

## Tesis de Posgrado

# Composición química de los lípidos hepáticos de la merluza (*Merluccius hubbsi* Marini)

Del Frade, Irma María Susana

1954

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:**

Del Frade, Irma María Susana. (1954). Composición química de los lípidos hepáticos de la merluza (*Merluccius hubbsi* Marini). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0805\\_DelFrade.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0805_DelFrade.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Del Frade, Irma María Susana. "Composición química de los lípidos hepáticos de la merluza (*Merluccius hubbsi* Marini)". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1954. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0805\\_DelFrade.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0805_DelFrade.pdf)

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

1954

COMPOSICION QUIMICA DE LOS LIPIDOS HEPATICOS DE LA "MERLUZA"  
(MERLUCCIUS HUBBSI MARINI)

TRABAJO DE TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE  
DOCTORA EN CIENCIAS QUIMICAS

IRMA SUSANA DEL FRADE

1954

*Res. de Tesis: 803*

## RESUMEN

Se analizaron lotes de hígado de ejemplares de la especie *Merluccius hubbsi* Marini. La extracción de los lípidos realizada por digestión alcalina con hidróxido de so dio al 1 % y calentando a 70-90°C en atmósfera de nitrógeno, arrojó rendimientos de 45.15 % y 45.09 %.-

Se determinaron sus características: II = 172.6; 169.0; IS = 182.6; 183.3; Índice de peróxido = 17.4; 20.9; - Índice de refracción = 1.4762; 1.4769 a 25°C. Se siguieron las técnicas de A.O.C.S.-

Realizando una saponificación se obtuvieron ácidos grasos e insaponificable determinándose sus caracterís-  
ticas.-

	%	II	IS	PM
Acidos grasos	93.11	177.0 (Hanus)	195.4	287.2
Insaponificable	2.49	80.7 (Rosemund-Kuhnem)	-	-

Sobre el insaponificable se determinó colesterol total por el método de Bloor Belkan y Allen con fotocolorímetro de Klett-Summerson obteniéndose un valor de 90.2 %.

Asimismo se determinó el contenido en vitamina A por método espectrofotométrico con espectrofotómetro Beckman D.U. y aplicando la corrección de Morton Stubbs. Los valores obtenidos son: 1527 y 2371 U.S.P. por gramo de aceite y 68944 y 107041 U.S.P. por 100 gramos de hígado.-

Se fraccionaron los ácidos grasos totales por el método de Tsujimoto en jabones de litio solubles e insolubles en acetona de 95 % a 0°C. Se liberaron los ácidos determinándose sus características. Los ácidos insolubles de litio se fraccionaron según la técnica de Twitchel en jabones "líquidos" y "sólidos" de plomo (solubles e insolubles en alcohol-acético respectivamente). Se liberaron los ácidos determinándose sus características.

	% a.g.t.	II	IS	PMM
Acidos solubles Li	25.59	352.7	187.9	313.7
Acidos insolubles Li	74.41	112.6	198.1	283.2
Acidos "líquidos" Pb	48.27	155.1	193.5	289.9
Acidos "sólidos" Pb	26.14	27.9	207.6	270.2

Se esterificaron los ácidos solubles Li, "líquidos" Pb y "sólidos" Pb con metanol, catalizando con 1 % de ácido sulfúrico. Se realizaron las destilaciones de dichos

ésteres en columna tipo Longenecker a un vacío de 0.5 mm. de Hg. determinando los II, IS y PH de las fracciones de destilación. Estas fueron resueltas matemáticamente llegando a expresar la composición de la grasa en ácidos % de ácidos grasos totales.-

Componentes mayores:

Palmitico (C <sub>16</sub> )	15.52 %
No saturados en C <sub>18</sub> - 3.1 H	23.40 %
No saturados en C <sub>20</sub> - 6.7 H	19.08 %
No saturados en C <sub>22</sub> - 8.4 H	24.99 %

Componentes menores:

Mirístico (C <sub>14</sub> )	3.59 %
Estearico (C <sub>18</sub> )	2.32 %
Miristoleico (C <sub>14</sub> - 2 H)	0.48 %
Palmitoleico (C <sub>16</sub> - 2 H)	7.55 %
No saturados en C <sub>24</sub> - 5.9 H	3.07 %

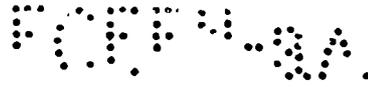
Algunas fracciones de destilación de los ésteres "líquidos" de plomo fueron estudiadas espectrofotométricamente. Para ello se isomerizaron los ésteres con hidróxido de potasio al 6.5 % en etilen-glicol calentando a 180 ± 0.5°C en atmósfera de nitrógeno durante 45 minutos.- Se determinó luego la absorción en el ultravioletado con un espectrofotómetro Beckman modelo P.U. Se determinaron máximos de absorción a 233, 268, 315, 346 y 374 m correspondientes a las zonas de di, tri, tetra, penta y hexaeti-

lénicos. Se observó que las conclusiones deducidas de este estudio concordaban con la composición calculada matemáticamente para las distintas fracciones.-

*H. Gallardo*

*Luna del Prado*

TESIS



BAJO LA DIRECCION DEL DOCTOR RODOLFO R. BRENNER

DOCENTE AUTORIZADO

CATEDRA DE BROMATOLOGIA Y ANALISIS INDUSTRIALES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

A MI MADRE

MEMORIA DE MI PADRE

Sea para el Doctor Rodolfo R. Brenner, investigador ejemplar que con su extraordinaria experiencia en el tema me dirigió en todo momento, colaborando asimismo en el trabajo con una dedicación y un entusiasmo admirables, mi más sincero agradecimiento.-

Al Doctor Pedro Cattáneo, quien supo despertar ya en las clases de Bromatología mi interés por el estudio de los lípidos, agradezco todo - el caudal de conocimientos que entonces me supo -- transmitir, así como en particular su insustituible colaboración al realizar las destilaciones de los ésteres metílicos en el presente trabajo.-

Agradezco también la colaboración de los Profesores A. Nani y F. Gneri quienes clasificaron los ejemplares y realizaron el estudio de sus características biológicas; a los Doctores S. Schreyer y V. Deulofeu que facilitaron los espectrofotómetros utilizados; a los Doctores Roberto F. Recoder, Ernesto Brenner y Héctor Chalhub, quienes en una u otra forma hicieron posible alcanzar la meta en tan corto tiempo.-

Buenos Aires - 8 de septiembre de 1954

Día de la Natividad de la Virgen

## INTRODUCCION

La enorme importancia que está tomando en nuestro país la investigación de la fauna marina, nos llevó a estudiar la composición en ácidos grasos de los lípidos acumulados en el hígado del *Merluccius hubbsi* Marini (Merluza).-

La merluza es un pez magro y posee por consiguiente un rico depósito graso hepático. Generalmente la riqueza vitamínica disminuye al aumentar el contenido graso en dicho órgano; por esta razón resulta interesante conocer no sólo la composición en ácidos grasos sino también la potencia vitamínica, determinación que se realiza sobre el insaponificable de los lípidos en estudio.-

El presente trabajo es simultáneo con los estudios biológicos que sobre la citada especie son realizados en el Museo de Ciencias Naturales y que conducen hacia un mayor conocimiento de la potencialidad económica que representa la pesca de la merluza frente a las costas bonaerenses.-

Los ejemplares estudiados, que provenían de la zona oceánica situada sobre la plataforma submarina frente al Río de la Plata, fueron pescados a principios de junio de 1954. Según el Profesor A. Nani pertenecen muy probablemente a la especie *Merluccius hubbsi*, estando aún en estudio la clasificación definitiva; es al parecer la especie que predomina en las costas atlánticas de la República Argentina y del Uruguay. Otras especies conocidas son: el *Merluccius senegalensis polli* y el *Merluccius capensis*; ambas viven en las costas atlánticas africanas; el *Merluccius australis* y *Merluccius gayi* que viven en el Océano Pacífico en las costas chilenas; el *Merluccius merluccius* que vive en las costas europeo-atlánticas; el *Merluccius productus* que vive en

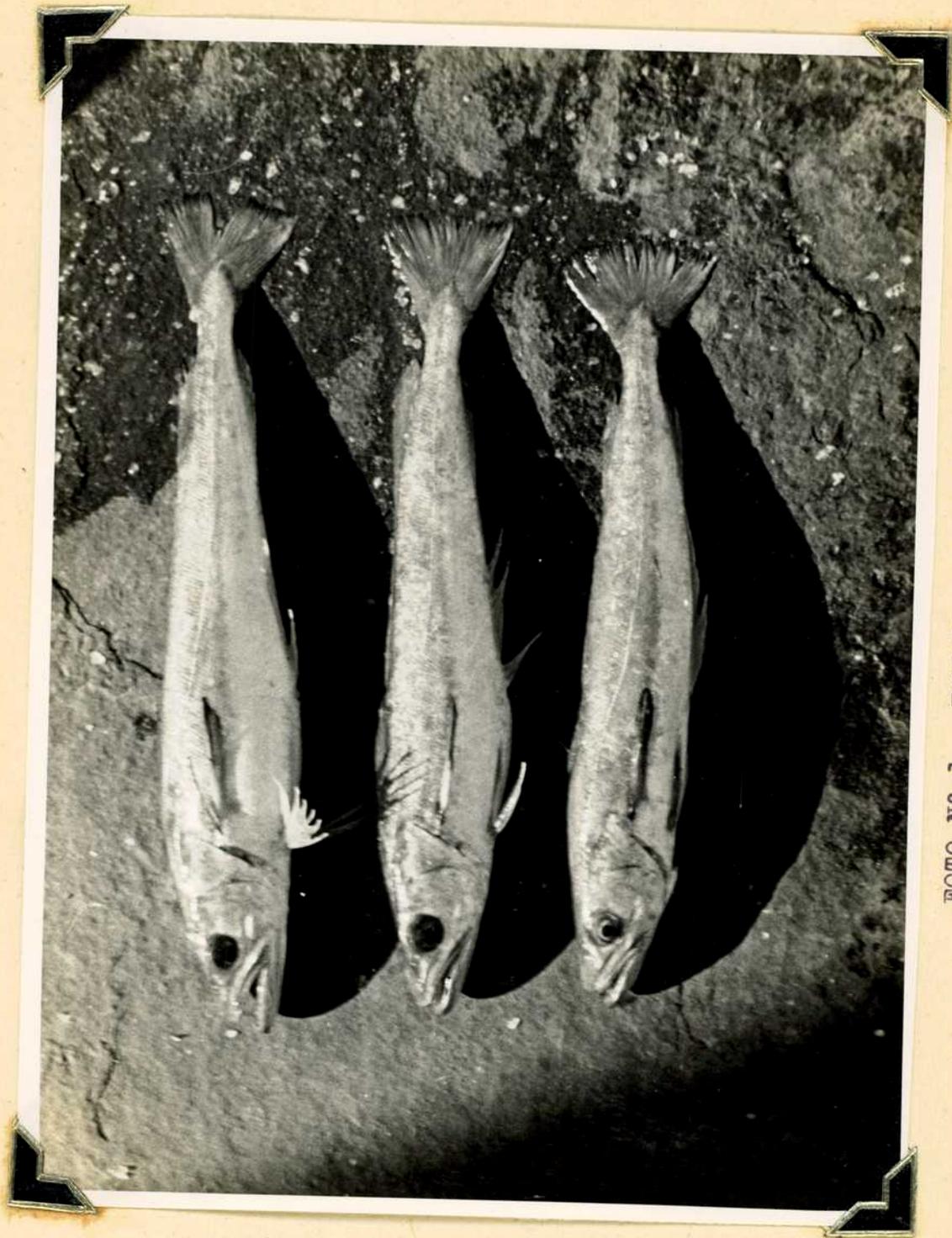


FOTO N° 1 - EJEMPLARES DE MERLUZA

el Océano Pacífico frente a California y el *Merluccius bilinearis* que vive en el Océano Atlántico frente a las costas norteamericanas.-

## CAPITULO I

### CARACTERISTICAS BIOLOGICAS

#### Taxonomía:

Clase: Pisces (Teleostomi)

Orden: Anacanthini

Familia: Merlucciidae

Género: Merluccius

Especie (sp): Merluccius hubbsi Marini

#### Morfología:

Las características morfométricas están tabuladas en el cuadro I. Dichas características, no corresponden a los ejemplares cuyos hígados fueron estudiados. Se han tomado peces de distintos tamaños y sexo con el fin de hacer resaltar las variaciones que se producen en función de dichas variables, sobre el rendimiento en hígado con respecto al peso del pez.-

#### Habitat:

El Merluccius hubbsi Marini vive en la masa de agua fría de la corriente de Malvinas, distribuyéndose a lo largo del Mar Epicontinental Argentino en profundidades que varían con la latitud.-

En el litoral patagónico vive casi sobre la misma costa; en cambio frente a Mar del Plata desde 90 m. hacia mayores profundidades. Es un pez que habita las capas de agua próximas al fondo.-

#### Régimen alimenticio:

Se trata de un pez carnívoro; cuando es de pequeña talla se alimenta de pequeños crustáceos; a medida -

ANEXO I - RESULTADOS DE LA INVESTIGACION

DESCRIPCIÓN	FEBR 1954				AÑO 1954									
	ca.	820	710	542	692	170	530	425	393	338	660	715	129	
area total	750	755	660	305	625	10	490	580	350	290	585	645	655	
peso total	5245	3050	2300	270	2340	1400	745	440	410	242	1550	1700	2155	
peso vísceras	380	305	270	20	280	130	65	20	35	11.5	118.5	145.5	275	
peso hígado	117	113	120	12	175	45	35	15	19.2	4.4	30.2	45.7	125	
hígado en milímetros	30.8	29.0	44.4	6.0	62.5	34.0	53.8	53.5	54.1	37.3	30.6	30.7	45.5	
hígado en pez	3.0	3.7	5.0	4.4	7.5	7.5	6.7	3.4	4.7	1.8	2.4	2.0	5.8	
Sexo	♀	♀	♀	♂	♀	♀	♀	♂	♂	♂	♀	♀	♀	

Nota: Las medidas lineales se expresan en milímetros y los pesos en gramos.

que crece su dieta incluye peces de tamaño mayor, calamares y crustáceos cada vez más grandes. Cuando adulto es un pez predador ictiófago siendo frecuente los casos de canibalismo.

Reproducción:

Es un pez ovulíparo es decir de fecundación externa y de gran potencial biótico.-

## CAPITULO II

### CONTENIDO GRASO - CONSTANTES FISICAS Y QUIMICAS DE LOS LIPI- DOS HEPATICOS DEL MERLUCCIUS HUBBSI

El estudio se realizó sobre dos muestras conjuntas de hígado de merluza. Los peces provenían de la plataforma continental frente al Río de la Plata y fueron pescados a fines de mayo y a principios de junio de 1954. En ambos casos los ejemplares fueron conservados en cámaras con geladoras hasta el momento de extracción de los órganos; los hígados a su vez fueron guardados a temperaturas inferiores a cero grado.-

Para la extracción de los lípidos se utilizó el proceso de digestión alcalina por calentamiento con hidróxido de sodio al 1 % a una temperatura de 70-90°C durante 30 minutos y en corriente de nitrógeno (2). Posteriormente se realizaron extracciones con éter etílico libre de peróxidos hasta agotamiento del material.-

La grasa así obtenida se presentó como un líquido viscoso de color amarillo claro y olor característico. Al ser dejada en reposo separó al segundo día una porción no muy considerable de glicéridos sólidos.-

El método de Rensburg et al (2) debe ser aplicado para órganos bien conservados y que no hayan sufrido alteración enzimática porque sino gran cantidad de ácidos grasos se perderían bajo la forma de jabones. Nuestras condiciones de trabajo nos permiten asegurar prácticamente la ausencia de pérdidas y los rendimientos obtenidos: 45.15% y 45.09 % para ambos lotes respectivamente, están de acuerdo con valores hallados por Guha et al (24) para el Merluccius

merluccius. Tal comparación no puede sin embargo ser absoluta, dado que el contenido graso hepático varía con la época y estado de reproducción, como bien lo ha señalado Van Rensburg para el *M. capensis* (3). Sus valores, que pueden considerarse cifras promedio, dan un rendimiento de 28.8 % similar a su vez al 23.2 % hallada para el *M. gayi* (4). En nuestro país la Doctora Castellanos aplicó una serie de métodos y halló valores sumamente dispares, que debido a la falta de información, debemos sin embargo suponer tienen por causa la edad, época y estado sexual de los ejemplares estudiados. (5) Por extracción acetónica, encontró para la merluza argentina rendimientos que oscilan del 6 al 25 % mientras que con benzol previa deshidratación con sulfato de sodio, el rendimiento osciló entre 10 y 40 %. Por último, la extracción con una mezcla binaria bencénica dió cifras que van del 22 al 44 %.-

A la grasa extraída se le determinaron diversas constantes físicas y químicas que permiten no sólo tener una idea de su composición sino también de su estado de conservación. Los valores obtenidos están anotados en el cuadro II.

