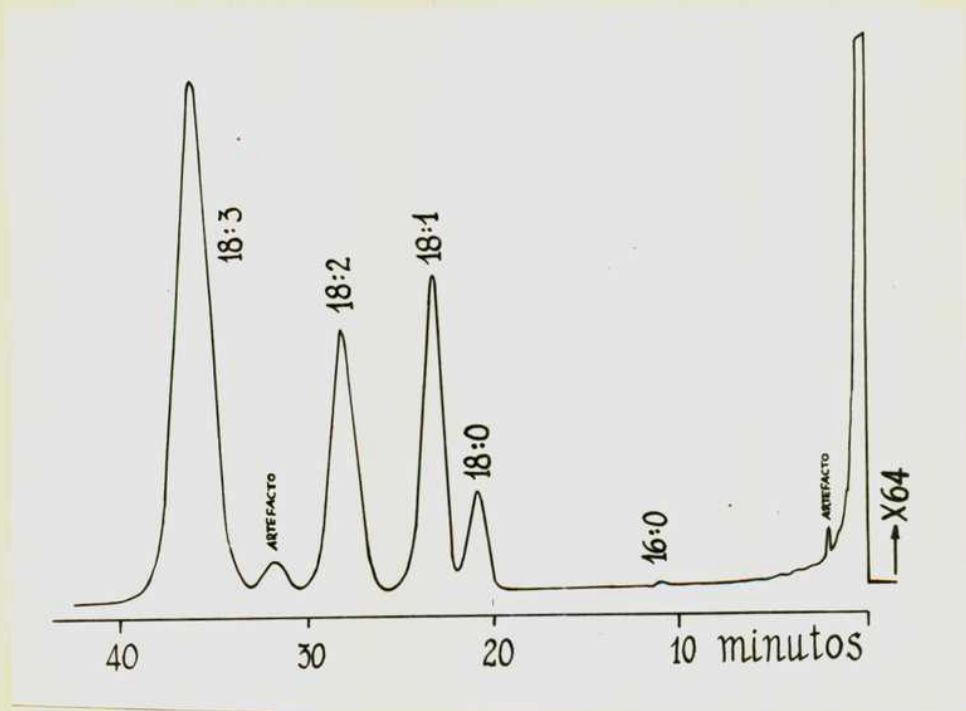


FIGURA 12: Exámen CGL de la fracción 8 de la destilación fraccionada de los ésteres metílicos de ácidos totales de un aceite de lino (extraído por butano líquido) mismo equipo y columna que los indicados para las Fig. 16 a 23. Temperatura 190°C, presión de entrada de nitrógeno 25 psi, "power" 100, cantidad inyectada 2ml de solución al 5% en éter etílico.

