

P 163/4

18 JAN 1978

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

**OFFICE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE  
DES PÊCHES MARITIMES**

59, Avenue Raymond Poincaré, 59  
PARIS - VIII<sup>e</sup>

**MÉMOIRES  
DE L'OFFICE DES PÊCHES MARITIMES  
(SÉRIE SPÉCIALE)**

N° 13

**ETUDE ANALYTIQUE  
de quelques  
ACIDES GRAS INSATURÉS  
D'HUILES DE POISSONS**

par

**Pierre BAUDART**

Ingénieur-Chimiste

IMPRIMERIE HUMBERT & FILS  
LARGENTIÈRE  
(Ardèche)



# NOTES ET RAPPORTS DE L'OFFICE SCIENTIFIQUE DES PÊCHES MARITIMES (1)

Les numéros 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, et 28 sont épuisés.

Nos.	Francs	Nos.	Francs
1. Rapport sur la sardine, par L. FAGE.....	25	36. Les Harengs des Smalls et les conditions hydrologiques de leurs migrations, par Ed. LE DANOIS et HELDT (8 fig.).....	60
7. Résumé de nos principales connaissances pratiques sur les maladies et les ennemis de l'huître, par Robert Ph. DOLLFUS (2 <sup>e</sup> éditions) [2 figures]..	40	37. Rapport sur le fonctionnement de l'Office Scientifique et Technique des Pêches pendant l'année 1923 (3 cartes), par L. JOUBIN.....	60
10. Le Contrôle sanitaire de l'Ostréiculture, par le Dr BORNE, F. DIENERT et G. HINARD.....	40	38. La Conservation du Poisson par le sel. Le « rouge » de la Morue salée, par R. FILLON.....	50
17. Nouvelles recherches sur le régime des eaux atlantiques et sur la biologie des poissons comestibles, par Ed. LE DANOIS (avec 3 cartes)....	40	39. Étude sur les déplacements de la pêche du Thon ( <i>Orcynus thynnus</i> L.) en Tunisie et en Méditerranée occidentale (4 figures), par Louis ROULE.....	60
18. Les Coraux de mer profonde nuisibles aux chalutiers (avec une carte et 5 figures), par L. JOUBIN.....	35	40. Compte rendu d'expériences faites dans le Morbihan sur les Huîtres et leur reproduction (5 figures et 2 graphiques), par H. LEENHARDT.....	50
19. Contribution à l'étude de la reproduction des huîtres, comptes-rendus d'expériences faites dans le Morbihan, par M. LEENHARDT (4 planches)...	35	41. Recherches sur les transformations et la nature de l'Iode des <i>L. flexicaulis</i> , par M. P. FREUNDLER et M <sup>lles</sup> Y. MÉNAGER, Y. LAURENT, Y. LELIÈVRE.....	60
20. Études sur l'Esturgeon du Golfe de Gascogne et du bassin Girondin, par Louis ROULE.....	40	42. Rapport sur le fonctionnement de l'Office Scientifique et Technique des Pêches pendant l'année 1924, par L. JOUBIN.....	60
21. Note sur la croissance du Merlu. Variations ethniques et sexuelles, par Gérard BELLOC (avec graphiques et figures).....	50	43. Statistique des régions de pêche (année 1924, 2 <sup>e</sup> semestre), en exécution des Conventions internationales.....	30
22. Contribution de l'Office Scientifique et Technique des Pêches au VII <sup>e</sup> Congrès National des Pêches et Industries Maritimes. Marseille, 1922. Notes de MM. FAGE, FILLON, HELDT, HINARD, JOUBIN, LEENHARDT.....	50	Avec la carte spéciale.....	45
23. Rapport sur le fonctionnement de l'Office Scientifique et Technique des Pêches pendant l'année 1922, par L. JOUBIN.....	35	44. Rapport sur les Pêcheries ou Bouchots de la Baie du Mont Saint-Michel (8 graphiques, 2 figures), par P. CHEVEY.....	60
24. Notes sur l'Ostréiculture aux États-Unis, par J-F. AUDOIN, ingénieur E. C. P.....	60	45. Les traitements préservateurs des filets de pêche en coton, par R. FILLON.....	60
25. Recherches sur la variation de l'Iode chez les principales laminaires de la Côte bretonne, par P. FREUNDLER, Y. MÉNAGER et Y. LAURENT.....	60	46. Statistique des régions de pêche (année 1925, 1 <sup>er</sup> semestre).....	35
26. Recherches effectuées au cours des Croisières de l'Ouest dans la Méditerranée en 1921-1922, par G. PRUVOT.....	60	47. L'huître portugaise tend-elle à remplacer l'huître française ? par G. RANSON.....	50
27. Les Courants de Marée au Bateau-Feu du « Sandettié », par H. HELDT.....	40	48. Études diverses sur la question du Hareng (20 fig.), par Jean LE GALL.....	60
29. Décret portant règlement sur la salubrité des huîtres et autres coquillages (31 juillet 1923).....	40	49. Rapport sur le fonctionnement de l'Office Scientifique et Technique des Pêches pendant l'année 1925, par Ed. LE DANOIS.....	60
30. Études des vitamines des mollusques. Présence du facteur anti-scorbutique chez l'huître, par M <sup>me</sup> L. RANDOIN et P. PORTIER.....	40	50. Travaux de l'Office des Pêches Maritimes depuis son origine, par Ed. LE DANOIS.....	60
31. Les Fonds ostréicoles de la Seudre et du Belon, par G. HINARD.....	50	51. Statistique des régions de Pêche (année 1925, 1 <sup>er</sup> semestre et année 1926, 1 <sup>er</sup> semestre).....	35
32. Nouvelle Contribution à l'Étude de l'Esturgeon ( <i>Acipenser sturio</i> L.) dans l'Europe occidentale et de sa diminution progressive, par L. ROULE...	60	52. Rapport sur le fonctionnement de l'Office Scientifique et Technique des Pêches pendant l'année 1926, par Ed. LE DANOIS. Ce rapport contient la statistique des régions de Pêche (année 1926, 2 <sup>e</sup> semestre).....	60
33. Remarques sur quelques Ports de Pêche de l'Amérique du Nord. Notes de mission, par Ed. LE DANOIS (avec planches et figures).....	60	53. La pêche à la morue, par M. BRONKHORST (nombreuses figures et cartes).....	60
34. Recherches sur le Régime des Eaux Atlantiques et sur la Biologie des Poissons comestibles (3 série), avec figures et cartes, par Ed. LE DANOIS et Gérard BELLOC.....	60	<b>Nouvelle Série</b>	
35. Les conditions de la Pêche à la Morue sur le Banc de Terre-Neuve, par Ed. LE DANOIS (13 figures et 1 planche hors texte).....	70		Francs
		1. L'Industrie du fer blanc et des emballages métalliques, par René LEFAUX. (un vol. 80 pp. 20 fig.)	100
		2. Valeur nutritive et thérapeutique de l'Huître par le Dr Jean Victor LE GALL (Un vol. 80 pp. 5 fig.)	100
		3. Bibliographie Analytique des Publications de l'Office Scientifique et Technique des Pêches Maritimes. (A paraître sous peu).....	200

