

Tesis de Posgrado

Estudio de la composición acídica de los lípidos de depósito y de diversos órganos de los Dasipodidos *Chaetophractus Villosus* ("Peludo") y *Dasyus Septemcintus* ("Mulita")

Zerba, Eduardo Nicolás

1974

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:

Zerba, Eduardo Nicolás. (1974). Estudio de la composición acídica de los lípidos de depósito y de diversos órganos de los Dasipodidos *Chaetophractus Villosus* ("Peludo") y *Dasyus Septemcintus* ("Mulita"). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1464_Zerba.pdf

Cita tipo Chicago:

Zerba, Eduardo Nicolás. "Estudio de la composición acídica de los lípidos de depósito y de diversos órganos de los Dasipodidos *Chaetophractus Villosus* ("Peludo") y *Dasyus Septemcintus* ("Mulita")". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1974. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1464_Zerba.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

"ESTUDIO DE LA COMPOSICION ACIDICA DE LOS LIPIDOS DE
DEPOSITO Y DE DIVERSOS ORGANOS DE LOS DASIPODIDOS
CHAETOPHRACTUS VILLOSUS ("PELUDO") Y DASYPUS
SEPTEMCINTUS ("MULITA")"

Tesis presentada para optar al título de

DOCTOR EN CIENCIAS QUIMICAS

1974

Mi reconocimiento al Dr. Pedro Cattaneo, Consejero de Estudios y Director de Tesis, por el apoyo constante y la guía de su valiosa experiencia.

Agradezco:

Al Sr. Profesor de Fisiología Animal del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la U.N.B.A. Dr. Jorge Mario Affanni su muy valiosa colaboración por la realización de las disecciones, selección de órganos y depósitos grasos de las especies estudiadas en este trabajo así como la provisión de ejemplares de Chaetophractus villosus ("peludo"). Hago extensivo este agradecimiento a sus colaboradores Dr. Lorenzo García Sanmartino y Sr. Marcelo Detrixhe que prestaron su asistencia en esas tareas.

Al Sr. Director del Instituto de Fisiología de la Universidad Nacional de La Plata Dr. Rodolfo R. Brenner, así como a sus colaboradores, por haber puesto a mi disposición el fruto de su experiencia en el análisis de sustancias lipídicas.

Al Jefe del Laboratorio de Biotoxicología Dr. José Alberto Castro por haberme facilitado las operaciones tendientes a aislar los lípidos totales de órganos y tejidos grasos así como la provisión de patrones de ésteres metílicos y fosfolípidos.

Al Ing. José Vives (hijo) la provisión de ejemplares de Desypus septemcintus ("mulita").

Agradezco también:

A la Dra. María H. Bertoni por el interés y apoyo prestado para la concreción de este estudio.

Al Dr. Miguel Angel Rúveda por haberme facilitado la realización de este trabajo.

A mis compañeros y demás integrantes de la Catedra de Bromatología por su sincera amistad.

A MIS PADRES

A MI ESPOSA

A MIS HIJOS

INDICE

Introducción	1
Discusión de la Parte Experimental	17
Parte Experimental	40
Figuras	54
Tablas	64
Conclusiones	94
Literatura citada	105

PARTE I
INTRODUCCION

COMPOSICION ACIDICA DE GRASAS DE DEPOSITO DE ANIMALES TERRESTRES

Al igual que en los vegetales las grasas se encuentran en diferentes partes de los animales, órganos y tejidos vinculados al crecimiento y mantención de funciones vitales y en depósitos especiales (tejido adiposo), como material de reserva.

La consideración de las composiciones acabadas de grasas de los distintos grupos de animales se ve dificultada, principalmente, en razón de la escasez de información sobre composiciones acídicas detalladas. En efecto, las grasas animales de depósito que han merecido tales estudios son casi exclusivamente las de especies de animales que las proveen con fines alimentarios o industriales y mas actualmente de aquellos empleados en experimentación biológica. Por ello, se carece de la información necesaria para lograr una visión del conjunto y consecuentemente son muchas las lagunas de conocimiento que la experimentación a realizar deberá cubrir, antes de concretarla.

Los notables adelantos registrados en los últimos veinte años en las técnicas analíticas y métodos instrumentales para la separación de mezclas complejas de lípidos y exámenes de composición acídica, así como de estructura glicerídica, han provisto los medios para cubrir esas lagunas de información, registrándose un progreso constante en la experimentación hacia esos fines.

Al considerar los valores de composición acídica disponibles para grasas de depósito de animales terrestres, debe prestarse atención al tipo y cantidad de la grasa que forma parte de la dieta. Ello es de particular significación para animales domésticos cuyas dietas, muchas veces, no son las que ellos mismos

elegirían. Cuando tales dietas contienen cantidades relativamente elevadas de grasa, parte de éstas afectan considerablemente los valores de composición acídica de los depósitos grasos, dependiendo ello de la naturaleza y cantidad de grasa ingerida por el animal.

En las páginas que siguen se presenta una visión de la composición acídica de grasas de depósito de animales terrestres, en base principal a las recopilaciones efectuadas por Hilditch y Williams (1) y a otras tomadas de la literatura.

INVERTEBRADOS

a) Grasas de insectos

Hasta el advenimiento de las técnicas separativas de lípidos totales, muchos resultados deben referirse a la composición acídica de lípidos totales o parciales. Ello debido a que tratándose de insectos se operaron extracciones directas sobre sus productos de molienda, usando solventes polares o no polares y analizando los productos brutos de extracción, según las técnicas entonces en uso.

La Tabla 1 resume valores de composición acídica (% de ácidos totales) de tales productos para varios insectos.

La composición acídica del aceite de ninfa del gusano de seda (Bombyx mori) (4) respondió a las siguientes cifras: 16:0 (20), 18:0 (4), 20:0 (<1), 16:1 (2), 18:1 (35), 18:2 (12), 18:3 (25) e insaturados en mas de C₁₈ (1-2%), composición similar a la encontrada para el aceite de ninfa de Malacosoma americana (4) (polilla). Los lípidos de la oruga de Acentrocneme hesperiaris (1)

que se alimenta de hojas del Mexican agave (manguey) cuya savia es rica en sacarosa y azúcar invertido que el insecto emplea para sintetizar sus ácidos grasos, tienen los siguientes valores: 16:0 (30,6), 18:0 (3,7), 18:1 (61,3) y 18:2 (4,4%). En escarabajos (1), especies de la India de Mylabris pustulata se registraron valores de: 16:0 (13), 18:0 (32), 20:0 (1) y 18:1 (54%), aunque en otras especies (Lytta vesicatoria) los componentes ácidos fueron 16:0, 18:0, 18:1, 18:2 y 18:3. La presencia de ácidos grasos de bajo peso molecular (< de $C_{14}-C_{16}$) ha sido discutida. Sin embargo los lípidos de la larva del escarabajo Pachymerus dactris que se alimenta del endosperma de la semilla de la palma Manicaria saccifera, contienen alrededor de 24% de ácido láurico y 21% de mirístico, además de oleico y linoleico (es decir concentraciones elevadas en los dos primeros ácidos, característicos de aceites de semillas de palmas). Asimismo, los lípidos de la mosca de agua Tanytarsus lewisi (1) que deposita sus huevos en el Nilo y otros ríos tropicales y que se alimentan en el estado larval en el lecho de los mismos, se asemejan estrictamente en composición a los de algas y plankton, comprendiendo 16:1 y ácidos polietilénicos tetra y pentaénicos junto a 16:0, 18:0, 18:1 y 18:2.

La Tabla 2 resume valores de composición acídica (CGL) de lípidos neutros (logrados por fraccionamiento en columna) de lípidos totales de varios insectos (6).

Composiciones acídicas similares en triglicéridos de ninfa y forma adulta del mosquito (Aedes sollicitans) han sido encontradas (7): 14:0 (2,5-3,5), 16:0 (26-29), 18:0 (5-7), 14:1 (1,5-2)

16:1 (20,5-23,5), 18:1 (26-29), 18:2 (5-7), 20:4 (1,5-2) y 20:5 (1,5-2%).

Estudio de las composiciones acídicas de triglicéridos de Heliothis virescens (gusano de los brotes del tabaco) (8) en función del desarrollo desde el estado de larva joven al de insecto maduro, muestran algunas variaciones: 14:0 (0,3-0,5), 16:0 (23,3-34,8), 16:1 (2,5-9,7), 18:0 (0,3-2,1), 18:1 (40,3-47,6), 18:2 (6,7-17,0), 18:3 (0,5-1,5), y 20:4 (0,7-9,0%) y para los triglicéridos del grillo adulto (Acheta domesticus L.) (9): C₁₄ (vest.) 14:0 (1,0), 14:1 (vest.), 16:0 (22,5), 16:1 (3,0), 18:0 (7,0), 18:1 (27,5), 18:2 (37,0) y 18:3 (2,0).

Pequeñas concentraciones de ácidos de bajo peso molecular saturados (6:0, 8:0, 10:0) y de ramificados (r-14:0 y r-16:0) se han señalado en los lípidos totales de Lepisma saccharina L. (insecto que vive y se alimenta en libros) (10).

Los estudios sobre composiciones acídicas de lípidos neutros, triglicéridos y fosfolípidos, así como de lípidos cuticulares (ceras, etc.) de insectos se ven actualmente posibilitados por las modernas técnicas de aislación, separación y análisis y tienden a esclarecer aspectos bioquímicos diversos, tales como desaturación en función de la temperatura, elongación, influencia de la dieta grasa, etc.

Al presente parece muy probable que los insectos, tanto en estado larval como maduro, componen sus grasas sobre la base de otras que ingieren, que biosintetizan (a partir de hidratos de carbono y proteína) o que modifican (deshidrogenación y elongación), tal como ocurre en animales superiores.

b) Grasas de depósito de Anfibios y Reptiles

En 1920 Tsujimoto (1) hizo notar que las grasas de depósito de varios anfibios y reptiles contenían ácidos grasos que producían derivados de bromación insolubles en éter etílico (poliinsaturados en C_{20} y en C_{22}), destacando así su semejanza con los aceites de la fauna acuática. Con posterioridad esa opinión se vio confirmada al lograrse análisis más detallados de las grasas de depósito de animales de varias especies (rana, sapo, lagarto, serpientes, tortugas, cocodrilos). La Tabla 3 resume los valores de composición acídica (% de ácidos totales).

Puede observarse que los ácidos insaturados en C_{16} y en C_{20-22} se encuentran presentes aunque en concentraciones menores que en las grasas de depósito de peces, pero sensiblemente mayores que en las de animales terrestres, especialmente los mayores. Los componentes en C_{18} insaturados integran los de mayores concentraciones. Con excepción de las grasas de depósito de las grandes viboras y lagartos los componentes saturados recuerdan, por sus concentraciones a las grasas de peces, en tanto las mencionadas como excepciones, a las de animales terrestres.

La presencia de ácido láurico y ácido mirístico en concentraciones elevadas en grasas de depósito de algunas tortugas ha sido motivo de discusión desde que tales concentraciones parecerían ser función estacional en algunas de ellas (Chelone Mydas) y por tanto atribuible a la dieta grasa natural. Sin embargo ello no parece estar suficientemente probado.

Más modernamente se han dispuesto algunos análisis de composi-

ción acídica de grasas de depósito de otros anfibios, estudiadas por métodos instrumentales modernos. Tal la de la tortuga Dermochelys coriacea (Leatherback turtle) que presenta los siguientes valores (23): 12:0 (6,5), 14:0 (15,1), 16:0 (13,7), 16:1 (10,0), 18:0 (6,8), 18:1 (23,7), 18:2 (1,1), 20:1 (6,9), 22:1 (5,1), 20:5 (2,5), 22:5 (2,1) y 22:6 (2,9%).

Por su parte, la grasa de depósito del Necturus maculosus (Salamandra acuática) (23), respondió a la siguiente composición acídica: 14:0 (3,2), 16:0 (15,7), 16:1 (21,0), 18:0 (2,8), 18:1 (29,6), 18:2 (8,9), 20:1+18:3 (6,7), 22:1 (3,2), 20:5 (2,1), 22:5 (2,9) y 22:6 (3,9).

Estos últimos análisis, al ofrecer un detalle de los componentes acídicos que integran el grupo de ácidos insaturados en C₂₀₋₂₂, evidencia los mismos componentes que se encuentran en grasas de animales terrestres y de peces, confirmando el criterio inicialmente formulado por Tsujimoto (1).

c) Grasa de depósito de aves

En la Tabla 4 se consignan valores de composición acídica de grasas de depósito de aves terrestres (parte superior) y marinas (inferior). Si bien la mayoría de esos análisis se lograron antes del empleo de la CGL, fueron suficientes para establecer las diferencias que existen entre ambos grupos, fundamentalmente dependientes del tipo de grasa que ingieren los animales. Esa influencia fué probada por Cruickshank (30) en la gallina doméstica. Bajo dieta pobre en grasa el valor de índice de yodo de sus grasas de depósito es 81-83. Con dieta rica en grasa de coco ese valor desciende en dos meses a 51-55 y a 59-66 en cinco meses

con dieta rica en grasa de carnero. Por el contrario, si la dieta es rica en aceite de semilla de cáñamo (cuyo índice de yodo es 160), el valor se eleva a 139-145 en sólo seis semanas. El contenido de 12,3% de ácido láurico y 8,2% de mirfístico en la grasa de depósito del ganso gris de lago (Anser anser) (Tabla 3) fue consecuencia de la presencia de aceite de coco en la dieta (25).

La mayor concentración de ácidos insaturados en C_{20-22} (a su vez de mayores valores de insaturación media) en las grasas de depósito de aves marinas (principalmente a expensas de los insaturados en C_{18}) sólo puede provenir de la ingestión de grasas de peces de agua de mar. Según Lovern (29) la dieta de esas aves es pobre o carente de hidratos de carbono y en consecuencia, tendrían poca ocasión para sintetizar grasas, siendo el origen de las propias fundamentalmente exógeno.

Otro hecho comprobado reside en la poca variabilidad en la composición acídica de los depósitos grasos de un animal en función de la ubicación de los mismos. Así, los márgenes que figuran en la Tabla 4 para la composición acídica de grasas de depósito de gallina doméstica (var. "Light Sussex") comprenden depósitos abdominales, panza y cuello. Identica comprobación se logró en el caso del Apteryx australis mantelli ("Kiwi") por parte de Shorland y Gass (28).

Este comportamiento contrasta con el que se observa en las grasas de depósito de mamíferos terrestres, tales como la oveja, bovinos, cerdos, etc.

Análisis más detallados sobre la composición acídica de grasas de depósito de algunas aves comestibles han sido proporcionados por Hubbard y Pocklington (52), con los valores de la Tabla 5.

d) Grasas de depósito de roedores

Estas grasas al igual que las aves contienen cantidades reducidas de hexadecenoico y pueden considerarse intermedias en composición entre las de anfibios y reptiles y aquellas de mamíferos terrestres superiores. La Tabla 6 resume valores de composición acídica de grasas de depósito de algunos roedores.

En términos generales estas grasas contienen 30-40% de ácidos saturados totales (palmítico 25-30%, con pequeños contenidos de mirístico y esteárico, 3-6% de cada uno). Los ácidos insaturados (60-70%) consisten principalmente de ácidos en C_{18} (50-60%), hexadecenoico (4-6%) y pequeñas concentraciones de insaturados en C_{20-22} . La grasa de la rata blanca con elevado contenido en hexadecenoico (12-16%) ocurre cuando la dieta es carente o contiene menos del 1% de grasa, valor que decrece a cifras normales ($\sim 5\%$) con dietas con 5% de grasa.

La grasa de cobayo se destaca por su bajo contenido en palmítico y por su elevada concentración en insaturados en C_{20-22} ($\sim 9\%$). Las composiciones acídicas de grasa de conejo parecen depender en gran medida de la composición de la dieta grasa (el conejo salvaje que se alimenta fundamentalmente de hierba, incorpora en sus grasas los ácidos linoleico y linolénico de esas fuentes, mientras que aquellos que se nutren con dietas de laboratorio, conducen a valores más acordes con los señalados al

comienzo.

La grasa de puercoespín no sólo difiere sensiblemente de las de otros roedores sino que se aparta de las de los principales grupos de grasas animales. Se caracteriza por su elevado contenido en ácidos saturados (53%) (con valores más elevados tanto para palmítico como para esteárico) con un correlativo decrecimiento en la concentración de oleico (27%) y un contenido sorprendentemente alto en 18:2 (14%) para un valor de índice de yodo de esa grasa relativamente bajo (≈ 50). La elevada concentración en palmítico (36%) coloca a esta grasa como una de las más ricas en ese componente.

e) Grasas de depósito de rumiantes

La Tabla 7 se refiere a la composición ácida de distintos depósitos grasos de los rumiantes más aprovechados por el hombre (vacunos y ovinos), así como de ciervo, reno, camello, cabra y antílope. Generalmente el valor de índice de yodo de estas grasas oscila entre 30 y 50 y más del 50% de sus componentes ácidos son saturados (palmítico 20-30%, mirístico 1-5% y cantidades variables de esteárico según especie y ubicación del depósito graso). La concentración total en ácidos en C_{18} tiende a ser constante y los valores de índice de yodo de las grasas son función principal de las relaciones esteárico-"oleico". Las grasas perirrenales de vacuno, oveja y ciervo contienen más esteárico y menos oleico que las grasas externas correspondientes, comportamiento que se ha asociado con los valores de temperatura corporal en los lugares de

cada depósito graso. Puede también notarse que las externas son de mayores contenidos en ácido hexadecenoico. La influencia de la temperatura en este comportamiento ha sido discutida (42) sugiriéndose que las internas estarían en el animal al estado sólido cumpliendo funciones que requerirían esa condición.

A partir de 1951 una serie de trabajos evidenciaron que las bacterias y protozoarios del rumen de los rumiantes modificaban la composición de las grasas exógenas principalmente a través de procesos de biohidrogenación de ácidos insaturados en C_{18} con producción de isómeros de posición y geométricos, y en menor escala, de insaturación conjugada. Una prueba de ello (43) surgió de la incubación del contenido del rumen de oveja con varios ácidos puros (oleico, linoleico y linolénico) y analizando los ácidos producidos. Así en el ensayo con oleico, se recuperaron ácidos con la siguiente composición centesimal: 18:0 (22,6), 18:1 (59,0), 18:2 no conjugado (1,0), 18:2 conjugado (1,4), 18:3 no conjugado (0,6), 18:3 conjugado (0,3), ácidos trans (17,2). Con ácido linoleico se obtuvo: 18:0 (15,6), 18:1 (44,7), 18:2 conjugado (15,0), 18:3 no conjugado (0,2), 18:3 conjugado (0,3), ácidos trans (47,9). Con ácido linolénico el producto final señaló: 18:0 (16,8), 18:1 (72,2), 18:2 no conjugado (vest.), 18:2 conjugado (1,4), 18:3 no conjugado (0,7), 18:3 conjugado (vest.), ácidos trans (67,3). Los contenidos en ácidos trans de grasas de depósitos de zonas internas

(perirrenales, etc.) han sido repetidamente evaluados (44)(39) (45) : oveja (4,2-11,2), cabra (6,8-11,1), ciervo (0,8-3,5), vacuno (\sim 4,5), expresados en ácido eláidico %.

La conversión del ácido linolénico a esteárico ocurre pasando por los intermediarios di y monoenoicos (en los primeros los dobles enlaces ocupan principalmente las posiciones 11 ó 12 y 15 ó 16 y en los monoenos se incluyen ácidos Δ^9 a Δ^{17} en los que predominan los 13 trans y 14 trans. La bacteria del rumen Butyrivibrio fibrosolvens transforma ácido linoleico a un dieno conjugado (cis-9, trans-11) que luego pasa a una mezcla de monoenos (trans-9 y trans-11). Estos hechos han llevado a comparar los procesos de hidrogenación del rumen con los de hidrogenación catalítica "in vitro".

La consecuencia inmediata de esa actividad del rumen es la baja concentración de las grasas de depósito de rumiantes en general, en ácido linoleico y linolénico. Más recientemente se ha logrado, en repetidas experiencias, incorporar a esos ácidos en grasas de leche y de depósito de rumiantes, por ingestión de aceites vegetales (ricos en linoleico, cártamo, etc.) incluidos en cápsulas de caseína-formaldehído inatacables en el rumen pero sí en el abomaso. De ese modo esos ácidos escapan a la biohidrogenación del rumen y son absorbidos e incorporados en distintos lípidos (46)(47).

Los valores de la Tabla 7 señalan un comportamiento anormal con la grasa de depósito de antílope por su bajo conteni-

do en esteárico y elevados en octadecadienoico, octadecenoico y octadecatrienoico, en su mayor parte isómeros de posición carentes de formas trans (27), observación esta última que debería confirmarse.

La presencia de ácidos grasos ramificados en concentraciones pequeñas en grasas de leche y de depósito de rumiantes, inicialmente demostrada por Hansen, Shorland et al (48) en una larga serie de trabajos comentados en conjunto por Hartman (44), se ha vinculado a la producción en el rumen (49) de una serie de ácidos volátiles (C_2-C_5) de cadena normal y ramificada a partir de aminoácidos (valina, leucina, isoleucina) por deaminación y descarboxilación. Valina produciría ácido isobutírico, leucina \rightarrow isovalérico e isoleucina \rightarrow 2-metilbutírico. Por elongación el ácido isobutírico conduciría a isoácidos en número par de átomos de carbono, el isovalérico a isoácidos en número impar de átomos de carbono y el 2-metilbutírico a anteisoácidos en número impar de átomos de carbono. Por su parte el ácido propiónico producido en el rumen generaría por elongación ácidos de cadena normal en número impar de átomos de carbono (15:0, 17:0, 19:0, etc.).

f) Composición acídica de grasas de depósito de algunos herbívoros y de cerdo

La Tabla 8 resume valores publicados para grasas de depósito (principalmente internas) de varios herbívoros. La de caballo contrasta significativamente con las de rumiantes (excepto con la de antílope) ya que es de bajo contenido en esteárico y ele-

vados en linoleico y linolénico, con las estructuras que presentan en los aceites seminales.

En el hipopótamo y el canguro se observan semejanzas con las grasas "ricas en esteárico" como son las de rumiantes en general, habiéndose probado en grasas de depósito de otros marsupiales (canguro pequeño y "quokka") altas concentraciones en ácidos trans (18-21%) (44), atribuibles a su sistema digestivo, en estos animales semejante al de los verdaderos rumiantes. En los osos (cuyas dietas son principalmente vegetales) las grasas de depósito son del tipo de "bajo tenor en esteárico", observándose elevados contenidos en palmitoleico. Por su parte la grasa de depósito de elefante es del mismo tipo, destacándose su muy elevado contenido en ácido palmítico (el más alto registrado en grasas animales de depósito).

La Tabla 9 provee información sobre la composición acídica de grasas de depósito del cerdo, con valores extremos hallados para animales con alimentación normal en la producción de este ganado. Aunque en forma menos marcada se cumple lo ya expresado respecto de las diferencias de composición entre grasas externas (lomo) e internas (perirrenal). A diferencia con lo que ocurre en grasas de rumiantes, en el cerdo los contenidos en octadecadienoico corresponden al ácido linoleico, al menos en forma sustancial. La influencia de la dieta grasa sobre la composición acídica y propiedades de las grasas de depósito del cerdo, tema de interés tecnológico y económico, ha sido objeto de un gran número de estudios durante los últimos 40 años.

g) Composición acídica de grasas de depósito de algunos animales carnívoros y omnívoros.

La información disponible es escasa y se ha resumido en la Tabla 10. Las grasas de felinos se asemejan a las de rumiantes y probablemente ello se vincule a su dieta (carne de rumiantes). La del tejón se destaca por su elevado contenido en ácidos insaturados en C₂₀₋₂₂, a su vez de alta insaturación media (-5,1H) y la del visón registra el valor más alto observado para ácido hexadecenoico (16:1) en grasas de depósito de mamíferos. Los dos Primates (mono babuino y chimpancé) son diferentes por sus distintos contenidos en palmítico, siendo ambas de bajos tenores en esteárico y en general muy similares en composición a la grasa humana.

h) Composición acídica de grasa humana de depósito

Hasta 1960 la información disponible era escasa, tal como se ve en la Tabla 11.

Se ha señalado la presencia de 2,4 a 12,2 % de insaturados trans (60), principalmente octadecenoicos.

Con posterioridad (1964) se registra un amplio estudio de composición acídica de grasa subcutánea de sujetos sanos, representativos de distintas razas, sexos, edades y dietas (61) que condujo a los siguientes ámbitos de valores: 12:0 (0,1-1,3), 14:0 (0,8-8,6), 14:1 (0,2-3,2), 15:0 (0,1-1,8), 15? (0,1-1,2), 16:0 (13,0-30,1), 16:1 (2,4-15,1), 17:0 (0,2-1,9), 17? (0,4-1,9), 18:0 (1,6-9,8), 18:1 (33,6-56,3), 18:2 (3,8-20,7), 18:3

(0,2-2,8), 20:0 (vest-2,6), 20:1 (vest.-2,2) y 20:4 (0-0,5%).

