

Tesis de Posgrado

Aceites de semilla de Proteaceae : Estudio de la composición química de la semilla y del aceite de semilla de Gevuína avellana Molina

Arias, Roberto Horacio

1960

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. 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. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Arias, Roberto Horacio. (1960). Aceites de semilla de Proteaceae : Estudio de la composición química de la semilla y del aceite de semilla de Gevuína avellana Molina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1049_Arias.pdf

Cita tipo Chicago:

Arias, Roberto Horacio. "Aceites de semilla de Proteaceae : Estudio de la composición química de la semilla y del aceite de semilla de Gevuína avellana Molina". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1960.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1049_Arias.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

RESUMEN

Se presenta un estudio sobre la composición química del aceite de semilla de Gevuina avellana Molina, una Proteacea que desarrolla en el suelo argentino. Se inicia así el examen de composición, en ese sentido, de aceites de semillas de Proteaceas, familia botánica muy poco considerada hasta el presente bajo ese aspecto.

La semilla libre de cáscara de Gevuina avellana Mol. cosechada en los alrededores del Lago Puelo (Chubut), rinde por extracción con hexano 40% de aceite cuyas principales características físicoquímicas han sido determinadas (I.S:188,6 ; I.I:87,7).

Por destilación fraccionada de los ésteres metílicos de los ácidos "sólidos" y "líquidos" del aceite se ha determinado la composición de sus ácidos totales, con los resultados indicados en el Cuadro 1.

Han resultado ser componentes "mayores" los ácidos oleico, hexadecenoico, linoleico y eicosenoico y practicamente el ácido docosenoico. Han sido reconocidos los ácidos oleico (como dihidroxiderivado) y el ácido linoleico (como tetrabromoderivado).

Por vez primera se señala que el ácido eicosenoico presente en aceites de semillas de Proteaceas es el ácido 11-12 eicosenoico. Así mismo se ha establecido que el ácido docosenoico presente es el ácido 13-14 docosenoico. En ambos casos las estructuras han sido probadas por ruptura oxidativa de los ozonidos correspondientes e identificación de los ácidos mono y dicarboxílicos por cromatografía sobre papel, ha quedado pendiente de un nuevo estudio la identificación y demostración de estructura de los ácidos hexadecenoicos presentes en este aceite.

Mientras se realizaba este estudio se dispuso de valores de composición en ácidos grasos de los aceites de semilla de otras dos Protea

Res de Tesis 1970

ceas argentinas: Lomatia hirsuta Lam. (Diels) ("Radal") y Imbothrium coccineum Forst ("wotro").

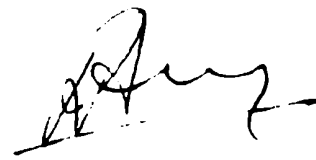
	ácidos % ácidos totales	moles % moles
Cáprico	0,1	0,1
Laurico		
Mirístico	0,3	0,4
Palmitico	3,7	3,8
esteárico	0,8	0,7
Araquídico	1,6	1,3
Behénico	1,9	1,5
Lignocúrico	0,2	0,1
Hexadecenoico	22,0	15,6
Oleico	37,0	38,6
Linoleico	11,2	10,5
Licosenoico	11,5	9,8
Docosenoico	9,3	7,3
Tetracosenoico	0,4	0,3

Cuadro 1-Composición de los ácidos totales del aceite de semilla de Sevuína avellana Molina.

El estudio comparativo de los valores de composición en ácidos grasos de estos dos aceites y el de los aceites de Sevuína avellana Mol. y Maca dania ternifolia (este último es el único aceite de Proteaceas cuya composición se encuentra registrada en la bibliografía) revela que estos aceites son complejos en sus composiciones y que presentan un notable contenido en ácidos hexadecenoicos (20 a 23% de los ácidos totales).

Esto pareciera ser la característica diferencial más importante de los aceites de semilla de Proteaceas.

Se presentan valores de composición general de la pepita entera y de la pepita agotada por hexano de Gevuina avellana 401. Se ha probado por cromatografía sobre papel, la presencia de sacarosa y por las mismas técnicas (después de hidrólisis) se ha demostrado que los polisacáridos presentes en esta semilla son galactanos. Así mismo, y como componentes de los pentosanos presentes se señala la presencia de araboxilribosanos.


Roberto Horacio Arias

FCEN

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

"Aceites de semilla de Proteaceas-Estudio de la composición
química de la semilla y del aceite de semilla de *Gevuina
avellana* Molina"

Roberto Horacio Arias

Tesis presentada para optar al
Título de Doctor en Química
Orientación Química Analítica

AÑO 1960

TESIS: 1019

TEMA

**MI sincero y profundo agradecimiento al Prof. Dr. Pedro
Gattaneo por su eficaz dirección y esfuerzo personal
en la realización de esta tesis.**

Agradecimientos:

A la Dra. Germaine Karman de Sutton por su valiosa y desinteresada colaboración.

Al Dr. Luis Pardo de la Dirección de Bosques de la Secretaría de Agricultura y Ganadería de la Nación por haber remitido las semillas.

Al Ing. Demetrio Havrylenko de la Dirección de Parques Nacionales por sus informaciones botánicas.

Al Dr. Rodolfo Brenner y colaboradores por su contribución a la investigación de estructuras de ácidos.

A la Dra. María H. Bertoni por sus consejos.

10

11

12

13

14

I-DISCUSSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL

Antecedentes bibliográficos sobre aceite de semillas de Proteaceas:

Al presente la bibliografía específica registra un solo estudio acerca de la composición en ácidos grasos de aceites de semilla de plantas pertenecientes a la familia de las Proteaceas. Se trata del aceite de semilla de Macadamia ternifolia (1), una planta nativa de Australia, que posteriormente fué introducida en Hawaii.

Las Proteaceas tienen en total unos cincuenta géneros con unas mil quinientas especies distribuidas en forma muy característica; quinientas noventa y uno en Australia, veinticinco en Asia oriental tropical, veintisiete en Nueva Caledonia, dos en Nueva Zelanda, siete en Chile, treinta y seis en América del sur tropical, doscientas sesenta y dos en el sudoeste de la Colonia del Cabo, dos en Madagascar y cinco en las montañas del África tropical. Como se ve esta familia tiene un notable predominio en el hemisferio sur. La mayoría de las Proteaceas viven en regiones donde hay un largo período seco y tienen caracteres xerófilos (2). La mayor parte de las especies de Proteaceas son nativas de Australia, mientras que las remanentes se consideran nativas de la Colonia del Cabo y de otras regiones adyacentes de Sudafrica. Los miembros de esta familia se admiten como sobrevivientes de una de los más característicos tipos de la flora primitiva del continente australiano (1).

El vegetal Macadamia ternifolia produce frutos conocidos en inglés como "Macadamia nut" ó "Queensland nut". Las nueces, aproximadamente esféricas tienen alrededor de 2,5 cm de diámetro y poseen una cáscara exterior resistente. (La relación pepita/cáscara es de 29/71). Las pepitas son blancas, tienen un diámetro de aproximadamente 1,3 cm y aroma que se asemeja a la nuez de Brasil aunque algo más delicado. El precio de estas nueces es elevado, y en 1950 (2) se han hecho inversiones de

importancia en Hawaii para la producción de estas nueces.

Las pepitas contenidas en las nueces de Macadamia ternifolia (3) son muy ricas en aceite pues contienen entre 75 y 79% (calculado sobre base seca). El aceite es de color amarillo suave ligeramente aromático y ha sido considerado como un aceite de alta calidad para uso alimentario, dependiendo su producción del precio a que pueda ser vendido. Las características físicoquímicas descritas para este aceite (1)(4)(5)(6) señalan valores de índice de Iodo 74-76, índice de saponificación 193-197, insaponificable total 0,1-0,3%, índice de refracción a 40°C: 1,460 a 1,461, temperatura de solidificación -12°C.

En 1950 Bridge y Hilditch(1) realizaron el primer estudio sobre la composición de los ácidos grasos totales del aceite de semilla de Macadamia ternifolia. Para ello aplicaron los métodos que se fundan en la cristalización fraccionada de los ácidos totales en distintos solventes a muy bajas temperaturas (acetona, éter y temperaturas de hasta -60°C). Del análisis de cada fracción obtenida en estos procesos de cristalización se deduce la composición de cada una de ellas a través de la destilación fraccionada en vacío de sus ésteres metílicos. La composición final de los ácidos totales de este aceite mostró que era sustancialmente diferente a la esperada en base a las características físicoquímicas del aceite y a los valores de ciertos componentes ácidos en aceite vegetales. La composición en cuestión fué la siguiente:

Mirístico	-----	1,6
Palmitico	-----	9,0
Estearico	-----	3,3
Araquídico	-----	2,2
Behénico	-----	0,8

Hexadecenoico	20,4
Oleico	59,3
Linoleico	2,2
Eicosenoico	2,2

Consecuentemente, los autores concluyen que este aceite se distingue por su muy bajo contenido en ácido linoleico, y por la presencia de una pequeña cantidad de un ácido eicosenoico, sobre todo, por su elevado contenido en ácido hexadecenoico (C_{16} monoetilénico). Los autores han caracterizado en forma indudable el ácido oleico (como dihidroxi derivado y también a través del reconocimiento de los productos de ruptura oxidativa con permanganato de potasio en acetona), el ácido linoleico (por su transformación en el tetrabromo derivado de adición), el ácido hexadecenoico ha sido caracterizado como el 9-10 hexadecenoico (palmitoleico) a través del reconocimiento de los productos de ruptura oxidativa con permanganato en acetona. Dada la pequeña cantidad de material disponible no han podido caracterizar a los demás componentes ácidos calculados en la composición indicada.

Si bien esta sería el único caso de un aceite de semilla con semejante proporción de ácido hexadecenoico, composiciones similares respecto de ese componente ácido, aunque siempre acompañados de proporciones sustanciales de ácidos altamente insaturados en C_{20} y en C_{22} se han encontrado en grasa del plankton y la flora marina (7)(8). El ácido hexadecenoico es componente también importante de las grasas de algunas formas inferiores de la flora terrestre tales como en la del bacilo diftérico (9), en la levadura (10), y en las esporas de licopodio (11).

Bridge y Hilditch ante la comprobación registrada en la composición

del aceite de Macadamia y antes de considerarla como una verdadera excepción juzgan prudente obtener información acerca de la composición de los aceites de semillas de otras especies de Proteaceas.

Por estos motivos es que el presente trabajo ha tenido por principal finalidad contribuir a una más amplia información de la composición de aceites de semillas de Proteaceas, considerando aquellas procedentes de semillas de vegetales de esa familia que desarrollan en el suelo argentino.

Proteaceas en la Argentina:

En la Argentina se conocen cuatro géneros de Proteaceas algunos comunes a Chile: Gevuina, Lomatia, Embothrium y Roupala. Los vegetales que desarrollan en el país pertenecientes a estos géneros son: Gevuina avellana Molina, Lomatia hirsuta (Lam.) Diels, Lomatia ferruginea (Cav.) R.Br., Embothrium coccineum Forst., y Roupala cataractarum Gleason (12).