ETUDE ANALYTIQUE  
de quelques  
**ACIDES GRAS INSATURÉS**  
D'HUILES DE POISSONS

par

**Pierre BAUDART**

Ingénieur-Chimiste

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

**OFFICE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE  
DES PÊCHES MARITIMES**

59, Avenue Raymond Poincaré, 59  
PARIS - VIII<sup>e</sup>

**MÉMOIRES**  
**DE L'OFFICE DES PÊCHES MARITIMES**  
(SÉRIE SPÉCIALE)

N° 13

**ETUDE ANALYTIQUE**  
de quelques  
**ACIDES GRAS INSATURÉS**  
**D'HUILES DE POISSONS**

par

**Pierre BAUDART**

Ingénieur-Chimiste

IMPRIMERIE HUMBERT & FILS

LARGENTIÈRE

(Ardèche)

## PRÉFACE

---

*L'aboutissant normal de l'accroissement des connaissances théoriques est l'élargissement du champ des applications pratiques. Celles-ci, à leur tour, conduisent les techniciens à poursuivre leurs recherches dans des directions nouvelles. C'est ainsi que se développe, par l'acquisition de méthodes et de débouchés nouveaux, l'exploitation des richesses naturelles.*

*La science du poisson, dans son polymorphisme, en est un exemple frappant.*

*Primitivement, la pêche était pratiquée à des fins uniquement alimentaires ; mais parallèlement à l'augmentation du tonnage capturé, les progrès aussi rapides que surprenants de la chimie ont donné une importance croissante à la partie non comestible, aux déchets des animaux marins.*

*L'exploitation de ces « sous-produits » de la pêche est en passe de devenir une richesse nationale. Elle exigerait, cependant, un personnel nombreux de chercheurs et de techniciens avertis.*

*Malheureusement, le travailleur français qui désire orienter son activité vers ces études passionnantes ne trouvera que bien rarement des ouvrages complets et détaillés traitant, en sa langue, du sujet qui le préoccupe.*

*Il lui faudra puiser dans une volumineuse documentation éparsée dans toutes les littératures scientifiques, essayer diverses techniques pour en faire un choix, et perdre ainsi un temps précieux.*

*Il en est ainsi pour les huiles de poissons, et, peut être, est-ce là l'une des raisons pour lesquelles, les vitamines exceptées, l'étude approfondie de leur composition ait découragé bon nombre de nos chimistes tandis qu'à l'étranger des équipes s'y attelaient avec succès.*

*Aussi faut-il savoir gré à M. BAUDART de s'être spécialisé dans cette branche et de nous présenter son « **Etude analytique de quelques acides gras insaturés d'huiles de poissons** ».*

*L'Auteur a le grand mérite de nous faire profiter de son expérience. Les techniques qu'il emploie, il les a choisies et éprouvées ; il pousse le scrupule jusqu'à nous les présenter dans leurs plus petits détails.*

*Peut-être, conséquence normale du progrès, l'évolution continuelle de la recherche fera-t-elle que certaines soient dépassées à plus ou moins brève échéance ? Il n'en demeure pas moins que ce travail constitue maintenant une base solide et indispensable aux chercheurs.*

*Au cours de son développement nous trouvons, en effet, un précis des méthodes générales utilisées, puis, leur application à des cas particuliers.*

*Le tout est présenté sous une forme qui doit permettre à un bon chimiste non spécialisé de reproduire avec succès sur des huiles de poissons de diverses origines toutes les manipulations indispensables à la connaissance de leur composition.*

*Puisse ce travail si documenté et si consciencieux en susciter d'autres qui nous feront mieux connaître les huiles des animaux marins et en découvrir de nouvelles applications dans le domaine industriel ou biologique.*

*Ce serait-là un aboutissant normal auquel M. BAUDART a certainement songé lorsqu'il a pris la responsabilité de dévoiler, avec compétence et désintéressement, le fruit de son expérience.*

P. CREACH

D<sup>r</sup> Sc. Chef du laboratoire  
de Biochimie de l'Office Scientifique  
et Technique des Pêches Maritimes

---

## INTRODUCTION

A une époque où le monde connaît une pénurie généralisée de matières grasses, il est particulièrement intéressant de tourner ses regards vers les huiles d'animaux marins qui fournissent déjà un appoint important, et seraient même susceptibles de combler totalement le déficit si elles étaient l'objet d'une exploitation accrue et rationnelle.