También recientemente (62) se ha examinado la composición de grasa humana respecto de sus contenidos en isómeros de posición de los ácidos hexa y octadecenoicos, habiéndose confirmado la existencia de 6-16:1, 7-16:1, 8-16:1, 9-16:1, y 10-16:1 así como 7-18:1, 8-18:1, 9-18:1, 10-18:1, 11-18:1 y 12-18:1. La composición acídica de la grasa de depósito (mujer, 84 años) fue: 10:0 (0,2), 12:0 (1,4), 12:1 (0,1), 14:0 (7,4), 14:1 (0,9), 15:0 (0,8), 15:1 (0,4), 16:0 (20,2), 6-16:1 (0,1), 7-16:1 (0,6), 8-16:1 (0,4), 9-16:1 (5,5), 10-16:1 (0,2), 17:0 (0,4), 17:1 (0,7), 18:0 (3,5), 7-18:1 (0,2), 8-18:1 (1,0), 9-18:1 (38,5), 10-18:1 (1,3), 11-18:1 (10,1), 12-18:1 (1,7), 18:2 (3,9), 18:3 (0,1%), isómeros totales 16:1 (6,8%), isómeros totales 18:1 (52,8%). Además se identificaron y evaluaron los siguientes ácidos ramificados: 13-metiltetradecanoico: 0,2%, 12-metiltetradecanoico: 0,3%, 14-metilpentadecanoico: 0,2%, 15-metilhexadecanoico: 0,2%, 14-metilhexadecanoico: 0,4%, 16-metilheptadecanoico: vest., señalándose que los ácidos 10-hexadecenoico y 12-octadecenoico podrían ser precursores del ácido linoleico.

Al presente y teniendo en cuenta la información acumulada sobre composiciones acídicas de grasas de depósito de los animales considerados, así como las encontradas en animales sometidos a dietas y condiciones preestablecidas, se puede concluir que los distintos factores que inciden sobre los valores de com-

posición serían:

- a) la composición de la dieta y naturaleza de la grasa exógena,
- b) la especie animal,
- c) la condición ambiental, especialmente la temperatura,
- d) la edad, el sexo y el estado de salud,
- e) el estado del ciclo de vida del animal (ej. antes, durante o después de hibernación).
- f) la ubicación del depósito en el cuerpo del animal (subcutánea, de órganos, etc.).

Los actuales métodos instrumentales han provisto una abundante información por encima de la lograda con los procedimientos clásicos de análisis, especialmente en lo referente a muchos componentes acídicos menores. Sin embargo, ese importante aporte no ha cambiado en forma sustancial el amplio esquema de composiciones establecido con anterioridad (63).

PARTE II

DISCUSSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL

De la revisión bibliográfica expuesta en la Introducción no se obtuvo ninguna información acerca de la composición acídica de grasas de depósito de especies animales del orden xenarthra, que comprende a los subórdenes Myrmecophagoidea (osos hormigueros, colmeneros y serafines), Bradypodoidea (perezosos) y Dasypodoidea (pichi ciegos, peludos y armadillos). Esa carencia de información y la circunstancia de que en el país existen, ampliamente difundidas, especies de Dasypodoidea de fácil logro, decidió la realización de este estudio sobre las especies Chaetophractus villosus (peludo) y Dasypus septemcinctus (mulita).

El orden xenarthra comprende mamíferos exclusivamente americanos con extremidades robustas provistas de uñas muy desarrolladas especialmente adaptadas a las necesidades dictadas por los hábitos cavícolas o arborícolas según las especies que se consideren. Los caracteres fundamentales de estos mamíferos (aspecto externo y fornido esqueleto) se asemejan a los presentados por especies fósiles de gravígrados y gliptodontes (también de horizontes americanos) generalmente de mayor tamaño (a veces proporciones gigantescas). Esta relación entre las especies fósiles y actuales se hace más evidente al tenerse presente que algunos restos fósiles se clasifican ahora en las mismas especies que integran la fauna actual. En mérito a particularidades de los tegumentos y proporciones alcanzadas por las extremidades como consecuencia de adaptaciones se clasifican los xenarthros en los tres subórdenes ya mencionados.

Los armadillos en sus numerosas especies se agrupan en el

suborden Dasypodoidea y se los conoce con otros nombres no menos vulgares: tatuejos, tatúes, quirquinchos y peludos y en algunas zonas como armados. Presentan el carácter común de tener un caparazón más o menos consistente y de orden conjuntivo formado por numerosas placas yuxtapuestas y ordenadas por lo general en filas transversales; también tienen un escudete cefálico y cola bastante larga cubierta de placas en casi todas las especies.

Son de hábitos preferentemente nocturnos y hábiles cavadores. El régimen alimenticio es herbívoro en casi todas las especies, si bien muchas de ellas son atraídas por las carroñas de las cuales suelen contaminarse infecciones a las que son sensibles. También son entomófagos.

Chaetophractus villosus (Peludo): tiene un máximo de 8 bandas móviles con una longitud de escudo pelviano que no alcanza al doble del escapular; longitud de la cola menor que la mitad de cabeza y cuerpo. Orejas medianas y puntiagudas. Caparazón con pelo hirsuto y abundante aunque no muy largo, vientre y flancos muy peludos. Es la especie más difundida en las llanuras y valles intermontáneos de Argentina y por el litoral llega hasta Uruguay. Su dieta incluye vegetales, gusanos, insectos, carroña y se los ha observado matando víboras pequeñas.

Dasypus septemcinctus (Mulita de Azara o Mulita de las Pampas): es de tamaño menor que el peludo común y de proporciones más delicadas; la cabeza es alargada y cónica, con las orejas bas-

tante largas, posteriores y algo echadas hacia atrás, por cuyo aspecto se la llamó vulgarmente "mulita". El caparazón es muy convexo y formado de placas finas que definen dos escudos muy desarrollados y separados por siete bandas móviles. Las extremidades son cortas y los dedos alargados con uñas muy fuertes pero estrechas. Es una especie propia de las pampas argentinas y llanura del Chaco, aunque actualmente parece reducida a la pradera pampeana (64)(65).

El estudio ha comprendido el examen de grasas de depósito y el de los lípidos totales de diversos órganos y tejido muscular aislados según Folch (66).

Los animales empleados fueron capturados en zonas de Sierra de la Ventana y Encina (Provincia de Buenos Aires), anestesiados con pentobarbital (nembutal)(35mg/Kg de peso, en solución acuosa), procediéndose a la disección a fin de obtener la mayor parte del depósito graso subcaparaza y de otros depósitos grasos (peritoneal, de intestino grueso y delgado, perirrenal, de bazo y ventral) así como distintos órganos (pulmón, corazón, riñones, vejiga, útero, intestino grueso y delgado, bazo, páncreas, estómago, esófago, tráquea, suprarrenales y tejido muscular).

Tanto los órganos como los tejidos adiposos y muscular se enjugaron con agua (eliminación de sangre y coágulos y en los casos de estómago, intestinos y vejiga para liberarlos de contenido, secándoselos exteriormente con papel de filtro). Se preservaron en envases de vidrio hermeticamente cerrados a tempera-

turas entre -15° y -20° hasta el momento de su examen.

Los distintos órganos (ver Parte Experimental) se disgregaron y sometieron a extracción según Folch preservando los extractos lipídicos en frascos de vidrio a -15° - -20° . Un procedimiento similar se aplicó a los distintos depósitos grasos.

Operando sobre la mayor parte de los depósitos subcaparaza de ambas especies, se aislaron las grasas por picado y fusión a Baño María (ver Parte Experimental) obteniendo así cantidad suficiente de las grasas de depósito más abundantes de ambas especies para fines analíticos.

1.- Estudios sobre grasas de depósito

1-1.- Grasas subcaparazas por fusión

En estado de fusión la grasa subcaparaza de "peludo" se presentó como un líquido límpido de color amarillo oro y la de "mulita" como un líquido límpido de color amarillo claro. Sobre ambas se realizaron determinaciones de características fisico-químicas y se determinaron los contenidos en algunos componentes menores (tocoferoles totales y esteroides totales), con los resultados que se resumen en la Tabla 12. De su examen surge que la grasa de "mulita" registra un valor de índice de yodo superior a la de "peludo" así como un valor inferior a la de este último para el índice de saponificación (estas diferencias quedarán justificadas al exponer los exámenes respectivos de composición acídica). En ambas grasas se observaron bajos valores de número de acidez y contenidos similares en insaponificable

total así como de índice de yodo de estos últimos.

Los contenidos en tocoferoles totales determinados sobre insaponificable (67) revelaron cifras similares y muy bajas ("mulita" 9,5; "peludo" 10,5 mg/g), valores acordes con los extremos señalados por Dicks (68) para grasas de mamíferos terrestres.

Los contenidos en esteroides totales determinados sobre insaponificable por precipitación con digitonina (69) fueron también parejos ("mulita" 144, "peludo" 152 mg/g). Operando sobre los digitónidos obtenidos se identificó al colesterol por su transformación en acetilcolesterol reconocido por temperatura de fusión (113-114°) y por punto de fusión mezcla con acetilcolesterol, así como por CGL (ver Parte Experimental). Lange (70) señala cifras de 28 a 140 mg/g para esteroides totales de grasas de depósito de algunos mamíferos terrestres.

Cabe destacar las netas diferencias observadas en los ambientes de temperatura de fusión de estas dos grasas ("mulita" 2-10°; "peludo" 17-33°) y la ausencia de insaturación conjugada, probada por examen espectrofotométrico en el UV según la técnica AOCS, Official Method Cd 7-58, 1960.

1-2.- Composición acídica de grasas de depósito

Se determinaron por CGL de ésteres metílicos de ácidos totales sobre las grasas obtenidas por fusión (subcaparazas) y sobre los lípidos totales Folch correspondientes a los distintos tejidos grasos. Con carácter previo y en algunos casos se determinó el rendimiento en lípidos totales de los tejidos adi-

posos (ver Parte Experimental), registrando los siguientes valores, % de tejido: subcaparaza "mulita" 84,2; subcaparaza "peludo" 84,1-89,7; ventral "peludo" 60,8-76,7; peritoneal "mulita" 69,8; peritoneal "peludo" 85,2; peritoneal intestino grueso "mulita" 17,9; peritoneal intestino delgado "mulita" 52,5; peritoneal intestino delgado "peludo" 46,1; perirrenal "mulita" 64,7; perirrenal "peludo" 81,3 y externa de bazo "mulita" 45,5 (los ámbitos señalados para algunas de estas determinaciones se refieren a distintas ubicaciones del depósito, mencionados en la Tabla 13). Los valores mas elevados corresponden a los tejidos subcaparaza, peritoneal y perirrenal de "peludo". Los más bajos al tejido peritoneal de intestino grueso de "mulita" y valores intermedios a los restantes.

Operando sobre grasas subcaparazas obtenidas por fusión y sobre residuos de evaporación (vacío) de alicuotas de los extractos Folch de los distintos depósitos grasos, se procedió a su saponificación, aislamiento de ácidos totales (libres de insaponificable en los casos de grasas subcaparazas obtenidas por fusión) y transformación en ésteres metílicos (ver Parte Experimental) que se examinaron por cromatografía de partición gaslíquido, empleando el equipo, columna y condiciones que se exponen en la Parte Experimental. A los fines de una mejor identificación de componentes y evaluación conjunta de ácidos poliétílicos en C_{20} y C_{22} , se procedió a la hidrogenación de alrededor de 50mg de ésteres metílicos en cada caso (ver Parte

Experimental) y al examen por CGL de los ésteres hidrogenados. Las composiciones acídicas, expresadas en ácidos % de ácidos totales de todas las grasas estudiadas figuran en las Tablas 13 y 14. A título de ilustración las Figuras 1 y 2 reproducen los cromatogramas correspondientes a la grasa de depósito subcaparaza de "mulita" obtenida por fusión antes y después de hidrogenar.

Del análisis de las tablas mencionadas surge que:

a) En ambas especies se registran los mismos componentes ácidos si bien existen diferencias en el orden cuantitativo.

b) En ambas especies no se observan marcadas diferencias de composición acídica de las grasas de depósito en función de la ubicación de los mismos en el cuerpo del animal. Este comportamiento se asemeja al observado en las aves (24)(28) y difiere del registrado en mamíferos terrestres superiores, como ha sido expuesto en la Introducción.

En las grasas de depósito de "peludo" se observa una mayor riqueza en ácido esteárico para las grasas internas (a excepción de la perirrenal) respecto de las externas, comportamiento no observado en "mulita".

c) En ambas especies son componentes mayores los ácidos palmítico, octadecenoico y octadecadienoicos, y el hexadecenoico en la mayoría de las grasas de depósito de "peludo".

d) El total de ácidos en C_{16} (palmítico+hexadecenoico) es sensiblemente mayor en las grasas de "peludo" ("mulita" 20,6 a

27,2%; "peludo" 29,9 a 40,5%, con una mayor concentración de valores entre 34 y 38% en esta última especie). Las mayores concentraciones de ambos ácidos en las grasas de depósito de "peludo" son evidentes; "peludo": 16:0 (20,4 a 27,9%), 16:1 (6,8 a 17,6% con mayor concentración de valores entre 10 y 14%); "mulita": 16:0 (14,8 a 20,4%), 16:1 (4,2 a 8,2%).

e) El total de ácidos en C_{18} (esteárico, octadecenoico, octadecadienoico y octadecatienoico) es sensiblemente mayor en las grasas de "mulita" ("mulita" 62,7 a 67,4%; "peludo" 51,6 a 62,8%, con mayor concentración de valores entre 52 y 56% en esta última especie). En las grasas de "mulita" y "peludo" las concentraciones de 18:0 son similares, mientras las de 18:1 son ligeramente superiores en las de "mulita" (38,8-42,5%) frente a (32,5-39,6%) en las de "peludo". En cambio son mayores las diferencias en 18:2: "mulita" (14,5-18,8%), "peludo" (9,9-19,8%, con mayor concentración de valores entre 10 y 13%) y en 18:3: "mulita" (0,8-3,9%), "peludo" (0,1-0,3%).

f) El total de ácidos (principalmente insaturados) en C_{20} a C_{22} es sensiblemente mayor en las grasas de "mulita" (4,4 a 12,3%) frente a (1,3-2,7%) en las de "peludo". Las de "mulita" son de mayores concentraciones, tanto en ΣC_{20} (3,0-8,4%) como en ΣC_{22} (1,2-3,9%) frente a ΣC_{20} (1,0-2,0%) y ΣC_{22} (0,3-1,3%) en las de "peludo".

g) La presencia de ácidos ramificados en r14:0, r15:0, r16:0, r17:0, r18:0 así como en r20:0 y r22:0 surgió del examen CGL de

los ésteres metflicos libres de insaponificable de las grasas subcaparaza obtenidas por fusión (se excluyeron así las interferencias atribuibles a acetales provenientes de lípidos aldehídogenicos presuntivamente presentes). Desde que los picos atribuibles a ramificados podrían comprender componentes monoetilénicos en número impar de átomos de carbono, se practicó el examen CGL de los ésteres metflicos libres de insaponificable y sometidos a hidrogenación, observando así la existencia de picos de componentes ramificados.

Los exámenes CGL de grasas de depósito aisladas según Folch no se practicaron sobre ésteres libres de insaponificable, pero los valores obtenidos para los componentes presuntivamente ramificados son del mismo orden que los hallados para la grasa subcaparaza por fusión, lo que indicaría una inexistencia o cantidad despreciable de acetales en estos productos. Sin embargo Schogt et al (71) han probado la existencia de lípidos aldehídogenicos no fosforados en grasa de leche, sebo vacuno y grasa de corazón de buey, registrando 50, 65 y 1000 mg/Kg respectivamente de aldehidos expresados en tetradecanal (14:0). Por su parte Grigor, Moehl y Snyder (72) mencionan en tejido adiposo de buey y rata la presencia de plasmalógenos que representan entre el 35 y 50% de los contenidos en etanolaminafosfolípidos y colinafosfolípidos, que conducen en los exámenes por CGL a la identificación de acetales, principalmente de aldehidos en 16:0 y 18:0 y en menor medida 18:1.

h) Los totales en ácidos de cadena normal en C_{10} a C_{15} (10:0, 12:0, 13:0, 13:1, 14:0, 14:1, 15:0 y 15:1) son mayores en la grasa de "peludo" (4,0 a 6,6%) frente a (2,1-4,8%) en las de "mulita". En las grasas de "peludo" son mayores las concentraciones de 10:0 (0,1-0,4%), 12:0 (0,4-1,2%), 14:0 (3,0-4,5%) y 14:1 (0,3-0,5%) frente a 10:0 (vest.), 12:0 (0,2-0,3%), 14:0 (1,6-2,3%) y 14:1 (vest.-0,2%) para las de "mulita". Los demás componentes mencionados figuran en el orden de las trazas o no mayores de 0,1%.

El análisis expuesto justifica las diferencias observadas para los índices de yodo y de saponificación en las grasas subcapazas de ambas especies.

Una comparación de los valores de composición acídica obtenidos en ambas especies con los consignados en la Introducción, permite señalar semejanzas con las de grasas de depósito de roedores y aves terrestres, así como con las de omnívoros.

2.- Estudios sobre lípidos totales de órganos y tejido muscular

2-1.- Rendimiento en lípidos totales

Operando sobre alicuotas de los extractos líquidos Folch (ver Parte Experimental) se obtuvieron los lípidos totales. La Tabla 15 resume los valores encontrados expresados en % de órgano fresco. De su análisis surge que no se observa correlación entre los contenidos en lípidos totales de los mismos órganos en ambas especies, destacando las significativas diferencias entre las dos es-

pecies para los contenidos de lípidos totales en músculo, corazón y páncreas, el elevado contenido en lípidos de glándulas suprarrenales de "peludo" (no se pudo determinar el correspondiente en "mulita") y los bajos valores de lípidos totales registrados en ambas especies para bazo.

2-2.- Contenido en fosfolípidos de lípidos de órganos

El contenido en fósforo de los lípidos Folch provenientes de distintos órganos y tejido muscular fue determinado espectrofotométricamente, previa mineralización, según la técnica expuesta en la Parte Experimental (73).

Para expresar en % de fosfolípidos el dato de fósforo % obtenido se utilizó el factor 25, como se hace usualmente (74). Los datos hallados figuran en la Tabla 16 y fueron expresados sobre lípidos totales y sobre órgano fresco tomando en cuenta el % de lípidos de cada órgano. El examen de los valores indica menor dispersión para los datos tomados sobre órgano fresco (datos extremos para "peludo": 0,77-2,25% frente a 3,92-50,3% sobre lípidos, datos extremos para "mulita": 0,53-1,87% frente a 2,93-47,9% sobre lípidos). Además, expresando sobre órgano fresco se observa una mayor correlación entre las dos especies para cada órgano, como se aprecia por ejemplo en corazón, cuyos valores tomados sobre lípidos son 28,6% para "peludo" y 8,67% para "mulita" y tomados sobre órgano fresco, 1,42 y 1,44% respectivamente. Por otra parte si tomamos los datos expresados sobre órgano fresco para determinar los órganos de mayor contenido en fosfolípidos encon-

tramos cierta similitud en el ordenamiento en ambas especies (pulmón, hígado, riñón son los más ricos en "peludo" y riñón, pulmón, hígado en "mulita").

Respecto a la detección cualitativa de los fosfolípidos más importantes, realizada por cromatografía en capa delgada como se describe en la Parte Experimental, en la Tabla 17 se recopilan los reveladores usados, la identificación de manchas y el rango de Rf obtenido en los distintos análisis. En la Tabla 18 se resumen los fosfolípidos más importantes detectados en cada órgano. Se observa que etanolaminafosfolípidos, colinafosfolípidos y esfingomielina son los lípidos polares fundamentales, habiéndoselos detectado en todos los órganos estudiados. Lisocolinafosfolípidos y cardiolipina tienen también amplia difusión en los diferentes sustratos analizados. Esta última, marca una diferencia notable entre ambas especies, mientras que en "peludo" sólo fue identificada en algunos órganos, en "mulita" se la encontró como componente importante de los lípidos polares en todos los órganos estudiados.

2-3.- Composiciones acídicas de lípidos totales de órganos y tejido muscular

De alícuotas de los extractos líquidos Folch se aislaron los lípidos totales que se saponificaron con potasa alcohólica 4 % (ver Parte Experimental) aislando en forma conjunta los ácidos totales e insaponificable en cada caso. Por esterificación (MeOH conteniendo 1,5% en peso de SO_4H_2) (1) se obtuvieron los ésteres

metflicos de los ácidos totales que se examinaron por CGL. Paralelamente cada muestra se sometió a hidrogenación examinando por CGL los ésteres hidrogenados, al igual que lo expuesto para grasas de depósito.

Las Tablas 19 y 20 resumen los valores obtenidos expresados en % de ácidos totales y en la que los ácidos insaturados en C_{20} y C_{22} figuran en forma conjunta (valores deducidos de los cromatogramas de ésteres hidrogenados). Este modo de expresar a estos últimos componentes se adoptó en razón de haber observado que en las condiciones expuestas en la Parte Experimental para los exámenes CGL se notó falta de concordancia entre los totales de ácidos en C_{20} y C_{22} hallados por exámenes de los ésteres hidrogenados frente a las respectivas sumas de los ésteres particulares en C_{20} y C_{22} . En todos los casos los valores hallados por CGL de ésteres hidrogenados fueron significativamente superiores a los resultantes de las sumas señaladas.

A título de ejemplo se acompañan los cromatogramas de las Figuras 3 y 4 correspondientes a lípidos totales de riñones antes y después de hidrogenación.

El análisis de las Tablas 19 y 20 permite señalar que:

a) Los lípidos totales del hígado de "peludo" presentan la mayor concentración en 18:0 y en ΣC_{20} y ΣC_{22} y las menores para 18:1 y 16:1. Los de tráquea fueron los de más elevada concentración en 18:1 y la más baja en ΣC_{20} y ΣC_{22} . Asimismo se registran elevadas concentraciones en ΣC_{20} y ΣC_{22} para lípidos totales de pulmón, en

ΣC_{20} para los de bazo, vejiga, corazón e intestino grueso y en ΣC_{22} para esófago.

b) El mayor contenido en 16:1 en lípidos totales de "mulita" se observa en estómago y le siguen bazo y corazón. Bazo, estómago, intestino grueso y delgado presentan la mayor concentración en 18:0, siendo la menor la de hígado. Para 18:1, páncreas y esófago registran los valores más altos y bazo y pulmón los más bajos. Para 18:2 las mayores concentraciones corresponden al corazón e hígado y la menor a pulmón. El pulmón presenta los valores más altos en ácidos poliinsaturados en C_{20} y C_{22} . Para C_{20} , le siguen bazo y útero y para C_{22} riñón, hígado, bazo y corazón. El páncreas es el órgano de menor contenido en poliinsaturados en C_{20} y C_{22} .

c) De la confrontación de valores de composición ácida de lípidos totales para ambas especies surge que en los de "peludo" hay mayores concentraciones para 16:0 y 16:1, valores parejos en ambas especies para 18:0 y 18:1 y para "mulita" mayor en 18:2, ΣC_{20} y ΣC_{22} .

d) De la consideración conjunta de las Tablas 13, 14, 19 y 20 se desprende que para ambas especies las concentraciones en 16:0, 18:1 y 18:2 son en general parejas en lípidos totales y en grasas de depósito, que las concentraciones en 16:1 son por el contrario mayores en las grasas de depósito y en cambio menores en estas últimas las de 18:0 y de ΣC_{20} y ΣC_{22} (estas últimas sensiblemente menores).

2-4.- Fraccionamiento de lípidos totales de órganos y tejido muscular

Como se describe en la Parte Experimental los lípidos totales Folch de órganos y tejido muscular fueron fraccionados por cromatografía en placa delgada preparativa y las fracciones correspondientes a lípidos neutros, colinafosfolípidos, y etanolaminafosfolípidos fueron transesterificados con ClH en MeOH. El producto de la transesterificación se analizó por CGL (ver Parte Experimental) y los resultados se recopilan en las Tablas 21, 22, 23, 24, 25 y 26. Las Figuras 5, 6 y 7 reproducen los cromatogramas obtenidos para ésteres metílicos y acetales correspondientes a ácidos y aldehidos de colinafosfolípidos, etanolaminafosfolípidos y lípidos neutros pertenecientes a riñón de "peludo".

Del análisis de las tablas mencionadas surge que:

a) Respecto a lípidos neutros: en "peludo", los del hígado son los más ricos en 16:0 y los más pobres en 18:1. Páncreas e intestino delgado presentan los valores máximos en 18:1 y los mínimos en 16:0 y 16:1. Los de corazón son los de mayor concentración en 16:1 y menor en 18:0 y 18:2, mientras que los valores más altos en 18:0 corresponden al bazo y en 18:2 al páncreas, bazo y estómago.

Los lípidos neutros de "mulita" presentan el siguiente cuadro respecto a los valores extremos de los ácidos más importantes: para 16:0 los valores más altos corresponden al corazón y al riñón y el más bajo a útero. Vejiga y pulmón presentan cifras máxi-

mas para 16:1 y la mínima es para bazo, cuyo contenido en 18:0 es el mayor, mientras que para este ácido la menor concentración se registra en vejiga. Para 18:1 la cantidad más alta se observa en útero y músculo y la más baja en riñón, mientras que para 18:2 la concentración máxima se da en hígado y la mínima en pulmón.

En general no hay correlación entre las dos especies para estos valores extremos de composición acídica de órganos y tejido muscular. Comparando las composiciones en los ácidos más importantes entre ambas especies se observa que el "peludo" presenta en general un mayor contenido en 16:0 y 16:1, la "mulita" en 18:1, 18:2 y poliinsaturados en C_{20} y C_{22} , mientras que para 18:0 es parejo.

b) Respecto a colinafosfolípidos: en "peludo", la de pulmón es la más rica en 16:0 y 16:1 y la más pobre en 18:1. La de intestino grueso tiene la mayor concentración en 18:0 y 18:1, pero la menor en 16:0. Riñón y páncreas presentan la máxima cantidad de 18:2 y 20:4 respectivamente, mientras que en el bazo es la mínima para ambos ácidos (en 18:2 junto con pulmón). La menor concentración de 16:1 se observa en corazón, riñón y estómago y la menor para 18:0 en hígado.