CUADRO II - CONTENIDO GRASO - CONSTANTES FISICAS Y QUIMICAS

Ensayo sobre lote	1	2
Contenido graso %	45.15	45.09
Indice de Refracción 25°C	1.4762	1.4769
Punto de Fusión	-. -	25.5°C
Acidez	grasa neutra	grasa neutra
Indice de Iodo (Hanus)	172.6	169.0
Indice de saponificación	182.6	183.3
Indice de peróxido	17.4	20.9



FOTO Nº 2 - EJEMPLAR DE MERLUZA CON HIGADO "IN-SITU"

Los valores del índice de peróxido (Riemenschneider) expresados en milimoles de -O-O- por kilogramo de aceite, dan una idea de la posible alteración del material en estudio. Respecto de la acidez, que suele tenerse en cuenta como otro índice de la alteración de las grasas, podemos decir que en nuestro caso no tiene ese significado, ya que por el método de extracción la grasa debe ser necesariamente neutra.-

El aceite de hígado del *M. hubbsi* presenta un índice de iodo sumamente elevado (169.0; 172.6) el cual por otra parte está de acuerdo para el *M. capensis* sudafricano - (163.6) siendo superior al del *M. merluccius* (150.6; 158.5; 149.2) y *M. gayi* (139.5). Tal diferencia sin embargo no puede ser considerada como específica mientras no se tengan mayores informaciones, por lo menos a lo largo de un año completo.-

### CAPITULO III

#### COMPOSICION EN ACIDOS GRASOS DE LOS LIPIDOS HEPATICOS DEL MERLUCCIUS HUBESI - COMPOSICION FINAL Y TOTAL EN ACIDOS - GRASOS - ESPECTROFOTOMETRIA

Acidos grasos totales e insaponificables: Realizando una saponificación con hidróxido de potasio alcohólico se fraccionaron 273.0 g. de la grasa del lote 2 en jabones e insaponificable. Esta se extrajo hasta agotamiento del material con éter etílico libre de peróxidos. Por acidificación de los jabones se liberaron los ácidos grasos, los cuales se extrajeron en idéntica forma.-

El rendimiento de ácidos totales e insaponificable se determinó en muestra aparte, arrojando los valores anotados en el cuadro III. Los índices correspondientes se determinaron sin embargo en los productos del primer fraccionamiento.-

CUADRO III - ACIDOS GRASOS TOTALES E INSAPONIFICABLE

	%	II	IS	PM
insaponificable	2.49	80.7 (Rosemund Zunnen)	--	--
Acidos totales	93.11	177.0 (Janus)	195.4	287.2

Al realizar la acidificación de los jabones totales, se produjo un fuerte desprendimiento de ácido sul-

fhídrico. Su origen debe atribuirse con toda seguridad a aminoácidos ricos en azufre (cistina) que fueron liberados de las proteínas del hígado por el hidróxido de sodio y arrastrados con las grasas en el extracto etéreo (lipoproteínas?). La saponificación posterior permitió que quedaran como sulfuros junto con los jabones en el medio hidroalcohólico y se desprendieran como sulfhídrico al acidificarlos.-

Fraccionamiento con sales de litio - Ácidos solubles e insolubles en acetona: La técnica seguida es la de Tsujimoto y se detalla en la parte experimental.-

Transformando los ácidos totales en jabones de litio se logró su fraccionamiento en dos porciones: una soluble y otra insoluble en acetona al 95 % a la temperatura de 0°C.-

Los ácidos grasos se liberaron de los jabones por tratamiento con ácido clorhídrico. La fracción soluble (25.59 %) (a) contiene los ácidos polietilénicos y pequeña cantidad de monoetilénicos. La fracción insoluble - (74.41 %) (b) contiene los ácidos saturados monoetilénicos. Esto sería exacto en caso de cumplirse estrictamente las condiciones teóricas, pero se observó que dado el gran porcentaje de ácidos polinosaturados existentes, éstos son arrastrados a la fracción insoluble de litio. Tal hecho fué comprobado en el estudio espectrofotométrico que se detalla más adelante.-

La fracción de jabones solubles está formada por ácidos muy no saturados (II: 352.7) lo que hace esperar alta proporción de ácidos tetra, penta y hexaetilénicos. Estos ácidos solubles arrastran una proporción importante de insaponificable tal como fué hallada en la última fracción y en el residuo de la destilación de los ésteres metílicos correspondientes. Dicho valor fué aplicado en la corrección de los rendimientos de las diversas fracciones.-

Fraccionamiento con sales de plomo - Acidos solubles e insolubles en alcohol-acético: Los ácidos insolubles de litio provenientes del tratamiento anterior fueron fraccionados siguiendo la técnica de Twitchell (6) por transformación en jabones de plomo obteniéndose dos porciones: (c) constituida por ácidos monoetilénicos mezclados con ácidos polietilénicos y saturados ("líquidos"); (d) constituida por ácidos saturados con algo de monoetilénicos ("sólidos").

En el cuadro IV pueden observarse los rendimientos obtenidos y los índices determinados sobre dichos ácidos y sobre sus ésteres metílicos.-

Esterificación y fraccionamiento por destilación de los ácidos "solubles" (Li) (a), "líquidos" (Pb) (c) y "sólidos" (Pb) (d): Se obtuvieron los ésteres metílicos de las fracciones (a), (c) y (d) determinándose sus índices y sometidos a destilación en columna tipo Longenecker a un vacío de 0.5 mm. Hg.-

De las fracciones obtenidas en cada destilación se determinaron los índices de iodo y saponificación por medio de los cuales se pudo calcular la composición en ácidos grasos, tal como está detallado en el Capítulo VI. Las composiciones halladas se detallan en los cuadros IX, X y XI.-

En la fracción de ésteres solubles (Li) la no saturación hallada para el  $C_{16}$  correspondió a la del ácido palmitoleico, lo cual haría suponer la ausencia de no saturaciones mayores. Sin embargo la imposibilidad de calcular miristoleato de metilo en la primera fracción, cuando el mismo debió ser calculado en las tres primeras fracciones de la destilación de ésteres líquidos (Pb), hace suponer que pequeñas cantidades del mismo han pasado desapercibidas en la mayor masa de los ácidos con 16 y 18 átomos de carbono y originando una pequeña duda en la exactitud de la existencia única de  $C_{16} - 2 H$ .-

CUADRO IV - FRACCIONAMIENTO CON SALES DE LI Y PB - RENDIMIENTO-CARACTERIS-  
TICAS DE LAS FRACCIONES Y DE SUS ESTERES METILICOS

	Rendimiento		II. (Planus)	I.S.	P.M.M.
	% de Aci- dos Insol- ubles (Li)	% de Aci- dos rasos Totales			
Acidos solu- bles (Li)		25.59	352.7	187.9	313.7
Acidos Insol- bles (Li)		(25.34)	345.4	171.5	327.1
Acidos "Liqui- dos" (Pb)	64.87	48.27 (48.43)	155.1	193.5	289.9
Acidos "Sól- dos" (Pb)	35.13	26.14 (26.23)	148.0	184.0	304.9
			27.9	207.6	270.2
			27.1	198.4	282.8

El promedio de la no saturación de la serie de ácidos en  $C_{18}$  fué de 2.6 lo que indica la existencia de no saturaciones superiores a dicho valor que vienen a elevar la cifra correspondiente al ácido oleico. Dicho ácido con mucha probabilidad, sea el ácido estearidónico con cuatro dobles ligaduras.-

El grupo de ácidos con 20 átomos de carbono parecería estar constituido fundamentalmente por araquidónico y un ácido con cinco dobles ligaduras. Tal suposición obtenida considerando trabajos como los de Toyama y Tsuchiya (7) para aceite de sardina y confirmada por otros autores, convendría fuera verificada experimentalmente por aislamiento.-

En el grupo con 22 átomos de carbono, los ácidos predominantes fueron el olupanodómico con cinco dobles ligaduras, y dado que la no saturación promedio fué de 5.6 también un ácido docosahexénico. Ambos ácidos han recibido el aporte de una serie de estudios como los de Toyama y Tsuchiya (8) (9) que permiten afirmar su existencia en la mayoría de los aceites de pescados marinos.-

En el residuo de la destilación de los ésteres "solubles de  $L_1$ " que es justamente donde se acumulan todos los errores, se pudieron aislar previa saponificación y eliminación del insaponificable, ácidos cuyo peso molecular medio determinado fué de 330.7. Tal valor obligó a calcular como presente un ácido con 24 átomos de carbono. Como confirmación de este dato, en los residuos de las destilaciones de los ésteres "líquidos" (Pb) y de los ésteres "sólidos" (Pb) debió calcularse también ácidos con 24 átomos de carbono dado que los pesos moleculares medios respectivos de los ácidos aislados, fueron 343.6 y 359.5. La no saturación es dudosa y para el caso de los ésteres solubles de  $L_1$  se supuso de seis dobles ligaduras. Para los otros, "líquidos" (Pb) y "sólidos" (Pb) las no saturaciones calculadas fue-

ron 3.7 y 1.4. Toyama y Tsuchiya (10) ya en el año 1935 señalaron la existencia de tetracosahexenoico y tetracosapentenoico en aceites de pescado y aún por ozonólisis determinaron la posible posición de las dobles ligaduras. Matuda y Ueno (11) señalan la presencia de un ácido de 24 átomos de carbono y siete dobles ligaduras para el aceite de bonito (*Eutinus pelamys*). Dado que, si bien en el cálculo del residuo de los ésteres solubles de Li hemos supuesto que el  $C_{24}$  era hexaetilénico, el cálculo de la no saturación de dicho ácido en base al valor obtenido para  $C_{22}$  nos hubiera dado una cifra mucho mayor (8.5 dobles ligaduras). Pese a que dicho valor fué desechado como poco probable por la acumulación de errores que se producen en el residuo, conviene señalarlo ante las investigaciones realizadas por Matuda y Ueno.-

En el cálculo de la composición de los ésteres líquidos de Pb se encontraron también fracciones con no saturación muy elevada lo que indica la existencia de ácidos polietilénicos en cantidades importantes. Los ácidos con 18 átomos de carbono presentaron una no saturación promedio un poco superior a una doble ligadura, lo que indica un predominio abundante del ácido oleico. Los ácidos con 20, 22 y 24 átomos de carbono presentaron a su vez no saturaciones promedio de 2.4, 3.4 y 3.7 dobles ligaduras. Espectrofotométricamente como se verá más adelante, fueron estudiadas estas últimas fracciones y se pudo tener así una idea de los tipos de ácidos que las componen. En el residuo se aislaron 0.54 g de insaponificable que se consideró de origen extraño, dado que en la reconstrucción de los valores de los índices de saponificación, así se dedujo.-

En los ésteres metílicos sólidos (Pb) por causas similares, se consideraron de origen extraño a los 0.12 g aislados del residuo. Dado que tanto los ácidos só

lidos" como los "líquidos" de Pb estaban comprendidos en los ácidos insolubles de Li el insaponificable propio de la grasa y que no fué extraído en la separación de los ácidos totales, debe aparecer en los jabones de Li solubles en acetona.

En los ésteres metílicos "sólidos" de Pb el cálculo permitió hallar como saturados unicamente a los ácidos mirístico, palmítico y esteárico, que iban acompañados con palmitoleico, oleico, eicosenoico y ácidos en C<sub>22</sub> y C<sub>24</sub> con una no saturación promedio de más de una doble ligadura.-

Composición total en ácidos grasos: Resumiendo los resultados parciales de las fracciones solubles (Li), "líquidos" (Pb) y "sólidos" (Pb), se calculó la composición de los ácidos grasos totales de los lípidos hepáticos del M. hubbsi según se expresa en el cuadro V.-

CUADRO V - COMPOSICION DE LOS ACIDOS GRASOS TOTALES DE LOS LIPIDOS HEPATICOS DEL M. HUBBSI

Acidos	g. % de ácidos totales	moles %
Mirístico (C <sub>14</sub> )	3.59	4.55
Palmítico (C <sub>16</sub> )	15.52	17.53
Esteárico (C <sub>18</sub> )	2.32	2.36
Miristoleico (C <sub>14</sub> - 2 H)	0.48	0.61
Palmitoleico (C <sub>16</sub> - 2 H)	7.55	8.59
No saturados en (C <sub>18</sub> - 3.1 H)	23.40	24.08
No saturados en (C <sub>20</sub> - 6.2 H)	19.08	18.04
No saturados en (C <sub>22</sub> - 8.4 H)	24.99	21.79
No saturados en (C <sub>24</sub> - 5.9 H)	3.07	2.45

Son componentes mayores de esta grasa, los ácidos palmítico, no saturados en C<sub>18</sub> - 3.1 H, no saturados en C<sub>20</sub> - 6.2 H y no saturados en C<sub>22</sub> - 8.4 H.-

Los ácidos mirístico, esteárico, miristoleico, palmitoleico y no saturados en C<sub>24</sub> - 5.9 H se consideran componentes menores.-

Si solamente se tienen en cuenta el número de átomos de carbono y se prescinde de las no saturaciones, se puede observar que predominan los ácidos de las series de C<sub>18</sub> y C<sub>16</sub> siendo su contribución a la composición total prácticamente igual. Les siguen en importancia los ácidos de la serie de C<sub>22</sub> y recién entonces la de C<sub>20</sub>.- (Ver cuadro VI).

