

Cantidad de vitamina A en aceites de hígado de pescados argentinos ⁽¹⁾

Por ASCENSION O. CASTELLANOS

De las diversas fuentes de vitamina A existentes, las de más valor son los aceites de hígado de pescados, algunos de los cuales contienen a la misma en proporción elevada y en realidad ha sido con vitamina proveniente de ellos con la cual se han realizado los estudios químicos que han permitido establecer sus vinculaciones con los carotenoides, su constitución y finalmente su síntesis total.

Todo esto ha determinado que sean muy numerosos los trabajos realizados sobre el contenido en vitamina en los aceites mencionados.

Sin embargo sobre pescados argentinos no conocemos sino el muy escueto de Reti, que estableció que el aceite de hígado de sábalo, (*Prochilodus Platensis*), contenía vitamina A en proporción bastante elevada, tomando como tipo de comparación el de Hippoglossus, cuyo contenido vitamínico también estudió.

Nosotros hemos tratado de contribuir al mayor conocimiento del contenido en vitamina A en los aceites de hígado de pescados argentinos realizando diversas determinaciones sobre el obtenido de especies comunes en nuestras costas.

La extracción del aceite se ha realizado por tres métodos:

a) Utilizando un disolvente que por ser mixturable con el agua la elimina de los tejidos y a la vez disuelve las grasas contenidas en ellos. El disolvente por nosotros utilizado ha sido la acetona.

(1) Extracto de una tesis de Doctorado en Química presentada a la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.

b) Deshidratando los hígados con sulfato de sodio anhidro y extrayendo el aceite con benzol.

c) Deshidratando y extrayendo las grasas simultáneamente, mediante la formación de mezclas binarias constituidas por el agua contenida en los tejidos y el disolvente utilizado, en nuestro caso el benzol.

DESCRIPCIÓN DE LOS MÉTODOS

1) Empleo de un disolvente mixturable con el agua: acetona.

Se cortan los hígados en trozos muy pequeños, se toman aproximadamente 100 gramos, se colocan en un Erlenmeyer de 1 litro de capacidad, se agrega un volumen de acetona cinco veces mayor que este peso, se agita de cuando en cuando y se deja la mezcla durante una noche en cámara frigorífica. A continuación se filtra la solución acetónica por Buchner, se destila al vacío y el residuo de destilación se toma por 50 ml. de éter. Se tiene así una solución y un residuo constituido por sales, que se separan de aquella por decantación. Llamaremos solución « A » a esta solución etérea.

Mientras tanto el tejido residual obtenido precedentemente, después de haber filtrado la solución acetónica, es tomado por un volumen de éter igual a su peso.

Después de una hora de contacto se separa el extracto etéreo al que llamaremos solución « B ».

Se reúnen las soluciones « A » y « B », se secan con sulfato de sodio anhidro y se destila el éter al vacío.

Nuevamente se toma el residuo por una pequeña cantidad de éter anhidro, unos 30 ml más o menos y se destila otra vez el éter, operación que puede hacerse directamente por evaporación al aire.

Al aceite obtenido se le agrega hidroquinona en la proporción de 0.1 gramos por cada 100 gramos de aceite, como aconseja la monografía del Medical Research Council (1935), habiendo confirmado su eficacia para evitar la oxidación de la vitamina.

2° *Procedimiento*. — Se basa en la deshidratación del material con sulfato de sodio anhidro, con el cual aquél se mezcla, los tejidos ceden el agua a la sal y en consecuencia puede ser extraídos con los disolventes específicos.

En una cápsula de porcelana, se dividen varios hígados para homogeneizar la muestra, se toman de ellos 100 gramos, se colocan en un mortero, se agregan 150 gramos de sulfato de sodio anhidro y se mezclan bien. Cuando el sulfato de sodio agregado es suficiente, la masa se separa fácilmente de las paredes del mortero y toma un

aspecto de sólido friable. Se coloca todo en un Erlenmeyer o en un frasco de boca ancha y se agregan 750 ml. de benzol. Se deja en digestión hasta el otro día agitando de cuando en cuando.