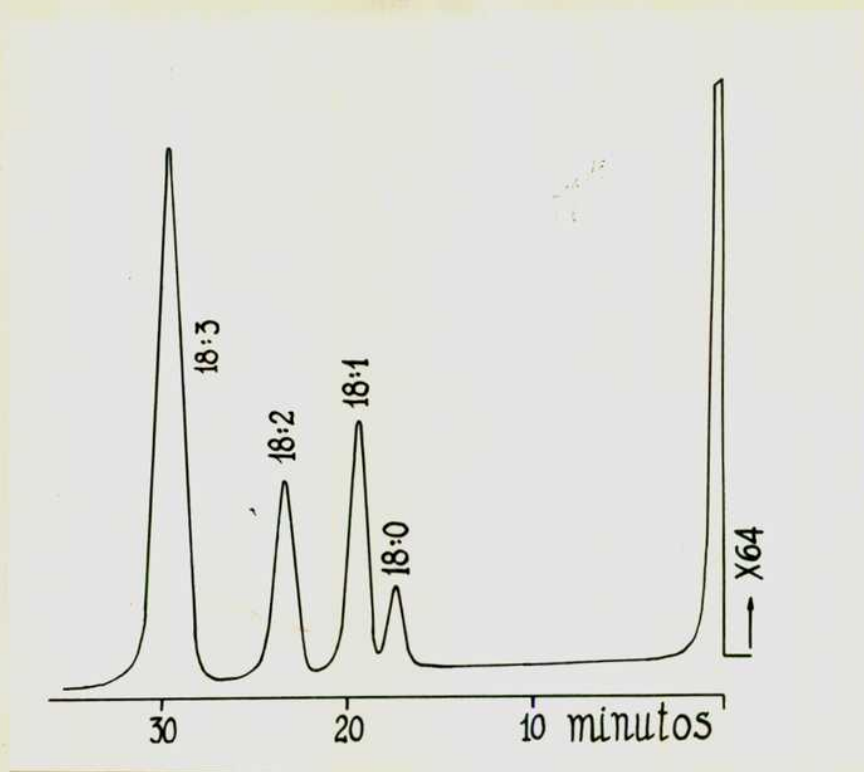


FIGURA 13 - Exámen CGL de la fracción 8 de la destilación fraccionada de los ésteres metílicos de ácidos totales de un aceite de lino (extraído por butano líquido). Mismo equipo, columna y condiciones que los indicados para las Fig. 16 a 23.

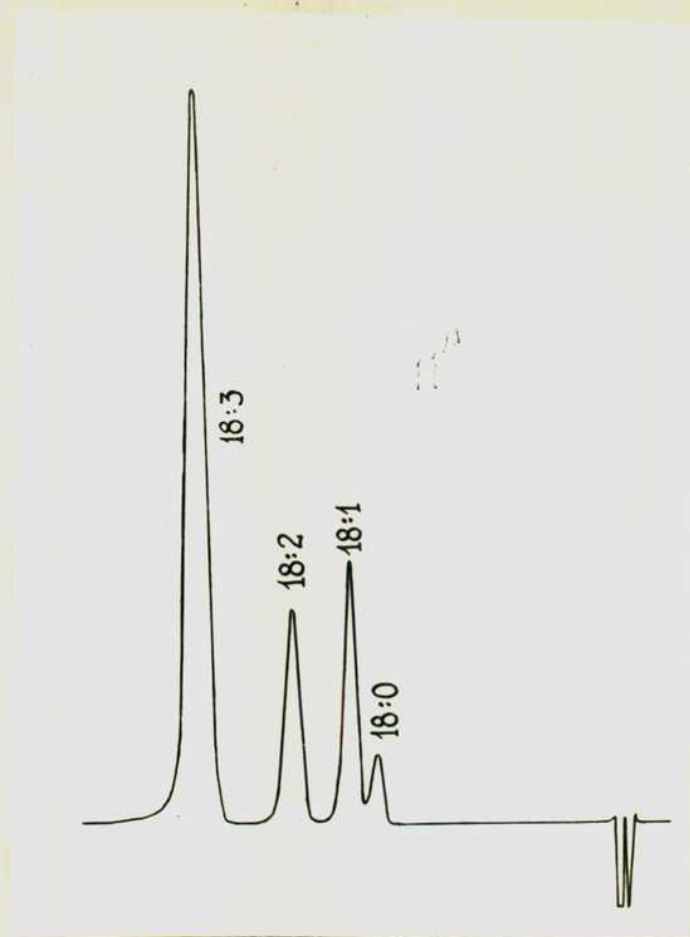


FIGURA 14: Examen OGL de la fracción 3 de la destilación fraccionada de los ésteres metílicos de ácidos totales de un aceite de lino (extraído por butano líquido) <sup>2</sup>Equipo "PYE", columna de 4 pies con relleno formado por chromosorb W lavado ácido (100-120) conteniendo 12% de adipato de polietilenglicol sobre relleno total, temperatura 190°C, argon como fase móvil (flujo 18,7 ml min.), detector Lovelock. Cantidad inyectada 0,05 ml de ésteres atenuación x 3.