Ces huiles sont utilisées depuis la plus haute antiquité chez les populations des régions froides du globe, à des fins alimentaires et d'éclairage. Il est évident que cette source de matière grasse était à peu près la seule qui fût à la disposition des dites populations. Il semble également que l'usage des huiles de poissons dans la préparation des cuirs soit très ancienne et répandue dans le monde entier. Un nouveau pas fut franchi vers le milieu du XIX<sup>me</sup> siècle lorsque l'huile de foie de morue entra dans la pharmacopée. Mais l'odeur particulière et désagréable des huiles d'animaux marins a, jusqu'à ces dernières années, limité leurs applications industrielles.

Depuis une cinquantaine d'années on les utilise pour certains produits de qualité inférieure en savonnerie, graissage, etc..., après désodorisation plus ou moins incomplète par de nombreux procédés, décrits dans une foule de brevets. Autrement dit, l'utilisation de ces huiles est liée directement aux progrès de la chimie ; chaque étude sur leur compte est un nouveau pas vers une meilleure utilisation.

Au cours des différentes recherches sur la désodorisation des huiles d'animaux marins, on a finalement constaté que l'hydrogénation poussée presque jusqu'à la saturation était le seul moyen d'éliminer complètement et surtout définitivement leur odeur et leur goût, les rendant propres à de nombreux usages, y compris les usages alimentaires. Ceci suppose évidemment un potentiel industriel suffisamment poussé, pour que le prix de revient d'une hydrogénation ne soit pas prohibitif. En conséquence, dans le domaine des huiles de poissons comme dans tous les autres, les U.S.A. devaient acquérir au cours des récentes années, une nette prépondérance.

Les principales utilisations des huiles d'animaux marins sont les suivantes :

- savonnerie, graisses alimentaires, stéarinerie, après hydrogénation.
- Huiles siccatives pour peintures, vernis et dérivés après élimination des glycérides ou des acides gras saturés et faiblement insaturés, par cristallisation à basse température avec ou sans dilution dans un solvant, ou distillation sous pression réduite des acides gras. Dans ce dernier cas on réestérifie ultérieurement par le glycérol ou un autre polyalcool,
- Industrie des cuirs (chamoiserie, « nourriture »), soit à l'état pur, soit après avoir rendu l'huile dispersable en milieux aqueux (sulfonation).
- Usages médicaux et vétérinaires (foie de morue, de squales) après raffinage, ou extraction des vitamines A et D par distillation moléculaire ou chromatographie.

On range sous le nom d'huiles d'animaux marins, une grande variété de corps gras, extraits non seulement d'espèces zoologiques différentes, mais aussi de différentes parties anatomiques de l'animal : foie, corps, tête, principalement. En règle générale, ces huiles se différencient de celles qui sont extraites des végétaux et animaux terrestres par leur teneur plus ou moins élevée en acides gras à forte insaturation, pouvant comporter

jusqu'à 6 et 7 doubles liaisons, alors que les acides gras végétaux terrestres ont leur insaturation limitée à trois doubles liaisons (acide linoléique ou acide oléostéarique), et que les corps gras d'animaux terrestres ont des acides comportant au maximum 3 et 4 doubles liaisons ; ces derniers en très faibles quantités d'ailleurs. Il est très intéressant de constater d'autre part, que les lipides de reptiles et oiseaux aquatiques, de végétaux marins contiennent de faibles quantités d'acides fortement insaturés, analogues à ceux des huiles de poissons (1 - 2). Ainsi, la nature nous offre une gradation continue et parfaite entre toutes les espèces d'huiles animales et végétales répandues à la surface du globe. Une étude chimique et biologique poussée dans cette voie révélerait sans aucun doute une série de vues et de faits du plus grand intérêt.

Bien que le présent travail ne traite en aucune façon des substances dites insaponifiables des lipides d'animaux marins, il est important de signaler dans certaines huiles une teneur élevée en alcools supérieurs de la série grasse : oleylique et cétylique par exemple. Ceux-ci peuvent exister soit à l'état libre dans l'huile, soit sous forme d'esters ; c'est le cas du blanc de baleine et des huiles de cachalot. Ces dernières constituent d'ailleurs une des sources industrielles d'alcools gras. D'autres huiles possèdent une teneur très élevée en hydrocarbures fortement insaturés (squalène, spinacène), jusqu'à 85 % dans certaines huiles de foies de squales.