En colinafosfolípidos de "mulita", útero y riñón presentan máximo y mínimo respectivamente para la concentración de 16:0. En pulmón se observa la mayor cantidad de 16:1 y la menor de 18:2. Intestino grueso presenta la más alta cifra de 18:1 y 20:4 y la más baja en 16:1. El tejido muscular registra el mayor valor en 18:2 y

el menor en 18:0. El máximo de 18:0 corresponde a bazo y los mínimos de 18:1 y 20:4 a corazón y estómago respectivamente.

La comparación de estos valores extremos entre las dos especies no arroja correlación. Si se analizan comparativamente entre ambas especies las cifras de los ácidos más importantes, se observa que el "peludo" presenta en general un mayor contenido en 16:0 y 20:4, la "mulita" en 18:0 y 18:2, mientras que para 16:1 y 18:1 es parejo.

c) Respecto a etanolaminafosfolípidos: analizando los valores extremos para los ácidos más importantes, en "peludo" se observa que para 16:0 la mayor concentración corresponde a hígado y la menor a pulmón. Para 16:1 el máximo se registra en bazo y el mínimo en corazón. En hígado y estómago se dan los valores más altos en 18:0 y 18:1 respectivamente, mientras que los más bajos se observan en pulmón y corazón respectivamente. Para 20:4 la cifra máxima se registra en pulmón y útero y la menor en hígado y páncreas. El mayor valor para ΣC_{22} se da en corazón y el menor en riñón.

En etanolaminafosfolípidos de "mulita", el hígado presenta el mayor valor para 16:0, 18:2 y ΣC_{22} y el menor para 18:1 y 20:4. En la vejiga se dan los datos máximos para 16:1 y 18:1 y los mínimos para 18:0 y ΣC_{22} mientras que en corazón se registra la cifra más alta para 18:0 y la más baja para 16:0, 16:1 y 18:2, en este caso junto con pulmón. El mayor valor de 20:4 se observa en riñón.

En general no se observa correlación comparando estos valores extremos para los mismos órganos de las dos especies. Si se comparan las

composiciones en los ácidos más importantes entre ambas especies se observa que para "peludo" en general son mayores los valores de 18:1, 18:2 y 20:4, para "mulita" los de 18:0 y 16:1 y parejos los de 16:0 y ΣC_{22} .

d) Si tomamos para cada ácido el ordenamiento cuantitativo de mayor a menor respecto a su contenido en lípidos neutros (LN), colinafosfolípidos (CFL) y etanolaminafosfolípidos (EFL) observamos una coincidencia practicamente total para ambas especies: 14:0 LN > EFL > CFL, 16:0 CFL > LN > EFL, 16:1 LN > CFL y EFL, 17:0 CFL es mayor en ambas especies, mientras que LN > EFL en "peludo" y LN y EFL parejos en "mulita", 18:0 EFL > CFL > LN, 18:1 LN > CFL > EFL, ΣC_{20} EFL > CFL > LN y ΣC_{22} EFL > CFL > LN.

Este ordenamiento, expresando los ácidos en grupos como la Σ de los de igual número de átomos de carbono, presenta una correlación total entre ambas especies: ΣC_{16} CFL > LN > EFL, ΣC_{18} LN > CFL > EFL, ΣC_{20} EFL > CFL > LN, ΣC_{22} EFL > CFL > LN.

e) Comparando las composiciones acídicas de lípidos neutros de órganos y tejido muscular con las de grasas de depósito surge que en "peludo" existe un grupo de órganos integrado por páncreas, estómago, intestino delgado y grueso y bazo, cuyos resultados de composición acídica de lípidos neutros presentan poca dispersión entre sí y son similares a los de grasa de depósito, excepto para 16:1 y los poliinsaturados en C_{20} y C_{22} cuyos valores son sensiblemente menores. En el caso de 18:0 cuyas cifras para grasas externas de depósito eran distintas a las internas, la similitud con la compo-

sición acídica de lípidos neutros de los órganos mencionados se observa para estas últimas. Los órganos restantes (riñón, útero, corazón, pulmón e hígado) forman también un grupo definido, con resultados que presentan poca dispersión entre sí, pero diferentes a los del grupo anterior y a las grasas de depósito. Las cifras de 14:0, 16:0, 16:1 y ΣC_{20} son mayores, mientras que las de 18:0, 18:1 y 18:2 registran menores valores.

En "mulita" el cuadro no es tan definido, no observándose en base a las composiciones acídicas de sus lípidos neutros una definición neta de los órganos y tejido muscular en grupos. Se pueden destacar como datos importantes al comparar con grasas de depósito, que los lípidos neutros de riñón y corazón presentan más elevados contenidos en 16:0 y menores en 18:0; bazo, intestino grueso y pulmón, mayores en 18:0; mientras que vejiga presenta un dato muy bajo de 18:0, tanto frente a grasas de depósito como al resto de los órganos. En hígado se registra un alto valor de 18:2, mayor que en el resto de los órganos y las grasas de depósito, y como observación general, todos los órganos y el tejido muscular tienen contenidos significativamente menores de ácidos poliinsaturados en C_{20} y C_{22} .

f) Plasmalógenos: desde que los plasmalógenos tienen una muy amplia distribución en tejidos animales y vegetales (75)(76) se efectuaron experiencias tendientes a evidenciar su presencia en los lípidos totales de órganos y tejido muscular de "peludo" y "mulita". Ello se logró en forma indirecta partiendo del análisis de los cromatogramas correspondientes a los ésteres metílicos de las fraccio-

nes etanolaminafosfolípidos y colinafosfolípidos de órganos y tejido muscular de ambas especies ya que no es posible por cromatografía en capa delgada directa, separar los plasmalógenos de los correspondientes acilfosfolípidos (cefalina y lecitina) que contienen la misma base. Se observaron picos significativos (ver Figuras 5 y 6) que en principio y teniendo en cuenta sus valores de tiempo de retención, podían atribuirse a pares de componentes: 15:1 + r16:0 y 17:1 + r18:0. También se observó que la hidrogenación de esos ésteres no afectaba sustancialmente a esos picos, si bien se constató una merma poco significativa en sus concentraciones luego de hidrogenación.

Desde que los tratamientos de los raspados con metanol + ácido clorhídrico conducen a la formación de ésteres metílicos y a la producción de acetales de aldehidos, principalmente de hexa y octadecanal, con rendimientos superiores al 90% (77) en base a los alcoholes vinílicos unidos como éteres óxidos a la glicerina de los plasmalógenos, se tuvo la presunción que tales picos podrían incluir esos acetales. Este criterio se vio reforzado al registrar en la literatura el trabajo de Farquhar (77) que establece valores de tiempos de retención en cromatografía gaseosa para dimetilacetales y para ésteres metílicos de ácidos normales y ramificados (a igual número de átomos de carbono los valores de tiempos de retención de dimetilacetales y de ésteres metílicos de ácidos ramificados saturados, son inferiores a los de los ésteres metílicos saturados normales).

Operando sobre los remanentes reunidos de diversos órganos de

"peludo" (preservados a -15°) se obtuvieron los lípidos totales (Folch) que se fraccionaron en placa aislando la fracción de etanolaminafosfolípidos que se trató con metanol + ácido clorhídrico (producción de ésteres metílicos y dimetilacetales). La Figura 8 reproduce el cromatograma obtenido en base a este último producto. Los picos atribuidos a los pares 15:1 + r16:0 y 17:1 + r18:0 son sensiblemente menores que los correspondientes en las Figuras 5 y 6, hecho que atribuimos al prolongado estacionamiento de los órganos a -15° .

El producto anterior se saponificó con HOK alcohólico procediendo al aislamiento del insaponificable en forma exhaustiva con eter de petróleo, a la recuperación de los ácidos totales libres de insaponificable y a su reesterificación con metanol- SO_4H_2 . El insaponificable contiene a los acetales, desde que la saponificación no altera a estos compuestos (77). El cromatograma de la Figura 9 corresponde a los ésteres libres de insaponificable, pudiéndose observar la casi total desaparición de los picos atribuidos a los pares 15:1 + r16:0 y 17:1 + r18:0 en el cromatograma del producto original (Figura 8), así como los que figuran en este último, inmediatamente antes y después del de miristato de metilo. Por su parte el cromatograma del insaponificable (Figura 10) comprende ocho componentes, cuatro de los cuales (picos 1, 2, 3 y 6) corresponden a los no registrados en el cromatograma de los ésteres libres de insaponificable (Figura 9) y presentes en el del producto original (Figura 8). De ellos los picos 3 y 6 tienen los mismos tiempos de retención relativos a palmitato de metilo (Figura 11) que los inicialmente a-

tribuidos a los de los pares 15:1 + r16:0 y 17:1 + r18:0.

Las experiencias y constataciones expuestas llevan a presumir fundamentalmente que los picos 3 y 6 (Figura 10) corresponderían a dimetilacetales de hexadecanal y octadecanal respectivamente, el pico 1 al dimetilacetal de tetradecanal y el 5 al de heptadecanal (los logaritmos de valores de tiempo de retención conforman una recta en función del número de átomos de carbono de los aldehidos), quedando sin identificación presuntiva los picos 2, 4, 7, y 8. Por hidrogenación del insaponificable y posterior examen CGL se obtuvo el cromatograma de la Figura 12 observándose la desaparición de los picos 4, 7 y 8, lo que lleva a considerarlos como correspondientes a dimetilacetales de aldehidos insaturados.

En base a lo precedentemente expuesto y considerando a hexadecanal y octadecanal como los componentes fundamentales de los picos atribuidos a sumatorias 15:1 + r16:0 + acetal 16:0 y 17:1 + r18:0 + acetal 18:0 en las Tablas 21, 22, 23, 24, 25 y 26 referentes a composiciones acídicas de las fracciones de colinafosfolípidos, etanolaminafosfolípidos y lípidos neutros de ambas especies, se deduce:

1) Que las concentraciones en lípidos no fosforados aldehidogénicos de los lípidos neutros de las dos especies serían sumamente bajas, destacando un valor significativo (3,1%) que podría atribuirse a octadecanal en lípidos neutros de corazón de "peludo".

2) Que las fracciones etanolaminafosfolípidos de ambas especies presentan ambos aldehidos (16:0 y 18:0) en concentraciones parejas (ligeramente superior en 16:0 en "mulita"), destacando que en la

fracción correspondiente a hígado en ambas especies, las concentraciones en ambos aldehidos son marcadamente inferiores a las registradas para los demás órganos y tejido muscular.

3) Que las fracciones colinafosfolípidos de ambas especies presentan al hexadecanal en concentraciones significativamente superiores a las de octadecanal, registrando concentraciones despreciables en hexadecanal y octadecanal para hígado.

En forma general puede afirmarse que el hígado en ambas especies, sería prácticamente carente de plasmalógenos tal como ha sido señalado en la literatura para otros animales (77). Por el contrario la mayor concentración se registraría en corazón, coincidente con lo mencionado en literatura (76). Asimismo la preponderancia de hexadecanal sobre octadecanal en colinafosfolípidos y los valores parejos en etanolaminafosfolípidos registrados, señalan un comportamiento similar a lo observado en fosfolípidos humanos (78).

PARTE III

PARTE EXPERIMENTAL

1 - Especies animales

Se dispuso un ejemplar hembra de "peludo" (Chaetophractus villosus) de 3700 g de peso capturado en Sierra de la Ventana, Provincia de Buenos Aires y un ejemplar hembra de "mulita" (Dasypus septemcinctus) de 1800 g de peso capturado en Encina, Provincia de Buenos Aires. Ambos ejemplares fueron anestesiados por inyección intraperitoneal de solución acuosa de pentobarbital sódico (35 mg/Kg de peso) procediéndose a su disección. La mayor parte del depósito graso subcaparaza se separó a los fines de obtención de grasa subcaparaza por fusión; además se obtuvieron muestras de tejido adiposo de diversas partes (peritoneal, perirrenal, de intestino grueso y delgado, de bazo y ventral). Asimismo se separaron órganos (pulmón, corazón, riñón, vejiga, útero, intestino grueso y delgado, estómago, esófago, tráquea, bazo, páncreas, suprarrenales y tejido muscular de un miembro).

A los fines de su preservación los órganos y tejidos se liberaron de sangre y coágulos por lavado acuoso mientras el estómago, vejiga e intestinos se trataron con agua a los fines de eliminar sus contenidos. Finalmente se secaron con papel de filtro, envasaron en recipientes de vidrio hermeticamente cerrados y estacionaron en congeladora entre -15 y -20° hasta el momento de su examen.

2 - Obtención de grasa subcaparaza por fusión

El tejido graso subcaparaza en ambas especies congelado se picó finamente (cuchilla de micrótopo), colocó en vaso de precipitado de tamaño adecuado y cubrió con solución de ClNa a media saturación. El conjunto se colocó en un baño de solución salina que se calentó

sobre tela registrando una temperatura de 103° en el líquido conteniendo el tejido picado. La grasa fundida sobrenadante se retiró con pipeta en forma continuada y el tejido semiagotado remanente se congeló a -15° , volvió a picar y sometió a proceso similar hasta agotamiento. Las grasas obtenidas se disolvieron en éter etílico y el extracto se sacudió en ampolla con solución semisaturada de SO_4Na_2 . La fase etérea tratada con SO_4Na_2 anhidro se filtró, recuperó el solvente por destilación a Baño María calentando el residuo graso en estufa de vacío (100° , 5 torr) hasta constancia de peso.

3 - Características físico-químicas de las grasas subcaparazas por fusión

Sobre ambas se determinaron: densidad relativa a $40^{\circ}/20^{\circ}$ (picnómetro), índice de refracción a 40° (A.O.C.S. Official Method Cc 7-25), índice de saponificación (A.O.C.S. Official Method Da 15-48), índice de yodo (Wijs), Nº de acidez (I.U.P.A.C. 11.D.1, sobre 0,5g de grasa, insaponificable total (A.O.C.S. Ca 6b-53, adaptado a los líquidos residuales de la determinación de índice de saponificación), índice de yodo del insaponificable (Rosenmund), esteroles totales (69)(digitonina), tocoferoles totales (67) y ámbito de fusión (capilar), obteniendo los resultados que figuran en la Tabla 12.

4 - Identificación de colesterol

Se partió de los digitónidos obtenidos en las determinaciones de esteroles totales ("peludo" 10mg, "mulita" 12mg). Se hirvieron a reflujo por 10 minutos con la mínima cantidad de anhídrido acético necesaria para solubilización (aproximadamente 0,5ml). Se enfrió

y diluyó con 5 ml de etanol 60%, enfrió en hielo aislando el precipitado por filtración que se lavó con etanol 60% y finalmente con algunas gotas de etanol 95%. Los productos finales secos fundieron a 113-114°, no observándose depresión por fusión mezcla con acetilcolesterol. Como un complemento de esta identificación los productos finales anteriores se examinaron por CGL empleando un equipo Aerograph modelo 204, equipado con detector de llama, columna de acero inoxidable (1,60m de largo por 2mm de diametro interno), material de relleno formado por Chromosorb W (60-80) y silicona S.E. 30 (5% sobre relleno total). Se operó a 235° empleando N₂ como fase móvil con un flujo de 30ml/min. y con inyecciones de 5 µl de solución al 5% en cloroformo. Para ambas especies se observó un solo pico con tiempo de retención análogo al de acetilcolesterol.

5 - Composiciones acídicas de grasas de depósito

a) Grasa subcaparaza

Se operó la preparación de ésteres metílicos de ácidos totales partiendo de los líquidos remanentes de la titulación de los ensayos de índice de saponificación (efectuados sobre aproximadamente 2g de grasa, añadidos de 25ml de solución de potasa al 40% en etanol 96%) que se diluyeron con 40ml de agua y extrajeron por 3 veces en ampolla con 70ml de éter etílico (recientemente destilado) por vez (separación del material insaponificable). Las capas hidroalcohólicas reunidas con los líquidos procedentes del tratamiento de los extractos etéreos se acidificaron con ClH (1+4, heliantina), extrayendo exhaustivamente los ácidos liberados (3 extracciones con

40ml de éter etílico recientemente destilado por vez). Los extractos etéreos se lavaron con agua, trataron con SO_4Na_2 anhidro, recuperó el éter a Baño María y eliminó las últimas trazas de éter por soplado con N_2 en caliente. El total de ácidos obtenidos en cada caso se esterificó con 10ml de metanol anhidro conteniendo 1,5% en peso de SO_4H_2 como catalizador (1).

b) Grasas de depósito (Folch)

10ml de los líquidos de extracto Folch (ver extracción de lípidos totales según Folch más adelante) se liberaron de solvente en rotavapor (vacío) y los lípidos residuales se saponificaron con 5ml de solución de HOK en etanol de 96% al 40%. Se enfrió, diluyó con 10ml de agua y acidificó con ClH (1+4, heliantina) extrayendo exhaustivamente con éter etílico recientemente destilado los ácidos más insaponificable liberados. Los extractos etéreos se lavaron con agua y trataron del mismo modo que el señalado para el caso anterior, esterificando los ácidos por el mismo procedimiento.

c) Examen por CGL

Se determinó en equipo Perkin Elmer Vapor Fractometer Modelo 154 equipado con detector de ionización de llama, columna de vidrio (3m por 4,5mm de diámetro interno), material de relleno formado por ChromosorbW lavado ácido (60-80) y adipato de dietilenglicol poliéster (15% sobre relleno total). Se operó a 200° empleando N_2 como fase móvil y con presión de entrada de 21 Psi y con inyecciones de 2 a 7 μl de solución de ésteres al 5% en éter etílico. Los componentes se identificaron según tiempos de retención y las evaluaciones

se resolvieron por triangulación.

Las respuestas cuantitativas de este equipo fueron anteriormente verificadas a través de evaluaciones con mezclas de ésteres metílicos de ácidos grasos de composición conocida hasta en C₂₀, estableciendo además concordancia de resultados para las determinaciones de linoleato y linolenato de metilo por CGL y espectrometría en el UV luego de isomerización alcalina (A.O.C.S. Method Cd 7-58, 1960), por determinación de los contenidos en ácidos saturados totales de aceites vegetales según el método de Bertram y a través de los cálculos de índice de yodo e índice de saponificación.

A los fines de identificación de componentes se aplicaron las gráficas que representan logaritmos de tiempos de retención en función del número de carbonos para distintas series y se dispusieron en particular algunos patrones (Hormel Institute): 11, 14-eicosadienoato, 11, 14, 17-eicosatrienoato, araquidonato y docosapentenoato y docosahexanoato de metilo.

Como ha sido expuesto ya en la discusión, los ésteres metílicos de ácidos totales de grasa subcaparaza y de lípidos Folch (ver más adelante) de tejidos adiposos se examinaron también por CGL, luego de hidrogenación, empleando la técnica y equipo de Tiong y Waterman (79) (paladio 10% sobre carbón, ciclohexano).

6) Composición acídica de lípidos totales de órganos y tejido muscular

Se determinó sobre alícuotas de los extractos de lípidos totales Folch siguiendo en un todo lo descripto para grasas de tejido adipo-

so (Folch) en lo referente a saponificación, preparación de ésteres metílicos y examen CGL.

7 - Extracción de lípidos totales de tejidos adiposo, muscular y de órganos

De acuerdo a la técnica de Folch y colaboradores (66), cada gramo de tejido fue disgregado en homogeneizador con 20ml de una mezcla cloroformo-metanol (2:1 v/v). El homogenato fue centrifugado durante 15 minutos a 2400 rpm y el sobrenadante transparente fue pasado a una probeta con tapa de 50, 100 o 250ml de acuerdo a la masa de tejido que se usó. En algunos pocos casos, debido a la presencia de sólidos no decantados, fue necesario filtrar. El extracto obtenido fue agitado energicamente con 1/5 de su volumen de una solución 0,88% de CLK, luego fue dejado en reposo en atmósfera de N₂ y en heladera hasta el día siguiente. Se obtuvieron 2 capas bien definidas; la superior, aproximadamente 40% del total, fue separada en la mayor medida posible por sifonado, evitando el drenado accidental de la capa inferior. El pequeño remanente de la capa superior se eliminó lavando 3 veces con pequeñas cantidades de cloroformo-metanol-agua (3:48:47) agregada y eliminada cuidadosamente para evitar remoción de la capa inferior. La exigua cantidad residual del líquido de lavado fue homogeneizada con la capa inferior por el agregado de la mínima cantidad de metanol. El volumen final alcanzado fue medido y los extractos guardados en frascos color caramelo en atmósfera de N₂ a -15°.

8 - Rendimiento en lípidos totales de tejidos adiposo, muscular y de órganos

Una alícuota de 10ml proveniente de la extracción de lípidos según Folch se transvasó a un balón tarado de 50ml y el solvente fue eliminado a presión reducida en rotavapor, calentando con baño de agua 50-60°. Posteriormente el secado se completó en estufa de vacío durante 30 minutos, se dejó enfriar en desecador y finalmente se pesó. El resultado se expresó como % de lípidos sobre órgano fresco (p/p).

9 - Determinación de fósforo de fosfolípidos

Soluciones y reactivos: para la preparación de soluciones se utilizaron drogas p.a. y agua bidestilada.

SO₄H₂ concentrado

NO₃H 65%

Urea

Agua bidestilada

Solución de SO₄H₂ 10N

Solución de molibdato de amonio 5%

Reactivo de Fiske-Subbarow: se preparó por agregado de 0,5g de SO₃Na₂ puro a una solución de 15g de SO₃HNa puro en 80ml de agua bidestilada, completando luego a un volumen de 100ml. A esa solución se agregó 0,25g de ácido 1-amino, 2-naftol, 4-sulfónico, agitando energicamente con agitador magnético durante 10 minutos. Se dejó reposar 30 minutos y luego de una nueva agitación, se filtró. Se conservó en frasco color caramelo.

Destrucción de materia orgánica: una alícuota del extracto de lípidos totales provenientes de la extracción por Folch fue llevada a sequedad en Baño María y luego secada en estufa de agua durante 30 minutos. Se agregaron 3ml de SO_4H_2 concentrado (1,84) y 1ml de NO_3H 65% y se calentó cuidadosamente hasta aparición de humos blancos densos. Luego de enfriar a temperatura ambiente se volvió a agregar 1ml de NO_3H 65% y se calentó nuevamente hasta humos blancos. Este tratamiento se repitió tantas veces como fue necesario hasta obtener un líquido límpido e incoloro, considerándose este estado como el punto final de la destrucción de materia orgánica presente. Se agregó 1ml de agua bidestilada y unos cristallitos de urea calentándose nuevamente hasta humos blancos.

El producto de la mineralización fue llevado con agua bidestilada a 100ml en matraz aforado.

Un ensayo en blanco se llevó en paralelo, en igualdad de condiciones

Reacción colorimétrica: se operó de acuerdo a la técnica de Bartlett (73) con los extractos provenientes de la mineralización. A una alícuota del mineralizado o del blanco (menor que 4ml) en un tubo de 15ml se agregó sucesivamente y bajo agitación: agua bidestilada en cantidad tal que su volumen sumado al del mineralizado fue de 4,2ml; SO_4H_2 10N: 0,40ml, molibdato de amonio: 0,20ml; solución de Fiske-Subbarow: 0,20ml. Los tubos se taparon con una bolita de vidrio y se colocaron en baño de agua hirviente durante 7 minutos. Se enfriaron a temperatura ambiente y se leyó la absorban-

cia a 830nm usando agua bidestilada como referencia, en cubetas de vidrio de 1,000cm de espesor. Se utilizó un espectrofotómetro Zeiss PMQ II. Los contenidos en fósforo total se calcularon en base a la curva de calibrado obtenida con solución patrón de PO_4H_2K (200 μ P/100ml), operando en igualdad de condiciones. Para obtener el resultado expresado en fosfolípidos, el dato de P% fue multiplicado por 25.

10 - Investigación de componentes lipídicos por cromatografía en capa delgada

Para la separación de los distintos componentes lipídicos se usaron placas de vidrio recubiertas de Silicagel G, preparadas con una suspensión de silicagel en agua (1:2 p/v) extendida con un equipo Desaga. El espesor de la capa de adsorbente fue de 250 micrones. Las placas se dejaron secar al aire 24 hs y luego fueron activadas durante 1 hora a 110°, siendo guardadas posteriormente en desecador hasta que llegaron a temperatura ambiente. Como solvente de saturación y desarrollo se utilizó cloroformo, metanol, agua en relación 65:25:4 v/v de acuerdo a lo señalado por Wagner y colaboradores (80). La preparación de placas y otras operaciones de tipo general se hicieron de acuerdo a Stahl (81).

Se sembraron con jeringa Hamilton de 50 μ l provista de dosificador, 10 μ l de una solución aproximadamente 1% en cloroformo-metanol (2:1 v/v) de los lípidos extraídos de distintos órganos y tejido muscular según Folch. Como testigos se sembraron 5 μ l de soluciones aproximadamente 0,1% en cloroformo-metanol (2:1 v/v) de

lecitina, esfingomielina, lisolecitina, cardiolipina y aceite de girasol (lípidos neutros). Cada muestra se corrió por triplicado y el sector correspondiente a cada corrimiento fue revelado independientemente cubriendo el resto de la placa con un vidrio. Las soluciones de revelado utilizadas para cada corrida fueron:

a) Reactivo para fosfolípidos preparado de acuerdo a Dittmer y Lester (82).