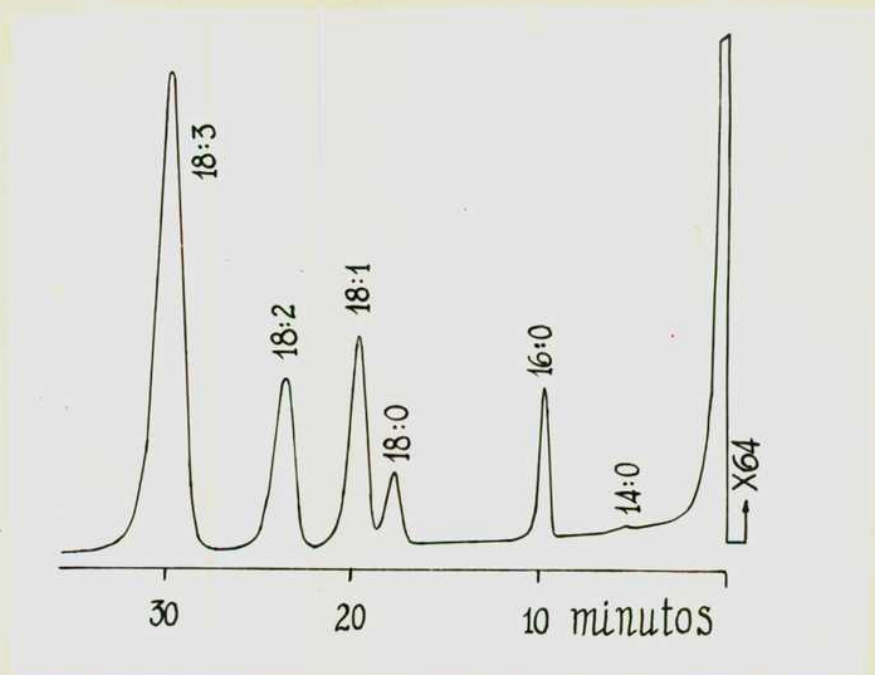


FIGURA 15 - Examen CGL de los ésteres metílicos de los ácidos totales de un aceite de lino (extraído por butano líquido). Esteres obtenidos por metanolisis - Mismo equipo, columnas y condiciones que los indicados para las Fig. 16 a 23.



Exámen CGL de ésteres metílicos de ácidos totales de los aceites de semilla de lino variedad Buck 114, correspondientes a las ocho épocas de siembra. Equipo Perkin-Elmer Mod. 154 (vapor Fractometer), columna de 2m, de 4,5 mm de diámetro interno, material de relleno formado por Chromosorb W lavado ácido (100-120) conteniendo 13% de adipato de polietilenglicol sobre relleno total, nitrógeno como fase móvil (presión de entrada 21 psi), "power" 80-85, detector de ionización de llama, velocidad del papel en registrador 12 pulg./hr, temperatura 200°C, cantidad inyectada 2,0 ~~1~~ de solución de ésteres al 5% en éter etílico (Fig. 16 a 23).

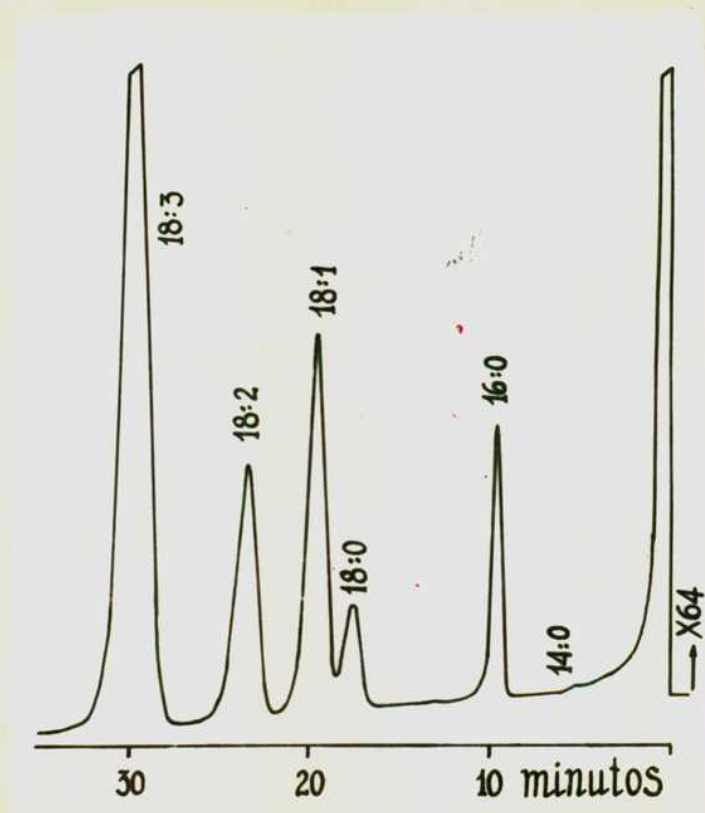


FIGURA 16 - Aceite de semilla var. Buck 114 - 1ª época de siembra. Composición ácida encontrada: 16:0 (6,6); 18:0 (4,5) 18:1 (18,0), 18:2 (12,7), 18:3 (58,2%).