Ainsi, abstraction faite de ces constituants insaponifiables, le grand intérêt chimique des huiles d'animaux marins réside dans leurs acides gras insaturés. Depuis une cinquantaine d'années on a constaté leur présence, on leur a attribué plusieurs noms, plusieurs longueurs de chaîne, plusieurs degrés d'insaturation, on a tantôt admis la présence d'une seule espèce d'acide insaturé, tantôt de plusieurs ; mais ces connaissances forment un chaos assez confus jusqu'aux recherches de TSUJIMOTO, véritable maître de la chimie des huiles d'animaux marins. En 1920 (3) il isole un acide à l'état à peu près pur, possédant 22 atomes de carbone et 5 doubles liaisons et le nomme acide clupanodonique, ce nom représentant désormais une espèce chimique définie. Dès cette époque TSUJIMOTO et ses élèves poursuivent leurs recherches par des méthodes tout à fait rationnelles et cohérentes. A l'heure présente, les connaissances sur la question se sont sérieusement éclaircies et précisées. Il est nettement établi que les huiles d'animaux marins contiennent comme les huiles végétales et animales terrestres, des quantités importantes d'acides oléique, palmitique, stéarique, myristique, palmitoléique (hexadécénoïque). Elles contiennent en outre, en quantités plus ou moins faibles, des acides monoéthyléniques à 12, 14, 20, 22, 24 atomes de carbone.

Parmi les acides fortement insaturés, les plus connus et ceux sur lesquels on a les connaissances les plus certaines et concordantes, sont les acides à 20 atomes de carbone tétra et pentaéthyléniques et à 22 atomes de carbone penta et hexaéthyléniques.

Un certain nombre d'autres acides fortement insaturés, moins connus, moins abondants, mais sans doute aussi répandus que les précédents, sont à signaler ; ils sont penta et hexaéthyléniques à 24 et 26 atomes de carbone, et tétraéthyléniques à 18 atomes de carbone.

Entre les acides à forte insaturation et les acides monoéthyléniques, et à part l'acide triéthylénique en C 16 on a rarement étudié des termes à insaturation moyenne à deux ou trois doubles liaisons, du type linoléique ou linolénique. Il semblerait qu'ils se rencontrent en très faibles quantités, ce qui rend leur isolement difficile ou même impossible. Une partie du présent travail sera consacrée à l'étude de ces acides.



## CHAPITRE I

# Propriétés générales des acides gras fortement insaturés

---

### I. — Importance pratique des acides gras fortement insaturés

Les acides fortement insaturés, au point de vue industriel, constituent, suivant le cas, la partie intéressante ou la partie nuisible des huiles d'animaux marins. Ils sont à l'origine de l'odeur caractéristique et désagréable de ces huiles. Certains auteurs (4) admettent que l'odeur est due à la fois à l'oxydation des glycérides fortement insaturés et à la présence de produits insaponifiables azotés. En ce qui nous concerne, nous avons trouvé que les acides gras purs, débarrassés des produits insaponifiables, et plusieurs fois rectifiés et fractionnés de diverses manières, exposés à l'air, ne tardent pas à posséder une odeur caractéristique de «poisson». Ainsi, à notre avis, les produits insaponifiables ne serviraient qu'à modifier l'odeur dégagée par les acides gras et les huiles oxydées et à leur donner une nuance différente suivant les variétés d'huiles. Il est en effet facile de constater que si les huiles brutes ont entre elles des odeurs plus ou moins différentes, les acides gras fortement purifiés conduisent à des odeurs identiques. L'odeur des huiles de poissons ne disparaît que par une hydrogénation poussée à un stade tel, qu'il n'existe plus de chaînes possédant plus d'une double liaison. Une hydrogénation incomplète ne fait disparaître l'odeur que momentanément.

Sur un autre plan, les acides gras fortement insaturés justifient l'emploi des huiles d'animaux marins comme huiles siccatives, bien qu'elles ne donnent pas en général de si beaux films que les huiles de lin ou de tung, même dans les cas les plus favorables. Ceci peut s'expliquer aisément si l'on considère la forme des insaturations respectives des huiles siccatives végétales et des huiles de poissons. Les acides linoléique et oléostéarique qui sont les constituants actifs des premières, ont leurs doubles liaisons assemblées dans une partie de la molécule sous la forme de groupements  $=CH. CH_2. CH =$  ou  $=CH. CH =$  alors que les huiles de poissons ont leurs acides fortement insaturés constitués principalement par des groupes  $=CH(CH_2)_2 CH =$  et  $=CH. CH_2. CH =$  répartis avec un équilibre certain dans toute la molécule. Les mécanismes d'oxydation et de siccation ne peuvent donc pas être identiques dans les deux cas.

En dehors de ces différences internes moléculaires, les huiles de poissons ont une teneur élevée en acides saturés ou monoéthyléniques, qui diminue considérablement leur pouvoir siccatif. À l'état pur on ne peut les utiliser qu'en mélange avec les huiles siccatives végétales et pour des peintures ou vernis de qualités secondaires. On les améliore fortement en éliminant leur glycérides ou leurs acides gras peu ou pas saturés, par cristallisation à basse température dans un solvant approprié (acétone). Le traitement des acides gras donne de meilleurs résultats que celui des glycérides, mais nécessite une réestérification ultérieure des fractions intéressantes par du glycérol ou tout autre poly-alcool. D'une autre manière, se basant sur le fait que les acides gras saturés ou monoéthyléniques sont presque tous rassemblés dans le groupe des acides à 16 et 18 atomes de carbone, alors que les acides fortement insaturés ont généralement 20, 22 et 24 atomes de carbone, on élimine les premiers, plus volatils, par distillation sous pression réduite. Là encore, il est nécessaire de réestérifier les fractions fortement insaturées.