Solución 1: a 1 litro de SO_4H_2 25N se le agregó 40,11g de MoO_3 y la mezcla se calentó a ebullición hasta disolución del óxido.

Solución 2: a 500ml de la solución 1 se le agregó 1,78g de Mo en polvo y se calentó a ebullición durante 15 minutos. La solución fría fue filtrada.

Solución de revelado: a una mezcla de volúmenes iguales de solución 1 y 2 se le agregaron 2 volúmenes de agua.

Las manchas reveladas desarrollaron color azul en frío.

b) Reactivo para aminofosfátidos: ninhidrina 0,2% en etanol. Luego del pulverizado se calentó el sector de la placa con aire caliente, desarrollando las manchas correspondientes un color rojo violáceo.

c) Reactivo de Dragendorff para fosfolípidos conteniendo colina

Solución 1: se disolvieron 0,85g de nitrato básico de bismuto en una mezcla de 10ml de AcOH glacial y 40ml de agua.

Solución 2: se disolvieron 0,85g de IK en 20ml de agua.

Solución de revelado: se mezclaron 5ml de solución 1; 5ml de solución 2 y 20ml de AcOH glacial y se completó con agua hasta 100ml.

El color característico de las manchas fue anaranjado (en frío). Finalmente la placa revelada es expuesta a vapores de yodo, visualizándose los lípidos neutros como manchas pardas.

Los resultados se resumen en las Tablas 17 y 18.

11 - Fraccionamiento de componentes lipídicos por cromatografía en capa delgada preparativa

40 a 60mg de lípidos extraídos de órganos y tejido muscular según Folch, fueron sembrados disueltos en la mínima cantidad de cloroformo-metanol (2:1 v/v) en bandas de 15cm de largo utilizando una microjeringa Hamilton de 50 μ l con dosificador. Se usaron placas preparadas según la técnica descrita en el punto 10, excepto el espesor que fue de 500 micrones. El desarrollo se efectuó con cloroformo-metanol-agua (65:25:4 v/v) permitiéndose el máximo avance del solvente para una mejor resolución.

Cada una de las franjas laterales correspondientes a aproximadamente 1cm de la banda sembrada fueron reveladas independientemente, cubriéndose el resto con un vidrio, la primera con el reactivo para fosfolípidos ya descrito (punto 11) y la otra con ninhidrina 0,2% en etanol y posterior calentamiento parcial sólo de la zona, con aire caliente. El sector central fue pulverizado con una solución 0,2% de 2-7 diclorofluoresceína en etanol (83) y observada al UV (254nm). De acuerdo a las coloracio-

nes características (Tabla 17) y a las posiciones relativas en el cromatograma, se ubicaron las bandas correspondientes a lípidos neutros, etanolaminafosfolípidos y colinafosfolípidos. Por raspado se obtuvo la parte central de cada una de ellas, delimitada por el revelado con 2,7-diclorofluoresceína, reactivo no destructivo, indicado para un posterior análisis de composición acídica por CGL de los lípidos adsorbidos (81)(83).

Cada fracción lipídica fue guardada para su posterior procesamiento en atmósfera de N_2 , en la oscuridad a -15° . Estas precauciones se reforzaron manteniendo los lípidos adsorbidos sobre la silicagel, estado que fue reportado por Slawson y Mead (84) como de mayor estabilidad frente a procesos de deterioro oxidativo.

12 - Composiciones acídicas de lípidos aislados por cromatografía en capa delgada preparativa

a) Preparación de los ésteres metílicos: se operó de acuerdo a Stoffel y colaboradores (85) (incluye modificaciones aconsejadas por el grupo de trabajo del Dr. R.R. Brenner) con los raspados provenientes de las fracciones separadas por placa delgada, identificadas como correspondientes a lípidos neutros, etanolaminafosfolípidos y colinafosfolípidos. Cada una fue colocada en un tubo de 15ml con tapa esmerilada, se agregaron 3ml de ClH 3N en metanol (preparado burbujeando ClH gaseoso seco en metanol anhidro) y se calentó 6 hs en baño de aceite a 64° , con el tubo hermeticamente cerrado en la oscuridad y atmósfera de N_2 . Una vez a temperatura ambiente se agitó el tubo y se transvasó la suspensión de silicagel en alcohol ácido a una ampolla de decantación

de 25ml. Se agregaron 2ml de agua destilada y 6ml de cloroformo, se agitó energicamente y se separó la capa acuosa superior en la que quedó suspendida la silicagel. Se lavó el extracto cloroformico una vez con 2ml de CO_3K_2 1N (se observó que el lavado alcalino mejora el cromatograma en la zona del pico de solvente) y dos veces con agua destilada usando 2ml cada vez. Finalmente se lo secó con SO_4Na_2 anhidro y se lo filtró a través de papel de filtro embebido en cloroformo. El extracto se pasó a un tubo de centrifuga y el solvente se evaporó en baño de agua a 40-50° bajo suave corriente de N_2 . El residuo fue tomado con no más de 0,1ml de eter etílico recientemente destilado e inmediatamente analizado por CGL.

b) Examen por cromatografía gas-líquido: las composiciones acídicas se determinaron en un equipo Aerograph modelo 204 equipado con detector de ionización de llama, columna de acero inoxidable de 3,65m de largo por 2mm de diametro interno, material de relleno formado por Chromosorb W (60-80) recubierto con succinato de dietilenglicol (15% sobre relleno total).

Se operó a 190° en horno de columna, 200° en horno de inyector y 220° en horno de detector. Se empleó N_2 4 bandas como fase móvil a una presión de entrada de 60 psi (flujo: 30ml/min.) y se hicieron inyecciones de 3 a 5µl.

Los componentes se identificaron analógicamente a lo descrito en el punto 5 y las evaluaciones cuantitativas fueron hechas por triangulación. Las Figuras 4, 5 y 6 presentan a titulo de

ilustración cromatogramas de las distintas fracciones lipídicas de riñón de "peludo". Los resultados de las evaluaciones cuantitativas se expresaron como % de ácido sobre ácidos totales y figuran en las Tablas 21, 22, 23, 24, 25 y 26.

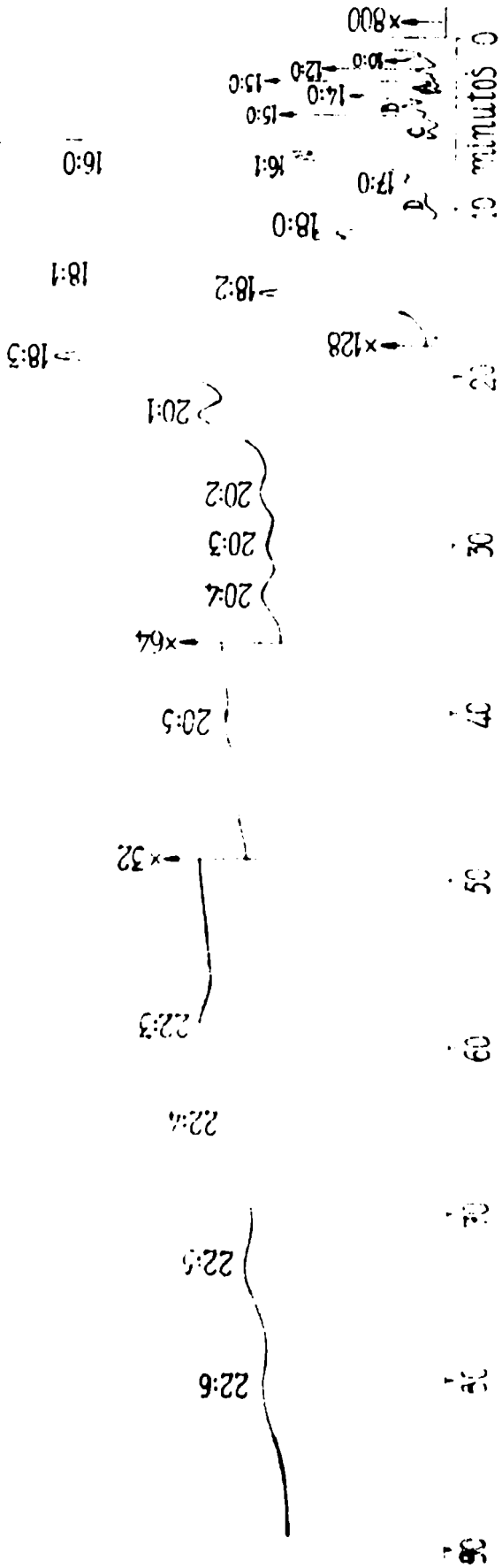


Figura 1 - "Mullita". Grasa subcaparaza (por fusión). Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales libres de insaponificable. A: r-14:0, B: 14:1 + r-15:0, C: 15:1 + r-16:0 y D: 17:1 + r-18:0.

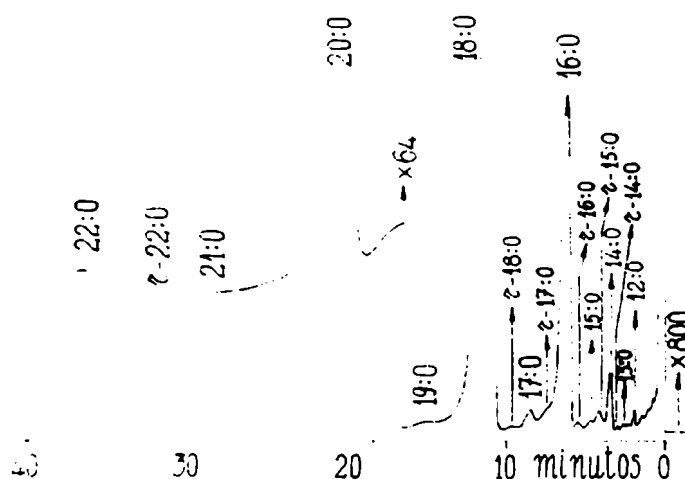


Figura 2 - "Mulita". Grasa subcaparaza (por fusión). Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos hidrogenados de los ácidos totales libres de insaponificable.

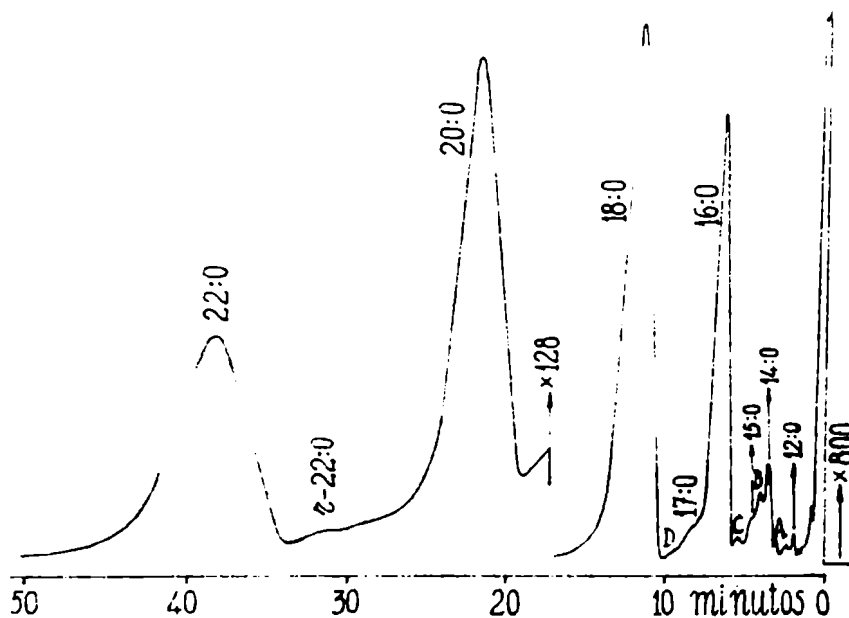


Figura 4 - "Mulita". Lípidos totales de riñón. Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos hidrogenados de los ácidos totales. A: r-14:0 y dimetilacetal de tetradecanal, B: r-15:0 y dimetilacetal de pentadecanal?, C: r-16:0 y dimetilacetal de hexadecanal, D: r-18:0 y dimetilacetal de octadecanal.

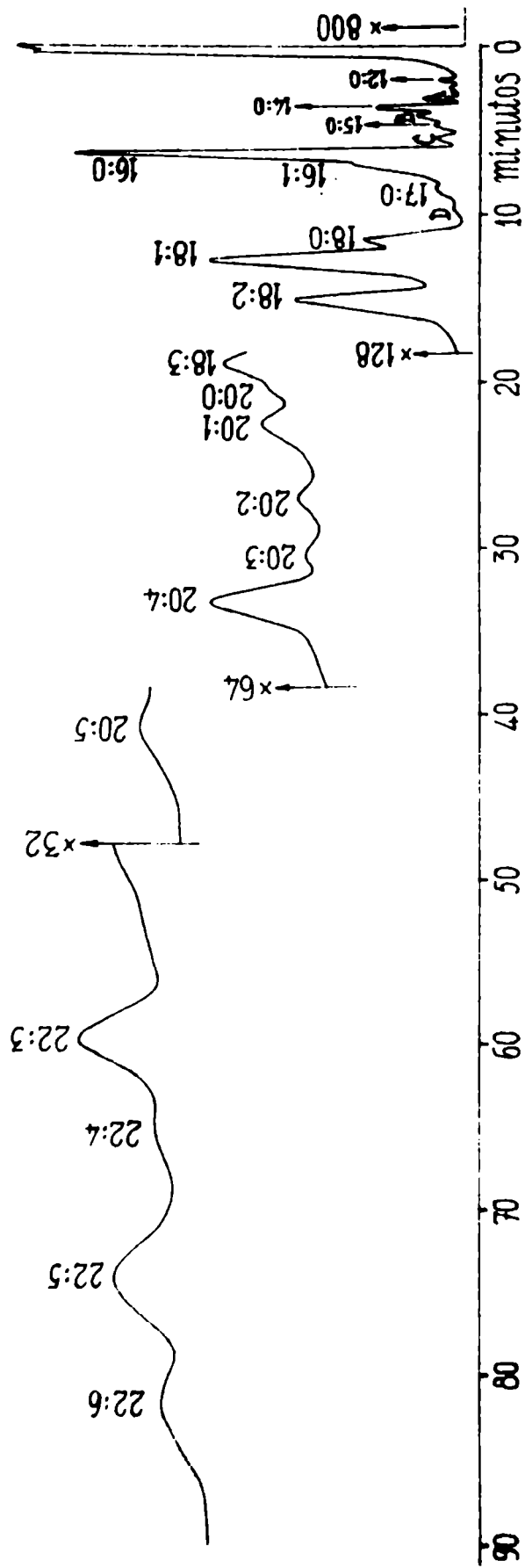


Figura 3 - "Mullita". Lípidos totales de riñón. Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales. A: r-14:0 y dimetilacetato de tetradecanoal, B: r-15:0, 14:1, y dimetilacetato de r-pentadecanoal?, C: r-16:0, 15:1 y dimetilacetato de hexadecanoal, D: r-18:0, 17:1 y dimetilacetato de octadecanoal. Probablemente los picos correspondientes a 16:0, 16:1, 18:0 y 18:1 incluyen bajas concentraciones de otros dimetilacetatos.

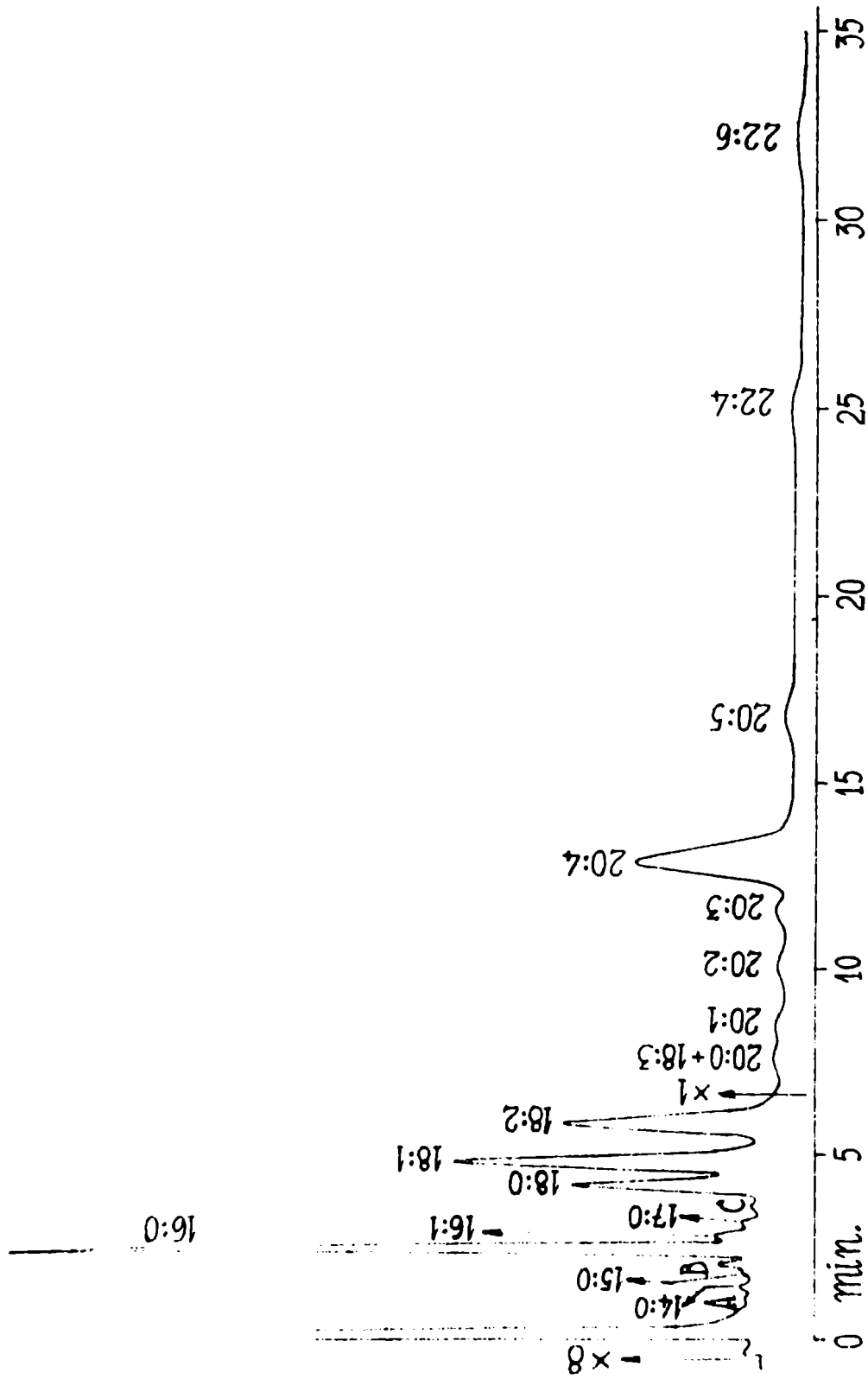


Figura 5 - "Peludo". Colinafosfolípidos de riñón. Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales. A: r-14:0 y dimetilacetato de tetradecanoal, B: r-16:0, 15:1 y dimetilacetato de hexadecanoal, C: r-18:0, 17:1 y dimetilacetato de octadecanoal.

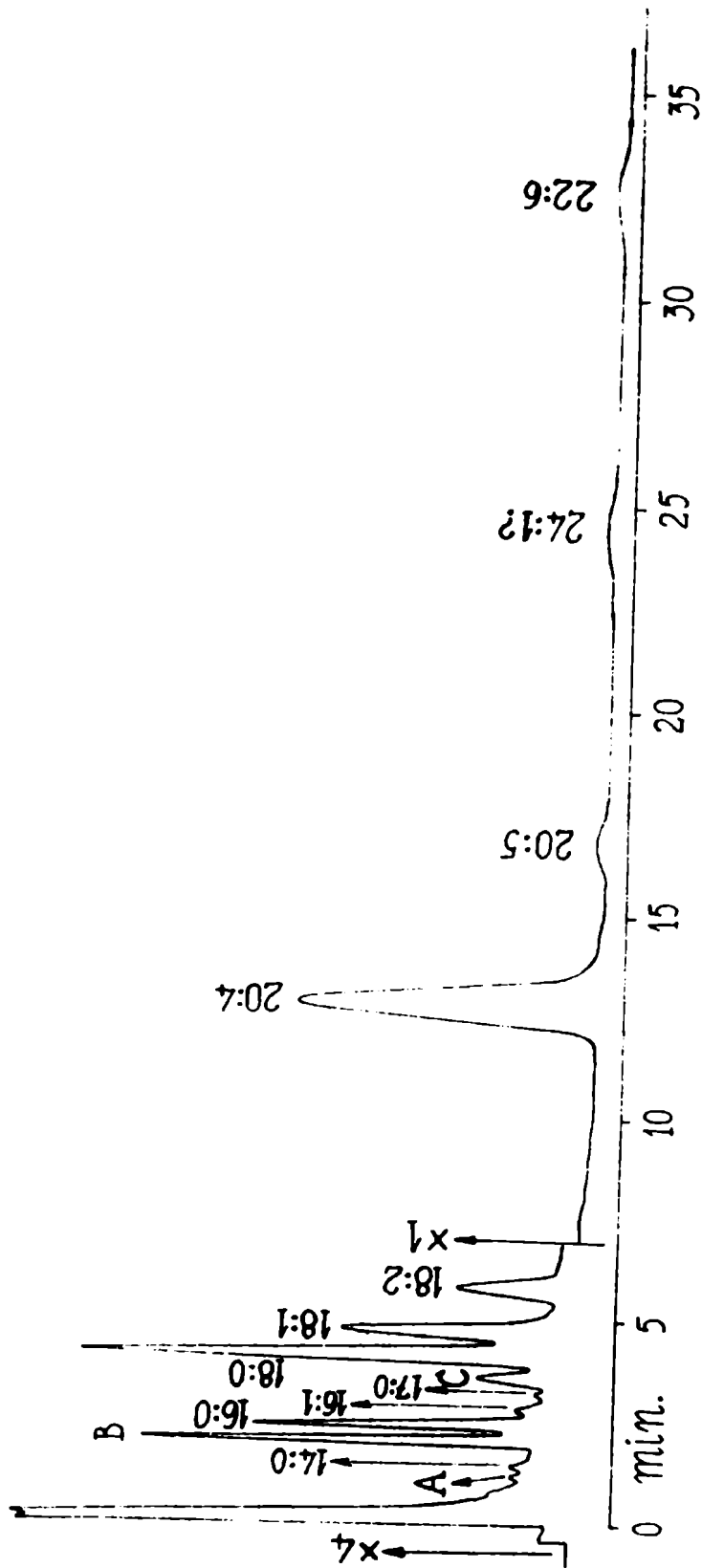


Figura 6 - "Peludo". Etanolaminafosfolípidos de riñón. Cromatografía gas-liquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales. A: r-14:0 y dimetilacetal de tetradecanal, B: r-16:0, 15:1 y dimetilacetal de hexadecanal, C: r-18:0, 17:1 y dimetilacetal de octadecanal.

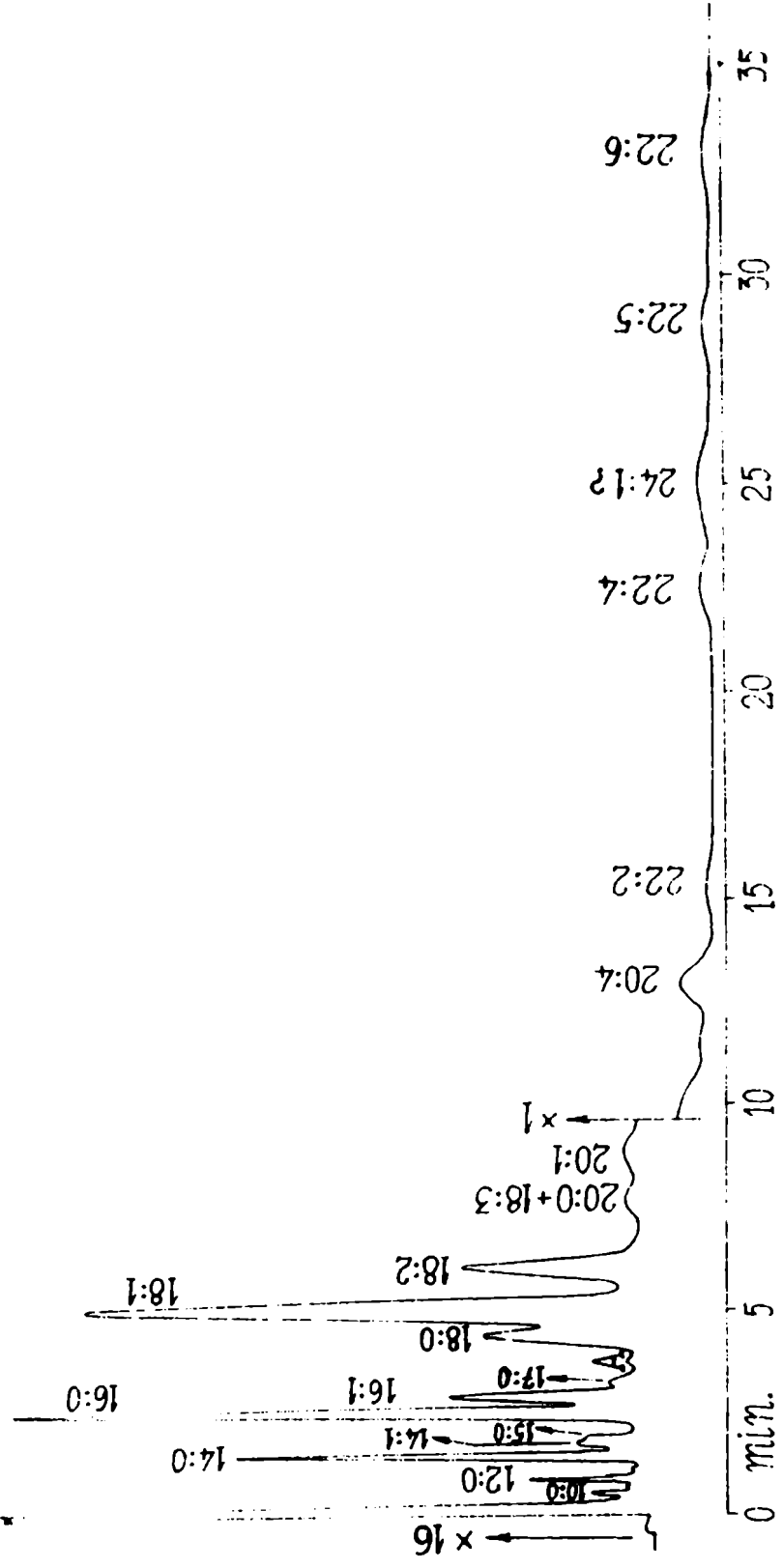


Figura 7 - "peludo". Lípidos neutros de riñón. Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales. A: r-18:0, 17:1 y probablemente dimetilacetal de octadecanal.