La Gevuina avellana Molina se conoce con los nombres vulgares de "avellano", "guevín", "nefusa" y desarrolla en Rio Negro, Neuquen y Chubut.

La Lomatia hirsuta (Lam.) Diels se conoce con el nombre vulgar de "Radal" siendo sus sinónimos ó nombres antiguos Lomatia obliqua y Lomatia dentata. Desarrolla en Neuquen, Chubut, Rio Negro.

La Lomatia ferruginea (Cav.) R.Br. conocida con el nombre de "Fuinque", "Huínque", "Palcilla" ó "Romerillo", desarrolla en Neuquen, Chubut, Santa Cruz y Rio Negro.

El Embothrium coccineum Forst. conocida con los nombres vulgares de "Notro", "Ciruelillo" y "Posforillo" prolifera en Rio Negro, Neuquen, Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego.

El Koupala cataractarua Sleumer desarrolla en Misiones.(12)

Es probable que otra Koupala la Koupala brasiliensis Klotzsch se encuentre también en el Norte Argentino.

Así mismo una especie australiana, Hakea nodosa prospera bien en la zona de Bariloche.(13)

Composición química del aceite de semilla de Cevadilla avellana Mol:

Disponiendo de frutos maduros de este vegetal, cosechado en 1959 en los alrededores del Lago Puelo (Chubut), se decidió examinar el aceite de su semilla, determinando sus características físicoquímicas y su composición en ácidos grasos. Como puede verse en la PARTE EXPERIMENTAL la semilla rinde alrededor de 40% de aceite por extracción con hexano técnico. Según se desprende de las características físicoquímicas de este aceite (ver Cuadro 4) se trata de un aceite no secante de índice de iodo 87,7. Ninguna de las demás características señaladas hace prever una composición en ácidos grasos diferentes a las que caracterizan a los más conocidos aceites vegetales (glicéridos de ácidos en C_{18} y en C_{16}).

La composición química de los ácidos totales se estableció por fraccionamiento de los mismos en los llamados "ácidos sólidos" y "líquidos" (atraves de jabones de plomo en etanol), seguido de la esterificación con metanol y la destilación fraccionada en vacío de los ésteres metílicos de los ácidos "sólidos" y "líquidos". Con los detalles que se exponen en la PARTE EXPERIMENTAL en lo referente a técnica de análisis y cálculo de composición de las fracciones de destilación, ha sido posible calcular la composición final de los ácidos totales de este aceite con los resultados que se exponen en el Cuadro 1

Cuadro 1 .Composición de los ácidos totales del
aceite de semilla de Gevuína avellana Molina:

	Ácidos % Ácidos totales	Moles % Moles
Cáprico	0,1	0,1
Laurico	0,3	0,4
Mirístico	3,7	3,8
Palmitico	0,8	0,7
Araquídico	1,6	1,3
Behénico	1,9	1,5
Lignocérico	0,2	0,1
Hexadecenoico	22,0	15,6
Oleico	37,0	33,6
Linoleico	11,2	10,5
Eicosenoico	11,5	9,8
Docosenoico	9,3	7,3
Tetraosenoico	0,4	0,3

La observación del cuadro 1 señala la significativa complejidad de la composición de los ácidos totales de este aceite, desde que se han calculado catorce componentes ácidos diferentes en magnitudes moleculares que van desde C_{10} a C_{24} .

Si se compara la composición hallada con la encontrada por Bridge y Hilditch para el aceite de Macadania ternifolia se nota simi-

litud respecto de los componentes ácidos calculados, destacando que los autores mencionados no citan a los ácidos cáprico y laurico entre los componentes saturados ni tampoco a los ácidos acosenoico y tetracosenoico entre los no saturados. El aceite de Gevuína avellana DCI es más pobre en ácidos saturados totales que el de Macadania ternifolia (8,6 ; 15,3% respectivamente). Así mismo, su contenido en ácido oleico es también menor (37,0 y 59,3% respectivamente), mientras que es sensiblemente más rico en ácidos linoleico y eicosenoico pues contiene 11,2 y 11,5 % de estos componentes contra 2,2 y 2,2 % en el aceite de Macadania. Cabe destacar que en el aceite de Gevuína se ha calculado 9,3% de un ácido docosenoico, no existente en el aceite de Macadania.

El hecho más digno de ser destacado es que el contenido en ácido hexadecenoico del aceite de Gevuína es muy elevado y prácticamente similar al calculado por Bridge y Hilditch para el aceite de Macadania (22,0 y 20,4% respectivamente). Hasta aquí y a través de tan solo dos análisis de composición de aceite de semillas de Proteáceas diferentes, surgiría como característica para esta última la producción de aceites de muy alta concentración en ácido hexadecenoico. Esta previsión se ve confirmada por el análisis de composición de los aceites de semilla de otras dos Proteáceas (Leontia hirsuta (Lam.) Diels y Lebothrium coccineum Forst.) como se expone más adelante.

Como puede apreciarse en la PARTE EXPERIMENTAL se han identificado algunos de los ácidos no saturados presentes en este aceite. De forma inaudable se ha reconocido al ácido oleico partiendo de algunas de las fracciones de destilación de los ésteres metílicos líquidos. Los ácidos aislados de las mismas (ricos en oleico y linoleico) se fraccionan a través de la formación de compuestos de inclusión con urea; de

los compuestos de inclusión se separa ácido oleico algo contaminado con linoleico y por aplicación de la técnica de Robinson y Robinson(14) modificado por Lapworth y Mottram (15) (oxidación por permanganato de potasio en medio alcalino y en frío) se transforma en los hidroxiderivados. Por sucesivas extracciones acuosas en caliente para eliminar los tetrahidroxiderivados según la técnica de Grindley(16) se aísla luego de reorristalizar en alcohol, ácido 9-10 dihidroxi esteárico, reconocido por su temperatura de fusión y de fusión mezcla.

Operando sobre la fracción de ácidos que no produjeron compuestos de inclusión con urea en la operación anterior, se reconoce al ácido linoleico a través de su transformación en el ácido 9-10 12-13 tetrabromoesteárico, reconocido por su temperatura de fusión y fusión mezcla. La bromuración de estos ácidos en eter etílico no ha permitido obtener hexabromoderivados, lo que prueba la ausencia de ácido linoleico.

El ácido eicosenoico presente en este aceite ha sido identificado como el ácido 11-12 eicosenoico. Este ácido ha sido reconocido en 1936 como un componente importante de la cera líquida de Siamoncsia californica(17)(18) en la que también se encuentra presente el ácido erúcido. Posteriormente ha sido reconocido junto al ácido erúcido y los ácidos linoleico y oleico en aceites vegetales(19)(20)(21). En el aceite de Guafina y según puede verse en la PARTE EXPERIMENTAL este ácido ha sido reconocido por ozonización y reconocimiento de los productos de ruptura de los osónidos por técnicas de cromatografía sobre papel que condujeron a la identificación de un ácido dicarboxílico con 11 átomos de carbono (ácido undecanedioico) y un ácido monocarboxílico de 9 átomos

de carbono (ácido nonanoico).

El ácido docosenoico presente en este aceite (ver PARTE EXPERIMENTAL) ha sido identificado como el ácido erúico (13-14 docosenoico), ampliamente difundido en aceite de semillas de plantas de algunas familias. La identificación ha sido lograda por ozonización y reconocimiento de los ácidos de ruptura de los ozonidos, habiendo identificado entre estos y por cromatografía sobre papel un ácido dicarboxílico con trece átomos de carbono (ácido tridecanoico) y uno monocarboxílico con nueve átomos de carbono (nonanoico).

Los ácidos procedentes de las fracciones de destilación "líquidas" calculadas en ésteres de ácidos en C_{16} fueron empleadas para la posible identificación del ácido hexadecenoico presente en este aceite. En el momento actual no es posible precisar la real estructura del ó de los ácidos hexadecenoicos presentes. Ha sido observado que los dihidroxiderivados obtenidos por oxidación con permanganato en medio alcalino y en frío funden a la misma temperatura (123°C) que la mencionada en la literatura para el ácido 9-10 dihidroxipalmitico (producto de oxidación del ácido palmitoleico). Sin embargo cuando se mezclan ambas sustancias se observa una depresión en la temperatura de fusión de aproximadamente 10°C. Este comportamiento hace pensar que en el aceite de gévina avellana sol pueda existir como componente principal en el grupo de los hexadecenoicos, un ácido distinto del 9-10 hexadecenoico (palmitoleico). La estructura definitiva del ó de los ácidos hexadecenoicos presentes en este aceite será motivo de un estudio aparte.

Como complemento de todo lo expuesto presentamos el Cuadro 2 que resume las composiciones de los ácidos totales de los aceites de semilla de Proteáceas estudiadas hasta el presente. De su observación

surge que estos aceites presentan composiciones relativamente complejas, en razón del número de componentes. Por otra parte, algunos de los tabulados presentan componentes ácidos que no han tenido lugar en los cálculos de composición de otros, especialmente ha llamado la atención la presencia de hidroxiácidos, calculado como ácido hidroximirístico, en el aceite de semilla de Ambothrium coccineum Forst ("Motro"). El hecho más notable que este cuadro señala es el de la riqueza de todos los aceites de semilla de Proteaceas estudiados en ácidos hexadecenoicos (20 a 23% de los ácidos totales), condición esta que parecería ser la característica diferencial de los aceites de semilla de plantas de esta familia.

	<i>Geum avellana</i> <i>acris</i> (avellano)	<i>Onostia hirsuta</i> (Lam.) <i>oleis</i> (radal)	<i>Labotrium coccineum</i> <i>crat</i> (notro)	<i>Macadania ternifolia</i>
Caproico	—	—	0,3	—
Caprílico	—	—	1,2	—
Cáprico	0,1	—	0,4	—
Laurico	—	0,2	—	—
Mirístico	0,3	0,2	0,3	1,0
Palmitico	3,7	11,5	7,9	8,0
Estearico	0,8	1,6	0,7	3,6
Arcaúdicico	1,6	0,7	0,1	2,2
Benénico	1,7	—	—	0,8
Myristico	0,2	—	—	—
Tetradecénico	—	—	2,0	—
Hexadecénico	22,0	22,8	23,1	22,4
Óleico	47,0	50,4	45,7	52,3
Linoléico	11,2	11,5	11,6	2,2
Linolénico	11,6	1,0	2,5	2,2
Docosénico	3,3	—	—	—
Tetracosénico	0,4	—	—	—
Microhidróxicidos	—	—	2,8(*)	—
Bibliografía	estado presente	(22)	(22)	(1)

(*)-Ha sido calculado como un ácido microhidroxilístico.-

Cuadro 2-Composición de los ácidos totales de aceites de semilla de Proteáceas estudiadas hasta el presente.