Dans le chamoisage et la nourriture des cuirs, les huiles de poissons donnent au contraire des résultats plus intéressants que les huiles siccatives ; ceci est encore lié sans aucun doute à la forme de l'insaturation des acides gras. Dans ce cas, comme dans celui de la siccation, les phénomènes chimiques mis en jeu ont fait l'objet de nombreuses hypothèses et de nombreuses recherches, mais sont loin d'être parfaitement élucidés. Il est bien évident qu'une meilleure connaissance des dits phénomènes, de la constitution et des propriétés des huiles d'animaux marins, permettront d'utiliser ces dernières dans des conditions aussi bonnes que celles des meilleures huiles siccatives.

## II. -- Séparation analytique des acides gras fortement insaturés

L'étude systématique des acides gras des huiles d'animaux marins a longtemps été retardée par des difficultés de séparation. Alors qu'il est aisé de séparer d'une façon précise les acides saturés des acides insaturés, ou plus exactement, les acides « concrets » et « fluides », il est déjà très difficile d'isoler les uns des autres les différents acides saturés ; les point d'ébullition et les solubilités des termes voisins dans la série étant très rapprochés. Lorsqu'on s'attaque à la séparation des acides « fluides », les difficultés deviennent très grandes, même dans le cas des huiles végétales où les espèces chimiques sont peu nombreuses. Dans les huiles de poissons, la grande diversité des acides en présence, et leurs propriétés physiques et chimiques très voisines, rendent nécessaires des fractionnements répétés et progressifs.

La méthode de précipitation des acides par fixation de brome sur les doubles liaisons, au sein d'un solvant (généralement éther sulfurique), ne fait que déplacer la difficulté, car le précipité de bromures insolubles contient toutes les variétés d'acides fortement insaturés existant dans l'huile et il est à peu près impossible de séparer les différents polybromures les uns des autres. En outre, comme dans le cas des acides gras végétaux, le brome produit une stéréoisomérisation des acides insaturés, et pour chaque variété, une partie seulement (voisine de 50 %) est précipitée à l'état de polybromure solide ; l'autre partie fournit des bromures huileux solubles, mélangés aux bromures des acides monoéthyléniques et aux acides saturés. Après débromuration des bromures solides et huileux, on obtient d'une part, un mélange d'acides fortement insaturés, d'autre part, un mélange de tous les acides primitifs. Il faut signaler également que la débromuration des

polybromures solides des huiles de poissons est très laborieuse. Le bilan de l'opération est donc peu intéressant.

Il a fallu disposer d'une méthode de séparation pratique, souple et suffisamment sélective pour rendre possible l'étude des acides gras d'huiles d'animaux marins. Ainsi, du jour où TSUJIMOTO a mis au point sa méthode de séparation utilisant les différences de solubilité dans l'acétone des savons de lithium des acides gras fortement insaturés, l'étude des huiles de poissons a progressé rapidement. TOYAMA et ses collaborateurs ont utilisé de préférence les savons de sodium ; ces derniers, comme ceux de lithium, sont d'autant plus solubles dans l'acétone faiblement aqueuse ou alcoolique, que l'insaturation de l'acide est plus forte. Cette méthode joue dans le sens des insaturations croissantes, le même rôle que la distillation fractionnée, dans le sens des poids moléculaires croissants. Aussi, par une association judicieuse des deux procédés, on peut, par des fractionnements répétés, obtenir tel ou tel acide, avec un degré de pureté d'autant plus grand que les opérations sont effectuées un plus grand nombre de fois.

Lorsqu'on étudie les fractions saturées ou faiblement insaturées des acides gras, on doit évidemment s'adresser aux méthodes de séparation classiques utilisées pour les huiles végétales. Une des plus intéressantes, eu dehors bien entendu de la distillation fractionnée, est celle qui utilise les différences de solubilité des savons de plomb dans l'alcool éthylique.

### III. — Fragilité des molécules d'acides gras fortement insaturés

Les acides fortement insaturés, isolés, soit sous forme d'acide libre, soit sous forme d'ester, doivent être soumis le plus rapidement possible à une étude individuelle. Ils sont très sensibles aux phénomènes d'oxydation et de polymérisation.

Exposés à l'air, leurs caractéristiques chimiques se modifient rapidement. En général, leur indice d'iode décroît fortement, leurs indices de saponification ou de neutralisation varient très peu, ils acquièrent une teneur en groupements hydroxylés croissante, ils donnent des fractions insolubles dans l'éther de pétrole de plus en plus importantes, ils répandent une odeur de plus en plus désagréable.

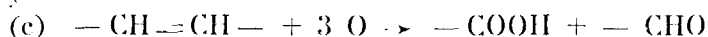
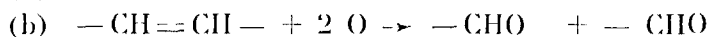
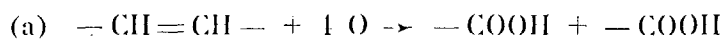
Ces phénomènes permettent d'indiquer grossièrement les réactions dont les molécules sont le siège. Formation de groupements hydroxylés ou carbonylés sur les doubles liaisons, ce qui explique à la fois la diminution de l'indice d'iode, l'augmentation de l'indice d'hydroxyle, l'insolubilisation dans l'éther de pétrole. Ces phénomènes devraient cependant provoquer une diminution des indices de neutralisation ou de saponification. Le peu de variation de ces valeurs indiquerait des scissions oxydantes de la molécule avec formation de nouveaux groupements carboxylés. L'apparition de l'odeur serait due à la fois aux groupements osmophores carbonylés et aux acides à faible poids moléculaire, issus des scissions oxydantes. Ceux-ci, par leur présence, expliqueraient aussi en partie le mauvais processus de siccation des huiles d'animaux marins.