Se filtra por Buchner y se destila el disolvente al vacío, hasta que el aceite residual no tenga olor a benzol. Se guarda como antes se indicó.

3º *Procedimiento.* — Se basa en la deshidratación de los tejidos mediante la formación de mezclas binarias constituídas por el agua y el disolvente graso a utilizar. Dichas mezclas hierven a una temperatura inferior a la del componente de punto de ebullición más bajo. Terminada la extracción del agua, la de las grasas se hace más fácilmente.

El aparato utilizado consta de un Erlenmeyer de boca esmerilada al que se adapta un tubo trampa, por su rama lateral. Al tubo de trampa se adapta también a esmeril un refrigerante a reflujo.

Se cortan los hígados en trozos pequeños en una cápsula de porcelana y a fin de evitar la oxidación se agrega al material unas gotas de solución de hidroquinona al 5 %.

Una vez el material en el Erlenmeyer del aparato se agrega un volumen de benzol tal, que cubra en exceso a los hígados. Se extrae durante cinco a seis horas. Los vapores de agua y benzol condensados en el refrigerante, se depositan en el tubo trampa por orden de densidad. Al aumentar el volumen de la capa de agua la del benceno sube y el disolvente puro se derrama por la rama lateral del tubo trampa, hasta caer en el Erlenmeyer donde se continúa la extracción del aceite. La operación se da por terminada una hora después de que el nivel del agua en el tubo trampa no haya variado con el objeto de asegurar la extracción del agua y una más completa del aceite.

A continuación se separa el Erlenmeyer del aparato, se decanta rápidamente el extracto bencénico y se destila el disolvente al vacío, hasta eliminar lo más completamente posible el benceno del aceite.

De estos tres métodos el de la mezcla binaria fué el que dió el más alto rendimiento en aceite, aunque de un color amarillo rojizo más acentuado, que el obtenido por los otros dos métodos.

RENDIMIENTOS

A continuación indicamos los rendimientos obtenidos con los tres métodos descriptos.

	Rend. máx.	Rend. mín.	Método de extracción
<i>Merluza</i>	25 %	6 %	Acetona.
	40 »	10 »	Deshidratación con sulfato de sodio. Benzol.
	44 »	22 »	Mezcla binaria.
<i>Corvina</i>	25 »	24 »	Acetona.
	38 »	12 »	Deshidratación con sulfato de sodio. Benzol.
	40 » ⁽¹⁾		Mezcla binaria.
<i>Dorado</i>	16 »	12 »	Acetona.
	29 »	9 »	Deshidratación con sulfato de sodio. Benzol.
<i>Brótola</i>	12 »	10 »	Acetona.
	35 »	12 »	Deshidratación con sulfato de sodio. Benzol.
<i>Sábalo</i>	14 »	10 »	Acetona.
	24 »	15 »	Deshidratación con sulfato de sodio. Benzol.
	45 » ⁽¹⁾		Mezcla binaria.
<i>Pescadilla</i>	22 »	1 »	Deshidratación con sulfato de sodio. Benzol.
<i>Tiburoncito</i>	45 »	13 »	Deshidratación con sulfato de sodio. Benzol.
<i>Raya</i>	16 »	8 »	Deshidratación con sulfato de sodio. Benzol.

DOSAJE DE VITAMINA

Las determinaciones se hicieron principalmente por el método Carr-Price, y en algunos pocos casos por el método espectrofotométrico, cuya técnica puede leerse en el trabajo del doctor C. Rietti sobre « Determinación de vitamina A y caroteno en mantecas argentinas ». A continuación se expresa los valores obtenidos por el método Carr-Price expresados en Unidades Internacionales por gramo.

⁽¹⁾ Una sola muestra.