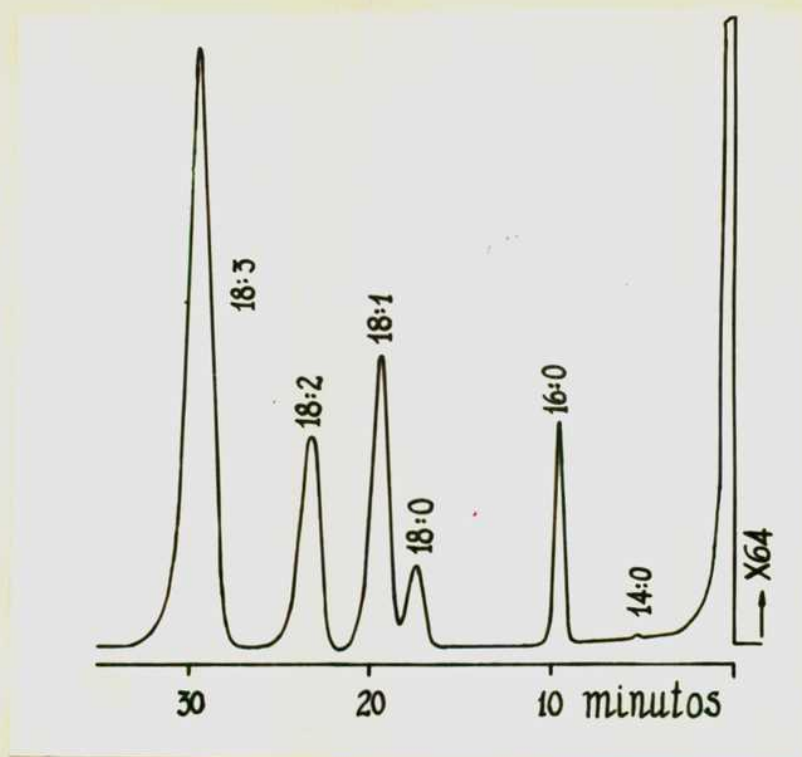


FIGURA 17 - Aceite de semilla var. Buck 114 - 2da. época de siembra -  
 Composición acídica encontrada: 16:0 (7,0), 18:0 (4,3), 18:1  
 (18,2), 18:2 (15,1), 18:3 (55,4%) - Valor de 18:2 por U.V.  
 (14,3%); valor de 18:3 por U.V. (55,1%).

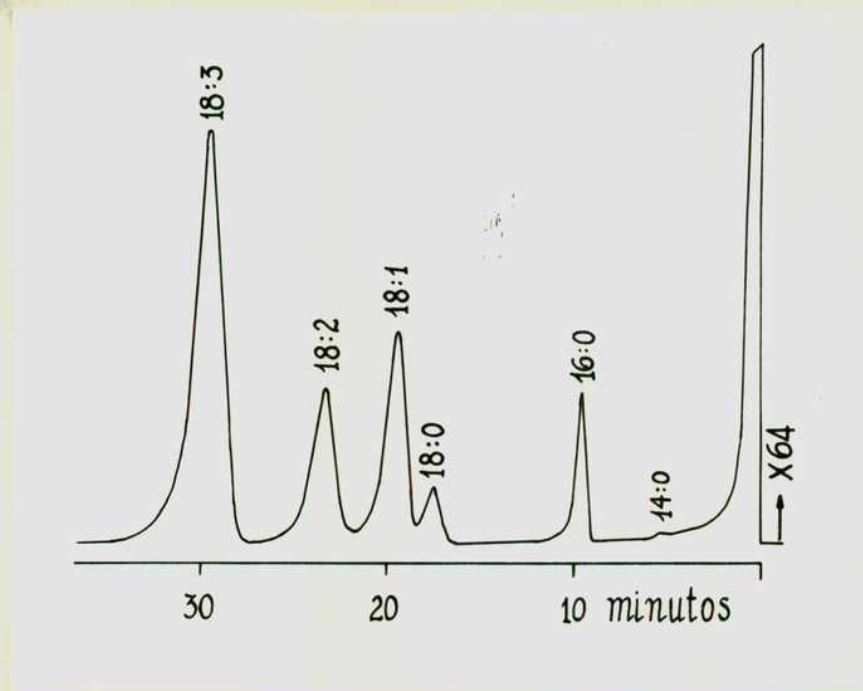


FIGURA 18 - Aceite de semilla var. Buck 114 - 3ra. época de siembra -  
 Composición acídica encontrada: 16:0 (6,5), 18:0 (3,9)  
18:1 (18,7), 18:2 (16,4), 18:3 (54,5%).