En dehors des réactions d'oxydation, il est facile de mettre en évidence des réactions de polymérisation se produisant à l'abri de l'air et de la lumière. Nous ne pouvons mieux faire que de citer les résultats d'une de nos expériences plus ou moins involontaire. Dans un petit flacon, nous avons enfermé 10 g environ d'esters méthyliques d'acides gras fortement insaturés ; l'indice de saponification de cet échantillon était de : 168,3, son

indice d'iode : 324 ; le flacon était rempli entièrement, bouché par un très bon bouchon de liège, bouchon et goulot paraffinés ensuite soigneusement. Le tout a été abandonné dix-huit-mois environ à la température du laboratoire, dans une obscurité à peu près complète. Au bout de ce temps, les indices étaient devenus : 167,9 pour l'indice de saponification, 272 pour l'indice d'iode, l'odeur était à peu près inexistante. Nous avons alors effectué une distillation du produit sous 0,5 mm de Hg et avons obtenu 70 % environ d'ester méthylique d'indice de saponification 168,8 d'indice d'iode 317 (valeurs voisines de celles d'origine) et 30 % de résidu indistillable, très visqueux, d'indice de saponification 137,5, et d'indice d'iode 133. Ces résultats semblent bien indiquer que la polymérisation se produit même à froid ; le mécanisme de la condensation s'effectuant principalement par les doubles liaisons, et légèrement par les groupes carboxylés. Les scissions et la naissance d'odeur dans les molécules ne se produiraient pas en l'absence d'oxygène.

#### IV. — Scission oxydante contrôlée des acides gras insaturés

Lorsqu'on a isolé à l'état à peu près pur, après un nombre de fractionnements convenables, un échantillon de tel ou tel acide insaturé, un des premiers problèmes qui se posent est celui de la position de ses doubles liaisons. Il existe actuellement plusieurs méthodes conduisant à ce résultat ; toutes tendent à provoquer une rupture au niveau de la double liaison, avec formation, soit de deux groupements carboxylés, soit de deux groupements carbonyles, soit de l'un et de l'autre.



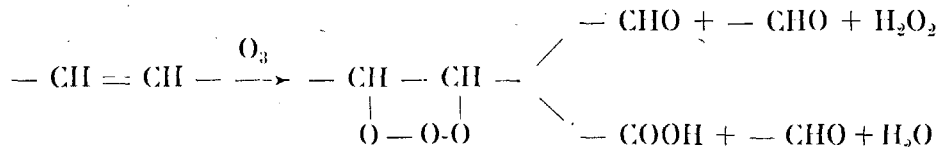
Dans tous les cas, les acides ou aldéhydes à chaîne courte formés, peuvent s'isoler et s'identifier assez facilement ; ce qui permet d'établir la formule de l'acide éthylénique primitif.

N'importe quel agent oxydant, utilisé de n'importe quelle manière, ne convient pas pour ces oxydations. Certains ne produisent aucune réaction, d'autres l'arrêtent au stade d'une dihydroxylation suivant le schéma :



c'est le cas de l'eau oxygénée et de certains persels ou peracides. D'autres dépassent le stade d'une rupture aux doubles liaisons et provoquent de nombreuses autres ruptures dans la molécule ; c'est le cas de l'acide nitrique chaud. D'autres encore présentent une plage d'action étroite et difficilement contrôlable. Par exemple, le permanganate de potassium en solution aqueuse froide, agissant sur un sel alcalin d'acide éthylénique, produit une dihydroxylation du type (d) ; lorsque la température s'élève, il y a rupture désordonnée de la molécule, et il est à peu près impossible de limiter la zone où la rupture oxydante s'effectue correctement. Par contre, le même permanganate, utilisé différemment, par action sur un ester de l'acide éthylénique dissous dans l'acétone ou l'acide acétique pur est un oxydant de choix, conduisant aux ruptures cherchées (du type a) avec un rendement presque quantitatif.

L'ozone donne aussi d'excellents résultats. Dans l'étude des acides gras, il est intéressant d'effectuer l'oxydation en deux phases : action de l'ozone sur l'ester de l'acide éthylénique en solution dans un solvant inoxydable par l'ozone, puis hydrolyse du produit formé. Dans la première opération, l'ozone se fixe sur les doubles liaisons avec formation d'un ozonide. L'hydrolyse ultérieure conduit à une rupture du type (b) ou du type (c)



Tous ces mécanismes d'oxydation, bien que paraissant simples, sont en réalité assez complexes et loin d'être élucidés totalement quant à la nature des composés intermédiaires formés. Au point de vue pratique, pour l'étude des acides gras éthyléniques, les deux méthodes à retenir de préférence sont : l'oxydation permanganique dans l'acétone et la rupture par l'ozone.

L'oxydation modérée, du type (d), présente un intérêt différent ; les acides hydroxylés sont des solides cristallisés à point de fusion bien défini, et qui par conséquent peuvent servir à identifier les acides éthyléniques. Mais, suivant l'oxydant employé, eau oxygénée et dérivés, ou permanganate alcalin aqueux, on obtient pour un même acide, d'une même formule spatiale, deux acides hydroxylés racémiques. On voit ainsi que pour un acide monoéthylénique de formule linéaire donnée, il existe quatre acides dihydroxylés, soit un mélange racémique correspondant à la forme cis, et un autre correspondant à la forme trans. Le nombre de stéréoisomères devenant de plus en plus grand, à mesure que l'insaturation croît, ce mode d'identification est nettement inutilisable dans le cas des acides polyéthyléniques.