CUADRO VI - COMPOSICION DE LOS ACIDOS TOTALES

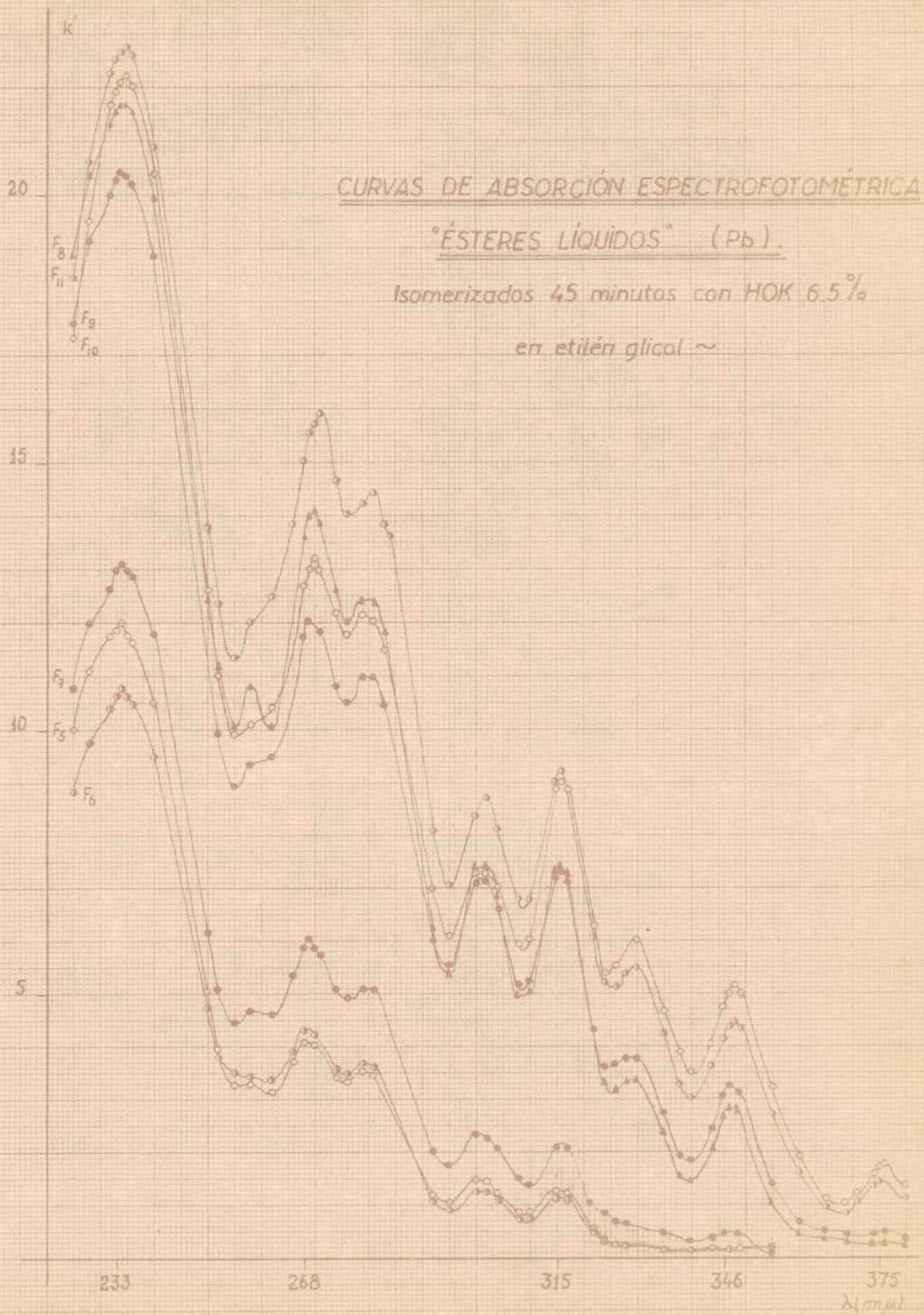
Acidos en	Moles % moles
C <sub>14</sub>	5.16
C <sub>16</sub>	26.12
C <sub>18</sub>	26.44
C <sub>20</sub>	18.04
C <sub>22</sub>	21.79
C <sub>24</sub>	2.45

Estudio espectrofotométrico de los ésteres "líquidos" (Pb):

Pese al fraccionamiento con sales de litio, los jabones "líquidos" de plomo, obtenidos de los jabones de litio insolubles, al ser transformados en ésteres metílicos y posteriormente destilados, suministraron cortes de destilación con un índice de iodo tan alto que debió admitirse la existencia de cantidades considerables de ésteres polietilénicos.-

Para comprobar su presencia se estudiaron espectrofotométricamente en el ultravioletado una serie de estas fracciones (Fracción 5 a 11). Primero se provocó el corrimiento de las dobles ligaduras a posiciones conjugadas por tratamiento con una solución al 6.5 % de hidróxido de potasio en etilen-glicol durante 45 minutos en atmósfera de nitrógeno. Las cantidades utilizadas fueron las especificadas por el A.O.C.S. (12) (13) (14). Una vez isomerizadas y previa disolución en alcohol absoluto se midió la absorción producida desde 225 hasta 380 m $\mu$ . utilizando un espectrofotómetro Beckman D.U. Los valores de los coeficientes de extinción ( $k = \frac{d}{c \cdot l}$ ; d = densidad óptica; c = concentración g % l = espesor en centímetros) fueron representados en función de las longitudes de onda pudiéndose así comparar simultáneamente y extraer una serie de conclusiones:

1 $^{\circ}$ ) El fraccionamiento con sales de litio para ácidos con muy alto contenido en ácidos polietilénicos, como es el caso del aceite de hígado de merluza, no es de ninguna manera absoluto y altísimas proporciones de los mismos aparecen en los jabones "líquidos" de Pb. Ello se manifiesta en los valores de los coeficientes de extinción relativamente elevados hallados en las fracciones líquidas de plomo para ácidos di, tri, tetra, penta y hexaetilénicos. Todo ello está en concordancia con los índices de iodo de las fracciones estudiadas.-



29) El número de dobles ligaduras crece con el aumento del número de átomos de carbono y de máximos a 233  $m\mu$  (dietilénico) y 268  $m\mu$  (trietilénico) se pasa en fracciones de mayor peso molecular, a 315  $m\mu$  (tetraetilénicos), 346  $m\mu$  (pentaetilénico) y 374  $m\mu$  (hexaetilénico).-

Es necesario señalar sin embargo que los máximos a longitudes de onda mayores a 233  $m\mu$  por efecto del proceso de isomerización en sí, absorben en los máximos de menor longitud de onda. Es decir, un ácido tetraetilénico que luego de isomerizado produce absorción máxima a 315  $m\mu$ , presentará también máximos a 268 y 233  $m\mu$ .-

Otro efecto que también es necesario señalar es que un ácido oxidado presenta un máximo en el orden subsiguiente al que le corresponde por el número de dobles ligaduras (15) (16). Es decir, aparecerá por ejemplo un máximo a 315  $m\mu$  cuando el número de dobles ligaduras propias del ácido sólo le permitirían presentar un máximo a 268  $m\mu$ .-

Todo esto debe ser tenido en cuenta para apreciar los resultados en su justo valor.-

32) En las Fraciones 5 y 6 que matemáticamente fueron resueltas para  $C_{16}$  y  $C_{18}$ , los máximos apreciables se desarrollan a 233, 268 y 315  $m\mu$ , mientras que el máximo a 346  $m\mu$  prácticamente pasa desapercibido, lo que nos indica prácticamente la ausencia de dobles ligaduras pentaetilénicas. El pequeñísimo valor observado puede ser atribuido con mucha probabilidad a impurezas de ácidos con veinte átomos de carbono o a un pequeño principio de oxidación desarrollado durante la semana en que se mantuvieron a vacío los ésteres destilados, antes de su observación espectrofotométrica.-

El índice de iodo de ambas fracciones es prácticamente el mismo ( $F_5 = 111.6$  y  $F_6 = 111.8$ ) y ello explica

la casi superposición de sus curvas de absorción. Cabe sin embargo tratar de explicar todavía el máximo de  $F_5$  a  $233 \text{ m}\mu$  que es mayor que el correspondiente al de  $F_6$ . Dicha explicación debe estar de acuerdo con hechos similares observados en las otras fracciones y ya ha sido señalado por Brenner et al (1) en la espectrofotometría de las fracciones de jabones solubles de litio obtenidas del pez de agua dulce *Leporinus affinis*. Este punto será explicado algo más adelante. (Conclusión 6).-

48) Las Fracciones 7 y 8 se resolvieron matemáticamente para ácidos en  $C_{18}$  y  $C_{20}$  aunque hay un brusco cambio en el índice de iodo de ambas. Esto hace sospechar que  $F_7$  de  $II = 122.1$ , está prácticamente constituida por  $C_{18}$  lo cual está corroborado por sus máximos de absorción, que cuantitativamente se asemejan a los de  $F_5$  y  $F_6$ . Hay sin embargo un máximo bien reconocible a  $346 \text{ m}\mu$ , que se suma a los otros a menor longitud de onda, que indica la presencia de la serie en  $C_{20}$ .

La Fracción 8 por el contrario ( $II = 179.2$ ) está prácticamente constituida por  $C_{20}$  y se aproxima a las fracciones superiores. El pequeño máximo a  $374 \text{ m}\mu$  que aparece aquí es justamente una corroboración de este pensar.-

58) Las Fracciones 9, 10 y 11 se resolvieron matemáticamente para la presencia simultánea de las series con 20 y 22 átomos de carbono. Aparece bien señalado el máximo a  $374 \text{ m}\mu$  que corresponde a dobles ligaduras hexaetilénicas. Para la Fracción 9, cuyo índice de iodo ( $171.2$ ) es algo inferior al de la Fracción 8, los máximos a  $233$  y  $268 \text{ m}\mu$  son también inferiores a los de dicha fracción; y los máximos a  $315$ ,  $346$  y  $374 \text{ m}\mu$  son superiores. Ello indica el reemplazo bien marcado de la serie de  $C_{18}$  por la serie de  $C_{22}$ .

El pequeñísimo descenso que a su vez presenta la Fracción 11 con respecto a la anterior en los máximos a 346 y 374  $m\mu$  y el aumento en los observados a 233 y 268  $m\mu$  podría ser explicado por una acción fraccionadora de la columna dentro de la misma serie de 22 átomos de carbono. Destilarían así más polietilénicos superiores en la  $F_{10}$  que en la  $F_{11}$ . Menos afortunada que esta suposición y prácticamente improbable sería admitir la existencia de una pequeña polimerización.-

6R) El descenso del valor de ciertos máximos, por ejemplo el de 233  $m\mu$  entre  $F_5$  y  $F_8$  o los de 233, 268 y 315  $m\mu$  para  $F_8$  y  $F_9$  se originan en muchos casos cuando se produce una variación en la composición del destilado, desapareciendo una serie y apareciendo otra con mayor número de átomos de carbono.-

La explicación de tal fenómeno puede basarse en cierto casos en que la destilación realiza un fraccionamiento dentro de la serie de igual número de átomos de carbono; y en otros en que para ácidos de diferente número de átomos de carbono e igual no saturación, tendrá mayor índice de iodo aquel cuyo peso molecular sea menor.-

Resumiendo puede señalarse que los resultados espectrofotométricos están de acuerdo con los datos determinados sobre las fracciones de destilación y con los valores obtenidos en el cálculo matemático.-

#### La composición en ácidos grasos de los lípidos hepáticos del *Merluccius hubbsi* en relación con otros peces:

Los aceites de hígado de la merluza europea - (*M. merluccius*), de la merluza de Nueva Zelanda (*M. gayi*) y de la merluza de Sudáfrica (*M. capensis*) han sido estudiados por distintos investigadores y los resultados obtenidos fue-

CUADRO VII - COMPARACION DE LOS LIPIDOS HEPATICOS DE DIVERSAS ESPECIES DEL GENERO MERLUCCIUS

Especie	Contenido graso %	I.I.	I.S.	Ins. %	Saturados						No saturados					
					C14	C16	C18	C20-22	C14	C16	C18	C20	C22	C24		
Merluccius merluccius (24)	50	150.6	185.3	0.91	7	13	-	-	Traza	17 (-2H)	18 (-3H)	31 (-5H)	14 (-2H)	-	-	
Merluccius merluccius (24)	-	158.5	184.4	1.65	5.5	11	0.5	-	-	8	34	25	16	-	-	
Merluccius merluccius (24)	-	143.2	186.2	1.21	4.5	12	0.5	-	-	12 (-2H)	27 (-3H)	30 (-4H)	14 (-6H)	-	-	
Merluccius gayl (4)	23.2 (vapor)	139.5	185.8	3.3	2.1	18.4	1.2	-	-	7.7 (-2H)	30.7 (-3H)	28.2 (-6.5H)	14.3 (-10.3H)	-	-	
Merluccius gayl (4)	-	-	-	-	2.1	18.4	1.2	-	-	9.3 (-2H)	37.3 (-2.6H)	21.0 (-5.7H)	10.7 (-8H)	-	-	
Merluccius cupensis (3)	28.8 (digest. alcalina)	163.6	186.7	2.78	1.4	17.9	1.9	0.5	-	0.4 (-2H)	32.6 (-3.3H)	19.3 (-7.1H)	12.0 (-9H)	2.3 (-?H)	-	
Merluccius hubbsi	45.1 (a. alc.)	169.0	183.3	2.49	3.59	15.5	2.3	-	-	0.5 (-2H)	23.4 (-3.1H)	19.1 (-6.2H)	25.0 (-8.4H)	3.1 (-5.9H)	-	

ron consignados en el cuadro VII conjuntamente con los valores obtenidos por nosotros para el *M. hubbsi*.-

Antes de realizar cualquier comparación debemos señalar que la composición en ácidos grasos de una grasa de depósito de un pez, varía en forma notable según el estado de reproducción del mismo, lo cual a su vez depende de la época del año, edad, etc., de allí que los valores obtenidos por los otros investigadores y por nosotros, no pueden considerarse como absolutamente representativos para las especies mencionadas.-

En primer lugar podemos decir que las proporciones de los diversos ácidos saturados varía poco de una especie a otra, predominando el ácido palmítico. En el estudio de la composición grasa del *M. merluccius*, realizada por Guha y colaboradores en el año 1930, aparece hasta un 7 % de ácido mirístico, que es un poco superior a los datos señalados por todos los demás. Sin tener por objeto desmerecer dicho trabajo, debemos indicar que la técnica de investigación cuantitativa de ácidos grasos de peces en aquella época, era mucho menos exacta que la actual ; de allí la posible presencia de pequeñas diferencias.-

Con respecto a los ácidos no saturados, solamente aparecen una pequeña proporción de ácido miristoleico en el *M. capensis* y en el *M. hubbsi* y lo mismo sucede para ácidos de 24 átomos de carbono. Es un poco arriesgado querer sacar conclusiones de solamente dos observaciones, pero dado que ambas especies viven a latitudes semejantes, una en Sudáfrica y otra en Sud América, podrían existir ciertas características comunes que las diferenciarían de las otras especies.-

El resultado más notable obtenido en nuestra composición, es la proporción prácticamente constante en que se presentan las series con 18, 20 y 22 átomos de carbono. La serie de 22 átomos de carbono es sin embargo la que predomina, inmediatamente seguida por la de  $C_{18}$  y luego por la de  $C_{20}$ .-

Las proporciones de ácido palmitoleico son muy inferiores y llegan apenas al 7.6 %. Este predominio de ácidos en C<sub>22</sub>, no se observa en ninguna de las otras especies estudiadas. Al estudiar la relación de cantidad de los ácidos con C<sub>16</sub> y C<sub>18</sub> con los ácidos de C<sub>20</sub> y C<sub>22</sub>, se observa que para aquellas merluzas (*M. merluccius* y *M. hubbsi*) que poseen un alto contenido graso, consecuencia probable de la época de pesca, las series con 20 y 22 átomos de carbono han incrementado su contenido a expensas de las de 16 y 18 (*M. gayi* y *M. capensis*). Ello ya fué señalado por Van Rensburg (3) y parece corresponder a una ley general ya observada también por Yoshida (17), Brooklesby y otros, según la cual, en los depósitos grasos de los peces hay un aumento de la no saturación por efecto de una preferencial deposición de ácidos en C<sub>20</sub> y C<sub>22</sub>, cuando se produce acumulación de grasa; utilizándose por el contrario preferencialmente dichos tipos de ácidos cuando se está en el período de reproducción. Es decir a mayor proporción de grasa, mayor índice de iodo y viceversa.-

## CAPITULO IV

### ESTUDIO DEL INSAPONIFICABLE DE LA GRASA HEPATICA DEL MERLUCCIIUS HUBBSI - DETERMINACION DE COLESTEROL TOTAL - CONTENIDO VITAMINICO

El insaponificable fué aislado de los lípidos totales por extracción con éter etílico libre de peróxidos, previa saponificación con hidróxido de sodio alcohólico al 1 %, según se detalla en el capítulo V. El rendimiento fué de 2.49 %. Su aspecto era el de un sólido amarillo anaranjado, no homogéneo que por lo menos hasta 100°C no fundió. Determinado el índice de iodo en varias muestras por el método de Rosemund-Kühnem se observaron cifras dispares (60.5 y 71.6) por lo cual se disolvió en cloroformo el total y se determinó el índice en varios alícuotas. Se obtuvo así un valor que se considera promedio de 80.7.-

#### Contenido de colesterol:

Considerando que por el aspecto y por el índice de iodo algo superior al correspondiente al colesterol puro (65.8) el insaponificable del aceite de hígado del M. hubbsi estaba constituido probablemente en su mayor parte por colesterol, el mismo se determinó aplicando el método colorimétrico de Bloor, Belkan y Allen (18) con anhídrido acético y ácido sulfúrico, utilizándose un fotocolorímetro Klett-Sumerson con un filtro azul de 420 m $\mu$ . Las determinaciones realizadas dieron como valor promedio un contenido de 90.2 % - expresado como colesterol total.