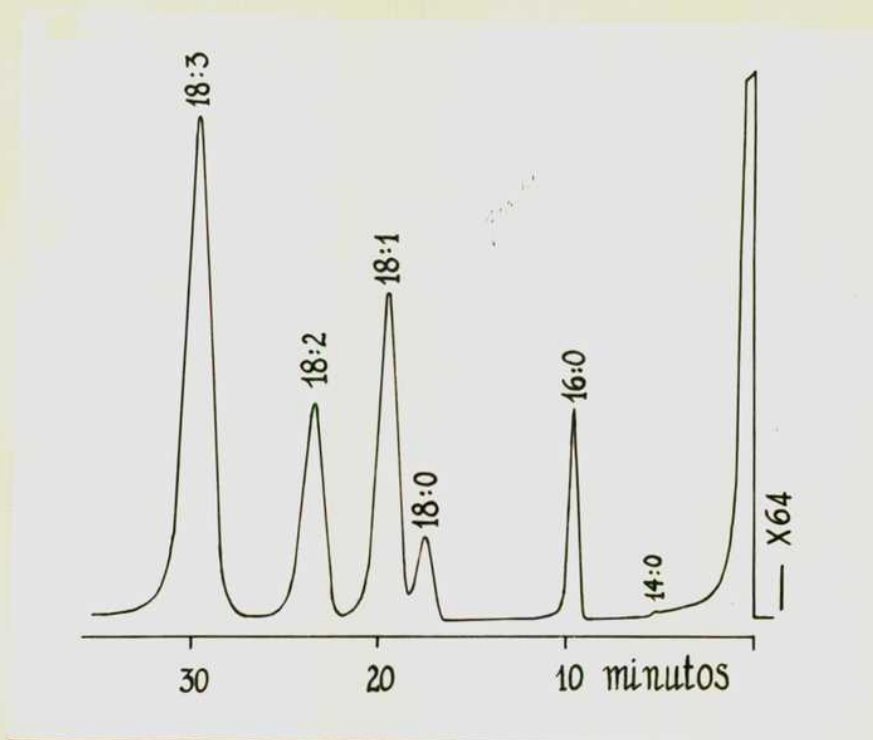


FIGURA 19 - Aceite de semilla var. Buck 114 - 4ta. época de siembra -  
 Composición ácida encontrada: 16:0 (7,0), 18:0 (4,6),  
18:1 (21,0), 18:2 (16,1), 18:3 (51,3%).

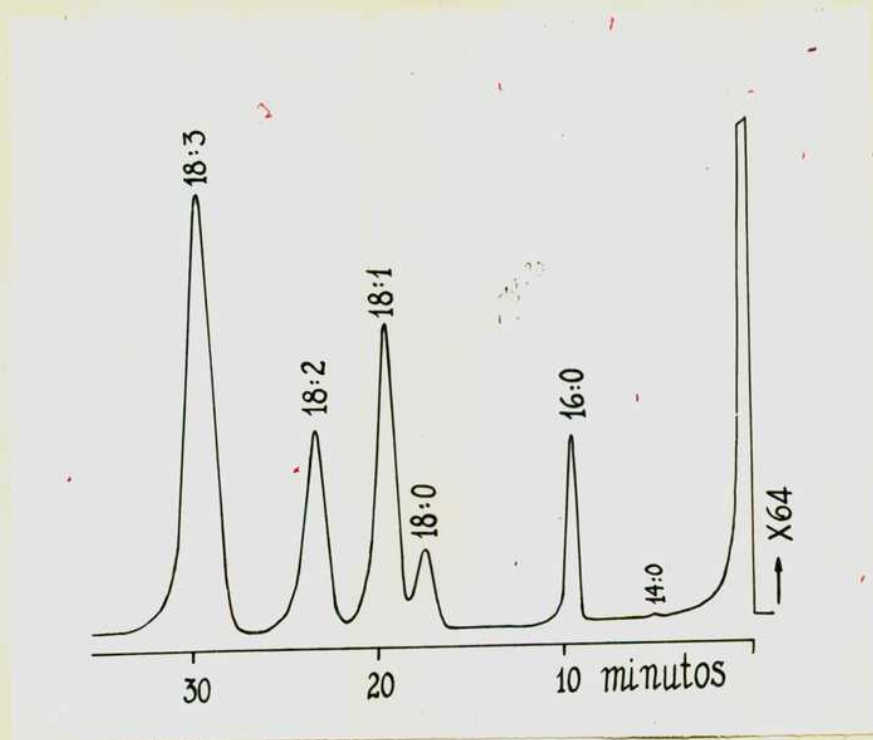


FIGURA 20 - Aceite de semilla var. Buck 114 - 5ta época de siembra -  
 Composición acídica encontrada: 16:0 (7,2); 18:0 (5,1);  
18:1 (21,8); 18:2 (17,1); 18:3 (48,3%).