Sobre la composición química de la harina de pepita de *Gevuina avellana* Mol. agotada por hexano:

Como subproducto en la obtención del aceite por extracción con hexano se obtiene una harina, sobre la que se ha hecho un examen general de composición. Reichert(23) ya en el año 1928 publicó un examen de composición de los frutos de este vegetal. Siendo un producto comestible es de interés conocer su composición química. Los valores de composición indicados por Reichert son los siguientes:

	Hueso secado a 105°C %	Cáscara secada a 105°C %
Proteína bruta	32,11	3,20
Grasa(extr estereo)	54,76	1,80
Celulosa	—	50,20
Ceniza	4,24	1,63
Materias extractivas no azuca- das	8,84	43,17

Los valores de la primera columna se refieren a la composición de la pepita entera libre de cáscara, el valor de materia extractiva no azuada(8,84%) figura en la publicación original como 18,99%; sin embargo y siendo un valor calculado por diferencia, es probable se haya cometido un error no corregido durante la publicación. Reichert indica que el extracto acuoso de la pepita contiene 2% de materias nitrogenadas solubles y 7,4% de azúcares reductores. Así mismo, señala que la cáscara es rica en sustancias tóxicas.

El Cuadro 3 resume los valores de composición encontrados analizando la harina resultante de la extracción del aceite e incluye también los valores calculados para la composición de la pepita entera.

	% Pepita agotada	% Pepita entera
Humedad (100°C-vacio)	8,5	8,5
Cenizas (500-550°C)	5,3	2,8
Proteínas (N 5,7)	21,1	11,3
Pentosanos (A.O.A.C)	8,3	4,4
Fibra cruda (A.O.A.C)	8,0	4,3
Extracto etereo(Eter etílico)	8,2	46,6
Asucars reductores(en glucosa)	4,0	2,2
Asucars invertibles (en sacarosa)	13,7	7,3
Hidratos de carbono sacarificables	5,5	2,9
Acido fítico (Casares y Moreno)	1,6	0,9

Cuadro 3 -Composición química de la semilla de Guavina avellana Mol

En la PARTE EXPERIMENTAL se expone con detalles mayor las técnicas utilizadas en este examen de composición. Debe destacarse que no se ha llegado a sumar cien con los valores de las determinaciones practicadas restando 8,8% por determinar sin que se haya profundizado acerca de la naturaleza de esos componentes no dosados.

En la semilla estudiada se ha comprobado la ausencia de almidón, de glucosidos cianogénicos, de taninos, de alcaloides y de alcoholes polihídricos. El extracto acuoso del producto agotado por hexano es de 36,5% siendo las proteínas presentes en su mayor parte insolubles

en agua.

Por técnicas de cromatografía sobre papel (ver PARTE EXPERIMENTAL) se ha probado que el único azúcar presente en la semilla es la sacarosa, la que fué identificada como tal y luego de inversión a través del reconocimiento de glucosa y levulosa, también por cromatografía sobre papel. En el análisis general de composición de Cuadro 3, figura 2, 2% de azúcares reductores, expresados en glucosa, sin embargo la cromatografía sobre papel no revela su presencia. En consecuencia ese porcentaje expresado en azúcares reductores podría atribuirse a productos no identificados que reducen al licor de Fehling ó, probablemente, a polisacáridos hidrosolubles tales como "Dextrinas" de naturaleza reductora. En la determinación por licor de Fehling se ha operado sobre el líquido de extracción acuosa luego de defecación, mientras que en la identificación de azúcares por cromatografía sobre papel se procedió a partir de un extracto en etanol de 80% , medio en el cual los polisacáridos son insolubles .

De la investigación de la naturaleza de los monosacáridos que forman los hidratos de carbono sacarificables y pentosanos se tiene que los hidratos de carbono sacarificables son: Galactanos, pues en la cromatografía sobre papel de los azúcares resultantes de la sacarificación solamente se halla la hexosa correspondiente: Galactosa.

Los pentosanos están formados por: Arabinosa, xilosa y Ribosa , puesto que sólo estos azúcares son hallados por cromatografía sobre papel de las pentosas resultantes de la hidrólisis de los pentosanos. Por comparación de intensidad de color y tamaño de mancha entre sí en el cromatograma revelado se deduce que la pentosa más abundante es la Arabinosa, en segundo lugar xilosa y en pequeña cantidad ribosa.

Los yuteos son: Arakioyibonnes.

II-PARTE EXPERIMENTAL

1)-Materia prima:

Se dispone de varios Kgs de frutos de Gevuina avellana Mol cosechados en 1959 en los alrededores del Lago Fuego (Chubut) (*). Con caracter previo se examinó a estos frutos estableciendo que presentan un diámetro menor oscilante entre 1,1-1,8 cm, un diámetro mayor entre 1,4 y 2,1 cm, siendo el diámetro menor medio 1,4 y el diámetro mayor medio 1,7 cm (valores hallados sobre cuarenta frutos). El peso por hectólitro corresponde a 26,6 Kg y la relación cáscara/pepita es la siguiente: cáscara 58,6%, pepita 41,3%. (1.013 g de frutos rinden 419g de pepitas y 594g de cáscaras por separación manual).

2)-Extracción del aceite bruto:

443,2g de pepitas previamente molidas a grado fino se extraen con hexano técnico en aparato Soxhlet hasta agotamiento. Se recupera por destilación la mayor parte del solvente arrastrando las últimas porciones con vapor de agua; se toma por eter etílico y lava con agua en ampolla por dos veces, deshidrata la capa eterea con sulfato de sodio anhidro, filtra, recupera el eter por destilación y calienta en estufa de vacío (5mm) a 100°C hasta constancia de peso. Se obtienen 345,8g de aceite bruto (40,4% sobre pepita), que se presenta límpido y de tono muy ligeramente amarillo, y que no precipita por enfriamiento a 15°C.

3)-Características físicoquímicas del aceite:

Sobre el aceite bruto de extracción y con caracter previo al examen de composición en ácidos grasos se practican algunas determinaciones cuyo resultados figuran en el Cuadro 4.

(*)-Nos fueron remitidas por el Dr Luis Pardo de la Dirección de Bosques de la Secretaría de Agricultura y Ganadería de la Nación.

Peso específico a 25/4°C	0,9116
Índice de refracción a 25°C	1,4632
Viscosidad Saybolt Univ. a 25°C	366 seg
Índice de saponificación(A.O.A.C)	188,6
Índice de iodo(Hanus)	87,7
Número de ácidos(mg de KOH/g)	1,16
Insaponificable total(A.O.C.S)(24)%	0,94
Ind de iodo del insap(rosenmund)(25)	84,3
Temperatura de ppción(Bellier mod.) (IRAM) (26)	30,8°C
Temperatura de ppción(Bellier mod.) (A.O.A.C)(27)	26,8°C

Cuadro 4-Aceite de semillas de Gouvaína avellana Mol.-
Características físicoquímicas.

4)-Saponificación-insaponificable-ácidos totales:

Según Hilditch(8) 218g de aceite se saponifican por reflujo durante dos horas con 65g de hidróxido de potasio y 1.090 ml de etanol de 95%. Por destilación en corriente de nitrógeno se recuperan 540ml de etanol diluyendo posteriormente con 1.100ml de agua y extrayendo en ampolla y con éter etílico la mayor parte del insaponificable(seis extracciones con medio litro de éter por vez). Los extractos etéreos reunidos se concentran por recuperación del éter purificando los concentrados por lavados acuosos en ampollas, por lavados con hidroxido de potasio diluído en agua y finalmente por lavados con agua hasta reacción neutra a la fenoftaleína(eliminación de jabones ácidos , de álcali y de alcohol). Finalmente se recupera el éter por destilación calentando el insaponifi-

cable hasta constancia de peso en estufa de vacío(5mm) y a 100°C. (*)

La solución hidroalcohólica de jabones, libre de la mayor parte del insaponificable, reunida con los líquidos acuosos alcalinos procedentes de la purificación del insaponificable, se acidifica a la heliantina por el añadido de ácido sulfúrico(1:1). Los ácidos liberados se extraen exhaustivamente con éter etílico y los extractos etéreos se lavan con agua hasta neutralidad al tornasol de los líquidos de lavado. Se trata con sulfato de sodio anhidro, se recupera el éter por destilación y calienta a constancia de peso en estufa de vacío en las condiciones ya señaladas, aislando así los ácidos totales. El Cuadro 5 se refiere a los rendimientos y características químicas del insaponificable y de los ácidos totales así separados.

Insaponificable			Ácidos Totales				
obt.(g)	% de aceite	% del insap. total	obt. (g)	% de aceite	II	IS	RAM
1,1536	0,53	56,3	206,0	94,8	92,1	197,8	233,6

Cuadro 5-aceite de Gervina avellana sol.insaponificable-ácidos totales.

(*)-El insaponificable aislado en esta macro extracción es siempre menor al insaponificable total (ver Cuadro 4), en razón de la gran concentración de jabones durante las extracciones.

5)-Obtención de los ácidos "sólidos" y "líquidos":

Según Gilditch (8) y por aplicación de la técnica de Twitchell (28) 174,8 g de ácidos totales se disuelven en 380 ml de etanol de 96% adicionado de 13,2ml de ácido acético glacial. A esta solución hirviente se añade otra también hirviente, de 123g de acetato neutro de plomo en 380ml de etanol de 95% y 13,2 ml de ácido acético glacial. Se abandona por veinticuatro horas a la temperatura ambiente (aproximadamente 20°C) separando el precipitado por filtración al vacío y recristalizándolo en 380ml de etanol de 96% conteniendo 13,2ml de ácido acético glacial (la solución se estaciona nuevamente a temperatura ambiente por veinticuatro horas). Los jabones insolubles se aíslan por filtración al vacío lavando con pequeñas porciones de alcohol frío.

Los líquidos alcohólicos reunidos se concentran a un pequeño volumen por destilación a baño maría en corriente de nitrógeno; el residuo se toma por éter etílico fuertemente acidificado con ácido acético (descomposición total de los jabones de plomo) lavando en ampolla con agua hasta reacción neutra al tornasol de los líquidos acuosos (eliminación de sales de plomo, alcohol y ácido acético). Luego de tratar con sulfato anhidro de sodio se recupera el éter y obtiene a los ácidos "líquidos" previo calentamiento en estufa de vacío a 100°C en las condiciones ya señaladas.

Los jabones de plomo insolubles se pasan a un vaso de precipitados donde se descomponen a baño maría con 100ml de ácido clorhídrico (1:1), prolongando el calentamiento hasta la obtención de una capa límpida de ácidos sólidos en la parte superior. Por enfriamiento en agua con hielo esta capa solidifica pudiéndose separar y disolver en éter

etílico. En operaciones aparte los líquidos acuosos el precipitado de óxido de plomo y demás elementos contaminados con ácidos sólidos se tratan repetidamente por éter etílico para recuperar a dichos ácidos. Los líquidos etereos se reúnen lavando a fondo con agua y prosiguiendo en la forma señalada para los ácidos "líquidos", aislando finalmente los ácidos "sólidos". El Cuadro 6 se refiere a los rendimientos y características químicas de estas dos fracciones de ácidos.

	obt. (g)	% de to. tot.	II	IS	PAA
"sólidos"	27,30	15,62	55,3	181,0	309,9
"líquidos"	147,50	84,38	97,5	200,3	280,0

Cuadro 6-Aceite de Gervíca avellana mol. ácidos "sólidos" y "líquidos".