Si bien es cierto que la coloración de Lieber--



FOTO N° 3 - HIGADO AISLADO DEL M. HUBBSI CON VESICULA BILIAR

man Bouchard utilizada en el método es desarrollada por otros esteroides, podemos suponer que prácticamente el valor determinado corresponde a colesterol. El predominio del colesterol en el insaponificable de la grasa hepática de los peces - Teleosteos ya ha sido señalado por otros autores (20) lo cual está por consiguiente de acuerdo con nuestros resultados.-

Determinación de vitamina A:

El contenido de vitamina A para los lípidos de los dos lotes de hígado estudiados fué hallado aplicando la técnica de la "Association of Vitamin Chemists" (1951) por medio de la lectura de la absorción espectrofotométrica del insaponificable a 325 m $\mu$ . En este método se aplica la corrección de Morton Stubbs realizando las lecturas a 310 y - 334 m $\mu$  que eliminan la interferencia de la absorción por sustancias extrañas. Las lecturas fueron hechas con un espectro fotómetro Beckman D.U. con lámpara de tungsteno.-

Los rendimientos obtenidos se consignan en el cuadro VIII.-

CUADRO VIII - CONTENIDO VITAMINICO

	Vitamina A - U.S.P. por g. de aceite	Vitamina A - U.S.P. por 100 g. de hígado
Muestra 1	1.527	68.944
Muestra 2	2.371	107.051

La comparación con los datos obtenidos por la Doctora Castellanos (5) demuestran una similitud con los obtenidos por nosotros. Dicha investigadora encontró cifras - que oscilaron de 406 a 1.913 U.S.P. por gramo de aceite determinadas por el método de Carr Price previo aislamiento del

insaponificable; estos valores sin embargo indicarían un menor contenido de vitamina A por 100 g. de hígado dado el menor contenido graso de los mismos.-

La comparación del contenido vitamínico del hígado de merluza en comparación con el de otros peces señala una menor riqueza, lo cual era de esperar a priori dado que se trata de hígados grasos; es decir, para ello se cumple el principio general de que el contenido vitamínico es inverso al contenido graso.-

## CAPITULO V

### DETALLES EXPERIMENTALES

#### 12) Características biológicas:

La clasificación de los ejemplares considerados y los estudios biológicos sobre la especie, así como las características morfométricas consignadas, fueron facilitadas por los Profesores Mani y Gnieri del Museo de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia.-

#### 2 ) Contenido graso:

Como método de extracción se utilizó el de digestión alcalina de Van Rensburg (2) que al hidrolizar las proteínas permite la fácil extracción etérea de la grasa.-

Los hígados fueron reducidos a una papilla homogénea con máquina de picar carne y tratados con el doble de su peso de solución de hidróxido de sodio al 1 % en baño de agua, a una temperatura de 70 a 90°C, agitando la masa continuamente en una atmósfera de nitrógeno. La digestión de las proteínas se consideró completa a los 30 minutos, observándose la homogeneización total de la masa y su cambio de color. La extracción de los lípidos se realizó con éter etílico libre de peróxidos en ampolla de decantación, hasta agotamiento del material. (6 extracciones) Los extractos etéreos fueron lavados hasta eliminación total del álcali; posteriormente se destiló el éter en corriente de nitrógeno primero y a vacío hasta constancia de peso.-

El primer ensayo se realizó sobre 320 g. de hígado y el segundo sobre 662 g. Los rendimientos obtenidos se encuentran en el cuadro II y son perfectamente concordantes.-

32) Constantes físicas y químicas:

Se siguieron las técnicas del A.O.A.C. (25).-

42) Composición en ácidos grasos:

a) Saponificación - 273.0 g. de grasa se saponificaron con 87.36 g. de hidróxido de potasio disueltos en 1230 ml. de alcohol etílico de 96%, calentando a reflujo con ambiente de nitrógeno durante 3 horas y media; se destilaron 700 ml. de alcohol, suspendiendo luego el calentamiento. Se disolvieron los jabones en agua y se realizaron diez extracciones sucesivas con éter etílico libre de peróxidos, separándose así 4.41 g. de insaponificable. Su índice de iodo fué 80.7 (Rosemund-Kuhnem).-

De la fase acuosa que contenía los jabones se liberaron los ácidos grasos por tratamiento con ácido sulfúrico 1:1 con un exceso del 10 %.-

Una vez liberados los ácidos grasos se extrajeron con éter etílico libre de peróxidos y se siguió el procedimiento habitual de eliminación del solvente obteniéndose 243.4 g. de ácidos grasos que se sometieron casi en su totalidad a fraccionamientos posteriores. Poseían un índice de iodo de 177.0 (Hanus) siendo su peso molecular medio 287.2.-

Para determinar la composición de los lípidos en ácidos grasos e insaponificable se realizó una saponificación en menor escala de acuerdo a idéntica técnica sobre -- 17.9260 g. Se obtuvieron 0.4471 g. de insaponificable que corresponde a un 2.49 %. La cantidad de ácidos grasos separados fué de 16.6904 g. que corresponde a un 93.11 %.-

b) Fraccionamiento de los ácidos totales - Separación con sales de litio - Se disolvieron 227.0 g. de ácidos totales en 2157 ml. de acetona anhidra (95 ml. por cada 10 g. de ácidos). Sobre esta solución se siguió la técnica de Tsujimoto tratándola con 70.81 ml. de amoníaco acuoso (den

sidad 0.910) y con 25.87 g. de cloruro de litio disueltos en 65 ml. de agua. Estas cantidades se calcularon estequiométricamente, teniendo en cuenta el Índice de Saponificación de los ácidos grasos totales y con un exceso del 10 % para el amoníaco y del 2.5 % para el cloruro de litio. Luego de agitar 30 minutos la suspensión de color blanco formada, se selló el recipiente con nitrógeno y se dejó en reposo durante 12 horas a 0°C. Se filtró luego por Buchner con camisa de agua prácticamente a 0°C y se lavó dos veces con acetona de 95 % a la misma temperatura.-

Los líquidos filtrados, que contenían los jabones solubles de litio, fueron calentados a baño maría en corriente de nitrógeno hasta destilación casi total de la acetona. Luego se liberaron los ácidos polietilénicos por acidificación con ácido clorhídrico 1:1 y se extrajeron con éter etílico libre de peróxidos. Se realizaron tres extracciones sucesivas. Los extractos etéreos fueron lavados hasta reacción neutra y secados con sulfato de sodio anhidro. Se destiló luego el éter en corriente de nitrógeno y a vacío hasta constancia de peso, obteniéndose 58.10 g. de ácidos "solubles de litio". Esto corresponde a un rendimiento de 25.59 %. Se determinó el Índice de Iodo: 352.7 y el Peso Molecular Medio: 313.7.-

Los jabones insolubles de litio que quedaron en el Buchner fueron tratados posteriormente con ácido clorhídrico 1:1 en exceso (200 ml.) calentando suavemente hasta disolución total. Se liberaron así los ácidos "insolubles de litio" que se extrajeron de manera similar a la anteriormente detallada obteniéndose 168.90 g. que corresponden a un rendimiento de 74.41 %. Se determinó el Índice de Iodo: 112.6 y el Peso Molecular Medio: 283.2.-

c) Separación con sales de plomo - 150.90 g. de ácidos "insolubles de litio" se sometieron a fraccionamiento siguiendo la técnica de Twitchell (6); se trataron con acetato de plomo en caliente y en medio alcohólico-acético formándose los jabones de plomo. Se dejó enfriar sellando el recipiente con nitrógeno; después de 24 horas se decantó el líquido y se recrystalizaron los jabones sólidos de plomo previamente disueltos en alcohol de 95%.-

La extracción posterior de los ácidos "líquidos" y "sólidos" de plomo, se realizó de manera similar a la detallada para los ácidos "solubles de litio". Se obtuvieron así 97.90 g. de ácidos "líquidos de plomo" y 53.00 g. de ácidos "sólidos de plomo".-

Los rendimientos referidos a ácidos "insolubles de litio" y a ácidos totales así como las características determinadas pueden apreciarse en el cuadro IV.-

d) Obtención de los ésteres metílicos y destilación de los mismos - Los ácidos "solubles de litio", "líquidos de plomo" y "sólidos de plomo" fueron transformados en ésteres metílicos tratándolos con cuatro veces su peso de metanol y catalizando la esterificación con ácido sulfúrico en la proporción de 1%. En cada caso se calentó a reflujo por espacio de cuatro horas, eliminándose luego por destilación la mayor parte del alcohol metílico.-

Los rendimientos de esterificación obtenidos fueron:

Para los ácidos "solubles de litio": 94.23 %

Para los ácidos "líquidos de plomo": 95.83 %

Para los ácidos "sólidos de plomo": 96.13 %

La proporción de ácidos no esterificados se eliminó lavando con carbonato de sodio al 0.5%.-

Los ésteres fueron fraccionados por destilación en una columna tipo Longenecker, a un vacío de 0.5 mm. de Hg.

La eficacia de la columna corresponde a 12 platos teóricos calculados para bonzol-tetracloruro de carbono. El material de relleno lo constituyen helicoides de vidrio de una sola vuelta y de 4 mm. de diámetro. Las destilaciones se realizaron de acuerdo con la técnica de Hilditch (20) que permite separar fracciones que en general sólo están constituidas por dos series sucesivas de ácidos. Se determinaron los Índices de Iodo y Pesos Moleculares Medios de las fracciones obtenidas.-

En las fracciones 8 y 9 (residuo) de los ésteres "solubles de litio", así como en los residuos de las destilaciones de los ésteres "líquidos" y "sólidos" de plomo se determinó el insaponificable presente y se calculó el índice de iodo de los ésteres puros. A su vez, sobre los ácidos libres de insaponificable, se determinó el índice de saponificación y peso molecular. Estos valores corregidos se utilizaron para el cálculo matemático detallado en el capítulo VI.-

En los cuadros IX, X y XI se consignan los datos experimentales de las destilaciones y las composiciones calculadas para cada fracción de destilación así como la composición referida a cada grupo de ésteres, a cada grupo de ácidos y a ácidos totales.-

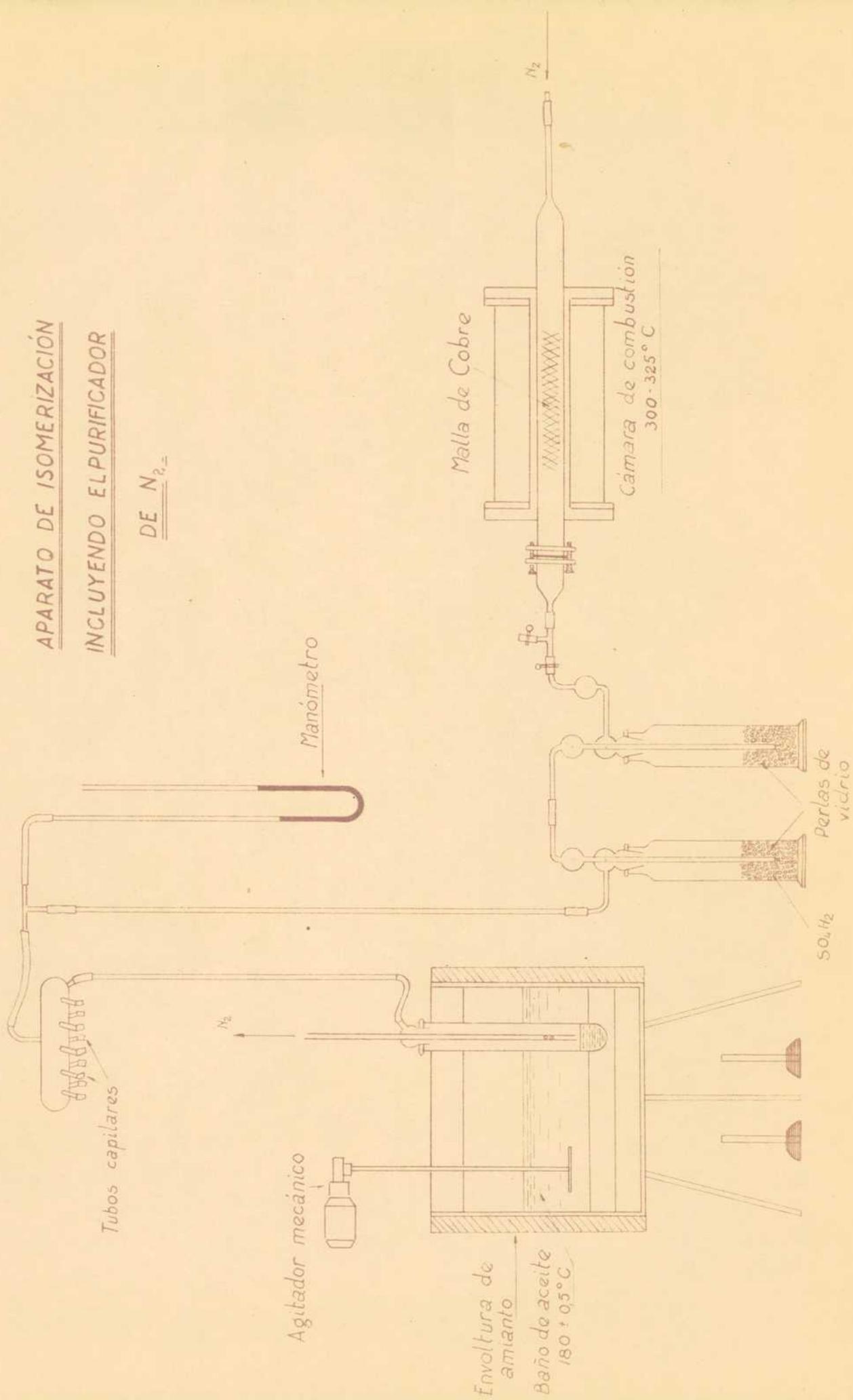
#### 59) Estudio espectrofotométrico de algunas fracciones de destilación de los ésteres "líquidos de plomo":

Las fracciones 5 a 11 inclusive de la destilación de los ésteres "líquidos de plomo" fueron isomerizadas por tratamiento con una solución al 6.5 % de hidróxido de potasio en etilen-glicol siguiendo la técnica del A.O.C.S. (12) modificada según el Report del año 1951 (13).-

El método consiste en tratar  $100 \pm 0.5$  mg. de muestra con  $11.0 \pm 0.1$  g. de solución de hidróxido de pota-

APARATO DE ISOMERIZACIÓN  
INCLUYENDO ELPURIFICADOR

DE  $N_{2,5}$



sio al 6.5 % en etilen-glicol a la temperatura de  $180.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . El tratamiento debe ser hecho en tubos Pyrex de tamaño standard sumergidos en un baño de aceite a la temperatura especificada y manteniendo un sello de nitrógeno purificado sobre cobre al rojo ( $300 \pm 25^{\circ}\text{C}$ ) de un caudal de 50 a 100 ml. por minuto. El tiempo de isomerización también está determinado y es de 45 minutos. El aparato utilizado responde al esquema adjunto.-

Una vez isomerizado el material se disolvió en etanol absoluto libre de aldehídos llevando la concentración para cada muestra a valores tales que permitieron obtener lecturas útiles, en un espectrofotómetro Beckman D.U. equipado con lámpara de hidrógeno y cubetas de cuarzo de espesor conocido. La rendija del aparato fue mantenida dentro de los límites fijados por la A.O.C.S. Se tabularon las densidades ópticas leídas en función de las respectivas longitudes de onda. Con estos datos, la concentración de la solución estudiada y el espesor de la cubeta, se determinaron los valores del coeficiente de extinción específica  $k$ .

$$d = kcl$$

siendo  $d$  = densidad óptica (leída)

$k$  = coeficiente de extinción específica

$c$  = concentración en g %

$l$  = espesor en cm.