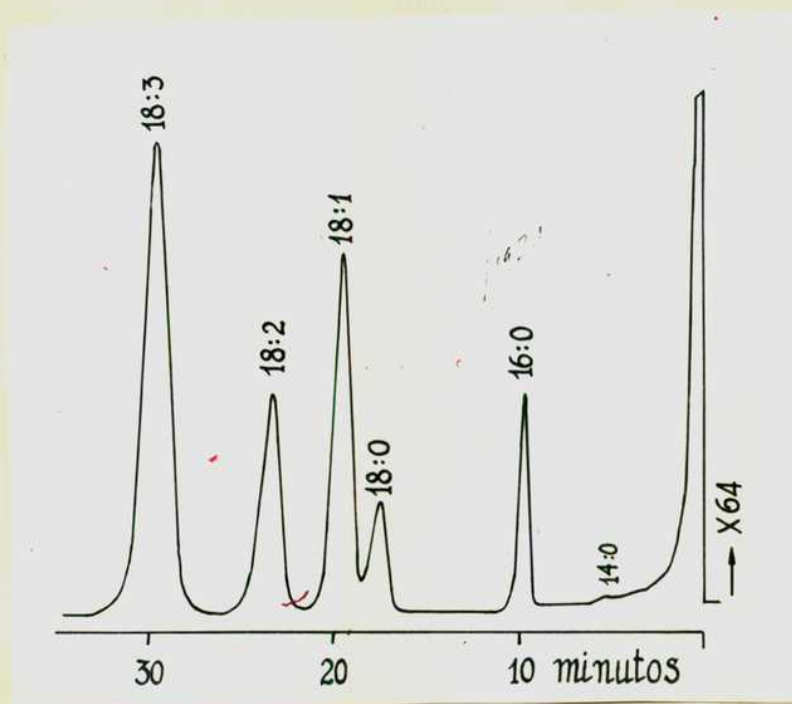


FIGURA 21 - Aceite de semilla var. Buck 114 - 6ta. época de siembra -  
 Composición ácida encontrada: 16:0 (7,3); 18:0 (6,4);  
18:1 (23,2); 18:2 (16,5), 18:3 (46,6%).

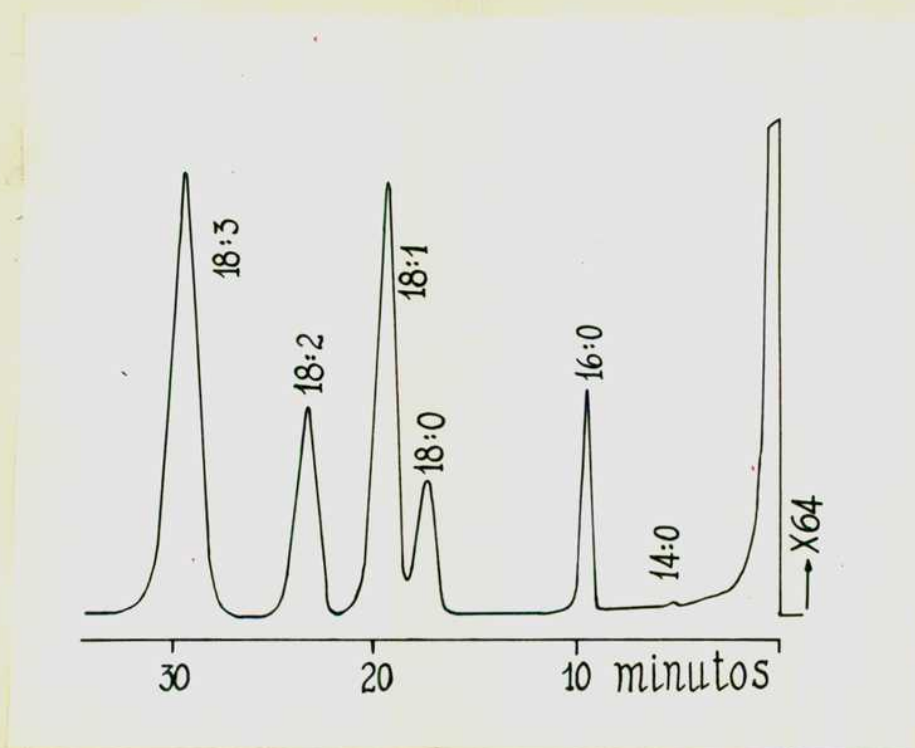


FIGURA 22 - Aceite de semilla var. Buck 114 - 7ma. época de siembra -  
 Composición ácida encontrada: 16:0 (7,1); 18:0 (7,8);  
18:2 (14,8); 18:3 (41,8%) - Valor de 18:2 por U.V. (15,0%);  
 valor de 18:3 por U.V. (41,6%).