6)-Obtención de los ésteres metílicos de los ácidos "sólidos" y "líquidos":

Según Hilditch(8) los ácidos "sólidos" y "líquidos" se esterifican por reflujo durante cuatro horas con cuatro veces su peso de metanol puro conteniendo 2% en peso de ácido sulfúrico concentrado como catalizador. Se recupera la mayor parte del metanol por destilación al baño maría, se disuelve a los ésteres brutos en éter etílico y se lava a las soluciones etereas con agua (eliminación de metanol y ácido sulfúrico) y posteriormente con solución acuosa de carbonato de potasio al 0,5% (eliminación de ácidos grasos no esterificados) y finalmente con agua. Los ésteres metílicos "sólidos" y "líquidos" se recuperan de sus respectivas soluciones etereas previa destilación de éter y posterior

tratamiento como el indicado para los ácidos totales. El Cuadro 7 se refiere a los rendimientos y características químicas de los ésteres obtenidos.

	En esterificación (g)	Est. obt. (g)	Rend. de esterific. %	Ii	I3	PMN
"sólidos"	25,0	25,0	93,8	52,9	172,6	325,1
"líquidos"	112,6	124,3	99,0	93,2	190,7	294,2

Cuadro 7-Aceite de Cevuina avellana mol. ésteres metílicos sólidos y líquidos

7)-Destilación de los ésteres metílicos "sólidos" y "líquidos":

Aproximadamente 21g de ésteres metílicos sólidos y 20g de ésteres metílicos líquidos se resuelven en forma separada y por destilación fraccionada al vacío de alrededor de 1mm de presión en series de fracciones de menor complejidad. A este fin se emplea un equipo de destilación construido según un esquema de Loggensen(29) cuyo funcionamiento se hace aproximadamente adiabático por calentamiento regulable de la columna. Su material de relleno lo constituyen hélices de vidrio de una vuelta ("single turn glass helices") de 4cm de diámetro. La eficacia de este equipo, medida por el método de Mc Cabe y Thiele(30) con mezcla de bencol-tetracloruro de carbono, es de doce platos teóricos.

Las destilaciones se conducen muy lentamente a fin de lograr mejores separaciones, llevándose control permanente de las temperaturas del baño de calentamiento, de la parte media de la columna y de las que

se registran en cabeza. Los cortes de fracciones se rigen por las temperaturas de cabeza pero, en general, se ha tratado de fraccionar al máximo sobre todo al comienzo y al fin de cada destilación debido a que en esas fracciones se acumulan componentes menores que de otro modo resultarían incluidos en fracciones de mucha complejidad. Las destilaciones se dan por terminadas cuando se han obtenido destilados muy próximos al total de material puesto en destilación, lo que es coincidente con el cese de la destilación y con una sensible caída de temperatura en cabeza. Al término de las destilaciones y una vez enfriado el equipo se lava interiormente con éter etílico la columna, el balón y la lana de vidrio que este contiene como regulador de la destilación y así mismo, el sistema de separación de fracciones. Por destilación del éter se aíslan los residuos de destilación que se computan como dos nuevas fracciones.

Cada fracción se pesa y se analiza determinando sus índices de iodo y saponificación, calculando con los valores de estos últimos los respectivos pesos moleculares medios (PMM).

Los Cuadros 8 y 9 se refieren a las marchas de estas destilaciones y comprenden peso e índices de cada fracción, las composiciones de cada una de ellas en ésteres metílicos de diferentes ácidos (encontradas por cálculo) y en la parte inferior derecha las composiciones finales de los ésteres y ácidos "sólidos" y "líquidos" del aceite. Los Cuadros 10 y 11 se refieren a los registros de temperaturas observados durante las destilaciones.

8) - Detalle de los cálculos de composición de las fracciones de destilación "sólidas":

Fracción 1 Por su peso molecular medio (269,3) están constituidas por é-

Cuadro 8: Esteres Metilicos "Solidos" Composición

Trac. No	Peso (g)	I.I	I.S	PMM	Esteres Saturadas						Esteres No Saturadas					In	
					C ₁₆	C ₁₈	C ₂₀	C ₂₂	C ₂₄	Hexade-cenoico	Oleico	Eicosenoico	Docosenoico	Tetraco-senoico			
1	1,13	48,2	269,3	208,3	0,56	—	—	—	—	—	0,57	—	—	—	—	—	—
2	1,24	43,9	271,2	206,8	0,64	0,02	—	—	—	—	0,51	0,07	—	—	—	—	—
3	1,85	72,1	289,8	193,6	0,10	0,23	—	—	—	—	0,34	1,18	—	—	—	—	—
4	1,98	69,8	297,5	188,6	0,01	0,35	—	—	—	—	—	4,56	0,06	—	—	—	—
5	2,47	55,8	322,7	173,8	—	0,09	0,63	—	—	—	—	0,10	1,65	—	—	—	—
6	2,54	51,7	328,7	170,7	—	—	0,77	0,07	—	—	—	—	1,43	0,27	—	—	—
7	2,08	54,6	345,0	162,6	—	—	0,17	0,37	—	—	—	—	0,39	1,15	—	—	—
8	1,93	54,0	346,2	162,1	—	—	0,15	0,36	—	—	—	—	0,31	1,11	—	—	—
9	3,35	53,1	350,5	160,1	—	—	0,12	0,77	—	—	—	—	0,18	2,28	—	—	—
Pes.	3,12(1)	40,9(2)	372,0	150,8	—	—	—	1,07	0,25	—	—	—	—	1,25	0,45	—	—
Total	21,69				1,31	0,69	1,84	2,64	0,25	1,42	2,91	4,02	6,06	0,45	0,1		
Esteres % Esteres "Solidos"					6,07	3,19	8,52	12,23	1,16	6,58	13,48	18,62	28,07	2,08			
Acidos % Acidos "Solidos"					6,01	3,18	8,52	12,27	1,17	6,52	13,43	18,63	28,18	2,09			
Acidos % Acidos Totales					0,93	0,49	1,33	1,91	0,18	1,01	2,10	2,91	4,40	0,36			

(1) Esteres Totales : 3,02g ; (2) I.I Esteres Reales : 39,3 ; PMM Esteres reales : 359,6 ; I.S : 156,0

Acidos "Solidos" { I.S calculado : 181,3 ; det. : 180,4
 I.I calculado : 56,3 ; det. : 55,3
 Esteres "Solidos" { I.S calculado : 173,4 ; det. : 172,6
 I.I calculado : 53,9 ; det. : 52,9

Cuadro 9: Esteres Metilicos "Liquidos" Composition.

Trac. N°	Peso (g)	I. I	I. S	PMM	Esteres Saturadas												Esteres No Saturados								
					C ₁₀	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈	C ₂₀	C ₂₂	Hexadecenoico	Oleico	Linoleico	Eicosenoico	Docosenoico									
1	0,94	88,7	213,8	252,4	0,03	0,03	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
2	1,04	92,0	210,3	256,8	—	0,02	0,01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
3	1,99	92,7	209,2	258,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	2,62	92,1	210,0	257,2	—	—	0,37	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	4,03	91,9	209,4	257,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	5,17	99,8	209,6	267,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	7,72	91,7	208,2	269,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	10,56	103,1	191,3	293,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	15,88	100,8	190,7	294,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	17,98	100,0	190,0	295,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	5,73	97,1	188,6	292,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	5,67	82,3	177,5	316,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	3,85	76,8	173,4	323,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15.	6,79(x)	79,1	157,2(x)	356,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Total	89,86				0,03	0,05	0,38	2,94	0,35	0,25	0,04	22,39	37,13	11,87	9,07	5,19									
Esteres % Est. "Liquidos"					0,03	0,05	0,42	3,28	0,39	0,28	0,04	24,97	41,90	13,24	10,11	5,79									
Acidos % Ac. "Liquidos"					0,03	0,05	0,41	3,27	0,39	0,28	0,04	24,86	41,43	13,24	10,16	5,84									
Acidos % Ac. Totales					0,03	0,04	0,35	2,76	0,33	0,24	0,03	20,98	34,95	11,17	8,57	4,93									

Residuo (x) PMM corregido por insaponificable 396,7, I.S 161,8, E.I 72,5
 Acidos "Liquidos" { I.S calculado: 201,4 def: 200,3
 I.I " : 98,7 def: 97,5
 Acidos "Solidos" { I.S calculado: 191,7 def: 194,7
 I.I " : 93,9 def: 93,2

Frac. Nr	Peso g	Temperaturas		
		Baño	Mitad	Cabeza
1	0,94	212-212	164-165	78-90
2	1,04	212-212	165-166	90-97
3	1,99	212-214	166-166	97-100
4	2,62	214-218	166-168	100-104
5	4,03	218-220	168-172	104-107
6	5,17	220-226	172-180	107-108
7	7,72	226-230	180-193	108-108
8	10,56	230-235	193-196	108-139
9	15,88	235-238	196-203	139-140
10	17,98	238-243	203-211	140-141
11	5,73	243-250	211-223	141-147
12	5,67	250-250	223-226	147-155
13	3,85	250-252	226-255	155- ↓
Resi- duo	6,70			
Total	89,33			

Puesto en el balón: 90,2g

Cuadro 10-Aceite de Genuína avellana Mol.-ésteres metílicos
"líquidos" destilación-registro de temperaturas
observadas durante las destilaciones.

Frac. Nº	Peso g	Temperaturas		
		Baño	Mitad	Cabeza
1	1,13	214-228	173-202	74-107
2	1,24	228-236	202-207	107-110
3	1,85	236-238	207-215	110-117
4	1,98	238-248	215-226	117-130
5	2,47	248-252	226-232	130-137
6	2,54	252-260	232-245	137-150
7	2,08	260-268	245-256	150-167
8	1,93	268-274	250-265	167-167
9	3,35	274-282	265-278	167- ↓
Resi- duo	3,12			
Total	21,69			

Puesto en el balón: 21,75 g.

Cuadro 11-Acete de Gevuína avellana Mol.ésteren metílicos
"sólidos" destilación-registro de temperaturas
observadas durante las destilaciones

terea metílica de ácidos en C_{16} . Su índice de Iodo (43,2) indica una alta concentración en ésteres de ácidos hexadecanoicos (C_{16} monoetilénicos). Por lo tanto la concentración de estos últimos se deduce de la expresión

$$1,13x 94,2 = 74,6 X$$

donde 94,6 es el índice de Iodo del hexadecanoato de metilo. Se sacuenta para X el valor 0,57. Por lo tanto los ésteres de ácidos saturados se deducen de $1,13 - 0,57 = 0,56$

El índice de saponificación de estos ésteres saturados surge de:

$$1,13 x 208,3 = 0,56 x 209 + 0,56 X$$

El valor hallado para X es 207,6, coincidente al que corresponde al palmitato de metilo (207,4). Por lo tanto la parte saturada es palmitato de metilo.