Considerando que se trata de productos isomerizados y siguiendo la nomenclatura de la A.O.C.S., el coeficiente de extinción específica debe tildarse:  $k'$ .-

Representando  $k'$  en función de las longitudes de onda se obtienen las curvas presentadas en el gráfico adjunto.-

Las tablas de valores se encuentran en los cuadros XII a XVIII.-

6\*) Determinación de colesterol total en insaponificable:-

Se siguió el método modificado de Bloor, Bel--kan y Allen (18) adaptándolo para insaponificables de aceites.-

Se disolvieron 3.6510 g. de insaponificable en 50 ml. de cloroformo diluyendo posteriormente hasta una concentración de 0.351 mg. en 5 ml. que se supuso se encontraba dentro de los límites especificados por el método.-

5.0 ml. de esta solución se trataron con 1.0 ml de anhídrido acético y 0.1 ml. de ácido sulfúrico en tubo de Klett para provocar el desarrollo de la coloración característica. Paralelamente se realizó la misma operación con una solución standard de colesterol puro. Las lecturas de las absorciones colorimétricas se realizaron 15 minutos después en un fotocolorímetro de Klett-Summerson con filtro azul (420 m $\mu$ ) El método incluye la corrección por colores previos al desarrollo del color de colesterol. Se realizaron varias determinaciones, el promedio de las cuales dió como resultado un 90.2 % de colesterol total en insaponificable.-

7\*) Determinación de vitamina A:

Para la determinación cuantitativa de la vitamina A se siguió la técnica de la Association of Vitamin Chemists (19). Consiste en saponificar 1 g. de grasa; extraer el insaponificable; llevar a volumen con alcohol isopropílico y determinar las densidades ópticas a 325, 310 y 334 m $\mu$  en un espectrofotómetro Beckman modelo D.U. con lámpara de tungsteno y utilizando cubetas de cuarzo.-

El método incluye la corrección de Norton Stubbs para eliminar interferencias producidas por sustancias extrañas, aplicando la siguiente ecuación:

$$A_{(\text{corregida})} = 7 A_{235} - 2.625 A_{310} - 4.375 A_{334}$$

Con esta Absorbancia corregida se calcula el contenido vitamínico del aceite por reemplazo de valores en la siguiente fórmula:

$$\frac{A}{L.C} \cdot 5700 \cdot \frac{1}{0.3} = \text{U.S.P. unidades de vitamina A por g. de grasa}$$

Donde: A = Absorbancia corregida

L = Espesor de la cubeta

C = Concentración de muestra en g. por 1000 ml. de solución isopropílica

5700 = Factor de conversión de unidades espectrofotométricas a gravimétricas

0.3 = Factor de conversión a U.S.P. unidades

La utilización de esta fórmula equivale a la aplicación del factor 1900.-

Los valores obtenidos se encuentran en el cuadro VIII.-

COLUMBO IA - COMPTONIA DE LOS ESTADOS UNIDOS SOLIDAR (LI)

Sl.	Posic	1.1.	1.3.	1.4.	010-21	016-5.14	020-8.74	022-11.04	024-12.1	Instan.
1	1.20	102.5	200.9	271.1	1.13	0.15				
2	1.76	137.3	193.6	269.6	0.24	1.52				
3	2.49	233.9	190.2	294.9		2.32	0.17			
4	2.03	314.0	181.7	308.8		0.63	1.34			
5	3.49	359.1	176.7	315.5		0.01	3.48			
6	3.00	308.8	172.3	325.5			2.10	0.98		
7	4.63	333.9	166.2	337.6			1.01	3.62		
8	4.82	352.1	164.5	341.0			1.17	3.61		0.04
US.	6.50	301.3	144.1	376.3				5.38	0.45	0.53
Tot.	29.94				1.37	4.09	9.27	13.59	0.45	0.57
Estados Unidos Unidos			4.67			15.97	31.50	46.27	1.53	
Acidos / ácidos solubles			4.63			15.90	31.54	46.40	1.54	
Acidos / ácidos totales			1.17			4.03	7.99	11.76	0.39	

. Precio (Libro de Insumo), Res. (Libro de Insumo),  
 1.1. Estados: 324.1      1.1. Estados: 435.5  
 1.1. Estados: 165.9      1.1. Estados: 162.7  
 1.1. Estados: 338.1      1.1. Estados: 344.8

Acidos	016-5.14	020-8.74	022-11.04
1.1.	231.1	302.1	447.4
1.1.	279.4	303.8	320.0



CUADRO XI - COMPOSICION DE LOS ESTERES METILICOS "SOLIDOS" (Pb)

F.	Peso	I.I.	I.S.	P.M.	Saturados			No saturados					Ins.	
					C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>16-2H</sub>	C <sub>18-2H</sub>	C <sub>20-2H</sub>	C <sub>22-2.7H</sub>	C <sub>24-2.8H</sub>		
1	4.81	2.49	220.8	254.0	2.68	2.00		0.13						
2	6.10	3.29	209.5	207.8	0.50	5.39		0.21						
3	6.57	3.20	206.6	271.5		6.07	0.27	0.20	0.03					
4	8.38	3.37	206.3	272.0		7.66	0.42	0.26	0.04					
5	7.84	29.4	197.1	284.6		2.47	2.79	1.02	1.56					
6	3.63	71.6	179.9	311.8			0.42		1.18	2.03				
7	3.91	96.4	159.9	350.7						0.16	3.75			
Res.	3.00	79.0	144.2	388.9							0.60	2.28	0.12	
Tot.	44.24				3.18	23.59	3.90	1.82	2.81	2.19	4.35	2.28	0.12	
Esteres % ésteres "sólidos"					7.21	53.47	8.84	4.12	6.37	4.96	9.86	5.17		
Ácidos % ácidos "sólidos"					7.14	53.32	8.85	4.11	6.38	5.00	9.96	5.24		
Ácidos % ácidos totales					1.87	13.99	2.32	1.08	1.67	1.31	2.61	1.38		

Residuo (libre de insaponificable),  
 I.I. ésteres: 94.4  
 I.S. ésteres: 150.2  
 P.M. ésteres: 373.6

Ácidos	C <sub>22-2.7H</sub>	C <sub>24-2.8H</sub>
I.I.	101.1	97.7
P.M.	337.9	365.8

CUADRO XII - ESPECTROFOTOMETRIA DE LA FRACCION 5 - ESTERES  
LIQUIDOS (Pb)

Isomerización con HOK-glicol (Concentración 6.5 %)  
 Temperatura: 18C = 0.5°C Tiempo: 45 minutos  
 Espectrofotómetro Beckman D.U. Luz: lámpara de hidrógeno  
 Cubetas de cuarzo Solvente: etanol absoluto  
 Cubeta blanco: L = 1.000 Cubeta muestra: L = 0.999  
 Concentración: 0.1177 g. de ésteres % ml. de solución

$\lambda$ m $\mu$	d	k'
225	1.170	9.951
228	1.300	11.056
232	1.390	11.822
233	1.400	11.907
234	1.410	11.992
235	1.392	11.839
236	1.380	11.737
240	1.232	10.478
250	0.598	5.086
252	0.470	3.997
255	0.385	3.274
258	0.387	3.291
262	0.374	3.181
266	0.433	3.734
268	0.482	4.099
269	0.489	4.159
270	0.482	4.099
271	0.469	3.989
274	0.403	3.427
276	0.393	3.342
279	0.415	3.529
281	0.408	3.470

$\lambda$ m $\mu$	d	k'
283	0.362	3.079
292	0.140	1.191
295	0.118	1.004
300	0.165	1.403
302	0.165	1.403
304	0.148	1.259
308	0.101	0.859
310	0.094	0.799
315	0.148	1.259
316	0.148	1.259
317	0.143	1.216
322	0.068	0.578
324	0.048	0.408
326	0.031	0.264
328	0.026	0.221
335	0.020	0.170
340	0.013	0.111
344	0.015	0.128
346	0.017	0.145
347	0.016	0.136
349	0.017	0.145
355	0.017	0.145

CUADRO XIII - ESPECTROFOTOMETRIA DE LA FRACCION 6 - ESTERES

LIQUIDOS (Pb)

Isomerización con HOK-glicol (Concentración 6.5 %)  
 Temperatura: 180 = 0.5°C Tiempo: 45 minutos  
 Espectrofotómetro Beckman D.U. Luz: lámpara de hidrógeno  
 Cubetas de cuarzo Solvente: etanol absoluto  
 Cubeta blanco: L = 1.000 Cubeta muestra: L = 0.997  
 Concentración: 0.1338 g. de ésteres % ml. de solución

$\lambda$ m $\mu$	d	k'
225	1.170	8.771
228	1.300	9.745
232	1.390	10.421
233	1.415	10.608
234	1.428	10.705
235	1.414	10.601
236	1.405	10.533
240	1.265	9.483
250	0.640	4.798
252	0.511	3.831
255	0.440	3.299
258	0.455	3.411
262	0.443	3.321
266	0.521	3.906
268	0.576	4.318
269	0.580	4.348
270	0.571	4.281
271	0.551	4.131
274	0.478	3.583
276	0.460	3.448
279	0.489	3.665
281	0.471	3.531

$\lambda$ m $\mu$	d	k'
283	0.416	3.119
292	0.151	1.132
295	0.129	0.930
300	0.169	1.267
302	0.170	1.275
304	0.150	1.124
308	0.105	0.787
310	0.096	0.720
315	0.153	1.147
316	0.155	1.162
317	0.150	1.124
322	0.077	0.577
324	0.056	0.420
326	0.043	0.322
328	0.036	0.270
335	0.027	0.202
340	0.024	0.180
344	0.023	0.172
346	0.025	0.190
347	0.027	0.202
349	0.026	0.195
355	0.025	0.187

CUADRO XIV - ESPECTROFOTOMETRIA DE LA FRACCION 7 - ESTERES  
LIQUIDOS (Pb)

Isomerización con HOK-glicol (Concentración 6.5 %)  
 Temperatura: 180 = 0.5°C Tiempo: 45 minutos  
 Espectrofotómetro Beckman D.U. Luz: lámpara de hidrógeno  
 Cubetas de cuarzo Solvente: etanol absoluto  
 Cubeta blanco: L = 1.000 Cubeta muestra: 0.998  
 Concentración: 0.1006 g. de ésteres % ml. de solución

$\lambda$ m $\mu$	d	k'
225	1.075	10.707
228	1.195	11.902
232	1.275	12.699
233	1.300	12.948
234	1.310	13.048
235	1.306	13.008
236	1.295	12.859
240	1.175	11.701
250	0.621	6.185
252	0.510	5.080
255	0.450	4.482
258	0.470	4.681
262	0.465	4.631
266	0.538	5.359
268	0.590	5.877
269	0.598	5.956
270	0.591	5.886
271	0.576	5.737
274	0.509	5.070
276	0.489	4.870
279	0.510	5.080
281	0.501	5.070

$\lambda$ m $\mu$	d	k'
283	0.453	4.512
292	0.197	1.962
295	0.171	1.703
300	0.232	2.311
302	0.230	2.291
304	0.209	2.072
308	0.148	1.474
310	0.140	1.394
315	0.210	2.092
316	0.215	2.141
317	0.205	2.042
322	0.106	1.056
324	0.081	0.807
326	0.068	0.677
328	0.066	0.657
335	0.044	0.438
340	0.023	0.229
344	0.036	0.358
346	0.048	0.478
347	0.047	0.468
349	0.046	0.458
355	0.012	0.119

CUADRO XV - ESPECTROFOTOMETRIA DE LA FRACCION 8 - ESTERES  
LIQUIDOS (Pb)

Isomerización con KOH-glicol (Concentración 6.5 %)  
 Temperatura: 180 = 0.5°C Tiempo: 45 minutos  
 Espectrofotómetro Beckman D.U. Luz: lámpara de hidrógeno  
 Cubetas de cuarzo Solvente: etanol absoluto  
 Cubeta blanco: L = 1.000 Cubeta muestra: L = 0.999  
 Concentración: 0.0677 g. de ésteres % ml. de solución

$\lambda$ m $\mu$ .	d	k'	$\lambda$ m $\mu$ .	d	k'	$\lambda$ m $\mu$ .	d	k'
225	1.280	18.918	274	0.850	12.563	328	0.226	3.340
228	1.375	20.322	276	0.815	12.045	330	0.229	3.385
232	1.451	21.445	279	0.840	12.415	335	0.161	2.379
233	1.463	21.623	281	0.840	12.415	338	0.110	1.626
234	1.469	21.712	283	0.795	11.750	340	0.100	1.478
235	1.470	21.727	292	0.420	6.207	344	0.141	2.084
236	4.468	21.697	295	0.365	5.395	346	0.182	2.690
240	1.358	20.071	300	0.495	7.316	347	0.194	2.838
250	0.860	12.711	302	0.508	7.508	349	0.190	2.808
252	0.746	11.173	304	0.465	6.873	355	0.074	1.094
255	0.685	10.124	308	0.343	5.069	360	0.033	0.488
258	0.735	10.863	310	0.340	5.025	369	0.021	0.310
262	0.748	10.055	315	0.494	7.301	371	0.020	0.296
266	0.840	12.416	316	0.500	7.390	374	0.020	0.296
268	0.925	13.671	317	0.488	7.212	375	0.017	0.251
269	0.950	14.041	322	0.283	4.183	376	0.020	0.296
270	0.960	14.189	324	0.227	3.355	380	0.018	0.266
271	0.940	13.893	326	0.215	3.178			

CUADRO XVI - ESPECTROFOTOMETRIA DE LA FRACCION 9 - ESTERES  
LIQUIDOS (Pb)

Isomerización con HOK-glicol (Concentración 6.5 %)  
 Temperatura: 180 = 0.5°C Tiempo: 45 minutos  
 Espectrofotómetro Beckman B.U. Luz: lámpara de hidrógeno  
 Cubetas de cuarzo Solvente: etanol absoluto  
 Cubeta blanco: I = 1.000 Cubeta muestra: I = 0.997  
 Concentración: 0.0732 g. de ésteres / ml. de solución