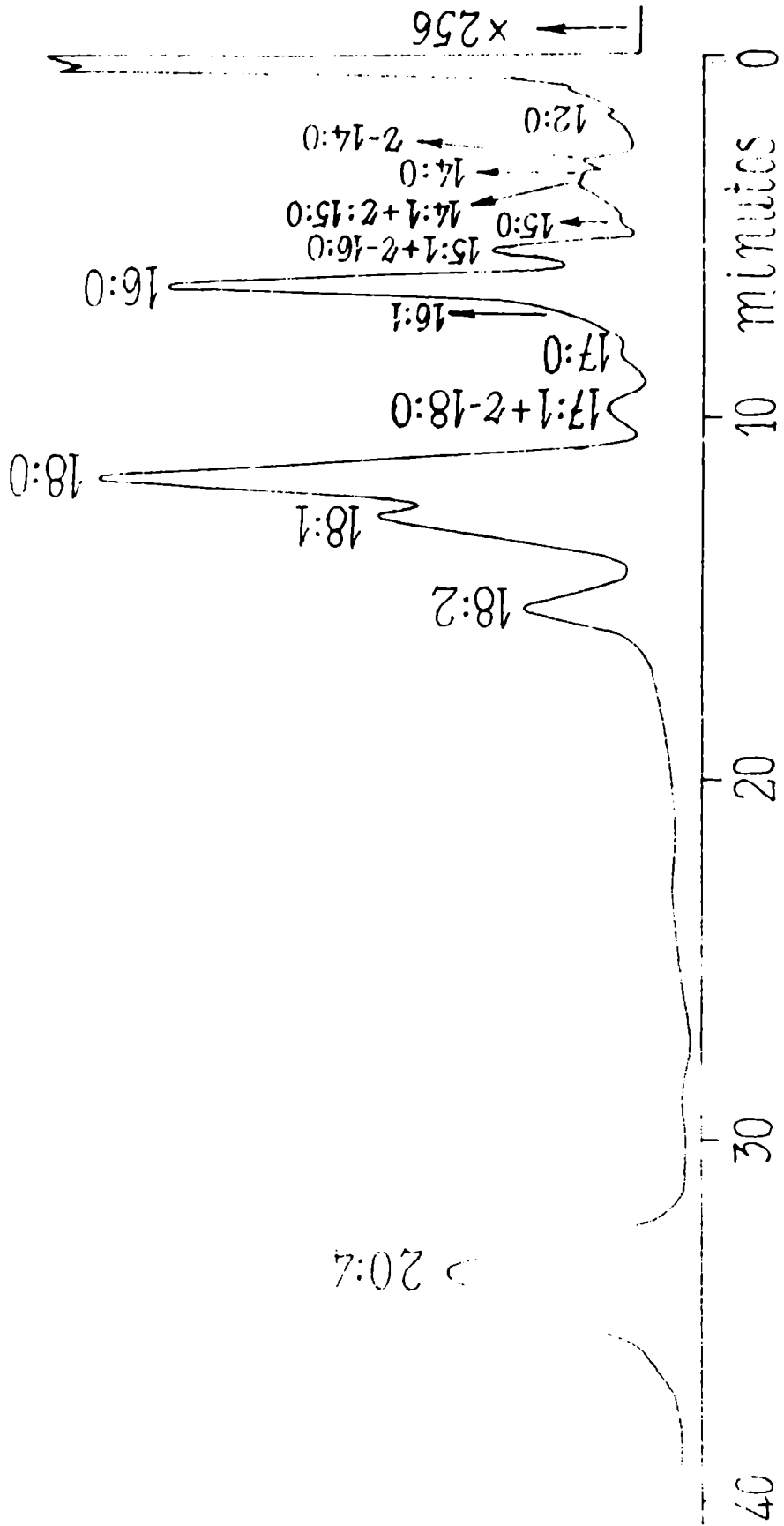


Figura 8 - "peludo". Etanolaminafosfolípidos de un "pool" de órganos. Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales, incluyendo dimetilacetales. r-14:0 incluye dimetilacetato de tetradecanoal, 14:1 + r-15:0 incluye dimetilacetato de hexadecanoal, 17:1 + r-18:0 incluye dimetilacetato de octadecanoal. Los picos 16:0, 16:1, 18:0 y 18:1 incluyen bajas concentraciones de otros dimetilacetales.

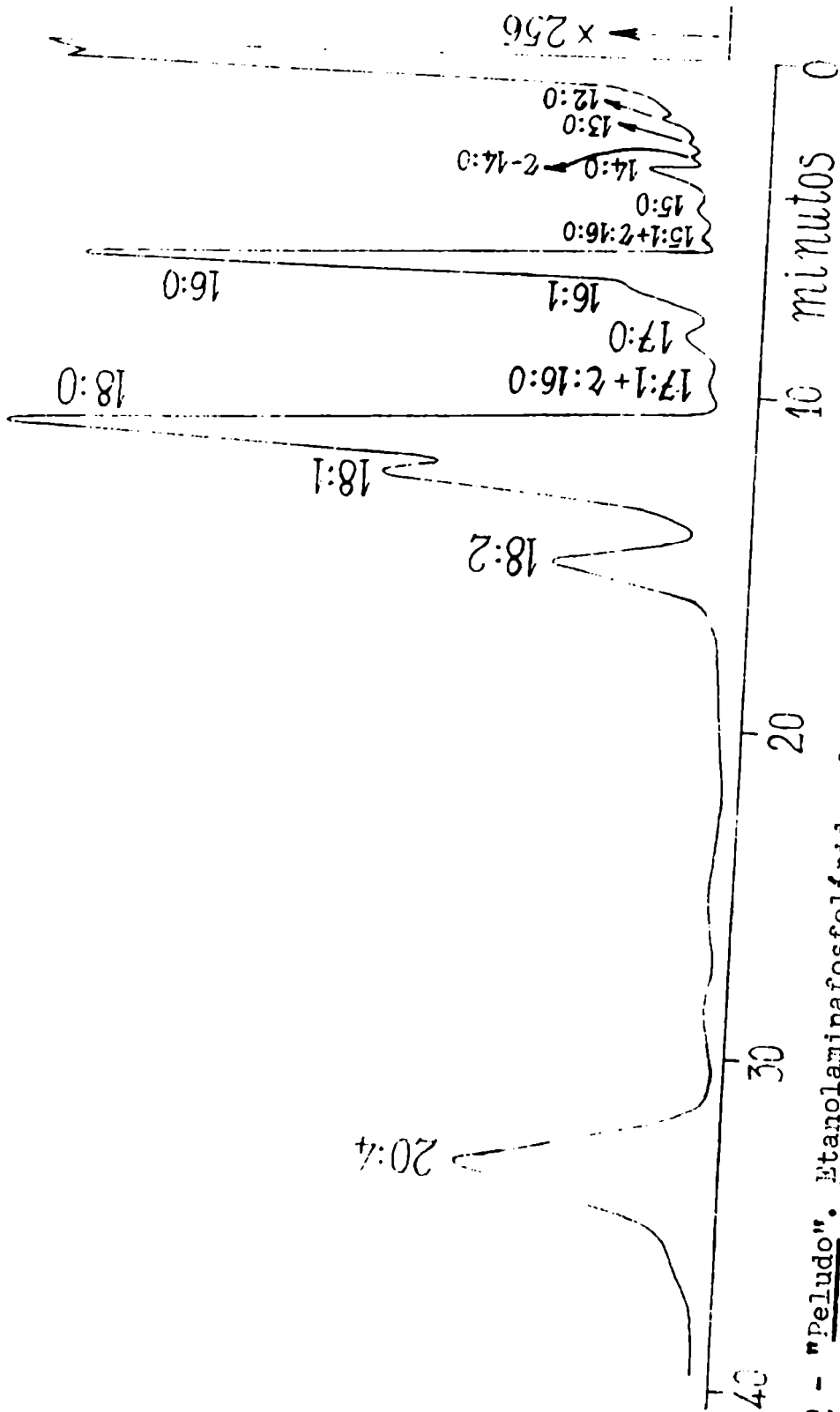


Figura 2 - "Peludo". Mtanolaminafosfolpidos de un "pool" de 6rganos. Cromatografia gas-liqui-
do de los 6steres metilicos de los 6cidos totales libres de insaponificable (libres
de dimetilacetales)

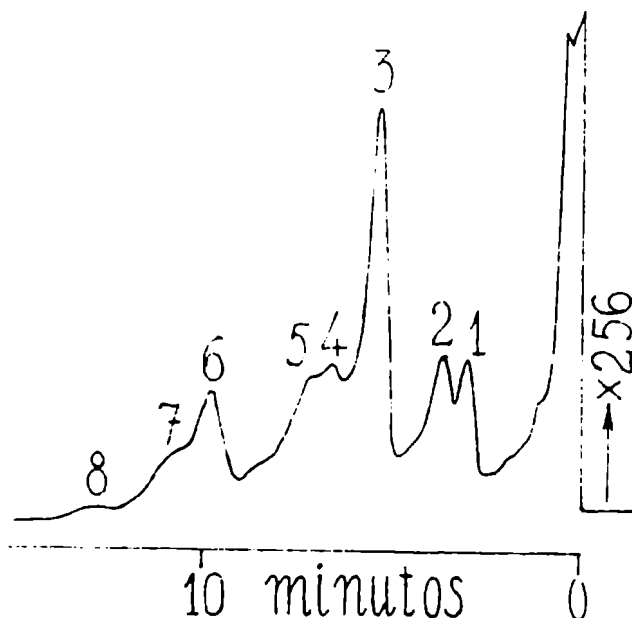


Figura 10 - "Peludo". Etanolaminafosfolípidos de un "pool" de órganos. Cromatografía gas-líquido de dimetilacetales (separados como insaponificable del producto de transesterificación con $\text{CH}_3\text{OH}+\text{ClH}$). 1: dimetilacetal de tetradecanal, 2: dimetilacetal de r-pentadecanal?, 3: dimetilacetal de hexadecanal, 4: dimetilacetal insaturado en C_{16} ?, 5: dimetilacetal de heptadecanal, 6: dimetilacetal de octadecanal, 7 y 8: dimetilacetales insaturados en C_{18} ?

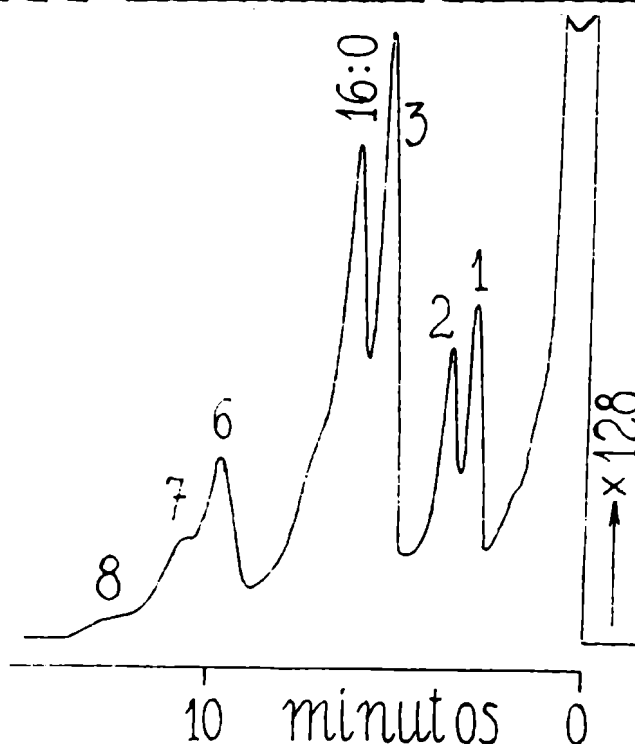


Figura 11 - "Peludo". Etanolaminafosfolípidos de un "pool" de órganos. CGL de dimetilacetales (insaponificable, palmitato de metilo como referencia). Valores de $\text{Tr}/16:0$: 1: 0,476, 2: 0,588, 3: 0,869, 16:0: 1,00, 4: 1,080(fig.10), 5: 1,161(fig.10), 6: 1,587, 7: 1,735, 8: 2,056

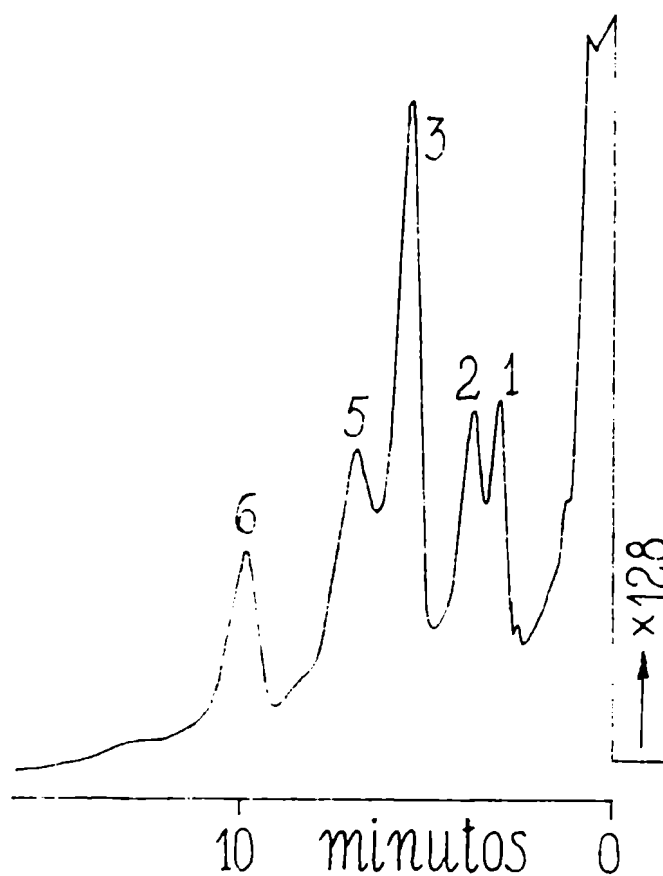


Figura 12 - "Peludo". Etanolaminafosfolípidos de un "pool"
de órganos. Cromatografía gas-líquido de dime-
tilacetales hidrogenados.

- 1.- Dimetilacetal de tetradecanal.
- 2.- Dimetilacetal de r-pentadecanal?
- 3.- Dimetilacetal de hexadecanal.
- 5.- Dimetilacetal de heptadecanal.
- 6.- Dimetilacetal de octadecanal.

Tabla 1 - Componentes ácidos de lípidos de algunas especies de "Orthoptera"

	14:0	16:0	18:0	20:0	16:1	18:1	18:2	18:3	Insat. C ₂₀	Insat. C ₂₂	Refer.
<i>Oxya japonica</i>	--	←--25--→	--	--	--	←-----75-----→	--	--	--	--	(1)
<i>Locusta migratoria</i>	1,0	24,5	7,3	--	2,1	12,4	35,1	17,3	0,3	--	(1)
<i>Taeniopoda auricornis</i>	--	←15,5-35,0→	--	--	--	6,5-	60,5-	--	--	--	(2)
						24,0	58,5				
<i>Melanoplus atlantis</i>	--	7,3	12,2	2,8	4,1	←-----29,9-----→	--	38,4	5,3	--	(2)
						-2,8H		-3,8H	-3,7H		
<i>Sphenarium purpurascens</i>	2,9	14,8	11,4	--	9,6	←-----35,5-----→	--	25,8	--	--	(3)
						-2,9H		-4,7H			
<i>Hemideina thoracica</i>	--	←-21,3--→	--	--	18,0	←-----60,7-----→	--	--	--	--	(1)
						-2,2H					

Tabla 2 - Composición acídica de lípidos neutros de algunos insectos (6)

Acidos	<12	12:0	14:0	14:1	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3+ 20:0	>20
<u>DIPTERA</u>											
<i>Musca domestica</i>	--	--	6,8	2,4	22,8	24,0	4,5	29,3	3,3	1,3	2,4
<i>Euxesta notata</i>	--	--	4,9	4,3	23,7	19,4	3,6	20,7	18,3	4,6	--
<i>Nephrotoma socialis</i>	--	1,0	1,2	5,5	22,7	19,6	9,3	13,6	9,7	14,8	--
<i>Strauzia longipennis</i>	--	--	1,2	1,0	20,2	40,1	1,3	22,6	9,5	--	--
<i>Hylemia anti-gua</i>	--	--	2,4	1,1	19,1	39,4	1,9	23,6	8,1	1,2	--
<i>Chironomus sp.</i>	--	--	2,2	--	26,6	21,2	3,4	30,2	9,3	3,1	1,8
<i>Phytophaga rigidae</i>	--	2,2	1,4	--	13,5	2,4	6,8	21,2	39,6	4,3	--
<i>Rhabdophaga swainei</i>	--	--	1,4	1,2	11,3	8,2	2,6	43,7	27,8	3,2	--
<u>HOMOPTERA</u>											
<i>Anuraphis bakeri</i>	5,2	16,4	47,5	--	11,1	1,7	3,1	3,8	11,2	--	--
<i>Prociphilus tesselatus</i>	8,6	17,3	55,4	4,8	5,5	1,0	1,3	4,3	1,7	--	--
<i>Schizolachnus pini-radiatae</i>	6,4	10,9	60,2	--	13,2	--	1,8	3,5	2,0	--	1,2
<i>Aphrophora parallela</i>	--	--	--	--	10,2	1,2	10,6	45,1	26,3	1,3	--
<u>LEPIDOPTERA</u>											
<i>Archips cera-sivoranus</i>	--	--	6,9	--	27,5	4,8	2,3	29,0	6,2	27,2	--
<i>Paleacrita vernata</i>	--	--	--	--	24,6	1,1	3,0	34,4	8,0	28,4	--

Tabla 2 - (Continuación)

Acidos	<u><12</u>	<u>12:0</u>	<u>14:0</u>	<u>14:1</u>	<u>16:0</u>	<u>16:1</u>	<u>18:0</u>	<u>18:1</u>	<u>18:2</u>	<u>18:3+</u> <u>20:0</u>	<u>>20</u>
<i>Datana integérrima</i>	--	--	2,9	--	19,4	7,9	2,0	22,8	5,2	40,0	--
<u>HYMENOPTERA</u>											
<i>Neodiprion sertifer</i>	--	--	2,0	--	12,9	2,0	4,5	37,5	15,7	17,5	1,0
<i>Pikonema alaskensis</i>	--	--	1,4	--	21,5	6,2	4,2	39,9	8,2	16,2	1,4
<i>Arge pectoralis</i>	--	--	--	--	14,2	1,8	4,2	36,6	6,9	36,3	--
<i>Monoctenus juniperinus</i>	--	--	1,1	--	15,5	1,9	2,5	45,2	6,9	23,8	2,5
<u>COLEOPTERA</u>											
<i>Pissodes strobi</i>	--	--	--	--	17,4	10,9	2,3	49,6	14,0	3,9	--
<i>Chrysomela crotchii</i>	--	4,2	--	--	24,2	1,5	4,7	31,1	5,5	29,4	--
<i>Tenebrio molitor</i>	--	--	1,5	--	23,6	4,5	1,4	44,7	24,1	1,5	--
<i>Altica ambiens alni</i>	--	--	1,4	--	22,6	1,6	7,3	23,3	7,6	36,1	--
<u>ORTHOPTERA</u>											
<i>Diapheromera femorata</i>	--	--	1,8	--	18,1	6,8	8,9	42,2	5,3	17,0	--

Tabla 3 - Composición acídica de grasas de depósito de algunos reptiles y anfibios

ACIDOS	12:0	14:0	16:0	18:0	20:0	14:1	16:1	Insat. C ₁₈	Insat. C ₂₀₋₂₂	Ref.
<u>Rana</u> <u>temporaria</u> rana	--	4	11	3	--	--	15	52 -2,5H	15 -6,0H	(1)
<u>Bufo</u> <u>arenarum</u> sapo	0,5	3,4	18,2	3,8	0,5	1,2	13,1	57,9 -2,7H	1,4 -3,4H	(11)
<u>Varanus</u> <u>salvator</u> lagarto	--	4	18	7	--	--	10	56 -2,4H	5 -5,0H	(1)
<u>Varanus</u> <u>salvator</u> lagarto	--	4	29	10	--	--	12	40 -2,7H	5 -5,5H	(12)
<u>Testudo</u> <u>graeca</u> tort.griega	--	1	14	4	--	--	9	65 -2,4H	7 -4,0H	(1)
<u>Chelone</u> <u>mydas</u> tortuga verde (a)	13,3	10,6	17,0	4,1	--	1,3	7,7	39,6 -2,2H	6,1 -6,3H	(13)
<u>Chelone</u> <u>mydas</u> tort. verde (b)	14,2	7,2	15,2	6,8	--	2,6	10,9	39,4 -2,0H	poco ?	(1)
<u>Chelone</u> <u>mydas</u> (verano) (c)	10,2	9,4	17,2	7,0	1,4	0,9	9,9	32,4 -2,6H	10,8 -6,2H	(14)
<u>Chelone</u> <u>mydas</u> (invierno)	--	8,2	16,7	5,6	3,5	4,4	13,6	38,0 -3,1H	10,0 -6,5H	(14)
<u>Caretta</u> <u>caretta</u> tortuga boba	--	6,6	21,8	15,5	1,9	3,5	18,0	31,4 -3,7H	1,3 -8,6H	(15)
<u>Lepidochelis</u> <u>olivacea</u> tortuga marina	--	1,8	26,1	5,5	--	--	11,7	40,1 -3,1H	14,8 -5,0H	(16)

Tabla 3 - (Continuación)

ACIDOS	12:0	14:0	16:0	18:0	20:0	14:1	16:1	Insat. C ₁₈	Insat. C ₂₀₋₂₂	Ref.
<u>Erthmochelies</u> <u>imbrocata</u> tort.de India (d)	0,1	10,2	15,0	7,2	3,5	1,3	12,9	23,9 -2,4H	25,3 -4,5H	(17)
<u>Agkistrodon</u> <u>piscivorus</u> serp.mocasín	--	1,9	16,8	8,8	--	--	6,9	53,8 -2,6H	11,8 ?	(18)
<u>Python</u> <u>molurus</u> pitón de India	--	--	16,1	10,1	2,3	--	4,8	51,9 -2,5H	14,9 -2,0H	(19)
<u>Python</u> <u>stimotis</u> pitón de India	--	1,6	15,7	13,3	1,0	0,2	5,2	49,4 -2,7H	13,6 -2,4H	(19)
<u>Python</u> <u>reticulatus</u> pitón	--	1,3	19,7	10,8	1,2	0,5	3,9	58,5 -2,4H	4,1 -4,1H	(20)
<u>Crocodylus</u> <u>porosus</u> cocodrilo	0,4	2,9	26,6	4,8	0,6	1,3	6,5	53,1 -2,8H	3,8 -3,5H	(21)
<u>Crocodylus</u> <u>niloticus</u> cocodrilo	--	3,9	24,0	3,4	1,3	1,0	15,0	40,4 -2,6H	11,0 -6,7H	(21)
<u>Gavialis</u> <u>gangeticus</u> cocodrilo	0,2	4,2	25,8	8,7	--	2,0	11,6	35,5 -3,0H	12,0 -5,3H	(22)

(a) - Además 10:0 (0,2). (b) - Además 6:0 (3,5). (c) - Además 10:0 (0,8). (d) - Además C₂₄ -10H (2,9).