Revenant au cas des scissions oxydantes des molécules polyéthyléniques, le problème ne sera pas toujours entièrement résolu lorsque on aura mis en évidence les différents maillons de la chaîne hydrocarbonée ; il faudra encore mettre en évidence leur position dans la molécule primitive. Pour ceci, on effectue une nouvelle oxydation de la molécule après « blocage » de certaines doubles liaisons d'emplacement relatif connu. L'étude des nouveaux produits d'oxydation permet par recoupement de situer les emplacements respectifs des doubles liaisons, dans la molécule primitive. Pour bloquer les doubles liaisons, on utilise, soit l'hydrogène ou le brome qui se fixent de préférence sur les doubles liaisons les plus éloignées du groupe carboxylé, soit le sulfocyanogène qui se fixe au contraire sur les doubles liaisons les plus rapprochées de ce groupe carboxylé. Heureusement, il existe dans les molécules polyéthyléniques des huiles d'animaux marins, une assez grande symétrie, qui rend rarement nécessaires de telles opérations.

## CHAPITRE II

# Technique opératoire

---

Le présent travail est une étude aussi poussée que possible des acides gras insaturés, caractéristiques des huiles d'animaux marins. Effectué à Marseille, entre 1910 et 1915, il s'est heurté à un certain nombre de difficultés soit dans l'obtention des matières premières et des réactifs soit dans la réalisation des modes opératoires. En conséquence, et dans le but de guider utilement un chercheur éventuel, nous indiquerons, tout en décrivant fidèlement notre technique opératoire, telle ou telle modification qui à notre avis pourrait simplifier ou améliorer le travail.

Une grande partie de ces recherches a été publiée à mesure que sa réalisation se poursuivait, dans le «Bulletin de la Société Chimique de France» (5), ce qui impliquait nécessairement une certaine disparité dans un travail qui exigerait au contraire une homogénéité la plus parfaite possible. La présente publication doit remédier à ce défaut. Nous pensons qu'il est plus intéressant de classer les recherches par variétés d'acides étudiés, plutôt que de la faire par ordre chronologique du travail ou par variétés d'huiles étudiés ; car nous avons souvent été dans l'obligation d'abandonner telles recherches pour en poursuivre une autre, revenant par la suite aux premières.

Il existe un écueil dans ce genre de présentation : les modifications imposées par l'expérience ne se trouvent pas dans un ordre utile ; nous nous proposons de souligner ces modifications chaque fois que cela sera nécessaire, afin de guider le lecteur dans le sens des méthodes que nous estimons les meilleures.

Les variétés d'huiles étudiées sont au nombre de quatre :

- Huile de foie de «Carcharodon Carcharias»  
(Requin de la Méditerranée)
- Huile de foie de morue de Norvège —
- Huile de thons du Maroc —
- Graisse de poissons d'Indo-Chine —

Les trois premières sont de pureté et d'origine certaines, extraites par cuisson à l'eau des foies, dans le cas du «Carcharodon» et des morues, des déchets dans le cas des thons du Maroc. La graisse de poissons d'Indo-Chine est de provenance commerciale et

appartient à une grande variété de poissons d'eaux douces du Tonlé-sap, mélangée sans doute à des huiles de poissons des côtes maritimes d'Indo-Chine.

Les caractères chimiques principaux de ces huiles sont les suivants :

	Carcharodon	Morue	Thon	Poissons d'Indochine
Indice de saponification .....	192,5	183,2	181,5	199,5
Indice d'iode .....	118,8	159	158	91
Insaponifiable .....	2,7 %	1,8 %	1,3 %	
Acides gras concrets .....	25,6 %			32 %
Acides gras bromés insolubles dans l'éther sulfuri- que .....				9,5 %
Teneur en brome des bromures .....				68,1 %

Nos méthodes de fractionnement et d'analyse se répétant un très grand nombre de fois et étant toujours identiques quant à leur processus opératoire, nous nous proposons de les décrire en détail dans ce chapitre, sans spécification chiffrée particulière, mais en insistant sur les tours de mains opératoires. Les détails qui sont de la plus haute importance dans l'étude des acides gras d'huiles d'animaux marins, se trouveront ainsi centralisés, sans être dispersés au cours des descriptions ultérieures. Celles-ci pourront être condensées sous forme de tableaux de résultats et d'expressions chiffrées rapides, indiquant les quantités des matières premières et de réactifs mises en jeu. Cette méthode de présentation évite un chaos descriptif long et fastidieux, qu'il est à peu près impossible de suivre par lecture.

Chaque fois que nous utiliserons une méthode particulière non généralisée et non décrite dans ce chapitre, nous l'exposerons à sa place réelle, dans le cours des opérations proprement dites.