$\lambda$ m $\mu$ .	d	k'	$\lambda$ m $\mu$ .	d	k'	$\lambda$ m $\mu$ .	d	k'
225	1.258	17.549	274	0.790	10.825	328	0.277	3.794
228	1.400	19.183	276	0.771	10.564	330	0.279	3.823
232	1.463	20.046	279	0.800	10.962	335	0.202	2.768
233	1.483	20.321	281	0.800	10.962	338	0.142	1.946
234	1.494	20.471	283	0.760	10.414	340	0.134	1.836
235	1.490	20.417	292	0.443	6.070	344	0.177	2.425
236	1.479	20.266	295	0.395	5.412	346	0.220	3.014
240	1.371	18.786	300	0.518	7.098	347	0.236	3.234
250	0.840	11.510	302	0.525	7.194	348	0.237	3.247
252	0.728	9.975	304	0.482	6.364	349	0.233	3.193
255	0.655	8.975	308	0.371	5.084	355	0.103	1.411
258	0.685	9.386	310	0.374	5.125	360	0.049	0.671
262	0.694	9.509	315	0.520	7.125	362	0.027	0.370
266	0.780	10.688	316	0.530	7.262	371	0.028	0.384
268	0.858	11.757	317	0.511	7.002	374	0.032	0.438
269	0.880	12.058	322	0.313	4.209	375	0.033	0.452
270	0.879	12.044	324	0.264	3.617	376	0.034	0.460
271	0.863	11.625	326	0.267	3.658	380	0.027	0.370

CUADRO XVII - ESPECTROFOTOMETRIA DE LA FRACCION 10 - ESTERES  
LIQUIDOS (Pb)

Isomerización con HOK-glicol (Concentración 6.5 %)  
 Temperatura: 180 = 0.5°C Tiempo: 45 minutos  
 Espectrofotómetro Beckman D.U. Luz: lámpara de hidrógeno  
 Cubetas de cuarzo Solvente: etanol absoluto  
 Cubeta blanco: L = 1.000 Cubeta muestra: L = 0.998  
 Concentración A = 0.0790 g. de ésteres % ml. de solución  
 Concentración B = 0.0237 g. de ésteres % ml. de solución

$\lambda$ m $\mu$ .	d		k'	$\lambda$ m $\mu$ .	d		k'
	A	B			A	B	
225		0.474	17.401	276		0.323	11.858
228		0.533	19.567	279		0.331	12.151
232		0.592	21.733	281		0.329	12.078
233		0.599	21.990	283		0.312	11.454
234		0.600	22.026	292		0.188	6.902
235		0.605	22.210	295		0.166	6.094
236		0.600	22.026	300		0.197	7.232
240		0.555	20.374	302		0.201	7.379
250		0.345	12.665	304		0.187	6.902
252		0.302	11.087	308	0.545		6.914
255		0.271	9.948	310	0.549		6.963
258		0.277	10.173	315	0.700		8.879
262		0.285	10.466	316	0.710		9.001
266		0.319	11.711	317	0.700		8.878
268		0.345	12.665	322	0.489		6.202
269		0.355	13.031	324	0.438		5.415
270		0.359	13.179	326	0.433		5.494
271		0.358	12.702	328	0.458		5.809
274		0.333	12.225	330	0.470		5.963

$\lambda$ m $\mu$ .	d		k'
	A	B	
335	0.378		4.668
338	0.300		3.805
340	0.272		3.450
344	0.319		4.046
346	0.371		4.706
347	0.390		4.947
348	0.406		5.150
349	0.400		5.074
355	0.254		3.222
360	0.156		1.980
365	0.090		1.141
369	0.080		1.015
371	0.091		1.154
374	0.124		1.585
375	0.134		1.712
376	0.136		1.725
380	0.103		1.306

CUADRO XVIII - ESPECTROFOTOMETRIA DE LA FRACCION 11 - ESTERES  
LIQUIDOS (Pb)

Isomerización con HOK-glicol (Concentración 6.5 %)  
 Temperatura: 18C = 0.5°C Tiempo: 45 minutos  
 Espectrofotómetro Beckman D.U. Luz: lámpara de hidrógeno  
 Casetas de cuarzo Solvente: etanol absoluto  
 Caseta blanco: L = 1.000 Caseta muestra: L = 0.999  
 Concentración A = 0.0736 g. de ésteres % ml. de solución  
 Concentración B = 0.0220 g. de ésteres % ml. de solución

$\lambda$ m $\mu$ .	$\bar{d}$		$k'$	$\lambda$ m $\mu$ .	$\bar{d}$		$k'$
	A	B			A	B	
225		0.405	18.426	276		0.309	14.058
228		0.453	20.610	279		0.336	15.287
232		0.490	22.293	281		0.317	14.422
23		0.496	22.566	283		0.304	13.831
234		0.498	22.566	292		0.176	8.007
235		0.499	22.657	295		0.153	6.961
236		0.498	22.702	300		0.183	8.326
240		0.460	22.657	302		0.191	8.690
250		0.302	20.928	304		0.178	8.098
252		0.272	13.740	308	0.503		6.841
255		0.249	12.375	310	0.495		6.732
258		0.264	11.328	315	0.650		8.840
262		0.275	12.011	316	0.669		9.099
266		0.305	12.511	317	0.600		8.160
268		0.331	15.059	322	0.450		6.120
269		0.342	15.500	324	0.386		5.249
270		0.345	15.690	326	0.379		5.154
271		0.349	15.878	328	0.400		5.440
274		0.323	14.695	330	0.404		5.494

$\lambda$ m $\mu$ .	d		k'
	A	B	
335	0.318		4.325
338	0.248		3.373
340	0.224		3.046
344	0.266		3.618
346	0.305		4.148
347	0.319		4.338
348	0.328		4.461
349	0.328		4.461
355	0.210		2.850
360	0.124		1.686
365	0.075		1.020
369	0.063		0.857
371	0.071		0.966
374	0.098		1.333
375	0.106		1.442
376	0.106		1.442
380	0.081		1.102

## CAPITULO VI

### RESOLUCION MATEMATICA DE LAS FRACCIONES DE DESTILACION

Para este estudio se tuvieron en cuenta los trabajos de Hildtich (20) Lovern (21), Charnley (22) (23), Van Rensburg-Schwartz-Rapson (7) y Van Rensburg-Rapson-Schwartz-Stoy (8).-

En las fracciones constituidas por ácidos con número grande de dobles ligaduras no se puede determinar la proporción de los ácidos correspondientes a cada no saturación. Por esta razón se define la "no saturación promedio" a que es el número de dobles ligaduras presentes en un molde éster.-

Se sabe que en un ácido monoetilénico se cumple que

$$\frac{II}{100} = \frac{127 \times 2}{E} \quad /1/$$

siendo 127: peso atómico del yodo; II: índice de yodo; E: peso molecular; pues por cada doble enlace presente entran en la molécula dos átomos de yodo. Si llamamos a el número de dobles ligaduras presentes en un ácido polinosaturado y teniendo en cuenta que

$$127 \times 2 \times 100 = 25.400, \text{ resulta:}$$

$$II = \frac{25.400}{E} \times a \quad /2/$$

Evidentemente será posible el cálculo de a o de E por aplicación de esta fórmula.-

Igualmente es inmediata la deducción del peso molecular medio del ácido conociendo la no saturación:

$$E = E_{\text{sat}} - 2a \quad /3/$$

Donde: E = Peso Molecular Medio

$E_{\text{sat}}$  = Peso Molecular del ácido saturado

2a = Número de hidrógenos correspondientes a las dobles ligaduras.

De /2/ y /3/ se llega a:

$$\text{II} = \frac{25.400 \times a}{E_{\text{sat}} - 2a} \quad /4/$$

De donde:

$$a = \frac{E_{\text{sat}}}{2 \frac{25.400}{\text{II}}} \quad /5/$$

Métodos de cálculo:

La columna utilizada permite obtener fracciones de destilación constituidas exclusivamente por ésteres saturados y no saturados, de dos series sucesivas respecto de su número de átomos de carbono ( $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ;  $C_{16}$ ,  $C_{18}$ ; etc.).-

El índice de saponificación nos permite calcular el peso molecular medio de la fracción correspondiente - pudiéndose suponer sobre esta base cuales son las dos series de ácidos que constituyen la fracción.-

Se presentan dos problemas. El cálculo de la proporción y el cálculo de la no saturación.-

Los métodos utilizados admiten como ciertas las siguientes suposiciones que están perfectamente comprobadas.

a) La existencia de ácidos de cadenas de núme-

ros pares de átomos de carbono únicamente.-

b) La continuidad de la serie de número par de átomos de carbono.-

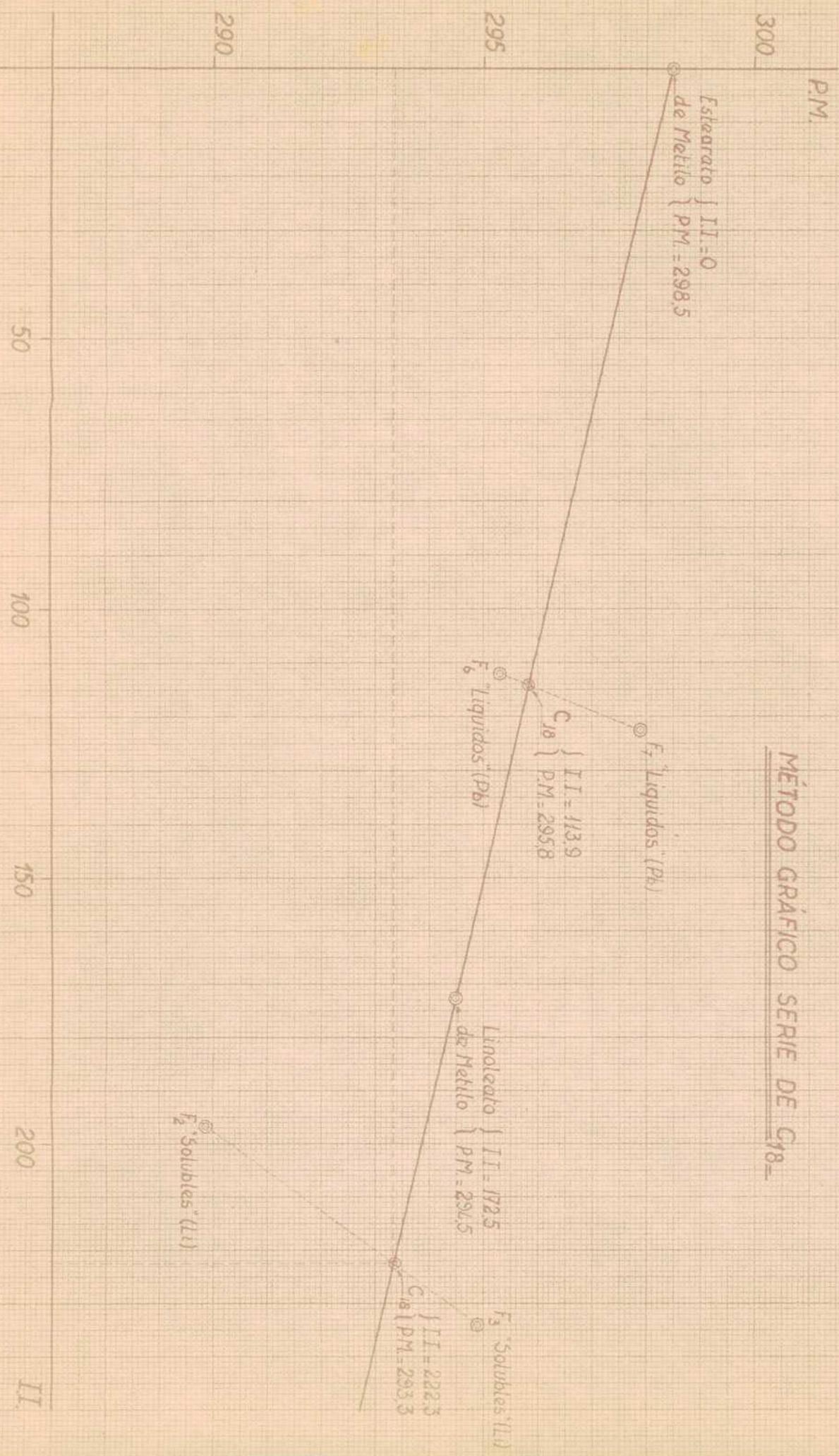
c) La constancia de la no saturación para cada grupo de ácidos a lo largo de las fracciones. Esta tercera hipótesis considerada en el Método de Lovern para calcular la no saturación promedio, no siempre concuerda con la realidad, debiéndose admitir en ciertos casos un fraccionamiento dentro de cada serie.-

Método de Van Rensburg-Rapson-Schwartz:

Es un método gráfico para determinar la no saturación promedio. Consiste en representar índices de iodo en función de pesos moleculares en un sistema de ejes cartesianos. Para cada serie de ésteres de igual número de átomos de carbono se obtiene una recta. Sea por ejemplo la serie de  $C_{18}$ . Para conocer la no saturación promedio de los ésteres de  $C_{18}$  en dos fracciones vecinas de destilación constituidas por  $C_{16}-C_{18}$  y  $C_{18}-C_{20}$ , se representan ambas fracciones de modo tal que los puntos representativos, caen a ambos lados de la recta. Al unirlos el punto de intersección determinado cae sobre los ejes el índice de iodo y el peso molecular de los ésteres en  $C_{18}$ . La no saturación se calcula aplicando la fórmula /2/.-

Este método no es aplicable en todos los casos; los valores obtenidos son en general concordantes con los de-

MÉTODO GRÁFICO SERIE DE G<sub>18</sub>



terminados por otros métodos de cálculo.-

Método de Charnley:

Está basado en la resolución de sistemas de ecuaciones con la sola condición de conocer el índice de io do y el peso molecular de la fracción. Se puede determinar así la proporción expresada en fracciones molares  $\Pi$  para cada serie de ésteres.-

$$/6/ \quad \left\{ \begin{array}{l} \frac{1}{E_f} = \Pi_1 + \Pi_2 \\ 1 + \frac{2 I_f}{25.400} = F_1 \Pi_1 + F_2 \Pi_2 \end{array} \right.$$

$E_f$  = Peso Molecular Medio de la fracción;  $\Pi$  = fracciones molares (por ejemplo:  $C_{18}$  y  $C_{20}$ );  $F$  = peso molecular de los ésteres saturados;  $I_f$  índice de iodo de la fracción.

Una vez determinadas las fracciones molares se pueden determinar las no saturaciones promedio.-

a) Si se poseen dos fracciones formadas por las mismas series de ácidos ( $C_{18}$ - $C_{20}$ ) se puede aplicar el siguiente sistema con el cual la no saturación de cada serie se considera constante para las dos fracciones.-

$$/7/ \quad \left\{ \begin{array}{l} F_1 \Pi_1 + F_2 \Pi_2 - 1 = 2a_1 \Pi_1 + 2a_2 \Pi_2 \\ F_1 \Pi'_1 + F_2 \Pi'_2 - 1 = 2a_1 \Pi'_1 + 2a_2 \Pi'_2 \end{array} \right.$$

$\Pi_1$  y  $\Pi_2$  fracciones molares de los componentes en una fracción (por ejemplo  $C_{18}$  -  $C_{20}$ ).-

$\Pi'_1$  y  $\Pi'_2$  fracciones molares de los componentes en la otra fracción (también  $C_{18}-C_{20}$ ).-

$a_1$  y  $a_2$  no saturaciones incógnitas.-

b) Si no existen dos fracciones de la misma composición se puede aplicar la fórmula:

$$/8/ \quad \frac{I_f}{25.400} = \Pi_1 a_1 + \Pi_2 a_2$$

donde se conserva la nomenclatura anterior.-

En este caso se debe conocer una de las no saturaciones ( $a_1$  por ejemplo) siendo posible calcular la otra ( $a_2$ ). Se puede o bien determinar  $a_1$  gráficamente; o bien suponer que dicha no saturación se mantiene constante con respecto a la fracción vecina (Lovern); o bien suponer una no saturación compatible con el razonamiento.-

La composición en peso de las fracciones se obtiene aplicando para cada componente la siguiente ecuación:

$$/9/ \quad g = P \times \Pi_1 \times PM_1$$

siendo P: peso de la fracción de destilación

$\Pi_1$ : fracción molar del éster en la fracción de destilación.