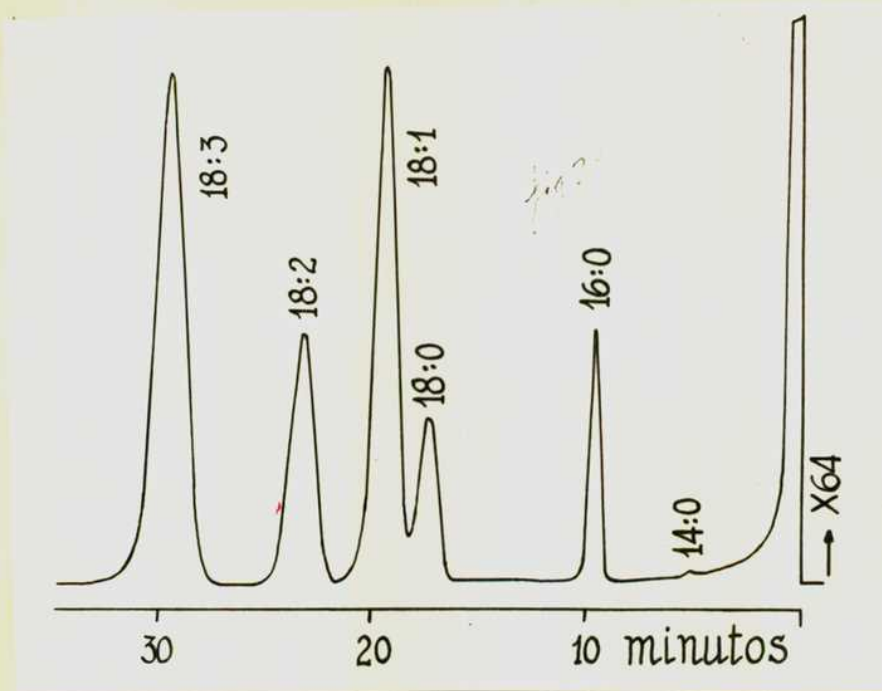


FIGURA 23 - Aceite de semilla var. Buck 114 - 3va. época de siembra -  
 Composición ácida encontrada: 16:0 (7,4); 18:0 (7,4);  
18:1 (23,8); 18:2 (15,4), 18:3 (41,0%)



P A R T E VI

B I B L I O G R A F I A

## B I B L I O G R A F I A

- 1- S. Ivanov, Beihfte Bot. Zentr., 28, (I) 159 (1912)
- 2- T. P. Hilditch y P. N. Willans, "The Chemical Constitution of Natural Fats", Chapman and Hall, 4<sup>a</sup> Ed., London, 1964. pag. 532, 533, 534, 538, 679, 688.
- 3- J. V. Eyre y E. A. Fisher, J. Agric. Sci., 7, 120 (1931)
- 4- J. V. Eyre, Biochem. J., 25, 1902 (1931)
- 5- H. F. Barker, J. Soc. Chem. Ind., 51, 218T, (1932)
- 6- S. Ivanov, Ber. Deut. Bot. Ges., 44, 31 (1926)
- 7- W. G. Rose y G. S. Jamieson, Oil and Soap, 18, 173, (1941)
- 8- E. P. Painter y L. L. Nesbitt, Oil and Soap, 20, 208, (1943)
- 9- D. H. Yermanos y J. R. Goodin, J. Agron., 57, 453 (1965)
- 10- T. P. Hilditch, Nature, 167, 298, (1951)
- 11- C. Dean Dyrbing y C. Don Zimmerman, Plant Physiol., 41, 1465 (1966)
- 12- R. P. A. Sims, W. G. Mc Gregor, A. G. Plessers y J. C. Iles, J. Am. Oil Chem. Soc., 38, 276 (1961)
- 13- R. O. Simons y F. W. Quackenbush, J. Am. Oil Chem. Soc., 31, 441 (1954)
- 14- R. O. Simons y F. W. Quackenbush, J. Am. Oil Chem. Soc., 31, 601 (1954)
- 15- Ching Yuan y K. Blosh, J. Biol. Chem., 236, 1277 (1961)
- 16- F. Meyer y K. Blosh, Biochim. Biophys. Acta, 77, 671 (1963)
- 17- P. K. Stumpf y A. T. James, Biochim. Biophys. Acta, 70, 20 (1963)
- 18- R. V. Harris y A. T. James, Biochim. Biophys. Acta, 106, 456 (1965)
- 19- R. V. Harris, P. Harris y A. T. James, Biochim. Biophys. Acta, 106, 465 (1965)
- 20- H. J. Dutton y T. L. Mounts, J. Lipid Res., 7, 221 (1966)