Fracciones 2, 3 :

Sus pesos moleculares medios (271,2 y 232,8) señalan ésteres en ácidos de C_{16} y C_{18} . Sus índices de Iodo (42,9 y 72,1) son significativos y por lo tanto en estas fracciones hay que considerar ésteres de ácidos palmítico y esteárico y de ácidos hexadecanoicos y octadecanoicos. Según Hilfitch (6) en fracciones de destilación de este tipo se puede admitir que los ácidos saturados y no saturados están entre sí en las mismas relaciones de composición. Por lo tanto y teniendo presente que los componentes más importantes son los no saturados se puede plantear sistemas del tipo:

$$\begin{cases} x + y = 100 \\ x^2 x + y^2 y = 100 S \end{cases}$$

donde x e y son las concentraciones de los ácidos no saturados en una

mezcla de los mismos cuyo índice de saponificación (S_w) corresponde al de la fracción, siendo S_x y S_y los índices de saponificación de los ésteres particulares. De este modo se calcula después el índice de iodo (I) que corresponde a la mezcla de ácidos no saturados cuya composición centesimal fué deducida, aplicando la expresión:

$$xI_x + yI_y = 100I$$

donde I_x e I_y son los índices de iodo de los ésteres de ácidos monoestéricos considerados. Ello permite calcular la cantidad de esa mezcla (p) presente en la fracción:

$$pI = eI_w$$

donde e e I_w son el peso de fracción y el índice de iodo de la misma. Posteriormente se reparte el valor de p en los respectivos ésteres no saturados (s y v) teniendo en cuenta la composición centesimal hallada al comienzo.

La parte saturada (t) se deduce de $t = e - p$, que se resuelve en ésteres de los ácidos saturados correspondientes (m y n) aplicando sistemas del tipo:

$$\begin{cases} m + n = t \\ mS_m + nS_n = tS_w \end{cases}$$

El cuadro siguiente aclara numéricamente todo lo expuesto en relación a las fracciones 2 y 3 :

	x (C_{16})	y (C_{18})	I	p	s (C_{16})	v (C_{18})	m (C_{16})	n (C_{18})
fracción 2	88,39	11,11	93,6	0,58	0,51	0,07	0,64	0,02
fracción 3	22,22	77,78	87,7	1,52	0,34	1,18	0,10	0,23

Fracciones 4 a 7 :

En todas estas fracciones el criterio de resolución es el mismo que el indicado para las fracciones 2 y 3. Por este motivo se omiten detalles de resolución indicando solamente, tal cual puede observarse en el cuadro 8 que a partir de la fracción cuatro se ha debido considerar la presencia de ésteres en ácido en C_{20} (eicosenoico) y posteriormente y a partir de la fracción seis ésteres de ácidos en C_{22} (docosenoico) como no saturados. Los correspondientes saturados (ácidos araquídico y behénico) también fueron incluidos como componentes.

Residuo de la destilación ácido:

Este residuo muestra un valor de peso molecular medio de 372,0 ; esta cifra indica de por sí la presencia de ésteres de ácidos en C_{22} y en C_{24} (lignocerato de metilo: 332,6).

Debe tenerse en cuenta la presencia de insaponificable acumulado en el residuo, componente inerte que hace disminuir el índice de saponificación y aumentar el peso molecular medio. Por ello, aprovechando el líquido resultante de la determinación del índice de saponificación del residuo (determinación hecha sobre 1,6277g del mismo). Se separa el material insaponificable por extracción con éter etílico y luego se recuperan a los ácidos grasos libres de insaponificable. Sobre estos se determina el índice de iodo obteniendo el valor de 41,4 y el de índice de saponificación registrando un valor de 162,4. Con estos valores y por cálculo se hallan los correspondientes a los respectivos ésteres metílicos encontrando los siguientes para los ésteres metílicos de los ácidos grasos totales presentes en el residuo: índice de iodo 39,8; índice de saponificación 156,0; peso molecular medio 359,6. Este último valor es

intermedio entre los correspondientes a ésteres metílicos de ácidos en C_{22} y C_{24} peso muy cercano al de los ésteres en ácidos C_{22} (behenato de metilo 354,6).

Con estos valores se deduce el total de ésteres metílicos reales (X) presentes en el residuo de la expresión:

$$\frac{372,0}{3,12} = \frac{359,6}{X}$$

donde 372 y 359,6 son el peso molecular medio hallado para el residuo, y el peso molecular medio de los ésteres reales, siendo 3,12 el total de residuo. El valor de X es 3,02 y por lo tanto la diferencia $3,12 - 3,02 = 0,10$ representa el insaponificable presente en el residuo. La composición de los ésteres reales se resuelve, aplicando el criterio señalado para las fracciones anteriores en ésteres metílicos de ácidos saturados y monoetilénicos en C_{22} y en C_{24} .

9) -Detalle de los cálculos de composición de las fracciones de destilación líquidas :

Fracción 1

Esta fracción tiene un peso molecular medio de 262,4 (intermedio entre ésteres metílicos en C_{14} y C_{16}); su índice de iodo (35,7) indica que la mayor parte de la fracción es no saturada. Esta última (X) se expresa en hexadecimal de metilo empleando la expresión:

$$34,6X = wI_w$$

donde 34,6 e I_w son los índices de iodo del hexadecanoato y de la fracción, siendo w el peso de esta última. Para calcular la composición de la parte saturada $y = w - X$ se calcula su índice de saponificación S_y

de la expresión :

$$w S_w = 209,0 x X + y S_y$$

donde S_w es el índice de saponificación de la fracción ; 209,0 el del hexadecanoato de metilo y y el contenido en este último éster. El valor hallado para w es 254,2, valor intermedio a los correspondientes para los ésteres metílicos de ácidos saturados en C_{10} y C_{12} . Por lo tanto y se reparte en caproato y laurato de metilo.

Fracción 2:

Se resuelve en forma análoga , expresando la parte no saturada en hexadecanoato de metilo y debiendo calcular como ésteres saturado, laurato y miristato de metilo.

Fracción 3, 4, 5 y 6 :

Se resuelven en forma análoga calculando hexadecanoato, miristato y palmitato de metilo.

Fracción 8 :

Su peso molecular medio (293,7) indica la principal existencia de ésteres en ácidos en C_{23} que por el índice de iodo de la fracción (103) deben ser no saturados .La fracción se resuelve en palmitato (X) ,oleato (y) y linoleato de metilo(z), aplicando el sistema:

$$\begin{cases} X + y + z = w \\ 55,7 y + 172,5 z = w I_w \\ 207,4 X + 189,2 y + 190,5 z = w S_w \end{cases}$$

donde 55,7 ; 172,5 e I_w son los índices de iodo del oleato, linoleato de metilo y de la fracción, siendo 207,4; 189,2; 190,5 y S_w los índices de sa-

ponificación del palmitato, oleato, linoleato de metilo y de la fracción. Este sistema tiene solución exacta.

Fracción 7 :

Su peso molecular medio (269,4) indica la principal existencia de ésteres en C_{16} , cuyo componente más importante debe ser el hexadecenoato de metilo. Un intento de resolución de esta fracción considerando que la parte no saturada esta formada exclusivamente por hexadecenoato de metilo conduce a la obtención de un índice de saponificación de la parte saturada de la fracción cuyo valor es 183,2. Esta cifra corresponde a ésteres en C_{13} y C_{20} , lo cual no es admisible. La fracción encuentra solución correcta admitiendo la presencia de palmitato (X), hexadecenoato (Y), y una mezcla de oleato y linoleato de metilo (Z) que se admite como teniendo la misma composición que la encontrada para la fracción ocho (oleato 67,5; linoleato 32,5%; índice de iodo 113,9; índice de saponificación 189,6). Se resuelve el sistema:

$$\left\{ \begin{array}{l} X + Y + Z = W \\ 94,8 Y + 113,9 Z = W I_w \\ 207,4 X + 209,0 Y + 189,6 Z = W S_w \end{array} \right.$$

Fracciones 9 y 10 :

Se resuelven en forma totalmente análoga al caso de la fracción ocho, calculando palmitato, oleato y linoleato de metilo.

Fracción 11 :

Su peso molecular medio (297,5) indica que los componentes principales son en C_{18} . La resolución habra de hacerse admitiendo la presencia de oleato, linoleato, eicosenoato y estearato de metilo. Para lograrlo se admitió que el oleato y linoleato de metilo se encuentran entre sí en la

misma relación de composición que la encontrada para la fracción 10 (oleato 79,93; linoleato 20,07%; índice de iodo 103,1; índice de saponificación 189,4). Por lo tanto se resuelve en estearato(x), una mezcla oleato linoleato según se ha explicado(y) e eicosenato de metilo(z), aplicando el sistema:

$$\begin{cases} x + y + z = w \\ 103,1 y + 78,3 z = I_w \\ 187,9 x + 189,4 y + 172,9 z = S_w \end{cases}$$

finalmente se reparte el valor de w en oleato y linoleato de metilo teniendo en cuenta la composición centesimal señalada.

Fracción 12:

Su peso molecular(316,1) es intermedio entre los ésteres metílicos en C_{18} y en C_{20} . Su índice de iodo(82,3) indica que la mayor parte de la fracción es no saturada. Por lo tanto se debe calcular oleato, linoleato, eicosenato, y muy probablemente pequeñas cantidades de estearato y araquidato de metilo. Se admite que el oleato y linoleato presentes en esta fracción lo están en la misma relación que la encontrada para la fracción 10 (índice de iodo 103,1; índice de saponificación 189,4). Según Hilditch (8) se parte de la base que las partes saturadas y no saturadas tienen composiciones tales que satisfacen el índice de saponificación de la fracción (el error que se comete será insignificante para la parte no saturada donde que es la parte principal de la fracción, siendo de mayor significación el error en lo que respecta a la composición de la parte saturada; sin embargo la incidencia de este último es muy relativa dada la muy pequeña concentración de los componentes saturados). Por lo tanto y llamando x a la mezcla oleato linoleato e y al eicosenato de

metilo se resuelve el siguiente sistema:

$$\begin{cases} x + y = 100 \\ 189,4 x + 172,9 y = 100 \times 177,5 \end{cases}$$

donde 189,4 y 172,9 son los índices de saponificación de la mezcla oleato linoleato según fracción 10 y del eicosenoato de metilo, siendo 177,5 el índice de saponificación de la fracción. Resulta x (C_{18} = hexadecenoico - C_{18} = linoleico) igual a 27,33 e y (C_{20} eicosenoico) 72,12%. A esta mezcla corresponde un índice de iodo que se calculo en 85,2.

Por lo tanto la cantidad de oleato mas linoleato mas eicosenoato de metilo en la fracción se deduce de : $5,67 \times 82,3 = 85,2$ donde 5,67 es el peso total de fracción; 82,3 el índice de iodo de la fracción; 85,2 el índice de iodo de la mezcla de los tres ésteres y x el valor buscado. Se obtiene para x el valor 5,49 que se reparte en la mezcla oleato linoleato y en eicosenoato de metilo.

La parte saturada de la fracción(0,19) se encuentra por diferencia entre el peso total de fracción y el conjunto de los tres ésteres anteriores y debe resolverse en estearato y araquidato de metilo respectando el índice de saponificación de la fracción.