$PM_1$ : peso molecular del éster.

g: peso del éster contenido en la fracción de destilación.

Método aplicado a la resolución de fracciones constituidas por ésteres saturados y no saturados de Índice de Iodo conocido:

El tipo de sistemas de ecuaciones que se detalla a continuación se aplica a las fracciones de II bajo en las cuales se supone la presencia de ácidos saturados y monoetilénicos cuyos índices de iodo y pesos moleculares son conocidos.-

$$/10/ \left\{ \begin{array}{l} x + y + z = P \\ \frac{x}{E_s} + \frac{y}{E_y} + \frac{z}{E_z} = \frac{P}{E_f} \\ 0 + PI_y + PI_z = PI_f \end{array} \right.$$

x = peso de los ésteres saturados; y = peso de uno de los ésteres no saturados; z = peso del otro éster no saturado; P = peso de la fracción; E<sub>s</sub> = peso molecular de los ésteres saturados; E<sub>y</sub> y E<sub>z</sub> = pesos moleculares de los ésteres no saturados correspondientes; E<sub>f</sub> = peso molecular de la fracción -- (E<sub>s</sub> = E<sub>f</sub>).-

Los ésteres saturados se distribuyen de acuerdo al siguiente sistema:

$$/11/ \left\{ \begin{array}{l} u + v = x \\ \frac{u}{E_1} + \frac{v}{E_2} = \frac{x}{E_f} \end{array} \right.$$

u y v = peso de los respectivos ésteres saturados; x = peso total de los ésteres saturados presentes; E<sub>1</sub> y E<sub>2</sub> = pesos mo

leculares de los ésteres saturados;  $M_p$  = peso molecular de la fracción.-

Cálculo de las fracciones de ésteres solubles (L1):

Considerando los valores de los pesos moleculares medios que figuran en el cuadro IX, se puede deducir en primera aproximación que las fracciones de destilación tendrán ésteres de las series que se indican:

Fracciones	Series
F <sub>1</sub> y F <sub>2</sub>	C <sub>16</sub> y C <sub>18</sub>
F <sub>3</sub> , F <sub>4</sub> y F <sub>5</sub>	C <sub>18</sub> y C <sub>20</sub>
F <sub>6</sub> , F <sub>7</sub> y F <sub>8</sub>	C <sub>20</sub> y C <sub>22</sub>
Residuo	C <sub>22</sub> y C <sub>24</sub>

Considerando esta suposición se resuelve el sistema /6/ para todas las fracciones y el residuo obteniéndose los valores de las fracciones molares que figuran en el cuadro XIX.

CUADRO XIX - FRACCIONES MOLARES DE LAS FRACCIONES DE DESTILACION  
(ESTEROS SOLUBLES DE M1)

	$\Pi_{10}$	$\Pi_{18}$	$\Pi_{20}$	$\Pi_{22}$	$\Pi_{24}$
F <sub>1</sub>	0.0032899	0.00039872			
F <sub>2</sub>	0.0005104	0.0029397			
F <sub>3</sub>		0.0031704	0.00022007		
F <sub>4</sub>		0.0011641	0.0020742		
F <sub>5</sub>		0.000059481	0.00314396		
F <sub>6</sub>			0.0021481	0.00092412	
F <sub>7</sub>			0.00068717	0.0022748	
F <sub>8</sub>			0.00076131	0.0021964	
Res				0.0026906	0.00020961

Tanto la fracción 1 como la fracción 2 se resolvieron considerando monoetilénica la serie de C<sub>16</sub> y calculando la no saturación promedio de la serie de C<sub>18</sub> aplicando la ecuación /8/. El resultado así obtenido es muy similar al calculado gráficamente lo cual comprueba su exactitud.-

Para calcular la fracción 3 se aplicó el método gráfico entre F<sub>2</sub> y F<sub>3</sub> determinándose así la no saturación promedio de los ésteres de la serie de C<sub>18</sub>. Luego se aplicó la ecua

ción /8/ para conocer la correspondiente no saturación para la serie de  $C_{20}$ .-

Las fracciones  $F_4$  y  $F_5$  se resolvieron conjuntamente aplicando el sistema de ecuaciones /7/ correspondiente al método de Charnley. Por idéntico procedimiento se resolvieron  $F_6$  y  $F_7$ .-

Para la Fracción 8 se aplicó el método gráfico determinando la no saturación de la serie de  $C_{22}$ ; posteriormente se aplicó la ecuación /8/ para calcular la serie de  $C_{20}$ .-

Para la resolución del residuo se consideró la no saturación de la serie de  $C_{22}$  con el mismo valor que en la  $F_8$  calculando por aplicación de /8/ la no saturación de la serie de  $C_{24}$ . El resultado obtenido indicaba la presencia de 8.5 dobles ligaduras, valor que se consideró poco probable. Teniendo en cuenta la acumulación de errores que se producen en esta última fracción, se supuso la serie de  $C_{24}$  hexaetilénica y con este valor se calculó la serie de  $C_{22}$  aplicando la ecuación /8/.-

Resueltas así las fracciones de destilación se aplicaron en cada caso las ecuaciones /3/, /4/ y /9/ obteniéndose

dese los valores que figuran a continuación.-

Se detalla el cálculo para la Fracción 1. En los demás casos sólo se anotan los resultados. Las contribuciones en peso de cada serie se encuentran tabuladas en el cuadro IX.

F1	C <sub>16</sub> - 2H	a = 1
		2a = 2
		P.M. = 268.4
		I.I. = 94.6
		$g = 0.0032899 \times 268.4 \times 1.28 \text{ g.} = 1.13 \text{ g.}$
		a = 2.5609
		2a = 5.1218
		P.M. = 298.5 - 5.122 = 293.38
	C <sub>18</sub> -5.122H	$I.I. = \frac{2.561 \times 25.400}{293.38} = 221.72$
		$g = 0.00039872 \times 293.38 \times 1.28 = 0.15 \text{ g.}$
F2	C <sub>16</sub> - 2H	a = 1
		2a = 2
		P.M. = 268.4
		I.I. = 94.6
		a = 2.4686
		2a = 4.9362
		P.M. = 293.56
	C <sub>18</sub> -4.936H	I.I. = 213.66

F <sub>3</sub>	C <sub>18</sub> -5.134H	I.I. = 222.3 P.M. = 293.3 a = 2.5669 2a = 5.1338	De método gráfico
	C <sub>20</sub> -9.717H	a = 4.8584 2a = 9.7168 P.M. = 316.78 I.I. = 389.5	
F <sub>4</sub> y F <sub>5</sub>	C <sub>18</sub> -5.218H	a = 2.6091 2a = 5.2182 P.M. = 293.28 I.I. = 225.9	
	C <sub>20</sub> -8.984H	a = 4.4922 2a = 8.9844 P.M. = 317.52 I.I. = 359.3	
F <sub>6</sub> y F <sub>7</sub>	C <sub>20</sub> -8.803H	a = 4.4014 2a = 8.8028 P.M. = 317.70 I.I. = 351.9	
	C <sub>22</sub> -11.488H	a = 5.744 2a = 11.488 P.M. = 343.12 I.I. = 425.2	
F <sub>8</sub>	C <sub>22</sub> -11.414H	I.I. = 422.5 P.M. = 343.1 a = 5.7070 2a = 11.4140	De método gráfico
	C <sub>20</sub> -6.797H	a = 3.3983 2a = 6.7966 P.M. = 319.70 I.I. = 270.0	

Residuo	$C_{24}-12H$	$a = 6$
		$2a = 12$
		P.M. = 370.6
		I.I. = 411.3
	$C_{22}-11.808H$	$a = 5.904$
		$2a = 11.808$
		P.M. = 342.79
		I.I. = 435.5

Cálculo de la no saturación promedio para las distintas series de ésteres:

Teniendo en cuenta las no saturaciones determinadas en los distintos casos, se calcula la no saturación promedio para cada serie de igual número de átomos de carbono.-

Se detalla a continuación el cálculo para la serie de  $C_{22}$ .-

a) Cálculo del número de moles presente en cada fracción:

$$\text{Fracción 6: } \frac{0.98}{343.1} = 0.00285631$$

$$\text{Fracción 7: } \frac{3.62}{343.1} = 0.0105508$$

$$\text{Fracción 8: } \frac{3.61}{343.1} = 0.0105217$$

$$\text{Residuo : } \frac{5.38}{342.8} = 0.0156942$$

b) Cálculo de la no saturación promedio:

Fracción	n	a	n x a
6	0.0028563	5.7440	0.01640659
7	0.0105508	5.7440	0.06060379
8	0.0105217	5.7070	0.06004734
Residuo	0.0156942	5.9040	0.09265856
Total	0.0396230		0.22971628

La no saturación promedio de la serie, está dada por la siguiente relación:

$$a_{(n)} = \frac{\sum n \times a}{\sum n}$$

siendo:

$a_m$  = no saturación promedio de la serie

n = número de moles

a = no saturación de la serie en cada fracción de destilación

para este caso:

$$a_m = \frac{0.22971628}{0.039623} = 5.7975$$

Así queda resuelta la no saturación de la serie de C<sub>22</sub>.

El peso molecular medio de éster correspondiente se calcula aplicando /3/:

$$E = 343.0$$

Teniendo en cuenta que la no saturación del éster es la misma que la del ácido correspondiente, se puede calcular para el mismo su peso molecular y su índice de iodo.-

$$\begin{array}{l}
 \text{C}_{22}\text{-11.595H} \\
 \text{(ácido)}
 \end{array}
 \left\{
 \begin{array}{l}
 a = 5.7975 \\
 2a = 11.5950 \\
 \text{P.M.} = 329.0 \\
 \text{I.I.} = 447.4
 \end{array}
 \right.$$

Idéntico cálculo se realiza para las series de C<sub>18</sub> y C<sub>20</sub>. Las no saturaciones y características de los ácidos figuran al pie del cuadro IX.-

Cálculo de las fracciones de ésteres "líquidos" de (Pb):

Teniendo en cuenta los valores de los pesos moleculares de las fracciones que figuran en el cuadro X, se deduce para ellas la siguiente composición:

Fracciones	Series
F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> y F <sub>3</sub>	C <sub>14</sub> y C <sub>16</sub>
F <sub>4</sub> , F <sub>5</sub> y F <sub>6</sub>	C <sub>16</sub> y C <sub>18</sub>
F <sub>7</sub> y F <sub>8</sub>	C <sub>18</sub> y C <sub>20</sub>
F <sub>9</sub> , F <sub>10</sub> y F <sub>11</sub>	C <sub>20</sub> y C <sub>22</sub>
Residuo	C <sub>22</sub> y C <sub>24</sub>

Las Fracciones 1, 2 y 3 fueron resueltas apli

cando el sistema de ecuaciones /10/, calculando así ésteres saturados, miristoleato y palmitoleato de metilo. Posteriormente se distribuyeron los ésteres saturados entre miristato y palmitato de metilo por resolución del sistema /11/.-

El cálculo se detalla para la Fracción 1, encontrándose los resultados obtenidos para F<sub>2</sub> y F<sub>3</sub> en el cuadro X.

$$\left\{ \begin{array}{l} x + y + z = 1.85 \\ \frac{x}{243.5} + \frac{y}{240.4} + \frac{z}{268.4} = \frac{1.85}{243.5} \\ 105.6y + 94.6z = 19.7 \times 1.85 \end{array} \right.$$

$$x = 1.50 \qquad y = 0.3067 \qquad z = 0.0428$$

$$\left\{ \begin{array}{l} u + v = 1.50 \\ \frac{u}{242.4} + \frac{v}{270.4} = \frac{1.50}{243.5} \end{array} \right.$$

$$u = 1.43 \qquad v = 0.07$$

Para las Fracciones 5 a 11 y Residuo se calcularon en primer término las fracciones molares hallándose los valores que se indican a continuación:

CUADRO XX- FRACCIONES MOLARES DE LAS FRACCIONES DE DESTILACION  
(ESTERES "LIQUIDOS" DE Pb)

	$\Pi_{16}$	$\Pi_{18}$	$\Pi_{20}$	$\Pi_{22}$	$\Pi_{24}$
F4	0.0032705	0.00040726			
F5	0.0006042	0.0028322			
F6	0.00007250	0.0033139			
F7		0.0030850	0.00027176		
F8		0.00082320	0.0023534		
F9			0.0030249	0.000072904	
F10			0.00090990	0.0020330	
F11			0.00003181	0.0028343	
Res.				0.0016085	0.0011871

Las Fracciones 4 y 5 así como 9 y 10 fueron resueltas por el método de Charnley aplicando el sistema de ecuaciones /7/ para el cálculo de las no saturaciones promedio. Los ésteres de la serie de  $C_{16}$  se distribuyeron entre palmitato y palmitoleato.-

Entre  $F_6$  y  $F_7$  se aplicó el método gráfico para obtener el valor de la no saturación para la serie de  $C_{18}$  y con

siderando ese valor se aplicó la ecuación /8/ para calcular la serie de  $C_{16}$  y de  $C_{20}$  respectivamente. Los ésteres de la serie de  $C_{16}$  se distribuyeron entre palmitato y palmitoleato.

Para la Fracción 8 se consideró constante la no saturación de la serie de  $C_{18}$  con respecto a  $F_6$  y  $F_7$  calculándose por aplicación de /8/ la serie de  $C_{20}$ . Idéntica con sideración se tuvo en cuenta para la serie de  $C_{20}$  en la Fracción 11 con respecto a  $F_9$  y  $F_{10}$ ; aplicando /8/ se calculó la serie de  $C_{22}$ .-

Para la resolución del Residuo, se consideró la no saturación de  $C_{22}$  hallada para  $F_{10}$ . La serie de  $C_{24}$  se calculó entonces por aplicación de /8/.-

Los resultados obtenidos figuran a continuación habiéndose calculado utilizando /3/, /4/ y /9/. Las contribuciones en peso de las distintas series se encuentran detalladas en el cuadro X.-

F <sub>4</sub> y F <sub>5</sub>	C <sub>16</sub> -1.459H	a = 0.7297 2a = 1.4594 P.M.= 268.9 I.I.= 68.9	
	C <sub>18</sub> -2.791H	a = 1.3955 2a = 2.7910 P.M.= 295.7 I.I.= 119.9	
F <sub>6</sub>	C <sub>18</sub> -2.653H	P.M.= 295.8 I.I.= 113.9 a = 1.3264 2a = 2.6528	De método gráfico
	C <sub>10</sub> -0.164H	a = 0.0819 2a = 0.1638 P.M.= 270.2 I.I.= 7.7	
F <sub>7</sub>	C <sub>18</sub> -2.653H	P.M.= 295.8 I.I.= 113.9 a = 1.3264 2a = 2.6528	De método gráfico
	C <sub>20</sub> -5.263H	a = 2.6315 2a = 5.2630 P.M.= 321.2 I.I.= 208.1	

F <sub>8</sub>	C <sub>18</sub> -2.653H	a = 1.3264 2a = 2.6528 P.M. = 295.8 I.I. = 113.9
	C <sub>20</sub> -5.489H	a = 2.7445 2a = 5.4890 P.M. = 321.0 I.I. = 217.2
F <sub>9</sub> y F <sub>10</sub>	C <sub>20</sub> -4.290H	a = 2.1449 2a = 4.2898 P.M. = 322.2 I.I. = 169.1
	C <sub>22</sub> -6.926H	a = 3.4629 2a = 6.9258 P.M. = 347.7 I.I. = 253.0
F <sub>11</sub>	C <sub>20</sub> -4.290H	a = 2.1449 2a = 4.2898 P.M. = 322.2 I.I. = 169.1
	C <sub>22</sub> -5.394H	a = 2.697 2a = 5.394 P.M. = 349.2 I.I. = 196.2
Residuo	C <sub>22</sub> -6.926H	a = 346.29 2a = 6.9258 P.M. = 347.7 I.I. = 253.0
	C <sub>24</sub> -7.397H	a = 3.6986 2a = 7.3972 P.M. = 375.2 I.I. = 250.4

Cálculo de la no saturación promedio de las distintas series de ésteres:

Se calculó para las series en C<sub>18</sub>, C<sub>20</sub>, C<sub>22</sub>, en idéntica forma que la expresada para los ésteres solubles de litio. También se calcularon las características de los ácidos correspondientes las cuales figuran al pie del cuadro X.-

Cálculo de las fracciones de ésteres sólidos de plomo:

Las Fraciones 1 y 2 se supusieron constituidas por miristato, palmitato y palmitoleato de metilo. Se calcularon resolviendo el sistema de ecuaciones que se detalla para la Fracción 1.-

Fracción 1

$$\left\{ \begin{array}{l} x + y + z = 4.81 \\ \frac{1}{242.4} + \frac{1}{270.4} + \frac{1}{268.4} = \frac{4.81}{254.0} \\ 94.6z = 4.81 \times 2.49 \end{array} \right.$$

Las Fraciones 3, 4 y 5 se consideraron constituidas por palmitato, estearato, palmitoleato y oleato de metilo. Se resolvieron por un sistema de ecuaciones del tipo /10/. El cálculo se detalla para F<sub>3</sub>.