Tabla 4 - Composición acídica de grasas de depósito de aves

	12:0	14:0	16:0	18:0	20:0	14:1	16:1	18:1	18:2	18:3	C ₂₀	C ₂₂	Refer.
Gallina ("Sussex")	--	0,1 ^a	24,0 ^a	4,1 ^a	---	--	6,6 ^a	36,9 ^a	18,4 ^a	--	vest. a	1,3	(24)
		1,2	26,7	7,1			7,6	43,0	22,8				
<u>Anser anser</u> (ganso gris del lago)	12,3	8,2	20,3	5,6	---	0,6	2,5	41,6	6,6	--	←--2,3	----	(25)
<u>Dromalus novoehollandioe</u> (Dromeo)	--	0,9	17,5	10,1	0,6	0,9	2,1	62,2	5,3	--	←--0,5	----	(25)
<u>Struthia camelus</u> (Avestruz)	--	0,9	24,8	5,9	0,4	0,9	6,1	39,8	17,1	3,8	←--0,3	----	(26)
<u>Pheonicopterus chilensis</u> (1) (Flamenco)	--	--	24,8	7,7	--	--	4,4	53,4	7,1	0,2	←--1,9	----	(27)
											-2,5H		
<u>Apteryx australis mantelli</u> (2)	0,1	0,8	20,8	5,6	--	--	2,4	44,9	10,5	5,3	←--6,8	----	(28)
<u>Fulmarus glacialis</u> (Petrel)	--	2,3	13,9	3,2	--	0,9	3,9	←--26,9	22,1	26,8	22,1	22,1	(29)
								-2,8H	-6,6H				
<u>Sula bassana</u> (Planga)	--	3,2	17,1	3,6	--	1,0	5,2	←--28,3	17,4	24,2	17,4	17,4	(29)
								-2,8H	-6,0H				
<u>Megalestris catarrhactes</u> (Skuagull-gaviota)	--	1,9	16,4	5,7	0,2	0,4	4,6	←--32,6	18,5	19,7	18,5	18,5	(29)
							-2,1H	-2,6H	-3,8H				

Tabla 4 - Continuación

	12:0	14:0	16:0	18:0	20:0	14:1	16:1	18:1	18:2	18:3	C ₂₀	C ₂₂	Refer.
<u>Laurus argentatus</u> (Herringgull-gaviota)	--	3,3	18,5	6,2	0,2	0,5	4,0 -2,3H	←---30,5---→ -2,8H			20,3 -4,1H	16,5 -4,9H	(29)
<u>Laurus marinus</u> (3) Gray Gull-gaviota)	--	3,4	16,6	6,4	--	--	7,4	34,3	6,3	--	15,7	9,5	(23)
<u>Phalacrocorax auritus</u> (4) (Cormorán)	--	2,4	26,6	10,5	--	--	9,8	30,8	1,4	--	9,4	9,1	(23)

(1) Además 16:2 (0,5).

(2) Además 15:0 (0,6), r15:0 (1,0), 17:0 (0,4), r17:0 (0,7). D1, tri, tetra y pentaenos en C₂₀ y C₂₂.

(3) Fracción C₂₀ comprende 20:1 (15,6), 20:5 (1), fracción C₂₂ comprende 22:1 (9,4), 22:5 (1), 22:6 (1)

(4) Fracción C₂₀ comprende 20:1 (3,9), 20:5 (5,5), fracción C₂₂ comprende 22:1 (4,2), 22:5 (1,8), 22:6 (3,

Tabla 5 - Composición acídica de grasas de depósito de algunas aves comestibles

	12:0	14:0	14:1	15:0	15:0	16:0	16:1	17:0	17:1+	18:0	18:1	18:2	18:3	20:1
	r17:0													
Pollo	0,1	0,4	0,1	0,1	0,1	18,9	5,5	0,1	0,1	4,6	52,2	17,2	0,5	0,3
Pavo	0,1	0,9	0,3	0,1	0,1	21,8	8,3	0,1	0,1	4,3	35,6	26,6	1,5	0,1
Perdiz blanca (<u>Lagopus scotius</u>)	0,1	0,6	0,3	0,1	0,1	16,7	1,9	1,5	0,3	5,7	10,7	31,9	30,3	0,1
Perdiz (<u>perdix cinerea</u>)	0,1	0,9	0,2	0,1	0,1	21,0	7,6	1,8	1,8	3,8	39,8	15,5	9,6	0,1
Pato	0,1	0,6	0,1	0,1	0,1	23,2	5,7	0,1	0,1	4,2	52,9	12,6	0,9	0,1
Faisán (<u>Phasianus colchicus</u>)	0,1	1,0	0,4	0,1	0,1	28,1	11,4	0,1	0,1	5,9	40,4	6,1	6,7	0,1

Tabla 6 - Composición acídica de grasas de depósito de algunos roedores

ACIDOS	12:0	14:0	16:0	18:0	20:0	14:1	16:1	18:1	18:2	18:3	Insat. C ₂₀₋₂₂
<u>Caria</u> <u>cutteri</u> cobayo (31)	1,1	5,3	19,4	5,7	--	0,8	2,1	36,2	18,8	1,2	9,4
<u>Mus</u> <u>musculus</u> ratón (32)	--	0,2	26,7	2,6	--	--	5,6	35,8	26,2	1,9	1,0
<u>Lepus</u> <u>cuniculus</u> conejo (32)	--	2,6	25,1	5,6	0,4	2,2	6,0	26,6	25,9	5,6	--
<u>Lepus</u> <u>cuniculus</u> conejo (33)	0,4 a	3,8 a	29,0 a	4,0 a	--	0 a	5,9 a	31,9 a	11,8 a	2,0 a	1,4 a
	2,4	5,5	30,5	5,0		1,4	6,9	36,7	16,3	3,1	1,9
<u>Lepus</u> <u>cuniculus</u> conejo salvaje (34)	--	1,6	22,1	6,4	0,8	0,4	4,4	12,7	7,9	42,4	1,3
<u>Hystrix</u> <u>cristata</u> (32) puercoespín (a)	--	5,2	36,3	11,7	--	1,5	3,6	27,1	13,6	0,5	--
Rata blanca (35) (b)	0,7	6,9	24,3	5,3	1,2	1,2	5,6	49,1	4,9	--	0,5
Rata blanca (36) (c)	--	2,7	28,2	4,3	1,2	1,2	12,2	42,0	8,0	--	0,2

(a) - Además 0,5% de ácido hexadecadienoico.

(b) - Animales con dieta conteniendo ~5% de grasa.

(c) - Animales con dieta libre de grasa (<1%).

Tabla 7 - Composición acídica de grasas de depósito de algunos ruminantes

Acidos	<14	14:0	15:0	16:0	17:0	18:0	14:1	16:1	16:2	18:1	18:2	18:3	C ₂₀₊ C ₂₂
<u>VACUNO</u> (37)													
Peri- renal	0,3	3,6	1,3	29,3	2,0	33,6	0,9	4,4	0,8	21,5	1,2	0,5	0,6
mesen- térica	--	3,5	1,2	29,9	2,1	34,9	0,8	3,6	1,5	20,0	2,0	0,5	--
Pecho	0,4	2,2	0,7	19,9	1,4	14,5	1,1	7,2	1,5	47,8	2,6	0,2	0,5
Subcu- tánea	0,4	3,2	0,5	31,8	2,0	12,5	1,6	8,4	2,5	35,1	2,0	--	--

<u>OVEJA</u> Molar% (38)													
Peri- renal (a)	0,3	2,4	1,5	24,8	2,2	34,2	--	1,4	--	27,3	1,2	0,6	0,2
Mesen- térica (b)	0,1	1,9	1,2	22,8	2,5	33,7	--	1,8	--	31,1	1,0	0,6	0,3
Pecho (c)	0,2	2,4	0,9	27,5	1,9	22,6	--	1,5	--	38,0	1,3	0,8	0,2
Rabo (d)	vest. 2,4	1,0	23,3	1,3	11,7	--	2,5	--	51,3	1,5	1,4	0,2	
Pata (e)	"	1,7	0,1	14,2	0,5	2,5	vest.	5,2	--	72,7	1,4	0,4	0,1
Oreja (f)	"	1,5	0,2	18,0	0,5	3,4	0,2	6,0	--	62,1	2,7	2,1	0,3

CIERVO
Molar%
(39)

Tabla 7 - (Continuación)

Acidos	<14	14:0	15:0	16:0	17:0	18:0	14:1	16:1	16:2	18:1	18:2	18:3	C ₂₀₊ C ₂₂
Peri- rrenal (g)	0,3	5,7	1,9	30,9	1,7	35,7	0,4	1,8	--	15,4	1,1	←-1,9→	
Omen- tal (h)	0,4	12,6	0,6	44,4	0,6	11,9	2,4	9,9	--	15,6	0,3	←-0,3→	
Subcu- tánea (i)	0,3	6,4	1,6	32,7	1,2	22,2	0,8	7,6	--	21,1	0,9	←-2,8→	
<u>RENO</u>													
Molar% (39)													
Peri- rrenal (j)	--	0,8	0,1	22,7	1,2	22,0	--	2,5	--	48,2	0,6	--	--
Omen- tal (k)	--	1,8	0,2	22,2	1,3	28,9	--	2,2	--	39,4	1,3	←-0,4→	
Subcu- tánea (l)	--	1,4	0,1	23,8	1,3	17,9	--	3,3	--	48,3	1,1	--	--
<u>CAMELLO</u>													
(40)													
Mesen- térica	--	6,3	--	28,8	--	27,4	0,5	3,2	--	26,4	1,9	0,9	3,0
<u>CABRA</u>													
Molar% (41)													
Sebo (ll)	--	2,1	--	24,6	--	27,6	--	1,8	--	40,0	--	--	0,5

Tabla 7 - (Continuación)

Acidos <14 14:0 15:0 16:0 17:0 18:0 14:1 16:1 16:2 18:1 18:2 18:3 C₂₀⁺
C₂₂

ANTILOPE
(27)

Mezcla -- 2,8 -- 20,6 -- 3,8 0,4 8,4 0,2 40,5 19,2 3,7 --
(m)

- (a) - Además r15:0 (1,2), r16:0 (0,4), r17:0 (1,4), 17:1 (0,5), 19:0?
(0,4)
- (b) - Además r15:0 (0,9), r16:0 (0,2), r17:0 (1,4), 17:1 (0,3), 19:0?
(0,2)
- (c) - Además r15:0 (0,7), r16:0 (0,1), r17:0 (1,2), 17:1 (0,4), 19:0?
(0,3)
- (d) - Además r15:0 (0,5), r16:0 (0,1), r17:0 (1,7), 17:1 (0,9), 19:0?
(0,2)
- (e) - Además r17:0 (0,4), 17:1 (1,7), 19:0? (0,1)
- (f) - Además r16:0 (0,3), r17:0 (1,3), 17:1 (1,4)
- (g) - Además r15:0 (2,0), r17:0 (1,2).
- (h) - Además r15:0 (0,6), r17:0 (0,4)
- (j) - Además r15:0 (0,3), r16:0 (0,1), r17:0 (1,0)
- (k) - Además r15:0 (0,6), r16:0 (0,2), r17:0 (1,4)
- (l) - Además r15:0 (0,7), r16:0 (0,1), r17:0 (1,4)
- (ll) - Además 20:0 (3,4)
- (m) - Además 20:0 (0,4)

Tabla 8 - Composición acídica de grasas de depósito de herbívoros

Acidos	12:0	14:0	16:0	18:0	20:0	14:1	16:1	18:1	18:2	18:3	Insat. C ₂₀₋₂₂	Ref
Caballo	vest. a	1,1 a	20,3 a	1,7 a	0 a	0,6 a	3,7 a	31,5 a	5,1 a	2,2 a	0,3 a	(1)
	0,6	5,9	27,4	7,2	0,2	1,8	14,2	39,5	22,1	17,4	2,3	
Hipopótamo	--	2,3	27,1	22,2	1,1	0,4	2,2	39,3	3,5	1,5	0,4	(50)
Canguro	0,2	4,7	25,5	14,1	1,5	0,4	2,7	45,5	2,6	--	2,8	(25)
Oso <u>Melursus</u> <u>ursinus</u>	--	2,6	28,7	3,4	--	1,4	10,6	50,5	1,0	--	1,8	(25)
Oso <u>Ursus</u>	--	1,8	25,0	10,7	--	1,3	18,0	34,5	8,7	--	--	(51)
Elefante	0,2	6,6	44,1	6,5	--	1,0	4,5	26,5	6,4	0,5	2,9	(1)

Tabla 9 - Cerdo. Composición acídica (valores extremos, CGL) de grasas de depósitos de animales de distintos países (Suiza, Canadá, Yugoslavia, Irlanda, Inglaterra)

Acidos	14:0	16:0	16:1	17:0	17:1+ r17:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:1	20:2	Ref.
Perirrenal	1,4 a	24,6 a	1,2 a	0,2 a	0,2 a	17,7 a	37,5 a	4,5 a	0,6 a	0,3 a	0,1 a	(52)
	2,1	32,1	2,4	0,3	0,5	20,6	48,7	10,2	1,4	1,2	0,4	
Lomo (ext.)	1,2 a	22,3 a	1,2 a	0,1 a	0,2 a	10,8 a	40,2 a	4,5 a	0,1 a	0,2 a	0,1 a	(52)
	1,7	28,3	2,9	0,4	0,6	17,7	52,0	15,9	1,1	1,6	0,8	
Lomo (int.)	1,3 a	23,0 a	1,0 a	0,1 a	0,2 a	12,0 a	39,2 a	6,4 a	0,6 a	0,6 a	0,2 a	(52)
	1,8	29,2	4,3	0,3	0,3	17,0	45,9	11,2	1,1	1,0	0,5	
Cabeza	1,4 a	24,6 a	3,0 a	0,2 a	0,3 a	10,4 a	44,0 a	6,8 a	0,4 a	0,3 a	0,1 a	(52)
	1,9	26,3	4,5	0,3	0,5	13,9	47,3	9,6	1,2	1,1	0,5	

Acidos	14:0	16:0	16:1	17:0	17:1+ r17:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:1	20:2	Ref.
Abdominal	2,1	27,8	3,1	--	--	18,2	40,5	6,9	0,4	←--0,6--→		(1)
Lomo (a)	3,0	25,5	3,1	--	--	12,1	47,2	6,5	1,2	←--0,3--→		(1)

(a) - Además 20:0 (0,4)

Tabla 10 - Composición acídica de grasas de depósito de algunos carnívoros y omnívoros

Acidos	14:0	16:0	18:0	20:0	14:1	16:1	18:1	18:2	18:3	Insat. C ₂₀₋₂₂	Ref.
<u>Panthera</u> <u>Leo</u> <u>León (a)</u>	4,9	28,9	17,8	0,1	0,6	1,9	←--40,3--→		--	3,0	(25)
<u>Panthera</u> <u>pardus fusca</u> <u>pantera</u>	2,3	20,1	13,7	1,7	1,8	10,8	39,2	2,1	--	8,3	(53)
<u>Félix</u> <u>concolor</u> <u>puma</u>	4,1	24,2	10,5	0,8	0,9	4,6	39,5	8,6	3,6	3,2	(54)
<u>Félix</u> <u>tigris</u> <u>tigre (b)</u>	3,0	26,8	10,7	--	0,6	6,0	38,1	6,2	6,8	1,8	(54)
<u>Félix</u> <u>catus</u> <u>gato</u>	3,6	29,2	16,6	--	1,2	4,3	40,8	1,9	--	vest.	(25)
<u>Meles</u> <u>meles</u> <u>tejón</u>	5,7	21,2	8,2	--	1,1	6,2	30,9	8,4	3,9	16,4 -5,1H	(55)
<u>Putarius</u> <u>visón</u> <u>visón</u>	4,8	12,2	9,1	--	--	22,2	37,1	12,3	--	--	(1)

Tabla 10 - (Continuación)

Acidos	14:0	16:0	18:0	20:0	14:1	16:1	18:1	18:2	18:3	Insat. C ₂₀₋₂₂	Ref.
<u>Mustela</u> <u>furo</u> hurón (c)	1,6	21,4	15,3	--	--	2,5	52,4	3,5	1,3	0,6	(56)
<u>Mustela</u> <u>erminea</u> armiño (d)	1,6	25,9	8,3	--	--	5,2	46,7	9,3	0,5	0,5	(56)
<u>Mustela</u> <u>nivalis</u> comadreja (e)	0,9	19,0	6,5	--	--	3,1	58,0	10,3	0,4	1,3	(56)
<u>Papio</u> <u>hamadryes</u> mono babuíno	3,2	18,9	5,8	--	0,8	3,8	53,8	13,2	--	0,5	(25)
<u>Simia</u> <u>setyrus</u> chimpancé (f)	2,4	29,8	6,8	--	0,8	5,1	44,5	8,0	--	1,7	(54)

(a) - Además 10:0 (1,4) y 12:0 (1,1%). (b) - Además vest. de 16:2 y 16:3. (c), (d), (e) - CGL (% molar). Rastros de ácidos ramificados y en número impar de C. (f) - Vest. de 16:2 y 16:3, 12:0 (0,4), 12:1 (0,3) y 20:0 (0,2%).

Tabla 11 - Composición acídica de grasa humana de depósito

Acidos	12:0	14:0	16:0	18:0	14:1	16:1	18:1	18:2	Insat. C ₂₀₋₂₂	Ref.
Mujer (53 años)	0,1	2,7	24,0	8,4	0,2	5,0	46,9	10,8	2,5	(57)
Hombre (74 años)	0,6	5,9	25,0	5,8	0,6	6,7	45,4	8,2	1,8	(57)
Hombre (61 años)	--	2,6	24,7	7,7	0,4	7,3	45,8	10,0	1,5	(57)
Mujer, (subcutanea)	--	1,5	20,8	2,2	0,4	3,2	38,7	24,8	8,3	(58)
Mujer (perirrenal)	1,7	5,9	22,8	5,5	2,4	6,5	43,2	4,0	5,4	(1)
Hombre (abdominal) (CGL)	1,0	4,5	25,5	5,0	0,5	8,0	47,5	3,0 (+18:3)	vest.	(59)

Tabla 12 - Grasa subcaparaza (por fusión) de "mulita" y "peludo".
Características fisico-químicas

	"Mulita"	"Peludo"
Densidad relativa(40/20°)	--	0,8980
Ind. refracción(40°)	1,4598	1,4663
Ind. saponificación	193,6	201,2
Ind. de yodo(Wijs)	82,0	61,9
N° de acidez(mg KOH/g)	0,8	1,4
Insaponificable %	1,78	1,87
Ind. yodo del insap.	79,3	66,8
Tocoferoles tot.(mg%g)	9,5	10,5
Esteroles tot.(mg%g)	144	152
Ambito de fusión(°C)	2-10	17-33

Tabla 13 - "Peludo" - Composición acídica (% de ácidos totales) de grasas de depósito (a)

	10:0	12:0	14:0	14:1	15:0	16:0	16:1	17:0	17:1	18:0	18:1	18:2	18:3	$\sum_{C_{20}}$	$\sum_{C_{22}(b)}$
Subcaparaza(fusión)	0,3	1,1	4,3	0,3	0,1	27,2	10,2	0,2	0,4	6,1	37,8	9,9	00,3	1,1	0,7
Subcaparaza(Folch)	0,2	0,9	3,7	0,3	0,2	22,9	17,6	0,1	0,3	3,7	35,3	12,3	0,3	1,4	0,8
Subcaparaza-Dorsal anterior derecha(c)	0,1	0,8	3,5	0,2	0,1	23,8	15,7	0,1	0,4	4,2	36,5	12,0	0,2	1,4	0,7
Subcaparaza-Dorsal media anterior(d)	0,2	0,8	3,7	0,4	0,3	27,9	10,8	0,2	0,4	4,4	37,4	11,4	0,2	1,1	0,6
Subcaparaza-Dorsal mediana	0,2	1,0	4,4	0,5	0,3	22,6	15,5	0,1	0,5	4,4	35,6	11,9	0,2	1,5	1,3
Subcaparaza-Caudal lateral izquierda	0,3	0,7	3,7	0,5	0,4	20,9	13,7	0,1	0,5	4,2	32,5	19,8	0,3	1,4	1,0
Subcaparaza-Caudal lateral derecha	0,1	0,6	3,2	0,4	0,3	20,4	11,2	0,2	0,4	6,5	39,2	14,2	0,3	2,0	1,0
Subcaparaza-Dorsal lateral izquierda	0,3	1,1	4,3	0,5	0,3	23,9	14,1	0,1	0,5	4,2	36,7	11,2	0,2	1,8	0,9
Ventral pelviana	0,2	1,2	4,1	0,5	0,2	23,7	12,4	0,1	0,6	6,8	36,1	12,0	0,3	1,0	0,8
Ventrolateral	0,4	1,2	4,4	0,4	0,2	24,8	14,3	0,1	0,3	4,1	35,8	12,0	0,2	1,0	0,8
Int.delgado(c)	0,1	0,4	3,0	0,4	0,2	21,7	8,2	0,3	0,3	10,2	39,6	12,9	0,1	1,6	0,9
Int.grueso(c)	0,2	1,2	4,5	0,4	0,2	26,3	6,8	0,3	0,3	8,5	38,5	10,7	0,2	1,2	0,6
Peritoneal(c)	0,2	0,6	3,7	0,5	0,3	24,4	11,5	0,2	0,4	7,9	36,0	12,7	0,3	1,0	0,3
Perirrenal(c)	0,1	0,5	2,8	0,3	0,1	26,0	11,9	0,3	0,3	5,9	38,0	11,4	0,2	1,0	0,9
Bazo(c)	vest.	0,4	3,3	0,4	0,3	26,5	7,5	0,3	0,4	9,8	38,3	10,6	vest.	1,4	0,7

(a) En todas rastros de 13:1, 11:0, 13:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 18:0 y 19:0

(b) C_{20} comprende 20:1, 20:2, 20:3, 20:4, 20:5 y 20:0(rastros); C₂₂ comprende 22:3, 22:5, 22:4 y 22:6 y 22:0

(c) Además 16:0 (0,1)

(d) Además 14:0 (0,1)

Tabla 14 - "Mullita" - Composición acídica (1/3 de ácidos totales)
de grasas de desbrito. (a)

	<u>12:0</u>	<u>14:0</u>	<u>14:1+</u>	<u>15:0</u>	<u>r16:0</u>	<u>16:0</u>	<u>16:1</u>	<u>17:0</u>	<u>r18:0</u>	<u>18:0</u>	<u>18:1</u>	<u>18:2</u>	<u>18:3</u>	\sum	\sum
			<u>r15:0</u>						<u>+17:1</u>					<u>C₂₀</u>	<u>C₂₂</u>
														<u>(b)</u>	<u>(b)</u>
Subcaparaza (fusión)	0,2	2,0	0,5	0,1	0,2	17,6	8,2	0,4	0,1	5,2	42,5	16,5	1,9	3,0	1,4
Subcaparaza (Folch)	0,2	1,7	0,6	0,2	0,2	20,4	6,8	0,4	0,2	5,5	39,9	15,1	3,9	3,7	1,2
Intestino delgado (Folch)	0,3	2,3	0,7	0,2	0,3	14,8	5,8	0,6	--	7,6	42,4	16,3	0,9	5,1	2,7
Intestino grueso (Folch)	0,2	2,0	0,5	0,1	0,2	16,4	4,2	0,4	--	5,6	42,4	17,4	0,8	5,9	3,9
Perirrenal (Folch)	0,2	1,6	0,6	0,2	0,2	17,9	5,0	0,4	--	4,8	42,3	18,8	1,5	4,3	2,1
Peritoneal (Folch)	0,2	1,7	0,9	0,2	0,2	15,7	5,2	0,6	0,3	6,0	38,8	14,5	3,4	8,4	3,9

(a) En todas las grasas, rastros de 10:0, r13:0, 13:0, r14:0, 14:0, 19:0, r20:0, 21:0, y r22:0

(b) Determinados sobre ésteres hidrogenados

C₂₀ comprende 20:1 (principal), 20:2, 20:3, 20:4, 20:5 y 20:0 (rastros)

C₂₂ comprende 22:3 y 22:5 (principales), 22:4 y 22:6

Tabla 15 - Rendimiento en lípidos totales (Folch) de órganos y tejido muscular de "mulita y "peludo"

	<u>Lípidos % de órgano fresco</u>	
	<u>"Peludo"</u>	<u>"Mulita"</u>
Músculo	17,0	3,6
Intest.grueso	3,4	3,3
Intest.delgado	5,7	9,6
Estómago	5,7	3,0
Tráquea	4,0	--
Esófago	--	4,4
Corazón	5,0	16,6
Pulmón	4,5	6,4
Riñones	15,8	7,9
Hígado	4,5	8,3
Páncreas	6,4	22,8
Bazo	1,6	2,9
Suprarrenales	60,4	--
Utero	5,0	2,6
Vejiga	--	18,6

Tabla 16 - Contenidos en fosfolípidos de órganos y tejido muscular de "mulita" y "peludo"

Fosfolípidos:	<u>"Peludo"</u>		<u>"Mulita"</u>	
	% de lip. totales	% de órgano fresco	% de lip. totales	% de órgano fresco
Músculo	5,7	0,97	27,5	0,99
Intest.grueso	23,6	0,80	33,2	1,09
Intest.delgado	21,8	1,25	16,9	1,63
Estómago	14,3	0,82	22,1	0,67
Tráquea	19,3	0,77	--	--
Esófago	--	--	19,8	0,87
Corazón	28,6	1,42	8,7	1,44
Pulmón	50,3	2,25	28,6	1,83
Hígado	44,5	2,00	19,7	1,64
Páncreas	21,9	1,41	5,1	1,16
Bazo	21,3	0,34	47,9	1,40
Suprarrenales	3,9	2,35	--	--
Utero	17,6	0,88	34,8	0,91
Vejiga	--	--	2,9	0,53
Riñones	11,1	1,75	23,5	1,87

Tabla 17 - Ensayos de identificación de lípidos componentes en lípidos totales (CCD) de órganos y tejido muscular de "mulita" y "peludo"

Mancha	REVELADORES USADOS			Patrón de igual Rf	Identificación	Rango de Rf experimental
	Reactivo de fosfolípidos	Ninhidrina	Draggendorf			
1	--	--	--	Ester de colesterol Triglicérido	Lípidos Neutros	1,00
2	+	--	--	Cardiolipina	Cardiolipina	0,88-0,94
3	+	+	--	--	Etanolamina-fosfolípidos	0,74-0,81
4	+	--	+	Lecitina	Colinafosfolípidos	0,45-0,55
5	+	--	+	Esfingomielina	Esfingomielina	0,27-0,34
6	+	--	+	Lisolecitina	Lisocolinafosfolípidos	0,17-0,23
7	+	+	--	--	Fosfatidilaminoácido?	0,10 (a)
8	+	+	--	--	?	0,67 (a)

(a) Detecciones hechas sobre un único órgano.