Fracción 13 :

Su peso molecular medio(323,6) es muy cercano al de los ésteres en C_{20} (araquidato de metilo)(325,5) por su índice de iodo(76,8) la mayor parte de la fracción debe ser eicosenoato de metilo(su índice de iodo 78,3). Por lo tanto hay que admitir ésteres en C_{20} y en C_{18} ; calculando oleato, linoleato, estearato, eicosenoato y araquidato de metilo. La resolución se hace en forma totalmente análoga a la empleada en la resolución de la fracción 12.-

Residue :

En los residuos de destilación de los ésteres metílicos líquidos se acumulan los materiales insaponificables no extraídos al comienzo de las operaciones de análisis y por consiguiente, los valores de peso molecular medio y de índice de iodo del residuo están afectados por su presencia. Por ello y aprovechando el líquido residual de la determinación de índice de saponificación de este residuo se procede a la eliminación del insaponificable por extracción con éter etílico en medio alcalino y a la recuperación de los ácidos totales del residuo libre de insaponificable. Sobre estos se determina el índice de saponificación (168,7) calculando el peso molecular medio (332,6), el índice de iodo también se determina (75,6). Con estos valores se calculan los correspondientes a los ésteres metílicos reales presentes en el residuo obteniendo los siguientes valores: índice de saponificación 161,3; peso molecular medio 346,7; índice de iodo 72,5.

Con estos valores y los correspondientes al residuo íntegral se calcula el contenido real en ésteres metílicos del residuo (χ) que se deduce de :

$$\frac{6,70}{332,6} = \frac{\chi}{346,7}$$

donde 6,70 y 332,6 son el peso total del residuo y el peso molecular medio del mismo calculado a partir de su índice de saponificación. Se obtiene para χ el valor 6,51 siendo por lo tanto $6,70 - 6,51 = 0,19$ el contenido del residuo en insaponificable.

Los ésteres reales (índice de saponificación 161,3; índice de iodo 72,5) se deben calcular en eicosenoato, docosenoato, araquidato y behen-

nato de metilo. Para la resolución y dado que los componentes no saturados son los principales se admite según Hilditch (8) que la composición de ambas partes son tales que satisfacen el índice de saponificación 161,8. Así y aplicando el criterio ya conocido se calcula que la parte no saturada tiene una composición centesimal como sigue: eicosenoato 19,5; docosenoato de metilo 80,44%. A esta mezcla corresponde un índice de iodo de 73,2, con cuyo valor se establece que el contenido en la suma eicosenoato-docosenoato es de 6,45 que se reparte por resolución de un sistema en: eicosenoato 1,26; docosenoato 5,19. Finalmente la parte saturada (6,51 - 6,45 = 0,06) se reparte en araquidato y behenato de metilo.

Como se ha expuesto se ha calculado pequeños contenidos de estearato, araquidato y behenato de metilo en las fracciones: 11; 12; 13 y residuo. En la práctica corriente y teniendo en cuenta la muy baja solubilidad de los jabones de plomo de los ácidos saturados en más de C_{16} en alcohol, no se acostumbra el cálculo, de estos componentes en las fracciones de destilación "líquidas". Sin embargo en el caso presente hubo necesidad de hacerlo a fin de encontrar solución de composición en algunas de las fracciones mencionadas. Anteriormente De Luca (31) pudo demostrar, a través de la formación de compuestos de inclusión con urea y operando sobre fracciones de destilación en C_{18} de los ésteres metílicos líquidos procedentes de los ácidos de aceite de maní que en la separación por sales de plomo en etanol pequeñas cantidades de ácidos esteárico, araquídico y probablemente behénico y lignocérico pasaban por solubilización a formar parte de los ácidos líquidos.

10) Reconocimiento del ácido oleico:

Se opera sobre los líquidos resultantes de la determinación de

ácidos de saponificación de las fracciones 8,9 y 10 "líquidas". Por acidificación y extracción con éter etílico se aislan aproximadamente 5g de ácidos de estas fracciones que se disuelven en 50ml de metanol puro conteniendo 10g de urea. Se hierve a reflujo y se abandona a la temperatura ambiente por veinticuatro horas y separando los compuestos de inclusión por filtración a la trompa lavando con pequeñas porciones de metanol frío. Se toma a estos compuestos por agua tibia y extrae a los ácidos liberados con éter etílico, obteniendo 0,5g de ácidos que por aplicación de la técnica de Robinson y Robinson (14), modificado por Lapworth y Mottram (15) se transforman en hidroxiderivados. Para ello se disuelven en 50ml de agua y 5 ml de solución acuosa al 10% de hidróxido de potasio; se añaden 40ml de agua y trozos de hielo y cuando la temperatura es inferior a 10°C se agrega en forma rápida 40ml de solución acuosa al 1% de permanganato de potasio. Luego de cinco minutos se destruye el exceso de permanganato por agregado de solución acuosa de sulfito ácido de sodio y 15ml de ácido clorhídrico concentrado. El precipitado blanco obtenido se separa por filtración a la trompa, se lava con agua y deja secar en desecador. Se lava a fondo con hexano técnico hirviendo (eliminación de ácidos saturados) y posteriormente se hierve con 200ml de agua destilada, según Grindley (16), a fin de eliminar tetrahidroxiderivados. El insoluble se recristaliza en etanol obteniendo un producto que funde notablemente a 130-131°C, no observándose depresión por fusión mezcla con el ácido 9-10 dihidroxiesteárico de punto de fusión 131°C.

11)-Reconocimiento del ácido linoleico :

Se opera sobre el líquido resultante de la filtración de los compuestos de inclusión con urea formados en la operación anterior. Se

elimina el metanol por destilación tomando el residuo por agua caliente y extrayendo a los ácidos liberados con eter etílico .Aproximadamente 1g de los ácidos obtenidos se disuelven en 20ml de eter etílico anhidro; se enfría a 0°C y añade bromo hasta ligero exceso (color pardo persistente), dejando en heladera por veinticuatro horas. No se observa precipitación, lo que indica ausencia de ácido linoleico. Se transfiere a una pequeña ampolla de decantación y trata con solución acuosa de bisulfito de sodio (eliminación del exceso de bromo, lava con agua y trata con sulfato de sodio anhidro. Se filtra y elimina el eter al baño maría ; el residuo se toma por 5ml de hexano disolviendo en caliente. Por enfriamiento se obtiene un precipitado blanco que separado por filtración y recristalizado de hexano funde netamente a 113, 114°C y que no produce espresión por fusión mezcla con el ácido 9-10 12-13 tetrabromosteárico de punto de fusión 114°C.

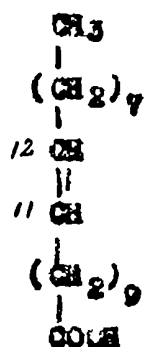
12)-Reconocimiento de los ácidos eicosenoico y docosenoico :

La fracción 13 "lípidos" (índice de Iodo 76,8; peso molecular medio 325,6) fué calculada en ácidos oleico, linoleico, estárico, y araquídico como componentes menores y en ácido eicosenoico como componente principal. Un intento para obtener dihidroxiderivado del ácido eicosenoico por oxidación con permanganato de potasio en medio alcalino y en frío conduce a un producto cristalino que funde indefinidamente entre 115 y 123°C, lo que indica que se trata de un producto impuro no lograndose mejoras por recristalizaciones sucesivas en metanol. Esta misma fracción (como ésteres metílicos) fué enviada al doctor Rodolfo R. Brenner quien por análisis en un equipo para cromatografía en fase gaseosa reveló que esta fracción , además de los ácidos indicados contenia un ácido doco-

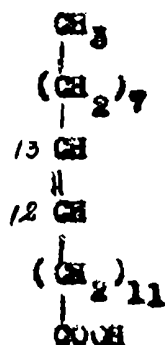
sencio como componente menor. Por ozonización de aproximadamente 100mg de los ácidos totales de esta fracción en 3ml de acetato de metilo y 2ml de ácido acético glacial y a 0°C durante el tiempo necesario para percibir el olor a ozono en el tubo de desprendimiento, seguido del agregado de 3ml de ácido acético glacial y 3ml de agua oxigenada al 50% e incubación por tres días a 37°C, se logra la ruptura de los ácidos no saturados. Se arrastra con vapor de agua obteniendo un destilado que contiene a los ácidos monocarboxílicos y un no destilado donde permanecen los dicarboxílicos. Ambos se extraen por éter etílico (*). Posteriormente los ácidos dicarboxílicos fueron reconocidos por cromatografía ascendente sobre papel Whatman N° 1, siguiendo la técnica de Lead y Platon (32) como sales de amonio y empleando como fase estacionaria una solución de hidróxido de amonio saturada de butanol y como fase móvil butanol saturado con hidróxido de amonio. Como sistema de revelado se ha seguido el indicado por Costa, Guillaume y Laturaze (33), habiendo corrido al mismo tiempo ácidos dicarboxílicos puros. Pudieron identificarse como componentes principales dos ácidos dicarboxílicos el C₁₁ y el C₁₃ respectivamente. En operaciones aparte y con las mismas técnicas se analizaron por

(*)-Todas estas operaciones fueron realizadas en la cátedra de química biológica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de la Plata (Prof. Dr. Rodolfo R. Brenner) y estuvieron a cargo de la Lic. María F. De Tomás.

Cromatografía sobre papel los ácidos monocarboxílicos reconociendo como componente principal un ácido C_9 (pelargónico). De todo esto se concluye que el ácido eicosenoico presente es el ácido 11-12 eicosenoico y que el ácido docosenoico es el ácido 13-14 docosenoico.



ácido 11-12 eicosenoico



ácido 12-13 docosenoico

13) Sobre la estructura de los ácidos no saturados en C_{16}

Las fracciones 2 a 6 "líquidas" (pesos moleculares medias 266,8 a 267,9; índices de iodo 90,8 a 92,7) fueron resueltas considerando como componentes menores miristato y palmitato de metilo y en hexadecenoato de metilo como componente principal. 0,5g de los ácidos totales recuperados de estas fracciones se oxidan con permanganato de potasio en medio alcalino y en frío. Obteniendo un producto cristalino de hidroxiderivados que funde a 126-128°C. Esta temperatura es prácticamente coincidente con la correspondiente al dihidroxiderivado que produce, en idénticas condiciones, el ácido palmitoleico (9,10 hexadecenoico). Sin embargo, cuando se efectúa una fusión mezcla del hidroxiderivado preparado a partir de los ácidos de las fracciones 2 a 6 "líquidas" con un ácido 9-10 dihidroxipalmitico (obtenido de grasa de depósito del Bufo arenarum Hensel (34), se observa una depresión de más de 10°C (punto de fusión 116-120°C). Este mismo comportamiento se observa por fusión mezcla

con los hidroxiderivados de los ácidos no saturados en C_{16} obtenidos del aceite de semilla de otra Proteacea (Lomatia hirsuta ó "Tadal"). Estos hechos hicieron sospechar que en el aceite de semilla de Gevuina avellana Mol. el ácido hexadecenoico presente no es el 9-10 hexadecenoico ó ácido palmitoleico. Como ha sido expuesto en la parte de DISCUSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL la identificación de estos componentes no saturados en C_{16} será motivo de un estudio aparte.