## B I B L I O G R A F I A

- 21 - A. K. Smith, Econ. Botany, 8, 291 (1954)
- 22- T. P. Osborne, J. Am. Chem. Soc. 14, 629 (1892) (5)
- 23 - B. Vassel y L. L. Nesbitt, J. Biol. Chem., 159, 571 (1945)
- 24 - P. R. Kodangekar, M. R. Mandlekar y T.N. Mehla, J. Ind. Chem. Soc., Ind.  
News Ed., 9 N<sup>o</sup> 1y2, 34 (1946)
- 25 - A. K. Smith, V. L. Johnsen y A. C. Beckel, Ind. Eng. Chem., 38, 353 (1946)
- 26 - A.L. Winton y R.B. Winton, "Structure and Composition of Foods", Vol. 1  
J. Wiley & Sons Ed. N.Y., p 526 (1932)
- 27 - A. J. Erskine y J. K. N. Jones, Can J. Chem., 35, 1174 (1957)
- 28 - C. T. Masson y L. A. Hall., Food Industries, Nac. Ed., marzo, p. 112 (1948)
- 29 - Don S. Bolley y R. H. McCormack, Patente, U.S. 2.593.528 (1952)
- 30 - Hr. Akhtardzhiev y D. Kolez, Compt. Rend., Acad. C.A. 52, 14203 g (1953)  
Bulgare Sci., 10, 387 (1957)
- 31 - K. Zagorski, Ann. Univ. M. Curie Skolodowska, Lublin, Polonia, Secr. A.A.  
14, 59 (1961)
- 32 - E. André y M. Mallié, Compt. Rend., 244, 2091 (1957)
- 33 - E. André y M. Mallié, Compt. Rend., 246, 3272 (1958)
- 34 - E. André y M. Mallié, Compt. Rend., 249, 1142 (1959)
- 35 - S. Manys, Pr. Inst. Przem Wlokien Lykowych, Polonia, 14, 91 (1967) C.A.,  
68; 112190 (1968)
- 36 - O. Mickelsen y M.G. Yang, Federation Proceedings, 25, 104 (1966)
- 37 - Samoureux, G.L., North Dakota State Univ. Fargo (N. Dak), 129 (1966) C.A.,  
69, 37476 N<sup>o</sup> 21 (1969)
- 38 - M. W. Dicks, "Vitamin E Content of Foods and Feeds for Human and Animal Consumption" Division of Biochemistry - Agr. Exp. Station  
Univ. of Wyoming - Bull. 435 (1965) p. 45-46.
- 39 - V. C. Mechlenbacher, "The Analysis of Fats and Oils", The Cassard Press,  
Publ. Champaign, Ill. (1960), 244, 593
- 40 - W. Lange, J. Am. Oil. Chem. Soc., 27, 414 (1950)
- 41 - S. H. Bertram, Z. Untersuch. Lebensm. 55, 179 (1928)

- 42 - D. M. Yermanos, J. Am. Oil. Chem. Soc., 43, 546 (1966)
- 43 - C.I.G.A. Centro de Investigación de Grasas y Aceites (INTI-IAGA) Informe trimestral del 31 de marzo de 1966
- 44 - M. H. Bertoni y P. Cattaneo, Anales Asoc. Quim. Argentina, 47, 52 (1959)
- 45 - G. R. Barttlet, J. Biol. Chem., 234, 466 (1959)
- 46 - S. A. Longo, Tesis, F.C.E. y N., (1967)
- 47 - H. E. Longenecker, J. Soc. Chem. Ind., 56, 199T, (1939)
- 48 - J. A. Harris, F. C. Magne y E. L. Skan, J. Am. Oil Chem. Soc., 41, 309 (1964)



**DR. PEDRO CATTANEO**  
PROFESOR PLLENARIO