Tabla 18 - Lípidos identificados por cromatografía en capa delgada (CCD) en órganos y tejido muscular de "mulita" y "peludo"

Lípidos detectados por CCD (ver Tabla 17)		
	"Mulita"	"Peludo"
Músculo	1, 2, 3, 4, 5, 6	1, 3, 4, 5, 6
Intest. grueso	1, 2, 3, 4, 5, 6	1, 2, 3, 4, 5, 6
Intest. delgado	--	1, 3, 4, 5
Estómago	1, 2, 3, 4, 5, 6	1, 2, 3, 4, 5, 6
Tráquea	--	1, 3, 4, 5, 6
Esófago	1, 2, 3, 4, 5	--
Corazón	1, 2, 3, 4, 5, 6	1, 2, 3, 4, 5, 6
Pulmón	1, 2, 3, 4, 5	1, 3, 4, 5, 6
Riñones	1, 2, 3, 4, 5, 6	1, 2, 3, 4, 5, 6
Hígado	1, 2, 3, 4, 5, 6	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
Páncreas	1, 2, 3, 4, 5, 6	1, 3, 4, 5, 6
Bazo	1, 2, 3, 4, 5, 6, 8	1, 3, 4, 5, 6
Suprarrenales	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4, 5, 6
Utero	1, 2, 3, 4, 5, 6	1, 3, 4, 5, 6
Vejiga	1, 2, 3, 4, 5	1, 3, 4, 5, 6

Tabla 12 - Mídidos totales (Molich) de órganos y músculo de "Peludo". Composiciones ácidas (% de ácidos totales) (a)

	10:0	12:0	14:0	14:0	14:0	15:0	16:0	16:1	17:0	17:1	18:0	18:1	18:2	18:3	\sum_{C20}	\sum_{C22}	(d)	
músculo	0,2	0,7	vest.	3,9	0,4	0,3	0,1	25,8	10,1	0,2	0,4	vest.	4,2	39,3	11,3	0,2	1,7	1,2
int. grueso	0,1	0,6	"	2,9	0,2	0,2	0,2	23,4	6,2	0,1	0,2	0,1	8,6	37,9	10,0	vest.	7,4	2,0
int. delgado	0,2	1,5	"	3,1	0,3	0,2	0,1	21,4	5,4	0,4	0,3	vest.	10,9	37,4	12,0	0,2	4,9	2,3
estómago (c)	0,2	1,2	"	2,9	0,3	0,2	0,1	24,5	7,0	0,2	0,3	"	8,2	37,7	9,7	0,1	5,9	1,4
tráquea	0,2	1,1	"	3,7	0,5	0,2	0,1	19,6	6,3	0,2	0,3	"	7,8	46,3	10,3	0,2	2,2	1,0
isótego	vest.	0,8	"	3,7	0,5	0,2	0,3	21,1	5,4	0,2	vest.	0,2	8,6	31,4	13,0	0,1	8,2	5,4
corazón	0,1	0,3	0,5	2,9	0,5	0,2	0,2	22,4	7,3	0,3	0,3	0,1	8,4	32,3	14,9	0,2	6,2	2,9
pulmón (b)	vest.	0,1	0,6	2,2	0,3	0,4	0,9	28,0	6,8	0,4	0,4	0,1	12,3	22,6	7,3	0,1	12,1	4,8
hígado	0,2	0,6	0,1	3,1	0,4	0,2	0,1	23,9	6,7	0,4	0,4	vest.	8,4	38,9	11,6	0,2	3,2	1,4
páncreas	vest.	0,1	vest.	0,6	vest.	0,2	0,1	19,1	2,8	0,4	0,1	"	21,2	20,3	11,2	0,1	13,9	9,9
bazo	0,1	0,6	0,2	2,1	0,3	0,2	0,3	21,9	4,4	0,4	0,3	"	10,4	33,9	13,2	0,1	9,1	2,3
suprarrenal	vest.	0,6	vest.	2,9	0,5	0,2	0,4	22,4	6,2	0,2	0,2	0,2	10,7	32,8	8,8	0,4	10,3	3,2
hígado	0,1	0,5	0,1	2,3	0,4	0,3	0,1	22,3	5,2	0,4	0,4	vest.	10,1	38,0	11,1	0,2	5,6	2,9
hígado	0,1	1,0	0,1	3,5	0,3	0,4	0,3	24,8	8,1	0,3	0,4	"	9,9	36,6	6,7	0,1	6,3	1,1
vejiga (c)	0,1	0,7	vest.	4,0	0,4	0,2	0,3	24,8	6,2	0,3	0,3	0,1	9,1	34,2	7,9	0,2	8,5	2,6

(a) Además rastros de 13:0, 15:0, 17:0, 19:0 y 15:1 (0,1 en int. delgado y estómago, 0,2 en pulmón)
 (b) Además 13:1 (0,1)
 (c) Además 13:1 (0,4)
 (d) C20 comprende 20:0, 20:1, 20:2, 20:3, 20:4 y 20:5; C22 comprende 22:0, 22:3, 22:4, 22:5 y 22:6

Tabla 20 - Lípidos totales (Polch) de órganos y músculo de "Mulita". Composiciones acídicas (% de ácidos totales) (a)

	12:0	r14:0	14:0	14:1	r15:0	15:0	16:0	16:1	17:0	17:1	r18:0	18:0	18:1	18:2	18:3	$\sum_{C_{20}}$	$\sum_{C_{22}}$	$\sum (b)$
Músculo	0,1	0,1	1,7	vest.	0,1	0,1	0,5	15,1	4,2	0,5	0,1	0,1	8,0	37,2	13,0	0,9	9,0	4,3
Int. grueso	0,2	0,1	1,3	"	0,1	0,2	0,3	16,7	3,0	0,6	vest.	0,3	11,3	34,3	13,3	0,5	12,6	5,0
Int. delgado	0,2	0,1	1,7	0,2	0,6	0,3	0,2	16,5	3,7	0,7	0,1	vest.	10,3	36,0	16,0	1,1	7,2	4,0
Estómago	1,0	vest.	2,2	0,5	0,1	0,2	0,3	20,9	1,0	0,7	0,2	"	11,6	33,1	11,5	0,6	11,5	4,5
Esófago	0,2	"	1,2	vest.	0,2	0,2	0,3	19,6	4,3	0,5	0,2	"	7,2	39,3	19,0	1,0	5,4	2,4
Corazón	0,1	0,2	1,2	"	0,2	0,4	0,7	13,7	2,4	0,1	vest.	"	6,9	28,2	22,1	0,3	14,8	8,7
Pulmón(c)	vest.	vest.	0,7	"	0,2	0,4	1,0	20,5	3,0	0,5	0,1	0,3	9,0	20,8	7,1	0,6	24,7	10,3
Riñón(d)	0,2	0,3	2,2	0,2	0,3	0,3	0,1	19,2	4,0	0,3	0,1	vest.	7,4	25,2	19,0	0,5	10,8	9,4
Hígado	0,1	vest.	1,3	vest.	0,5	0,3	0,1	23,1	3,2	0,2	0,1	"	4,9	27,4	21,5	1,3	6,6	9,4
Páncreas	0,2	vest.	1,5	0,3	0,3	0,2	0,2	17,7	6,0	0,4	0,2	"	6,4	39,5	18,9	1,3	4,8	2,1
Bazo	0,2	0,3	0,6	--	0,2	0,2	0,9	20,5	2,0	0,8	--	0,2	16,7	19,2	11,8	0,6	18,3	7,5
Suprarren(e)	0,3	vest.	1,8	0,2	0,5	0,2	0,2	18,7	4,6	0,4	0,1	vest.	6,0	36,5	15,4	1,3	8,6	5,1
Utero	0,1	0,2	1,2	vest.	0,2	0,1	0,2	18,6	4,4	0,2	vest.	"	8,0	31,6	12,7	0,2	16,5	5,8
Vejiga	0,2	vest.	1,5	"	0,6	0,2	0,2	17,6	2,8	0,4	0,1	"	5,4	36,8	13,7	1,7	15,1	3,7

(a) Además 10:0, 13:0 (0,1 estómago e int.delg., 0,5 pulmón), r17:0, r19:0, r20:0, r22:0 y 21:0.
 (b) C_{20} comprende 20:0, 20:1, 20:2, 20:3, 20:4 y 20:5; C_{22} comprende 22:0, 22:3, 22:4, 22:5 y 22:6.
 (c) Además 15:1 (0,3).
 (d) Además 15:1 (0,5).
 (e) Además 15:1 (0,1).

Tabla 11 - Composiciones acídicas (% de ácidos totales) de colinafosfolípidos de órganos de "Veludo"

	12:0	14:0	B	16:0	16:1	17:0	C	18:0	18:1	18:2	20:1	20:4	22:4	22:6
Intestino grueso(a)	vest.	0,4	0,4	26,2	1,5	0,9	1,0	17,7	33,8	14,2	vest.	3,9	--	--
Intestino delgado	"	vest.	0,9	56,8	2,2	0,8	--	8,0	11,7	11,1	--	8,5	--	--
Estómago(b)	"	0,5	0,4	35,7	1,7	0,6	0,2	14,1	26,5	7,7	0,5	7,2	1,7	--
Corazón	"	0,8	9,8	54,2	1,4	0,9	vest.	6,0	18,3	5,4	vest.	3,2	--	--
Pulmón(c)	"	1,4	0,4	59,5	11,3	1,4	"	7,2	9,1	3,3	0,2	4,5	1,0	0,5
Riñón(d)	"	0,3	1,2	31,4	1,6	0,5	0,2	16,4	26,1	18,1	--	3,3	--	0,3
Hígado(e)	--	0,4	--	36,9	2,2	0,5	vest.	3,2	30,2	17,3	vest.	5,5	0,2	2,0
Páncreas(f)	vest.	vest.	1,6	44,5	2,2	0,5	"	11,4	12,1	13,0	--	13,2	--	vest.
Bazo	"	0,7	vest.	57,1	2,5	2,2	vest.	12,1	15,4	2,6	--	2,4	5,0	--
Utero(g)	"	0,9	0,6	48,5	4,3	0,9	--	13,6	17,6	5,5	--	5,9	1,7	--

B: 15:1 + r16:0 + acetal de hexadecanal)

C: (17:1 + r18:0 + acetal de octadecanal)

(a) Además 14:1 + r15:0 + acetal de r-pentadecanal? (vest.)

(b) Además 18:3 + 20:0 (0,5), 20:3 (vest.)

(c) Además 15:0 (0,2)

(d) Además 14:1 + r15:0 + acetal de r15:0? (vest.), 15:0 (vest.), 18:3+20:0 (vest.), 20:2 (0,2), 20:5 (0,2).

(e) Además 15:0 (0,3), 18:3+20:0 (vest.), 20:2 (vest.), 20:5 (0,1), 24:1? (0,7), 22:5 (0,5).

(f) Además 20:2 (0,8), 20:3 (0,7), 24:1? (vest.).

(g) Además 15:0 (0,5), 20:3 (vest.).

Tabla 22 - Composiciones acídicas ($\frac{1}{2}$ de ácidos totales) de colinafosfolípidos de órganos y tejido muscular de "Mulita". (a)

	A	14:0	B	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	18:2	18:3+	20:1	20:2	20:3	20:4	22:5	22:6
Músculo(b)	0,1	0,3	5,4	27,5	3,6	0,3	11,2	25,4	23,2	0,2	--	vest.	0,3	1,5	0,2	vest.
Intest. grueso(c)	vest. vest.	0,5	20,8	1,2	1,2	19,6	28,6	18,1	vest.	--	--	1,4	7,3	1,3	--	--
Estómago	0,2	0,2	5,5	33,9	2,1	0,7	14,8	25,3	15,7	"	0,1	0,1	0,1	0,9	0,3	0,1
Corazón(d)	0,2	0,2	11,1	26,3	2,2	0,4	17,4	14,2	21,4	--	0,4	vest.	0,2	3,1	0,3	0,9
Pulmón(e)	vest.	0,3	1,0	32,2	4,2	1,2	19,1	25,4	13,1	--	vest. vest.	0,5	1,9	1,1	--	--
Riñón(f)	0,1	0,3	3,7	19,1	1,6	0,8	29,2	20,1	21,6	0,2	"	0,2	2,6	0,3	vest.	vest.
Hígado	vest. vest.	vest. 35,1	1,7	1,3	20,0	15,6	15,2	--	--	--	0,4	5,3	0,5	4,2	--	--
Bazo(g)	0,3	vest.	0,7	25,4	0,7	1,4	28,7	19,3	15,6	0,8	0,8	1,8	0,3	2,7	0,4	0,2
Utero	--	0,3	1,3	40,4	2,5	1,7	15,8	20,7	14,6	--	--	0,3	2,4	--	--	--
Vejiga(h)	0,2	0,4	1,2	30,0	3,4	1,4	21,8	23,0	15,8	0,1	0,1	0,1	0,3	1,7	0,3	--

A: r14:0 + acetal de tetradecanal

B: 15:1 + r16:0 + acetal de hexadecanal

(a) Además 15:0 (vest.), 12:0 (vest.) (bazo 0,2)

(b) Además 14:1+r15:0+acetal de r-pentadecanal? (vest.), 17:1+r18:0+acetal de octadecanal(0,6), 20:5 (0,2)

(c) Además 14:1 + r15:0 + acetal de r-pentadecanal? (vest.)

(d) Además 14:1+r15:0+acetal de r-pentadecanal?(vest.), 17:1+r18:0+acetal de 18:0(1,5), 20:5(0,2)

(e) Además 14:1+r15:0+acetal de r-pentadecanal?(vest)

(f) Además 14:1+r15:0+acetal de r-pentadecanal?(vest.), 20:5 (0,2), 22:4 (vest.)

(g) Además 17:1+r18:0+acetal de 18:0 (vest.), 20:5 (vest.), 22:4 (0,6)

(h) Además 20:5 (vest.), 22:3 (vest.)

Tabla 23 - Composiciones acídicas (p de ácidos totales) de etanolaminafosfolípidos de
órganos de "Peludo"

	12:0	A	14:0	B	16:0	17:0	C	18:0	18:1	18:2	20:4	20:5	22:4	24:1?	22:5	22:6	
Int. grueso(a)	1,0	vest.	0,8	9,7	7,9	2,4	--	14,4	12,6	10,0	3,7	29,0	vest.	2,3	3,3	vest.	2,9
Int. delgado(b)	vest.	0,2	0,2	5,9	6,0	0,9	vest.	12,7	21,9	15,3	8,4	15,9	--	2,1	3,9	2,2	3,3
Estómago(c)	0,5	0,5	0,6	13,0	7,3	1,5	"	16,7	17,1	22,0	4,2	12,9	vest.	1,4	1,1	vest.	0,6
Corazón(d)	vest.	vest.	vest.	17,6	7,7	vest.	0,2	2,4	21,2	2,7	2,0	34,7	0,5	1,0	1,0	1,4	7,3
Pulmón(e)	"	0,3	"	13,2	4,4	0,4	--	8,1	9,8	17,8	2,9	31,5	--	4,5	1,2	1,5	3,4
Riñón	--	0,3	0,3	15,5	11,5	1,0	0,2	3,5	30,1	16,3	7,6	12,9	0,6	--	vest.	--	0,3
Hígado	--	--	--	0,6	16,4	0,2	0,5	0,9	47,3	11,3	7,5	7,8	vest.	0,5	1,2	0,6	5,2
Páncreas(f)	vest.	0,2	0,3	12,8	12,8	2,1	0,3	7,4	19,9	21,0	11,5	7,7	vest.	0,6	1,1	0,8	0,7
Bazo(g)	"	0,2	0,2	10,2	14,6	2,1	0,4	15,9	15,9	9,7	2,6	21,2	--	3,6	0,9	0,8	1,4
Utero	--	0,2	0,4	13,5	8,1	0,7	--	8,8	24,3	7,4	1,3	30,9	--	4,4	--	--	--

A: r-14:0 + acetal de tetradecanal
 B: 15:1 + r-16:0 + acetal de hexadecanal
 C: 17:1 + r-18:0 + acetal de octadecanal
 (a) Además vestigios de 18:3+20:0, 20:2 y 21:0?
 (b) Además 18:3+20:0(0,1), 21:0?(0,2), 20:3(0,2)
 (c) Además 18:3+20:0(0,2), 20:1(vest.), 21:0?(0,2), 20:3(0,2)
 (d) Además 20:1(0,3)
 (e) Además 15:0(vest.), 20:1(0,7), 20:3(0,3)
 (f) Además 14:1 + r15:0 + acetal de r15:0?(vest.), 18:3+20:0(vest.), 20:1(0,1), 21:0?(0,3), 20:3(0,3)
 (g) Además 20:1(0,3), 20:3(vest.)

Tabla 24 - Composiciones acídicas (Σ de ácidos totales) de etanolaminafosfolípidos de órganos de "Mullita"

	12:0	A	14:0	15:0	B	16:0	16:1	17:0	C	18:0	18:1	18:2	20:3	20:4	20:5	22:4	22:5	22:6
Músculo(a)	vest.0,5	0,2	--	8,9	4,2	2,1	--	13,2	37,8	10,4	2,4	--	11,0	1,2	1,2	3,1	3,8	
Int. grueso(b)	"	0,6	0,6	--	10,6	8,9	1,6	0,3	2,3	36,2	17,0	3,7	0,6	11,2	1,6	1,2	1,9	1,5
Estómago	--	0,7	0,7	--	17,7	5,4	1,9	vest.15,7	19,3	14,7	6,2	0,4	12,1	0,4	0,5	2,8	1,5	
Corazón(c)	--	--	--	--	1,1	0,6	0,2	0,1	1,0	75,2	5,4	1,2	0,2	11,4	0,4	0,9	1,9	
Pulmón(d)	--	0,7	0,6	ves.20,2	9,6	3,1	vest.	7,9	19,6	18,8	1,2	0,6	12,3	vest.	1,1	1,6	1,0	
Riñón	vest.0,9	0,8	0,5	23,6	8,5	1,5	0,6	3,9	21,5	6,5	2,2	vest.26,3	2,1	1,1	--	--		
Hígado	0,5	0,5	0,5	--	0,9	24,1	0,8	3,5	0,3	37,7	3,5	9,0	--	5,8	0,4	--	1,0	10,9
Bazo(e)	vest.0,4	0,4	0,4	14,9	9,0	3,6	0,1	13,2	24,6	10,3	1,9	0,3	13,5	0,4	1,9	2,5	2,6	
Hetero(f)	--	0,6	0,3	--	11,6	10,8	1,7	0,5	7,1	28,0	12,6	6,6	2,9	12,4	0,5	0,6	2,1	1,5
Vejiga(g)	1,0	0,8	1,5	ves.12,1	13,9	4,5	vest.12,7	17,7	20,6	2,2	0,7	11,7	--	--	vest.--	--	--	

A: r14:0 + acetal de tetradecanal
 B: r15:1 + r16:0 + acetal de hexadecanal
 C: r17:1 + r18:0 + acetal de octadecanal
 (a) Además 14:1 + r15:0 + acetal de r-pentadecanal? (vest.)
 (b) Además 14:1 + r15:0 + acetal de r-pentadecanal? (vest.), 18:3 + 20:0 (vest.), 20:1 (vest.)
 (c) Además 18:3 + 20:0 (vest.)
 (d) Además 14:1 + r15:0 + acetal de r-pentadecanal? (vest.), 20:1 (1,2)
 (e) Además 14:1 + r15:0 + acetal de r-pentadecanal? (vest.)
 (f) Además 14:1 + r15:0 + acetal de r-pentadecanal? (0,2)
 (g) Además 18:3 + 20:0 (0,6)

Tabla 25 - Composiciones acídicas (de ácidos totales) de lípidos neutros de órganos y tejido muscular de "Peludo"

12:0 14:0 14:1 15:0 16:0 16:1 17:0 r13:0 18:0 18:1 18:2 18:3+ 20:1 20:4 22:4
20:0

intestino grueso	1,2	4,8	1,0	vest.27,9	5,9	0,6	vest.	9,3	38,8	9,6	0,3	0,1	0,3	0,2
intestino delgado	1,0	4,2	0,5	"	25,6	4,7	0,7	0,2	9,4	43,8	9,2	0,3	0,1	0,3 vest.
estómago (a)	1,2	4,8	0,7	"	27,0	5,8	0,7	0,3	8,3	40,0	10,5	--	0,1	0,2 "
oración (b)	0,8	5,3	1,0	"	38,6	12,9	1,4	3,1	5,6	26,5	4,1	0,3	0,1	0,2 "
ultrón (c)	2,5	7,7	vest.	"	38,8	6,7	0,4	0,3	8,3	25,6	7,4	0,3	0,3	1,7 --
ión (d)	1,2	6,5	1,1	"	33,3	10,9	1,0	0,1	6,5	27,5	9,1	1,0	1,2	0,2 0,1
ígado (e)	vest.	2,7	0,7	0,5	46,8	5,4	1,2	vest.	10,7	24,0	5,7	0,4	0,3	1,6 --
áncreas (f)	1,0	4,7	0,6	vest.25,1	5,0	0,5	0,2	9,1	42,4	11,1	0,1	vest.	0,2	--
azo (g)	0,5	2,8	0,3	0,3	28,6	5,5	0,5	vest.	11,5	36,5	10,7	0,2	0,2	0,8 1,1
tero	0,8	5,3	1,0	0,8	36,8	9,4	0,7	vest.	6,8	29,8	7,7	0,1	0,5	0,3 --

- a) Además 20:2 (vest.).
 b) Además 22:2 (0,1).
 c) Además 12:1 (vest.), r16:0 (vest.).
 d) Además 22:2 (vest.), 24:1? (0,2), 22:5 (0,1).
 e) Además 12:1 (vest.).
 f) Además r16:0 (vest.).
 g) Además 20:2 (0,1), 22:2 (0,1).

Tabla 26 - Composiciones acídicas (½ de ácidos totales) de lípidos neutros de órganos y tejido muscular de "Mullita"

	12:0	14:0	15:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	18:2	18:3+	20:1	20:2	20:3	20:4
Músculo(a)	vest. 1,5	0,7	vest. vest. 20,8	4,3	0,4	vest. 4,3	52,6	15,1	0,1	0,1	vest. vest. vest. 0,1			
Intest. grueso(b)"	1,9	1,4	"	19,5	4,3	0,6	"	48,2	15,2	0,1	0,2	"	"	0,1
Estómago(c)	0,2	1,2	0,6	0,2	0,3	21,1	5,8	0,4	0,2	6,9	46,7	16,0	0,1	0,1
Corazón(d)	vest. 2,3	1,1	vest. vest. 30,6	5,1	0,3	--	7,5	34,1	17,0	0,4	0,5	"	--	0,1
Pulmón(e)	"	1,3	0,4	"	23,6	6,2	0,6	vest. 8,9	44,4	13,5	0,1	0,1	0,1	0,2
Hiñones(f)	0,4	3,1	2,2	"	0,5	29,2	5,7	1,0	"	6,7	29,5	19,1	0,3	0,2
Hígado(g)	0,1	1,0	0,7	0,1	vest. 23,6	5,8	0,7	0,3	4,3	36,9	25,5	0,3	---	vest. vest. 0,2
Bazo(h)	vest. 1,2	0,4	vest. vest. 19,3	3,7	0,5	vest. 10,4	42,8	15,7	0,8	0,8	0,3	0,6	2,1	
Htero	--	1,2	0,3	0,2	"	16,9	4,5	0,4	--	5,6	52,6	17,9	0,1	0,2
Vejiga(i)	0,2	1,8	0,8	vest. vest. 21,5	6,4	0,8	vest. 2,6	48,8	15,8	0,4	0,1	0,1	0,1	0,1

a) Además 22:5 (0,1) y vest. de 12:1, 14:0 y 22:4
b) Además 22:5 (0,1) y vest. de 12:1 y 14:0
c) Además 22:5 (0,1) y vest. de 12:1, 14:0 y 22:4
d) Además 22:4 (0,4) y 22:5(0,6)
e) Además 22:4 (0,1), 22:5(0,4) y vest. de 14:0
f) Además 12:1 (0,3), 22:2(0,1), 22:4(0,5), 22:5(0,2), 22:6(0,3) y vest. de 14:0, 20:5 y 22:4
g) Además 12:1 (0,1), 22:0(0,1), 22:5(0,2), 22:6(0,3) y vest. de 14:0, 20:5, y 22:4
h) Además 22:4 (0,5), 22:5(0,9) y vest. de 22:3 y 22:6
i) Además 12:1 (0,1), 22:4(0,1), 22:5(0,1), 22:6(0,1), y vest. de 20:5 y 22:2

PARTE IV

CONCLUSIONES

Este trabajo representa un estudio inicial acerca de la composición química de grasas de depósito, lípidos totales, fosfolípidos y lípidos neutros de animales autóctonos del país. Comprende el examen en ese sentido de las especies Chaetophractus villosus ("peludo") y Dasypus septemcinctus ("mulita") pertenecientes al orden Xenarthra, suborden Dasypodoidea.