Fracción 3

$$\left. \begin{aligned} x + y + z &= 6.57 \\ \frac{1}{271.5} + \frac{1}{268.4} + \frac{1}{296.5} &= \frac{6.57}{271.5} \\ 94.6y + 85.7z &= 6.57 \times 3.20 \end{aligned} \right\}$$

Los ésteres saturados se distribuyeron en cada fracción aplicando el sistema de ecuaciones /11/.-

La Fracción 6 se supuso constituida por estea~~te~~ rato, oleato y eicosenoato de metilo. Se resolvió el sistema de ecuación del tipo indicado en la resolución de las fracciones 1 y 2. Es interesante hacer resaltar que aplicando el método gráfico entre F<sub>6</sub> y F<sub>7</sub> se determina para la serie de C<sub>20</sub> un índice de iodo (II = 79.0) que se puede considerar coincidente con el del eicosenoato de metilo (II:783) Esto nos condujo a considerar en el cálculo dicho éster como único constituyente para la serie de C<sub>20</sub>.-

La Fracción 7 y el Residuo se resuelven calculando las fracciones molares de los componentes por resolución del sistema /6/. Los valores hallados se anotan a continuación.-

	$\Pi_{20}$	$\Pi_{22}$	$\Pi_{24}$
F <sub>7</sub>	0.00012268	0.00272852	
Res.		0.00059488	0.00288178

Para la Fracción 7 se calcula la serie de C<sub>22</sub> considerando monoetilénica la serie de C<sub>20</sub> y aplicando la ecuación /8/.-

$$F_7 \begin{cases} C_{20}-2H \\ C_{22}-2.691H \end{cases} \begin{cases} a = 1 \\ 2a = 2 \\ P.M.= \\ I.I.= \\ a = 1.3456 \\ 2a = 2.6912 \\ P.M.= 351.9 \\ I.I.= 97.1 \end{cases}$$

Para resolver el Residuo se consideró la no saturación de la serie de C<sub>22</sub> constante con respecto a F<sub>7</sub> y aplicando /8/ se calculó la serie de C<sub>24</sub>.

$$\text{Residuo} \begin{cases} C_{22}-2.691H \\ C_{24}-2.801H \end{cases} \begin{cases} a = 1.3456 \\ 2a = 2.6912 \\ P.M.= 351.9 \\ I.I.= 97.1 \\ a = 1.4007 \\ 2a = 2.8014 \\ P.M.= 379.8 \\ I.I.= 93.67 \end{cases}$$

Cálculo de la no saturación promedio de las distintas series de ésteres:

Se calculó la no saturación promedio para las series de C<sub>20</sub> y C<sub>22</sub> de la misma forma que se detalla para los ésteres solubles de litio. Se calcularon las características de los ácidos correspondientes, que figuran al pie del cuadro XI.-

Cálculo de la composición final:

Teniendo en cuenta los valores que se expresan como "ácidos % ácidos totales", para cada una de las tres destilaciones se calcula la composición final en ácidos grasos. En primer lugar se determinó la no saturación promedio para los ácidos de igual número de átomos de carbono (C<sub>18</sub>; C<sub>20</sub>; C<sub>22</sub>; C<sub>24</sub>).-

Se detalla el cálculo para la serie de C<sub>18</sub>:

Fracción	n	a	n x a
Solubles Li	$\frac{1.67}{252.4} = 0.0059135$	1	0.0059135
Líquidos Pb	$\frac{17.70}{281.8} = 0.0628105$	1.3390	0.08410326
Sólidos Pb	$\frac{4.03}{279.4} = 0.0144237$	2.5422	0.03666793
	<u>0.0831477</u>		<u>0.12668469</u>

$$a = \frac{\sum n \times a}{\sum n} = \frac{0.12668469}{0.0831477} = 1.5236$$

Así se llega a conocer la composición en ácidos grasos que se encuentra detallada en el cuadro V.-

Posteriormente se calculó también la composición expresada en moles % según figura en el cuadro VI.-

CONCLUSIONES

- 1 - Se estudió la composición en ácidos grasos del depósito hepático del *Merluccius hubbsi* Marini de nombre vernáculo "Merluza".-
- 2 - El contenido lipídico hallado en muestras de conjunto fué de 45.15 % y 45.09 % con II: 172.6 y 169.0 y con - IS: 182.6 y 183.3. Se determinaron también otras constantes físicas.-
- 3 - El contenido de insaponificable de los lípidos hepáticos fué de 2.49 % constituido a su vez por un 90.2 % de colesterol total. En ese insaponificable había un contenido de vitamina A que correspondía a 2371 U.S.P. por gramo de aceite.-
- 4 - La destilación fraccionada a vacío de los ésteres metílicos de los ácidos solubles (L1), "líquidos" (Pb) y - "sólidos" (Pb) permitió llegar a calcular la composición en ácidos grasos de dicha grasa. Son componentes mayores los ácidos palmítico, no saturados en C<sub>18</sub>-3.1H, no saturados en C<sub>20</sub>-6.2H, no saturados en C<sub>22</sub>-8.4H y compo

nentes menores los ácidos mirístico, esteárico, miristoleico, palmitoleico y no saturados en  $C_{24}-5.9H$ . Dentro de los componentes mayores es importante señalar la cantidad elevada en que se presenta la serie de ácidos en  $C_{22}-8.4H$ .-

- 5 - Al realizar la espectrofotometría de absorción en el ultravioleta para varias fracciones de ésteres "líquidos", se observó la presencia de cantidades importantes de ácidos polietilénicos: di, tri, tetra, penta y hexaetilénicos.-

## BIBLIOGRAFIA

- (1) R.E. Brenner, E.A. Quaglia y P. Cattáneo - Composición Química de la Grasa Mesentérica de "Boga" - An. Asoc. Quim. Arg. (en prensa).
- (2) W.S. Rapson, H.M. Schwartz y N.J. Van Rensburg - South African Fish Products. Part II. The Quantitative Extraction of Laboratory Sample of Oils from Fish Tissues. - J. Soc. Chem. Ind. (T) 62, 221-223, (1943).
- (3) W.J. Van Rensburg, W.S. Rapson y H.M. Schwartz - South African Fish Products. Part XVII - The Component acids of the liver oils of the stockfish (*Merluccius capensis*) J. Soc. Chem. Ind. (T) 64, 140-143 (1945).
- (4) Shorland and Hilditch - Biochem. J. 32, 792 (1938).
- (5) Castellanos Ascención O. - An. Asoc. Quim. Arg. 28, 91-98 (1940).
- (6) J. Twitchell - J. Ind. Eng. Chem. 13, 806 (1921).
- (7) Y. Toyama y T. Tsuchiya. Bull. Chem. Soc. Japan. 10, 301 (1935).
- (8) Y. Toyama y T. Tsuchiya - Bull. Chem. Soc. Japan. 10, 433 (1935).
- (9) Y. Toyama y T. Tsuchiya. Bull. Chem. Soc. Japan. 10, 539 (1935).
- (10) Y. Toyama y T. Tsuchiya - Bull. Chem. Soc. Japan. 10, 543 (1935).
- (11) S. Matuda y S. Jeno - J. Chem. Soc. Japan. 60, 49 (1939)
- (12) A.O.C.S. Official and tentative Methods of the American - Oil Chemists' Society (1950).
- (13) Reports of the Spectroscopy Committee - Nov.15 1948 - J. Am. Oil Chemists' Soc. 26, 399-404 (1949).
- (14) Report of the Spectroscopy Committee J. Am. Oil Chemists' Soc. 28, 331-335 (1951).

- (15) Privett O.S. y Lundberg N.O. "Studies of the Spectral Characteristics of Alkali-isomerized autoxidized Fatty Acid - J. Am. Oil Chemists' Soc. 28, 313-317 (1951).
- (16) Brice B.A. and Swain M.L. - J. Am. Oil Chem. Soc. 26, 272-278 (1949).
- (17) A. Yoshida - J. Agric. Chem. Soc. Japan. 14, 277 (1938)
- (18) Bloor, Belkan y Allen - J. Biol. Chem. 52, 191 (1922)
- (19) Ass. of Vitamin Chemists' - "Methods of Vitamin Assay" (1951).
- (20) T.P. Hilditch. The Chemical Constitution of Natural Fats John Wiley and Sons N.Y. (1951).
- (21) J.A. Lovern "The Composition of the depot fats of aquatic animal" - Food Investigation, Sp. Rep. n<sup>o</sup> 51 (1942).
- (22) Charnley F. "Calculations in the Investigation of Oils - and Fats with Special Reference to Fish Oils" - Part I Contr. Canad. Biol. Fish, 8 (35) (Series C, Ind. n<sup>o</sup> 23) 509 (1934).
- (23) Charnley F. "Calculations in the Investigation of Oils and Fats with Special Reference to Fish Oils" - Part II J. Biol. Bd. Can. 2 (3) (1936).
- (24) Guha, Hilditch and Lovern - Composition of the Mixed Fatty Acids present in Certain Fish Liver Oils - Biochem. J. 24, 266 (1930).

## INDICE

Introducción . . . . .	2
Foto Nº 1 - Ejemplares de "Merluza". . . . .	3
Capítulo I - Características Biológicas . . . . .	5
Taxonomía . . . . .	5
Morfología . . . . .	5
Habitat . . . . .	5
Régimen Alimenticio . . . . .	5
Cuadro I - Características Morfométricas . . . . .	6
Reproducción . . . . .	7
Capítulo II - Contenido Graso - Constantes físicas y químicas de los lípidos hepáticos del <i>Merluccius hubbsi</i> . . . . .	8
Foto Nº 2 - Ejemplar de "Merluza" con hígado "in-situ" . . . . .	10
Cuadro II - Contenido Graso - Constantes físicas y químicas. . . . .	9
Capítulo III - Composición en ácidos grasos de los lípidos hepáticos del <i>Merluccius hubbsi</i> - Composición final y total en ácidos grasos - Espectrofotometría . . . . .	12
Ácidos grasos totales e insaponificable . . . . .	12
Cuadro III - Ácidos grasos totales e insaponificable . . . . .	12
Fraccionamiento con sales de litio - Ácidos solubles e insolubles en acetona . . . . .	13
Fraccionamiento con sales de plomo - Ácidos solubles e insolubles en alcohol-acético . . . . .	14
Esterificación y fraccionamiento por destilación de los ácidos solubles (Li), "líquidos" (Pb) y "sólidos" (Pb). . . . .	14
Cuadro IV - Fraccionamiento con sales de litio y plomo - Rendimiento - Características de las fracciones y de sus ésteres metílicos . . . . .	15
Composición total en ácidos grasos . . . . .	18
Cuadro V - Composición de los ácidos grasos totales . . . . .	18
Cuadro VI - Composición de los ácidos totales . . . . .	19
Estudio espectrofotométrico de los ésteres "líquidos" (Pb) . . . . .	20
Curvas de absorción espectrofotométrica de los ésteres "líquidos" (Pb). . . . .	21
La composición en ácidos grasos de los lípidos hepáticos del <i>M. hubbsi</i> en relación con otros peces . . . . .	24
Cuadro VII - Comparación de los lípidos hepáticos de diversas especies del género <i>Merluccius</i> . . . . .	25

Capítulo IV - Estudio del insaponificable de la grasa hepática del <i>Merluccius hubbsi</i> . . . . .	28
Contenido de colesterol . . . . .	28
Foto Nº 3 - Hígado aislado del <i>M. hubbsi</i> con vesícula biliar . . . . .	29
Determinación de vitamina A . . . . .	30
Cuadro VIII - Contenido vitamínico . . . . .	30
Capítulo V - Detalles experimentales . . . . .	32
Características biológicas . . . . .	32
Contenido graso . . . . .	32
Constantes físicas y químicas . . . . .	33
Composición en ácidos grasos . . . . .	33
Saponificación . . . . .	33
Fraccionamiento de los ácidos totales - Separación con sales de litio . . . . .	33
Separación con sales de plomo . . . . .	35
Obtención de los ésteres metílicos y destilación de los mismos . . . . .	35
Estudio espectrofotométrico de algunas fracciones de destilación de los ésteres "líquidos" de plomo . . . . .	36
Esquema del aparato de isomerización incluyendo - el purificador de hidrógeno . . . . .	37
Determinación de colesterol total en insaponificable . . . . .	39
Determinación de vitamina A . . . . .	39
Cuadro IX - Composición de los ésteres metílicos solubles (Li) . . . . .	41
Cuadro X - Composición de los ésteres metílicos "líquidos" (Pb) . . . . .	42
Cuadro XI - Composición de los ésteres metílicos "sólidos" (Pb) . . . . .	43
Cuadro XII - Espectrofotometría de los ésteres metílicos "líquidos" (Pb) - Fracción 5 . . . . .	44
Cuadro XIII - idem - Fracción 6 . . . . .	45
Cuadro XIV idem - Fracción 7 . . . . .	46
Cuadro XV idem - Fracción 8 . . . . .	47
Cuadro XVI idem - Fracción 9 . . . . .	48
Cuadro XVII idem - Fracción 10 . . . . .	49
Cuadro XVIII idem - Fracción 11 . . . . .	51
Capítulo VI - Resolución matemática de las fracciones de destilación . . . . .	53
Métodos de cálculo . . . . .	54
Método de Van Rensburg-Rapson-Schwartz . . . . .	55
Método gráfico - Serie de C <sub>18</sub> . . . . .	56
Método de Charnley . . . . .	57
Método aplicado a la resolución de fracciones - constituidas por ésteres saturados y no saturados de índice de iodo conocido . . . . .	59
Cálculo de las fracciones de ésteres solubles(Li) . . . . .	60



Cuadro XIX - Fracciones molares de las fracciones de destilación (Esteres solubles de litio) . . . . . 61  
Cálculo de la no saturación promedio para las distintas series de ésteres solubles (Li) . . . . . 65  
Cálculo de las fracciones de ésteres "líquidos" de (Pb) . . . . . 67  
Cuadro XX - Fracciones molares de las fracciones de destilación (Esteres "líquidos" de Pb) . . . . . 69  
Cálculo de las fracciones de ésteres "sólidos" de (Pb) . . . . . 73  
Cálculo de la composición final. . . . . 76  
Conclusiones. . . . . 78  
Bibliografía . . . . . 80  
Indice . . . . . 82