14)-Sobre la composición de la harina de pepita de Gevuina avellana Mol. extraída por hexano :

Teniendo en cuenta que las pepitas de este fruto se consumen en la alimentación por parte de nativos de las zonas de producción, se procedió a un examen general de composición de la harina resultante en la operación de extracción del aceite bruto. El producto fue remolido a grano fino a fin de su más completa homogeneización y se practicaron determinaciones de: humedad, cenizas, proteínas, pentosanos, fibra cruda, extracto en eter etílico, azúcares reductores, azúcares invertibles, hidratos de carbono sacarificables y ácido fólico. El Cuadro 12 resume el número de determinaciones y valores hallados para las mismas y así mismo los valores promedios y la mención de las técnicas empleadas en cada caso.

El total determinado alcanza a 82,18% debiéndose computar como no dosado 17,82%. No obstante cabe admitir que el no dosado debe ser algo mayor en razón de no haber empleado técnicas específicas para la determinación de hidratos de carbono sacarificables lo que hace que muy probablemente la cifra dada para estos últimos este afectada en más por la interferencia de los pentosanos. Los intentos para reconocer almidón

por reacción con iodo y por observación microscópica dieron resultados negativo. Así mismo, dió resultado negativo el ensayo A.O.A.C (27) para glucósidos cianogénicos operando sobre harina, y sobre pepita integral recientemente molida. La harina fué ensayada para caracterizar probables taninos aplicando las reacciones de Sanio al bicromato (49), reacción del alumbre férrico y reacción con hexametileno tetramina (50), con resultado negativo en todos los casos. Las reacciones de alcaloides son negativas.

Dos determinaciones de extracto acuoso según la técnica de Trillich (37) dan valores de 36,54 y 36,45% (promedio 36,49%). Operando sobre el extracto acuoso se determina su contenido en proteínas, pentosanos y cenizas obteniendo los valores de 8,64; 0,62; y 3,33% respectivamente expresado en por ciento de harina original. La suma de estos componentes representa 12,59% y considerando que los azúcares reductores y los azúcares invertibles son componentes de este extracto acuoso se llega a un total de 30,32%, siendo el extracto acuoso de 36,49%. Esto indica que este extracto acuoso tiene alrededor de 6% de componentes que no han sido dosados.

El análisis del extracto acuoso revela que tan solo menos de la mitad de las proteínas totales de la harina son hidrosolubles y que la mayor parte de los pentosanos son insolubles en agua.

De las cenizas totales de la harina el 63% son hidrosolubles.

15)-Identificación de hidratos de carbono por cromatografía sobre papel:

Identificación de los azúcares reductores e invertibles:

Extracción de los azúcares: 6g de harina se extraen con 100ml de etanol al 80%, macerando y agitando eventualmente durante media hora. Se filtra y evapora a sequedad (al baño maría) la solución alcoholica. El resi-

Determinaciones	Valores parciales por ciento					Promedio
Humedad(vacio-100°C)	3,60	3,40				3,50
Cenizas(500-550°C)	5,30	5,30				5,30
Proteínas(A.O.A.C)(27)(Mx5,7)	20,96	21,24	21,00			21,06
Polisacáridos(A.O.A.C) (27)	8,10	8,32				8,29
Fibra cruda(A.O.A.C) (27)	8,50	7,70	9,17	7,28	7,22	7,97
Extracto etéreo(éter etílico)	6,15					6,15
Azúcares reductores(en glucosa) (*)	4,15	4,02	4,25	3,65		4,02
Azúcares invertibles(en sacarosa) (*)	13,98	13,45				13,71
Hidratos de carbono sacarificables (*)	5,40	5,55				5,50
Ácido fólico(Casares y Moreno) (35)	1,63	1,63				1,63

(*)-Se empleó el método de Bertrand(36) en la valoración final.

Cuadro 12: Composición química de la harina de pepita de *Gevuina avellana* mol. agotada por hexano.

no se toma con unos mililitros de agua, calentando un poco para facilitar la disolución, se filtra y la solución filtrada se lleva a 25ml con agua.

Cromatografía: Se corren cromatogramas utilizando distintas técnicas de desarrollo y de revelado; usando siempre papel Whatman N° 1.

En primer término se usó la técnica ascendente, empleando como solvente: acetato de etilo 8, piridina 2, agua 1 (38). La solución muestra se deposita sobre el papel por medio de un tubo capilar. Se puso a correr dos tiras, una de ellas se reveló con reactivo de ftalato ácido de anilina Partridge (39), y la otra con reactivo de resorcina ácida (resorcina, ácido tricloro acético) (40), a continuación las tiras se colocan a 105-110°C durante diez minutos. Del examen del cromatograma revelado se tiene la existencia de un solo azúcar en ambas tiras.

Se efectúa una segunda cromatografía usando la técnica descendente, y empleando como solventes: Butanol 4, acetona 5, agua 1 (41). En la misma tira de papel se colocan testigos de: glucosa, levalosa y sacarosa, uno de otro separados 2 a 2,5 cm (las soluciones testigos depositadas son soluciones acuosas al 1%). Se corren veinticuatro horas; se revela con reactivo de difenilamina, anilina y ácido fosfórico (42) y luego se colocó en estufa a 30°C diez minutos. El papel Whatman que empleamos mide cuarenta centímetros de largo. Del examen del cromatograma revelado se deduce que el azúcar de la solución muestra es: sacarosa

Se efectúa una tercera cromatografía según técnica descendente y empleando como solvente: butanol 4, acetona 5, agua 1 (41); se corre durante sesenta y seis horas; se revela con el reactivo anterior. Se puso en la misma tira el testigo de sacarosa. El examen del cromatograma revelado usando el reactivo últimamente citado indica que solo hay sacarosa en la

solución muestra.

Se hace una cuarta cromatografía usando la técnica descendente pero empleando como solvente :n-butanol 4, ácido acético 1, agua 5 (43) (capa superior)(se satura previamente la cámara con la capa acuosa). Se corre durante veinticuatro horas se revela con el reactivo anterior. En esta tira también se colocó el testigo de sacarosa. Del examen del cromatograma revelado se tiene que en la solución muestra hay: sacarosa.

Se realiza una quinta cromatografía según técnica descendente por desarrollos múltiples(44) usando el solvente ultimamente citado. Se hace correr el cromatograma veinticuatro horas, se retira y seca. Se vuelve a hacer correr veinticuatro horas se retira y seca, y finalmente se corre otras veinticuatro horas más. (total tres días) Se revela de la misma forma. En la hoja de papel puesto a correr se colocó el testigo de sacarosa. Del examen del cromatograma revelado se tiene que en la solución muestra el único azúcar presente es la sacarosa.

La existencia de la sacarosa queda definitivamente probada analizando los azúcares resultantes de la inversión de la solución de azúcares de la muestra. Extracción de azúcares-Inversión: A llg de harina se le extraen los azúcares según la forma señalada con anterioridad; a la solución acuosa se añade 5ml de ácido clorhídrico(4-1,10) y se calienta un cuarto de hora a 67-70°C. Se enfría y neutraliza con carbonato de sodio sólido y se lleva con agua a 50ml. Esta solución se deposita sobre el papel Whatman, en el mismo papel se colocan testigos de :glucosa y levulosa. Se hace correr según técnica descendente durante veinticuatro horas usando como solvente: butanol 4, acetona 5, agua 1(41). Se revela con el reactivo de difenilamina-anilina-ác. fosfórico(42) ya mencionado y se coloca a 80°C

durante diez minutos. Del examen del cromatograma revelado y comparando el color de las manchas, se tiene que los únicos azúcares resultantes de la inversión son: glucosa y levulosa y por lo tanto el único azúcar existente en la Cevadilla ayellana Mol. es la: sacarosa.

Investigación de los monosacáridos constituyentes de los hidratos de carbono sacarificables y pentosanos:

Eliminación de la sacarosa de la harina: 5g de harina se extraen con etanol de 70% a la temperatura aproximada de 50°C, descartando los extractos alcohólicos hasta que den reacción negativa de sacarosa; esto se confirma depositando unas gotas de solución alcohólica sobre un papel de filtro, se deja secar y se trata con reactivo de resorcina ácida(40) y luego se coloca en estufa a 105, 110°C diez minutos, observando si la reacción es positiva ó negativa. Cuando la sacarosa ha sido totalmente eliminada, la harina se seca y luego se sacarifica por ebullición a reflujo durante tres horas con agua y ácido clorhídrico(d=1,125). Se enfría y neutraliza con hidróxido de sodio, filtra y se acidifica ligeramente con ácido acético. Este filtrado se defeca con solución al 25% de acetato de plomo y se elimina el exceso de plomo con oxalato de potasio. Se filtra y la solución se deposita sobre Whatman N° 1 (es menester depositar por lo menos veinte gotas de un diámetro de 4mm para poder observar luego las manchas). Se hace correr con el solvente: n-butanol 4, ácido acético, agua 5 (43) (capa superior) (previamente se saturó la cámara con la capa acuosa), según técnica descendente y por desarrollos múltiples(44), durante tres días, secando y volviendo a correr cada veinticuatro horas. Se reveló con reactivo de ftalato ácido de anilina(Partridge)(39) y se observan tres manchas definidas.

Desalificación: Se efectua la desalificación de la solución acuosa de los azucares ,mediante la técnica de F.H.Malpress y A.B.Morrison(45). Para ello se evaporó 10ml de solución acuosa de azucares(ya defecados y neutralizados) a sequedad sobre baño maría .El residuo seco se toma con 10m de piridina anhidra y se calienta diez minutos a 100°C.Se deja enfriar, se filtra y el filtrado se evapora a presión reducida y a temperatura menor de 40°C a sequedad.El residuo se toma con 1,5ml de agua, calentando algo para facilitar la disolución(50°C).

Esta solución se deposita sobre Whatman N° 1 en una tira de 40cm de largo por 12cm de ancho.De la solución de azucares desalificados se depositan doce gotas de 4mm de diámetro, colocando a sus costados los testigos de: glucosa, levulosa, xilosa y arabinosa(soluciones acuosas al 1% solvente: n-butanol 4, ácido acético 1, agua 5(43)(capa superior)(previamente se satura la cámara con la capa acuosa).Se usa la técnica descendente por desarrollos múltiples(44) durante tres días, secando el papel cada veinticuatro horas y voltiéndolo poner a correr.Se revela con el reactivo de ftalato ácido de anilina(Patridge)(39) colocando luego la hoja a 105-110°C, quince minutos.El examen del cromatograma revelado nos indica que en la muestra de azucares hay cuatro azucares, de los cuales quedan identificados dos: arabinosa y xilosa , ver Figura 1 .

Se efectua otra cromatografía de la misma manera anterior, es decir con el mismo solvente, la misma técnica de desarrollo e igual revelado pero usando los testigos de: galactosa, ribosa y ramosa. El examen del cromatograma revelado muestra que los otros dos azucares son: galactosa y ribosa ver Figura 2.

En estos desarrollos la levulosa tiene aproximadamente el mismo



Figure 1



Figure 2

Figura 1 y 2 :

Cromatografía sobre papel de la hexosa que constituye el hidrato de carbono sacarificable y de las pentosas que forman los pentosanos de la harina de *Gevuía avellana* Mol. agotada por hexano.