Como resultado de las disecciones se aislaron distintos depósitos grasos (subcaparaza, peritoneal, de intestino grueso y delgado, perirrenal, ventral y de bazo) y distintos órganos (pulmón, corazón, riñón, vejiga, útero, intestino grueso y delgado, bazo, páncreas, esófago, tráquea, estómago y suprarrenales) y tejido muscular. De los depósitos subcaparaza se aislaron las grasas por fusión y de los demás depósitos grasos por el método de Folch. Este último procedimiento se aplicó para el aislamiento de lípidos totales de distintos órganos y tejido muscular. Los lípidos totales fueron fraccionados por cromatografía en capa delgada y algunos de sus componentes (etanolaminafosfolípidos, colinafosfolípidos, y lípidos neutros) se aislaron y sometieron a exámenes de composición ácida.

Del examen de las distintas grasas de depósito se desprende:

- 1 - La grasa subcaparaza por fusión de "mulita" presenta un valor de índice de yodo (79,3) sensiblemente mayor al de la de "peludo" (66,8), siendo el valor de índice de saponificación de esta última (201,2) mayor que el de "mulita" (193,6). Ambos

grasas son de bajos contenidos en tocoferoles totales (alrededor de 10mg %g y en esteroides totales (colesterol; alrededor de 150mg %g). La grasa de "peludo" funde en un ámbito (17-33°) muy superior al de "mulita" (2-10°).

- 2 - Los contenidos en lípidos totales (Folch) de los distintos depósitos grasos oscilaron en un ámbito muy amplio (17,9-89,7%). Los valores mas elevados correspondieron a los tejidos subcaparaza, peritoneal y perirrenal de "peludo" y los más bajos al tejido peritoneal de intestino grueso de "mulita" y valores intermedios a los restantes.
- 3 - De los estudios de composición acídica (CGL de ésteres metílicos de ácidos totales, antes y después de hidrogenación) se concluye que:
 - a) En ambas especies resultaron ser componentes mayores los ácidos 16:0, 16:1 y 18:2, y 16:1 en la mayoría de las grasas de depósito de "peludo".
 - b) El total de ácidos en C₁₆ (16:0 + 16:1) fue sensiblemente mayor en las grasas de "peludo" (29,9 a 40,5%; "mulita" 20,6-27,2%), las de "peludo" mostraron a 16:0 y 16:1 en mayores concentraciones que las de "mulita".
 - c) Las grasas de "mulita" son de mayor riqueza en el total de ácidos en C₁₈ (18:0, 18:1, 18:2 y 18:3) ("mulita" 62,7-67,4%; "peludo" 51,6 a 62,8%) en este grupo las concentraciones en 18:0 son similares para ambas especies, ligeramente superiores las de 18:1 para "mulita" y sensiblemente mayores las

de 18:2 y 18:3 para esta última especie.

- d) El total de ácidos, principalmente insaturados, en C_{20} y C_{22} es sensiblemente mayor en las grasas de "mulita" (4,4-12,2% frente a 1,3-2,7% en las de "peludo"), observándose en las de "mulita" mayores concentraciones en ΣC_{20} y ΣC_{22} .
- e) Los totales en ácidos de cadena normal C_{10} a C_{15} son mayores en las grasas de "peludo" (4,0-6,6% frente a 2,1-4,8% en las de "mulita"), las de "peludo" presentan mayores concentraciones en 10:0, 12:0, 14:0 y 14:1.
- f) El examen CGL (antes y después de hidrogenación) de los ésteres metílicos de ácidos totales libres de insaponificable de las grasas subcaparazas de ambas especies, permitió revelar la presencia en muy bajas concentraciones, de diversos ácidos ramificados: r15:0, r16:0, r17:0, r18:0, r20:0 y r22:0.

Del examen de los lípidos totales (Folch) de órganos y tejido muscular se deduce:

- 1 - No se observa correlación entre los contenidos en lípidos totales (% de órgano fresco) de los mismos órganos en ambas especies. Se destacan las significativas diferencias entre las dos especies para los contenidos de lípidos totales en tejido muscular, corazón y páncreas, así como el elevado contenido en lípidos totales de glándulas suprarrenales de "peludo" (no pudo determinarse el correspondiente a "mulita") y "

los bajos valores registrados para bazo en ambas especies.

- 2 - Respecto de los contenidos en fosfolípidos de lípidos totales de órganos y tejido muscular, determinados en base a las concentraciones de fosforo lipídico ($P\% \times 25$) y expresadas $\%$ de lípidos totales y $\%$ de órgano fresco, se observó una menor dispersión para los datos referidos a órgano fresco ("peludo" 0,77-2,25% frente a 3,92-50,3% sobre lípidos y para "mulita" 0,53-1,87% frente a 2,93-47,9% sobre lípidos). Existe una correlación mejor entre ambas especies para cada órgano, expresando los contenidos en fosfolípidos sobre órgano fresco. Así, esos contenidos para corazón expresados sobre lípidos totales son 28,6% en "peludo" y 8,67% en "mulita", mientras que los valores calculados sobre órgano fresco son 1,42 y 1,44% respectivamente.

Expresando los contenidos de fosfolípidos en $\%$ de órgano fresco se pudo observar cierta similitud para ambas especies en el ordenamiento según riqueza en fosfolípidos (pulmón, hígado y riñón son los órganos de mayor contenido en "peludo" y riñón, pulmón e hígado en los de "mulita").

- 3 - Respecto a las composiciones acídicas de los lípidos totales (Folch) de los distintos órganos de las dos especies, se deduce que:

a) En el "peludo" el hígado presenta la mayor concentración de 18:0, ΣC_{20} y ΣC_{22} y la menor de 18:1 y 16:1. Los de tráquea registran la máxima concentración de 18:1 y la

- mínima de ΣC_{20} y ΣC_{22} . También es destacable las elevadas concentraciones de ΣC_{20} y ΣC_{22} para los lípidos totales de pulmón, de ΣC_{20} para los de bazo, vejiga, corazón e intestino grueso y de ΣC_{22} para esófago.
- b) Respecto a "mulita", estómago tiene el mayor contenido en 16:1. Bazo, estómago y ambos intestinos presentan la mayor concentración en 18:0 y la menor se registra en hígado, páncreas y esófago presentan la concentración más alta de 18:1 y bazo y pulmón la más baja. Corazón e hígado tienen el mayor contenido de 18:2 y pulmón el menor. Los ácidos poliinsaturados en C_{20} y C_{22} registran su contenido mas alto en pulmón y el más bajo en páncreas.
- c) Al confrontar los valores de composición acídica de lípidos totales de ambas especies surge que en los de "peludo" son mayores las concentraciones de 16:0 y 16:1, en "mulita" las de 18:2, ΣC_{20} y ΣC_{22} y parejas en ambas especies las de 18:0 y 18:1.
- d) De la comparación entre las composiciones acídicas de lípidos totales de órganos y las de grasas de depósito se desprende que para ambas especies son parejas las concentraciones de 16:0, 18:1 y 18:2 en ambos tipos de sustratos, que las concentraciones en 16:1 son mayores en las grasas de depósito y menores en estas últimas las de 18:0 ΣC_{20} y ΣC_{22} (estas últimas sensiblemente menores).

El fraccionamiento por cromatografía en capa delgada (CCD) en escala preparativa de los lípidos totales de órganos, fue precedido por una separación en CCD realizada en las mismas condiciones pero en escala analítica obteniéndose la correspondiente información cualitativa de la que se deduce que:

- a) Etanolaminafosfolípidos, colinafosfolípidos y esfingomielina son los lípidos polares fundamentales, habiéndoselos detectado en todos los órganos estudiados
- b) Lisocolinafosfolípidos y cardiolipina tienen también amplia difusión en los distintos sustratos analizados, pero esta última marca una diferencia notable entre ambas especies, mientras que en "peludo" sólo fue identificada en algunos de los órganos, en "mulita" se la encontró como componente importante de los lípidos polares en todos los órganos estudiados.

La separación preparativa por CCD permitió aislar las fracciones correspondientes a etanolaminafosfolípidos, colinafosfolípidos y lípidos neutros, cuyas composiciones acídicas fueron determinadas por CGL de los correspondientes ésteres metílicos. De los datos obtenidos surge que:

- 1 - Respecto a lípidos neutros, en "peludo" la concentración más alta en 16:0 y la más baja en 18:1 se registra en hígado. Los máximos valores en 18:1 y los mínimos en 16:0 y 16:1 se observan en páncreas e intestino delgado. Corazón presenta el

dato más alto de 16:1 y el más bajo de 18:0 y 18:2. El mayor valor en 18:0 corresponde al bazo y en 18:2 al páncreas, bazo y estómago.

En "mulita" , corazón y riñón son los más ricos en 16:0 y útero el más pobre. Vejiga y pulmón presentan valores máximos para 16:1 cuya mínima concentración se registra en bazo, cuyo contenido en 18:0 es el mayor. Para este ácido la menor concentración se observa en vejiga. Los valores más altos de 18:1 corresponden a útero y músculo y el menor a riñón, mientras que para 18:2 la concentración máxima se da en hígado y la mínima en pulmón.

No se observa correlación entre las dos especies para estos valores extremos. De la comparación de los contenidos en ácidos más importantes entre las dos especies se desprende que en general el "peludo" presenta un mayor contenido en 16:0 y 16:1, la "mulita" en 18:1, 18:2 y poliinsaturados en C_{20} y C_{22} , mientras que para 18:0 es parejo.

2 - Respecto a colinafosfolípidos, en "peludo" las concentraciones máximas de los ácidos más importantes corresponden a: pulmón para 16:0 y 16:1, intestino grueso para 18:0 y 18:1, riñón para 18:2 y páncreas para 20:4. Los valores mínimos se registran en: intestino grueso para 16:0, corazón, riñón y estómago para 16:1, hígado para 18:0, pulmón para 18:1, bazo y pulmón para 18:2 y bazo para 20:4.

En "mulita" en cambio los mayores valores se observan en: útero

para 16:0, pulmón para 16:1, bazo para 18:0, intestino grueso para 18:1 y 20:4 y tejido muscular para 18:2. Los datos mínimos corresponden a: riñón para 16:0, intestino grueso para 16:1, tejido muscular para 18:0, corazón para 18:1, pulmón para 18:2 y estómago para 20:4. No se observa correlación entre ambas especies para estos datos extremos. De un análisis comparativo surge que en general colinafosfolípidos de "peludo" presentan un mayor contenido en 16:0 y 20:4, colinafosfolípidos de "mulita" en 18:0 y 18:2, mientras que para 16:1 y 18:1 es parejo.

- 3 - En etanolaminafosfolípidos los valores extremos de los componentes acídicos más importantes en "peludo" corresponden a: hígado para 16:0 y 18:0, bazo para 16:1, estómago para 18:1, pulmón y útero para 20:4 y corazón para poliinsaturados en C_{22} en cuanto a valores máximos. Los valores mínimos corresponden a: pulmón para 16:0 y 18:0, corazón para 16:1 y 18:1, hígado y páncreas para 20:4 y riñón para poliinsaturados en C_{22} .

El análisis de los valores extremos en "mulita" indica que los máximos corresponden a: hígado para 16:0, 18:2 y ΣC_{22} , vejiga para 16:1 y 18:1, corazón para 18:0 y riñón para 20:4; y los mínimos a: corazón para 16:0, 16:1 y 18:2 (junto con pulmón), vejiga para 18:0 y ΣC_{22} e hígado para 18:1 y 20:4. De la comparación de los datos de composición acídica de etanolaminafosfolípidos de ambas especies surge que no hay

correlación para los valores máximos, que el "peludo" en general presenta mayores valores para 18:1, 18:2 y 20:4; "mulita" para 18:0 y 16:1 y son parejos los de 16:0 y ΣC_{22} .

4 - El ordenamiento cuantitativo de mayor a menor de cada ácido en su contenido en lípidos neutros (LN), colinafosfolípidos (CFL), y etanolaminafosfolípidos (EFL) es practicamente el mismo en ambas especies y la coincidencia es total si los ácidos se expresan en grupos como la Σ de los de igual número de átomos de carbono (ΣC_{16} : CFL>LN>EFL, ΣC_{18} : LN>CFL>EFL, ΣC_{20} : EFL>CFL>LN, ΣC_{22} : EFL>CFL>LN).

5 - Al comparar composiciones acídicas de lípidos neutros de órganos y tejido muscular se observa en "peludo" un grupo de órganos (páncreas, estómago, intestino delgado y grueso y bazo) cuyos valores de composición acídica en lípidos neutros presentan poca dispersión entre sí y son semejantes a los de grasas internas de depósito, salvo menores valores para 16:1, ΣC_{20} y ΣC_{22} . Los restantes órganos (riñón, útero, corazón, pulmón e hígado) también forman un grupo definido, pero presentan valores distintos de composición acídica respecto a grasas de depósito (mayores contenidos en 14:0, 16:0, 16:1 y ΣC_{20} pero menores en 18:0, 18:1 y 18:2).

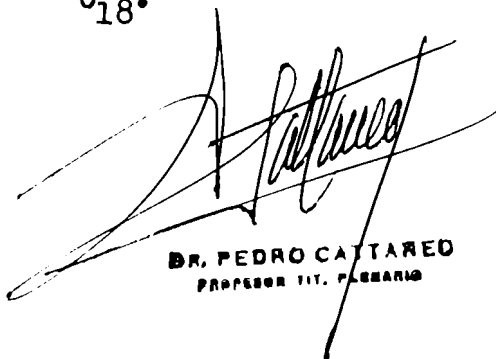
En "mulita" no se observan grupos definidos de órganos y tejido muscular en base a la composición acídica de sus lípidos neutros y de la comparación con las composiciones de las grasas de depósito no surgen similitudes netas.

6 - Teniendo en cuenta los cromatogramas de los ésteres metílicos de los ácidos totales de las fracciones de lípidos neutros, etanolaminafosfolípidos y colinafosfolípidos, la información bibliográfica sobre el comportamiento de plasmalógenos en separaciones por cromatografía en capa delgada, la producción de dimetilacetales de diversos aldehidos a partir de plasmalógenos en los procesos de interesterificación con metanol + ClH, el comportamiento de esos acetales en exámenes por CGL y la estabilidad de los mismos frente a procesos de saponificación, se pudo señalar que:

- a) Los dimetilacetales de hexadecanal y octadecanal son los componentes principales que integran los picos atribuidos en los cromatogramas de ésteres metílicos de ácidos de etanolaminafosfolípidos y colinafosfolípidos, a Σ de 15:1 + r-16:0 + dimetilacetal de hexadecanal y 17:1 + r-18:0 + dimetilacetal de octadecanal.
- b) Las fracciones de etanolaminafosfolípidos de órganos y tejido muscular de ambas especies generan hexadecanal y octadecanal en concentraciones parejas (ligeramente superiores para hexadecanal en "mulita"). En ambas especies la fracción correspondiente a hígado conduce a las más bajas concentraciones en ambos aldehidos, marcadamente inferiores a las registradas para los demás órganos y tejido muscular.
- c) Las fracciones de colinafosfolípidos de órganos y tejido muscular de ambas especies generan hexadecanal en concen-

traciones significativamente superiores a las de octadecanal, registrándose valores despreciables para ambos aldehidos en hígado.

- d) Las concentraciones en lípidos aldehidogénicos no fosforados de los lípidos neutros de ambas especies serían sumamente bajas.
- e) Las experiencias efectuadas sobre la fracción etanolaminafosfolípidos de un "pool" de órganos de "peludo" permitió señalar (a través de los exámenes CGL de los ésteres metílicos y del insaponificable antes y luego de hidrogenación), dimetilacetales de aldehidos en 14:0, r-15:0?, 16:0, 17:0 y 18:0 y probablemente de aldehidos insaturados en C₁₆ y C₁₈.



DR. PEDRO CATTAREO
PROFESOR TIT. FARMACIA



PARTE V
LITERATURA CITADA

Literatura citada

- 1- T.P.HILDITCH y P.N.WILLIAMS, "The Chemical Constitution of Natural Fats", Chapman & Hall, 4^a Ed., Londres, 1964, ps 80, 82, 83, 84, 85, 100, 102, 119, 127, 128, 688.
- 2- J.F. y M.L.GIRAL, J.Biol.Chem., 162, 55, (1946).
- 3- J.F. y M.L.GIRAL, J.Biol.Chem., 162, 61, (1946).
- 4- W.BERGMANN, J.Biol.Chem., 114, 27, (1936).
- 5- G.COLLIN, Biochem.J., 27, 1373, (1933).
- 6- P.G.FAST, Lipids, 1, 209, (1966).
- 7- E.VAN HANDEL, J.Lipid Res., 7, 112, (1966).
- 8- R.WOOD y R.D.HARLOW, Lipids, 4, 163, (1969).
- 9- R.F.HUTCHINS y M.M.MARTIN, Lipids, 3, 247, (1968).
- 10- J.E.KINSELLA, Lipids, 4, 299, (1969).
- 11- P.CATTANEO, G.KARMAN DE SUTTON, y J.C.PENHOS, Anales Asoc. Quim. Arg., 39, 206, (1951).
- 12- T.P.HILDITCH y H.PAUL, Biochem.J., 31, 227, (1937).
- 13- T.G.GREEN y T.P.HILDITCH, Biochem.J., 32, 681, (1938).
- 14- J.F. y M.L.GIRAL, Arch.Biochem., 16, 191, (1948).
- 15- F.GIRAL y A.MARQUEZ, Arch.Biochem., 16, 187, (1948).
- 16- F.GIRAL, Arch.Biochem., 16, 191, (1948).
- 17- P.PATHAK y L.M.DEY, Biochem.J., 62, 448, (1956).
- 18- C.B.POLLARD y J.MC LAUGHLIN, J. Amer. Oil Chem. Soc., 29, 631, (1952).
- 19- Y.D.KARKHANIS y N.G.MAGAR, Biochem.J., 60, 565, (1955).

- 20- F. D. GUNSTONE y R. P. PATON, Biochem.J., 54, 621, (1953).
- 21- F. D. GUNSTONE y W. C. RUSSELL, Biochem.J., 57, 462, (1954).
- 22- S. P. PATHAK y G. D. PANDE, J.Sci.Food Agric., 6, 48, (1955).
- 23- H. BROCKERHOF, R. J. HOYLE, P. C. HWANG y C. LITCHFIELD, Lipids, 3,
24, (1968).
- 24- T. P. HILDITCH, E. C. JONES y A. J. RHEAD, Biochem.J., 28, 786, (1934).
- 25- T. P. HILDITCH, I. C. SIME y L. MADDISON, Biochem.J., 36, 98, (1942).
- 26- F. D. GUNSTONE y W. C. RUSSELL, Biochem.J., 57, 459, (1954).
- 27- F. D. GUNSTONE y W. C. RUSSELL, J.Sci.Food Agric., 8, 287, (1957).
- 28- F. B. SHORLAND y J. P. GASS, J.Sci.Food Agric., 12, 174, (1961).
- 29- J. A. LOVERN, Biochem.J., 32, 2142, (1938).
- 30- E. M. CRUICKSMAN, Biochem.J., 28, 965, (1934).
- 31- A. R. BALDWIN y H. E. LONGENECKER, Arch.Biochem., 5, 147, (1944).
- 32- F. D. GUNSTONE y W. C. RUSSELL, J.Sci.Food Agric., 8, 283, (1957).
- 33- G. CLEMENT y M. L. MEARA, Biochem.J., 49, 561, (1951).
- 34- F. B. SHORLAND, J.Sci.Food Agric., 4, 498, (1957).
- 35- H. E. LONGENECKER y T. P. HILDITCH, Biochem.J., 32, 784, (1938).
- 36- H. E. LONGENECKER, J.Biol.Chem., 128, 645, (1939), 129, 13, (1939),
130, 167, (1939).
- 37- O. DAHL, J.Sci.Food Agric., 13, 520, (1962).
- 38- W. R. H. DUNCAN y G. A. GARTON, J.Sci.Food Agric., 18, 99, (1967).
- 39- G. A. GARTON y W. R. H. DUNCAN, J.Sci.Food Agric., 22, 29, (1971).
- 40- F. D. GUNSTONE y R. P. PATON, Biochem J., 54, 617, (1953).
- 41- N. S. RAJAGOPAL y K. T. ACHAYA, J.Sci.Food Agric., 15, 497, (1964).

- 42- W. W. C. READ y Z. AWDEH, J. Sci. Food Agric., 10, 770, (1963).
- 43- F. B. SHORLAND, R. O. WEENINK, A. T. JOHNS e I. R. C. MC. DONALD, Biochem. J., 67, 328, (1957).
- 44- L. HARTMAN, J. Amer. Oil Chem. Soc., 34, 129, (1957).
- 45- W. W. CHRISTIE y J. H. MOORE, J. Sci. Food Agric., 22, 120, (1971).
- 46- L. J. COOK, T. W. SCOTT, K. A. FERGUSON e I. W. MC. DONALD, Nature, 228, 178, (1970).
- 47- T. W. SCOTT, L. J. COOK y S. C. MILLS, J. Amer. Oil Chem. Soc., 48, 358 (1971).
- 48- R. P. HANSEN y F. B. SHORLAND, Biochem. J., 50, 207, (1950).
- 49- K. EL-SHAZLY, Biochem. J., 51, 647, (1952).
- 50- C. BARKER y T. P. HILDITCH, J. Chem. Soc., 3141, (1950).
- 51- P. PATHAK, B. N. TRIVEDI y S. K. ROY, J. Chem. Soc., 1645, (1959).
- 52- A. W. HUBBARD y W. D. POCKLINGTON, J. Sci. Food Agric., 19, 571, (1968).
- 53- S. P. PATHAK y B. N. TRIVEDI, Biochem. J., 70, 103, (1958).
- 54- F. D. GUNSTONE, Biochem. J., 59, 454, (1955).
- 55- S. S. GUPTA, T. P. HILDITCH y M. L. MEARA, J. Chem. Soc., 3145, (1950).
- 56- L. HARTMAN y A. R. JOHNSON, J. Sci. Food Agric., 15, 127, (1964).
- 57- D. L. CRAMER y J. B. BROWN, J. Biol. Chem., 151, 427, (1943).
- 58- E. CALANDRA y P. CATTANEO, Rev. Soc. Arg. Biol., 24, 275, (1948).
- 59- K. J. KINSBURY, S. PAUL, A. CROSSLEY y D. M. MORGAN, Biochem. J., 78, 54, (1961).
- 60- F. A. KUMMEROW, Science, 126, 698, (1957).
- 61- L. H. KRUT y B. BRONTE-STEWART, J. Lipid Res., 5, 343, (1964).
- 62- J. JACOB y G. GRIMMER, J. Lipid Res., 8, 308, (1967).

- 63- F. D. GUNSTONE, "An Introduction to the Chemistry and Biochemistry of Fatty acids and their Glycerides", Chapman and Hall Ltd., 1967, ps.152, 153.
- 64- A. CABRERA y J. YEPES, "Historia Natural Ediar. Mamiferos Sud-Americanos (Vida, costumbres y descripción)", Cia. Arg. de Editores S.R.L., Buenos Aires, 1940, ps. 235-254.
- 65- E. P. WALKER et al, "Mammals of the world", 2^a Ed., Vol. I, The Johns Hopkins Press, Baltimore, U.S.A., 1968, ps. 492-500.
- 66- J. FOLCH, M. LEE y G. H. SLOANE STANLEY, J. Biol. Chem., 226, 497, (1957).
- 67- M. H. BERTONI y P. CATTANEO, Anales Asoc. Quim. Arg., 47, 52, (1959).
- 68- M. W. DICKS, "Vitamin E content of Foods and Feeds for human and animal consumption", Univ. of Wyoming, Laramie, U.S.A., Bulletin, 435, 1903, ps 20, 31.
- 69- V. C. MEHLENBACHER, "The Analysis of Fats and Oils", The Garrard Press Publ., Champaign, Ill., 1960, p.592.
- 70- W. LANGE, J. Amer. Oil Chem. Soc., 27, 414, (1950).
- 71- J. C. M. SCHOGT, P. H. BEGEMANN y T. KOSTER, J. Lipid Res., 1, 446, (1960).
- 72- M. R. GRIGOR, A. MOEHL y F. SNYDER, Lipids, 7, 766, (1960).
- 73- G. R. BARTLETT, J. Biol. Chem., 234, 466, (1959).
- 74- W. W. MARION, S. T. MAXON y R. M. WANGEN, J. Amer. Oil Chem. Soc., 47, 391, (1970).
- 75- E. KLENK y H. DEBUCH, En "Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids", Pergamon Press, N. York, 1963, Vol. 6, p.1.

- 76- C.PIANTADOSI y F.SNYDER, J.Pharm.Sci., 59, 283, (1970).
- 77- J.W.FARQUHAR, J.Lipid Res., 3, 21, (1962).
- 78- A.BRUCE, J.Lipid Res., 15, 109, (1974).
- 79- S.S.TIONG y H.I.WATERMAN, Chimie et Industrie, 81, 204, (1959).
- 80- H.WAGNER, L.HORHAMMER, P.WOLFF, Biochem.Z., 334, 175, (1961).
- 81- E.STAHL, "Thin Layer Chromatography", Springer-Verlag, Berlin, 1969, ps. 52, 379.
- 82- J.DITTMER y R.LESTER, J.Lipid Res., 5, 126, (1964).
- 83- D.MALLINS y H.MANGOLD, J.Amer.Oil Chem.Soc., 37, 576, (1960).
- 84- V.SLAWSON y J.F.MEAD, J.Lipid Res., 13, 143, (1972).
- 85- W.STOFFEL, F.CHU y E.H.AHRENS, Anal.Chem., 31, 307, (1959).