MERLUZA

	Aceite entero Unid. Intern. Mét.			Fracción insaponificable Unid. Intern. Mét.		
	Nº 1	Nº 2	Nº 3	Nº 1	Nº 2	Nº 3
1ª Muestra . .	1282	—	—	1055	—	—
2ª » . .	678	—	—	406	—	—
3ª » . .	1258	1135	—	1919	1758	—
4ª » . .	2453	1439	—	1711	1381	—
5ª » . .	—	1113	—	—	1061	—
6ª » . .	—	1219	1950	—	943	1044
7ª » . .	—	519	583	—	—	—
8ª » . .	—	1737	—	—	1359	—

PESCADILLA

	Aceite entero Unid. Intern. Mét.			Fracción insaponificable Unid. Intern. Mét.		
	Nº 1	Nº 2	Nº 3	Nº 1	Nº 2	Nº 3
1ª Muestra . .	1551	—	—	1759	—	—
2ª » . .	—	1557	—	—	2298	—
3ª » . .	—	574	—	—	597	—

CORVINA

	Aceite entero Unid. Intern. Mét.			Fracción insaponificable Unid. Intern. Mét.		
	Nº 1	Nº 2	Nº 3	Nº 1	Nº 2	Nº 3
1ª Muestra . .	932	—	—	604	—	—
2ª » . .	1081	1388	—	1077	1098	—
3ª » . .	—	1461	2079	—	2170	847
4ª » . .	—	604	—	—	821	—

BRÓTOLA

	Aceite entero Unid. Intern. Mét.			Fracción insaponificable Unid. Intern. Mét.		
	N° 1	N° 2	N° 3	N° 1	N° 2	N° 3
1ª Muestra . .	527	672	—	250	170	—
2ª » . .	—	684	—	—	682	—
3ª » . .	—	752	—	—	—	—
4ª » . .	—	—	—	—	—	122
5ª » . .	—	318	—	—	448	—

DORADO

	Aceite entero Unid. Intern. Mét.			Fracción insaponificable Unid. Intern. Mét.		
	N° 1	N° 2	N° 3	N° 1	N° 2	N° 3
1ª Muestra . .	1812	1301	—	—	—	—
2ª » . .	503	710	—	—	—	—
3ª » . .	—	1173	—	—	1983	—
4ª » . .	—	508	—	—	512	—
5ª » . .	—	243	—	—	234	—
6ª » . .	—	1125	—	—	1130	—

TIBURONCITO

	Aceite entero Unid. Intern. Mét.			Fracción insaponificable Unid. Intern. Mét.		
	N° 1	N° 2	N° 3	N° 1	N° 2	N° 3
1ª Muestra . .	—	466	—	—	383	—
2ª » . .	—	1033	—	—	931	—
3ª » . .	—	1420	—	—	991	—

RAYA

	Aceite entero Unid. Intern. Mét.			Fracción insaponificable Unid. Intern. Mét.		
	Nº 1	Nº 2	Nº 3	Nº 1	Nº 2	Nº 3
1ª Muestra . .	371	381	—	187	271	—
2ª » . .	—	2741	—	—	2767	—

SÁBALO

	Aceite entero Unid. Intern. Mét.			Fracción insaponificable Unid. Intern. Mét.		
	Nº 1	Nº 2	Nº 3	Nº 1	Nº 2	Nº 3
1ª Muestra . .	—	519	—	—	735	—
2ª » . .	—	2255	—	—	2837	—
3ª » . .	519	763	—	229	178	—
4ª » . .	—	2266	1354	—	2159	1755
5ª » . .	—	381	—	—	325	—

En estos cuadros indicamos con Método Nº 1, Nº 2, Nº 3, a los tres métodos de obtención de los aceites; Mét. Nº 1, mediante el empleo de un disolvente mixturable con el agua: acetona.

Mét. Nº 2, extracción del aceite con benzol, previa deshidratación con sulfato de sodio anhidro.