A: arabinosa; X: xilosa; L: levulosa; G: glucosa; Ga: galactosa; R: ribosa; Ra: rranosa; H: hexosa y pentosas de la harina de *Gevuía avellana* Mol. agotada por hexano.

R₂ que la arabinosa y por tal no podemos afirmar de estos ensayos si hay o no levulosa en la muestra de azúcares. Para resolver este problema se usó un reactivo específico para cetosas a base de urea al 5% en ácido clorhídrico 0,4 N (en etanol de 80%) (46), de la siguiente forma. Se cortaron una serie de trozos de papel de filtro en uno de ellos se depositó levulosa (solución acuosa al 1%), en el siguiente arabinosa, en el otro galactosa más arabinosa más xilosa más ribosa; en el otro galactosa más arabinosa más xilosa más ribosa más levulosa; y finalmente en el último se deposita la muestra de azúcares sacarificados (y desalificados) en todos los casos se depositaron 10 gotas de las soluciones acuosas al 1%. Se tratan los papalitos con el reactivo indicado y se colocó a 100°C cinco minutos. Solo hay aparición de color azul (reacción positiva) en el papel que contiene levulosa y en el que contiene galactosa más arabinosa más xilosa más ribosa más levulosa. Por lo tanto la muestra de azúcares sacarificados no contiene levulosa.

De todo este análisis se deduce que el único monosacárido constituyente de los hidratos de carbono sacarificables es la : galactosa y por lo tanto son galactanos .

En cuanto a los pentosanos estos están constituidos por: arabinosa; xilosa; y ribosa, que por comparación de intensidad y tamaño de mancha entre sí, se puede decir que la pentosa más abundante es la arabinosa, en segundo lugar la xilosa y pequeña cantidad de ribosa. Los pentosanos son pues: araboxiloribosanos.

Investigación de alcohóles polihidroxiados por cromatografía sobre papel:

Extracción de los alcohóles polihidroxiados: 6g de harina se extraen

con 100ml de etanol al 50% macerando durante media hora. Se filtra ,se toma la mitad del filtrado y se evapora casi a sequedad.

Cromatografía: Sobre papel Whatman N° 1 , se depositan 10 gotas de la solución acuosa anterior, y a sus costados se depositan testigos de : sacarosa, manita e inositol (en soluciones acuosas al 1%, de cada uno de estos testigos se depositaron cinco gotas de 4mm de diámetro). Se deja correr veinticuatro horas según técnica descendente usando el solvente: isopropanol 3, ácido acético 1 , agua 1 $\frac{v}{v}$ (47).

Se revela con solución de nitrato de plata, método modificado por Trevelyan y Petrucini (48). La muestra de azúcares de la harina solo contiene sacarosa.

III-CONCLUSIONES

Se presenta un estudio sobre la composición química del aceite de semilla de Sevuña avellana Molina, una Proteacea que desarrolla en suelo argentino. Se inicia así el examen de composición, en ese sentido, de aceites de semillas de Proteaceas, familia botánica muy poco considerada hasta el presente bajo ese aspecto.

1)-La semilla libre de cáscara de Sevuña avellana Mol. cosechada en los alrededores del Lago Puelo (Chabut) rinde por extracción con hexano 40% de aceite cuyas principales características físicoquímicas han sido determinadas (I. 0 138,6; I. 1 37,7).

2)-Por destilación fraccionada de los ésteres metílicos de los ácidos "sólidos" y "líquidos" del aceite se ha determinado la composición de sus ácidos totales, con los siguientes resultados:

	Ácidos totales	Ácidos sólidos
Cáprico	0,1	0,1
Capríco	0,1	0,1
Capríco	0,3	0,4
Palmitico	3,7	3,3
Estéarico	0,3	0,7
Arquídico	1,6	1,3
Benéico	1,9	1,5
Myricerico	0,2	0,1
Hexadecenoico	22,3	18,0
Oleico	37,0	33,0
Linoleico	11,2	10,5
Tricosenoico	11,5	7,3
Docosenoico	0,3	0,0
Tetracosenoico	0,4	0,0

Cuadro 1

Cuadro 1-Composición de los ácidos totales del aceite de semilla de Gevuína avellana Molina.

3)-Han resultado ser componentes "mayores" los ácidos oleico, hexadecenoico, linoleico, y eicosoico y prácticamente el ácido docosenoico. Han sido reconocidos los ácidos oleico (como dihidroxiderivado) y el ácido linoleico (como tetrabromoderivado).

4)-Por vez primera se señala que el ácido eicosenoico presente en aceites de semillas de Proteaceas es el ácido 11-12 eicosenoico. Así mismo se ha establecido que el ácido docosenoico presente es el ácido 13-14 docosenoico. En ambos casos las estructuras han sido probadas por ruptura oxidativa de los oxonidos correspondientes e identificación de los ácidos mono y dicarboxílicos por cromatografía sobre papel; ha quedado pendiente de un nuevo estudio la identificación y demostración de estructura de los ácidos hexadecenoicos presentes en este aceite.

5)-Mientras se realizaba este estudio se dispuso de valores de composición en ácidos grasos de los aceites de semillas de otras dos Proteaceas argentinas: Lomatia hirsuta Lam. (Diels) ("Radal") y Embothrium coccineum Forst ("Notro"). El estudio comparativo de los valores de composición en ácidos grasos de estos dos aceites y de los aceites de Gevuína avellana Mol. y Macadamia ternifolia (este último es el único aceite de Proteaceas cuya composición se encuentra registrada en la bibliografía) revela que estos aceites son complejos en sus composiciones y que presentan un notable contenido en ácidos hexadecenoicos (20 a 23% de los ácidos totales). Esto parecería ser la característica diferencial más importante de los aceites de semilla de Proteaceas.

5)-Se presentan valores de composición general de la pepita entera y de la pepita agotada por hexano de Guáquina avellana 201. Se ha probado por cromatografía sobre papel, la presencia de sacarosa y por las mismas técnicas (después de hidrólisis) se ha demostrado que los polisacáridos presentes en esta semilla son galactanos. Así mismo, y como componentes de los pentosanos presentes se señala la presencia de arabinorribosanos.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Bridge H.A. y Hilditch T.R. J. Chem. Soc. 2396-(1950)
- (2) Looser G. Rev "La Farmacia Chilena" (Chile) N° 8-(1933)
- (3) Lokey E.E. "Vegetable Fats and Oils" Reinhold Publ. Corp. New York-(1954)
- (4) Jones K.W. Hawaii Agr. Expt. Sta, Ann. Rept. 52, (1940); C.A., 36, 7062 ^{pag 341.}
- (5) Lathrop C.A. J. Oil & Fat Inds. 2, 44-(1925)
- (6) Morrison A. and E.R. J. Sydney Tech. Coll. Chem. Soc. 1, 84-88-(1922); J. Soc. Chem. Ind., 43, 915B-(1924)
- (7) Lovara J.A. Biochem. J. 50, 307-(1936)
- (8) Hilditch T.R. "The Chemical Constitution of Natural Fats" 3ª Ed. Chapman and Hall London-(1956).
- (9) Chargaff E. Z. Physiol. Chem., 218, 223-(1933).
- (10) Kamun H.S. y Anderson H. J. Biol. Chem. 102-219-(1933).
- (11) Riabschmer J.L. y Johnson E.J. J. Amer. Chem. Soc. 55, 3352, (1933).
- (12) Botanische Jahrbücher vol 76 139 a 211.
- (13) Marylenko A. -Comunicación privada.
- (14) Robinson R. y Robinson G.M. -J. Chem. Soc. 127-175-(1925).
- (15) Lapworth J. y Mottram E.H. -J. Chem. Soc. 127-1628-(1925).
- (16) Grindley R.E. -J. Sci. Feed. Agr. 1-63-(1950-).
- (17) McCainey R.E. y Jackson H.A. -Oil and Soap-13, 289-(1936).
- (18) Green T.H. Hilditch T.R. y Stainby H.J. -J. Chem. Soc. -1750-(1935).
- (19) Hopkins C.Y. -Canad. J. Res. 24-211-(1946).
- (20) Haliga M.H. y Hilditch T.R. -J. Soc. Chem. Ind. 67-268-(1943).
- (21) Holmberg J. y Sellmann G. -Svensk. Kem. Tidskr., 64 -270-(1950+).
- (22) Cattaneo P. y Satten S. Karman de -Comunicación privada.
- (23) Reichert F. -Rev. Centro Estud. Agron. Veter. 21-343-(1928).
- (24) A.O.C.S. -Am. Oil Chem. Soc., 2ª Ed. (1946), Official Method Ca., 61, 40.
- (25) Rosenmund K.F. y Kuhnemann H. -Z. Naturf. u. Genussam., 46-154-(1923).
- (26) I.R.A.M. -Inst. Arg. Racional. Mat. Norma 85526.

- (27) A.O.A.C. - "Official and Tentative Methods of Analysis" 7^{ed.} - (1950).
- (28) Twitchell E. - J. Ind. Eng. Chem. 13-806 - (1921).
- (29) Hongenecker H.H. - J. Soc. Chem. Ind. 56-199T - (1937).
- (30) de Sabe R.L. y Eñiele E.W. - Ind. Eng. Chem. 17-605 - (1925).
- (31) De Luca L. - Tesis, Facultad de Química y Farmacia. Universidad Nacional de la Plata (1954).
- (32) Head J. y Blaton F. - J. Biol. Chem. 210-707 - (1956).
- (33) Cateau H. Guillaume J. y Laturaze J. - J of Chromat., 1-70 - (1953).
- (34) Cattaneo P.utton G. Karman de y Penhos J.C. - Anal. Assoc. Quím. Arg. 30-206 - (1951).
- (35) Casares R. y Moreno L. - An. Bromat. (Madrid) 3-245-247 - (1951).
- (36) Denigès G. "Précis de Chimie Analytique" Tomo 1 - pag 622-623 París (1930).
- (37) Trillich H. - Forsch. Ber., 1-413 - (1924) Citado por Isoglio G. en la "La Chimica degli Alimenti". Tomo 2, pag 305, Torino (1927).
- (38) Block R. Lurran E. y Zweig G. "A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis" 2^{ed.} Academic Press Inc. New York - pag 173 (1958).
- (39) Obra citada en (38) pag 181.
- (40) Obra citada en (38) pag 184.
- (41) Taufel K y Müller K. - Z. Lebensmittel-Untersuchung und Forschung 106 - 123 (1957).
- (42) Buchan J.L. y Sewage R.I. "Paper Chromatography of some starch Conversion Products". The Analyst 77-401 (1952).
- (43) Obra citada en (38) pag 189.
- (44) Obra citada en (38) pag 37.
- (45) Malpress F.H. y Morrison A.B. - Nature, 164-963 - (1949).
- (46) Lederer E. y Lederer H. "Chromatography a Review of Principles and Applications" 2^{ed.} Elsevier Publ. London - pag 255 - (1957).
- (47) Obra citada en (38) pag 202.
- (48) Obra citada en (38) pag 173.
- (49) Hieronstein M. "The Natural Organic Tannins" Churchill London pag 13 (1934).
- (50) Lurlach Günther C. - Tesis Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Buenos Aires. pag 5 (1958).

FOVIA