Mét. Nº 3, deshidratando y extrayendo a la vez, mediante la formación de mezclas binarias constituídas por el agua y el disolvente graso utilizado, en nuestro caso el benzol.

MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO

Al emplear el método físico para el dosaje de vitamina A en los aceites obtenidos, sólo encontramos valores satisfactorios y en concordancia con los obtenidos por el método colorimétrico, de acuerdo a lo que diversos autores han hallado también, cuando la concentración de aquéllos en ciclo hexano es aproximadamente igual a 1 %.

En el cuadro que sigue figuran los valores obtenidos en esas condiciones.

Especies	Concentración del aceite en ciclo hexano p/v Mét.		Intens. de absorc. Mét.		Unid. Intern. Mét.		Unid. Intern. Carr-Price Mét.	
	N° 2	N° 3	N° 2	N° 3	N° 2	N° 3	N° 2	N° 3
Corvina	0,97	—	0,48	—	791	—	821	—
Sábalo.	0,98	—	0,25	—	408	—	381	—
Tiburoncito.	0,98	—	0,44	—	714	—	931	—
Dorado.	0,99	—	0,25	—	400	—	234	—
»	0,99	—	0,58	—	935	—	1130	—
Raya.	0,98	—	0,73	—	1174	—	1767	—
Brótola.	—	1,03	—	0,32	—	497	—	432
»	0,99	—	0,27	—	436	—	447	—
Lenguado.	0,99	0,99	0,23	0,62	730	1002	783	981

RESUMEN

A continuación consignamos extractados, los valores obtenidos por el método Carr-Price, por ser el empleado por la gran mayoría de los autores y poder así hacer comparaciones con los obtenidos en diferentes laboratorios.

Los valores están expresados en Unidades Internacionales por 100 gramos de aceite.

Especieo género	Vit. A en U. I. por 100 gr. Carr-Price
Merluza (Género <i>Merluccius</i>)	191,900 - 40,600
Corvina (Génerp <i>Micropogon</i>).	217,000 - 60,400
Pescadilla (Género <i>Cynoscion</i>).	229,800 - 59,700
Sábalo. (<i>Prochilodus Platensis</i>).	283,700 - 22,900
Dorado (<i>Salminus Brevidens</i>).	198,300 - 23,400
Brótola (Género <i>Urophysis</i>).	68,200 - 17,000
Lenguado (Géneros <i>Paralichthys</i> , <i>Hippoglossina</i> , <i>Oncopterus</i>).	98,100 - 78,300
Tiburoncito (<i>Galeus Canis</i>).	99,100 - 38,300
Raya (<i>Myliobatis Aquila</i>).	278,700 - 18,700

CONSIDERACIONES SOBRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

Es un hecho conocido y señalado por varios autores, que la vitamina A es uno de los componentes más variables de los aceites de hígado de pescado. En efecto observando los valores que figuran en la bibliografía, se ve que la cantidad de vitamina varía entre 0,7 y 10 % sin que pueda establecerse en forma clara y terminante la razón de esta diferencia.

Entre las diversas especies estudiadas, la variación del contenido en vitamina A, está en la relación de 1 a 2500.

Los pescados argentinos estudiados no hacen excepción, sino que son una confirmación de esas grandes diferencias halladas por los diversos autores, para un mismo género y aún para una misma especie.

Comparando los datos obtenidos por nosotros con los logrados por otros autores, observamos que de los pescados estudiados, (los cuales son los representantes más abundantes de nuestras costas), la merluza, corvina, pescadilla, sábalo y dorado tienen un valor en vitamina superior al mínimo que exigen la Farmacopea Americana y

Británica, para el aceite de hígado de bacalao, igual a 60.000 U. I. por 100 gramos.

Sin embargo estos valores son inferiores a los hallados para aceites de hígado de pescados de otras especies, que se pescan en cantidad considerable y muchas veces con hígados grandes que son susceptibles de un mayor aprovechamiento.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

La bibliografía general ha sido tomada de los siguientes libros: « Les données et les inconnues du problème alimentaire », de L. RANDOIN y H. SIMONNET; « La chimie des Vitamines et des Hormones », de SIVADJIAN, y de la publicación realizada por el Medical Research Council, (Londres 1932) intitulada « Vitamins: A Survey of present knowledge ».

- A. L. BACHARACH y E. L. SMITH (1934). *The Analyst* 59-170.
A. CHEVALIER y P. CHABRE (1933). *Biochem. J.*, 27-298.
S. K. CREWS y J. S. COX (1934). *The Analyst*, 59-85.
F. H. CARR y E. A. PRICE (1926). *Biochem J.*, 20-497.
F. H. CARR y R. JEWELL (1933). *Nature*, 131-92.
W. DAVIES y D. J. FIELD (1937). *Biochem. J.*, 31-248.
J. C. DRUMMOND (1926). *Lancet*, 1-272.
J. C. DRUMMOND, B. AHMAD y R. A. MORTON (1930). *J. Soc. Chem. Ind.*, 49-291.
F. FUDER (1932). *Biochem. J.*, 26-1118.
J. R. EDISBURY y R. A. MORTON (1935). *Biochem. J.*, 29-1647.
J. R. EDISBURY y R. A. MORTON (1933). *Biochem. J.*, 27-1461.
A. EMMERI (1933). *Nature*, 131-364.
A. E. GILLAM y R. A. MORTON (1931). *Biochem. J.*, 25-1346.
A. D. HOLMES y M. C. PIGOT (1925). *Ind. Eng. Chem.*, 17-310.
A. D. HOLMES (1924). *Ind. Eng. Chem.*, 16-295.
A. D. HOLMES (1924). *Ind. Chem.*, 16-379.
F. G. HOPKINS y H. CHICK (1928). *Lancet*, 1-148.
A. D. HOLMES y CORBET (1937). *Science*, 85-103.
R. C. HUSTON, H. D. LIGHTBODY y CH. D. BALL (1928). *J. Biol. Chem.*, 79-507.
H. F. MUNSELL (1938). *J. of Amer. Med. Assoc.*, 111-245.
K. C. LATHBURY (1934). *Biochem J.*, 28-2254.
J. A. LOVERN (1934). *Nature*, 134-422.
T. MOORE (1930). *Biochem. J.*, 24-692.
N. L. Mc PHERSON (1923). *Nature*, 132-26.
H. MORTON y I. M. HEILBRON (1928). *Biochem J.*, 22-986.
O. NOTEVARP (1935). *Biochem. J.*, 29-1257.
E. POULSON (1926). *Lancet*, 1-320.
L. RETI (1935). *Revista Soc. Arg. Biolog.*, 11-283.
C. T. RIETTI (1936). *Bol. Acad. Nac. Medicina*, pág. 803.
O. ROSENHEIM y T. A. WEBSTER (1926). *Lancet*, 2-806.
O. ROSENHEIM (1927). *Biochem J.*, 21-1329.
A. S. RUIZ (1934). *An. Soc. Esp. Fis. y Quím.*, 32-1217.
H. STEENBOCK, M. T. SELL, E. M. NELSON (1923). *J. Biol. Chem.*, 56-327.

- E. L. SMITH y V. HAZLEY (1930). *Biochem. J.*, 24-1942.
F. B. SHORLAND (1937). *Nature*, 140-223.
J. B. WILKIE (1937). *J. Am. Agri. Chem.*, 20-208.
S. S. ZILVA y J. C. DRUMMOND (1921). *Lancet*, 2-753.
S. S. ZILVA, J. C. DRUMMOND y M. GRAHAM (1924). *Biochem. J.*

Apéndice. — Para una mejor información sobre la distribución en nuestra plataforma continental, de algunos de los peces que hemos estudiado, puede consultarse el trabajo de F. L. BORDALE y A. J. POZZI, publicado en los *Anales de la Sociedad Científica Argentina*, 1935, 120, 145.