## I. — Méthodes de séparation par précipitation

**Préparation des acides gras** — L'huile doit avant tout être décomposée. 1.000 g sont introduits dans un chaudron en fer, de forme haute, de 10 litres environ de capacité. L'huile est chauffée jusqu'à 70° environ, au moyen d'un brûleur à couronne, sous agitation mécanique ; puis traitée lentement toujours sous agitation par un mélange de 750 g de lessive de soude à 36° B et 1.500 cc d'eau, jusqu'à ce qu'une prise d'essai du savon, mise en solution dans un grand excès d'eau distillée, donne une liqueur parfaitement limpide. L'agitation est poursuivie 10 minutes encore. On peut alors admettre que la saponification est terminée. Au cours de cette opération, il faut arrêter ou réduire le chauffage, de manière à maintenir la température du mélange aux environs de 70°. 1 à 5 litres d'eau tiède sont alors ajoutés lentement toujours sous agitation, et la solution savonneuse portée vers 80° est traitée sous agitation par un léger excès de solution concentrée d'acide chlorhydrique, c'est-à-dire jusqu'à réaction franchement acide au méthylorange. Ne pas exagérer la quantité d'acide, afin d'éviter l'attaque du fer du récipient et de l'agitateur. Le mélange est porté à l'ébullition, et l'agitation arrêtée, jusqu'à ce que les acides gras

surnaient en une couche limpide. La couche aqueuse sous jacente est siphonnée immédiatement. 5 à 6 litres d'eau chaude sont ajoutés aux acides gras et le tout reporté à l'ébullition. La couche aqueuse est siphonnée à nouveau soigneusement et les acides gras sont recueillis.

Il est clair que suivant le matériel dont on dispose, on peut traiter en une seule fois des quantités différentes d'huiles ; on a intérêt à en traiter le plus possible à la fois, pour abréger la durée globale de l'opération.

Les acides gras ainsi obtenus renferment les matières insaponifiables qui seront éliminées ultérieurement.

**Élimination partielle des acides saturés :** 1.000 g d'acides gras précédemment préparés, sont dissous dans 1 litre de méthanol à 85%. La solution est maintenue 48 heures environ entre 0 et + 5°. Une grande partie des acides concrets se sépare par cristallisation. Le mélange est filtré rapidement par succion sur un entonnoir de Büchner de 15 cm au moins de diamètre, muni d'un disque de toile comme élément filtrant. Le précipité est lavé rapidement avec 150 à 200 cc de méthanol à 85% froid, que l'on joint ensuite au filtrat.

Le filtrat est introduit dans un ballon à tubulure latérale, relié à un réfrigérant descendant, et les  $\frac{4}{5}$  environ du méthanol sont chassés par distillation. Le résidu est lavé deux fois, par agitation avec chaque fois 2 litres d'eau tiède contenant 10 % de sel marin. Les acides gras sont recueillis sans autre purification.

#### **Précipitation fractionnée de savons de sodium dans l'acétone :**

Nous avons utilisé deux techniques opératoires, peu différentes d'ailleurs. La première, semblable à celle de TOYAMA et TSUCHIYA (6) nous a servi uniquement à traiter les acides gras débarassés des termes saturés afin d'isoler une fraction contenant l'ensemble des acides fortement insaturés. La deuxième nous a permis, associée avec des distillations fractionnées sous pression réduite, de purifier progressivement tel ou tel acide gras particulier, fortement ou moyennement insaturé. Cette dernière méthode se trouvera répétée un grand nombre de fois au cours de la présente étude.

Dans le premier cas, 250 g d'acides gras précédents, débarassés des termes saturés, sont introduits dans un ballon de 5 litres avec 500 cc environ d'acétone, puis neutralisés exactement par une solution de soude dans l'éthanol à 50 %, 2 fois normale. La quantité de soude se détermine soit par le calcul, soit plus simplement en effectuant la neutralisation en présence de phénolphthaléine, jusqu'à alcalinité. 3.000 cc d'acétone sont ensuite ajoutés lentement pendant que le ballon est agité vigoureusement à la main. Le tout est chauffé lentement au bain marie (autant que possible sous réfrigérant à reflux) jusqu'à début d'ébullition de l'acétone. Le ballon est abandonné 3 ou 4 heures vers + 10°. Le précipité est séparé par filtration sur un entonnoir de Büchner du plus grand diamètre possible, muni d'un disque de toile. Le précipité est tassé sur le filtre avec un cylindre de bois, afin de permettre en essorage maximum.

Le précipité est dissous dans 1 à 2 litres d'eau tiède, acidifié après refroidissement par de l'acide chlorhydrique. Les acides gras sont extraits par 3 à 100 cc d'éther dans une ampoule à décantation ; la solution étherée est lavée une fois avec 3 à 100 cc d'eau salée à 10 %, puis séchée sur sulfate de soude anhydre.

Le filtrat est introduit dans un ballon à distillation, chauffé au bain-marie, afin d'éliminer et de récupérer la presque totalité de l'acétone. En suivant les opérations, depuis la saponification de l'huile, il est clair que les produits insaponifiables se sont rassemblés dans ce résidu, d'où il y a lieu de les extraire. Dans ce but, 5 à 10 cc de lessive



de soude à 36° B. et 50 à 100 cc d'eau sont ajoutés au résidu, qui est ensuite agité trois fois dans une ampoule à décantation, avec 400 à 600 cc au total d'éther sulfurique. La solution étherée est éliminée, c'est elle qui servirait à une étude éventuelle des produits insaponifiables. La solution aqueuse est acidifiée à HCl, et les acides gras sont extraits à l'éther comme précédemment, la solution étherée est lavée à l'eau salée et séchée sur  $\text{SO}_4 \text{Na}_2$  anhydre.

Les solutions étherées sont introduites dans un ballon à distillation, le sulfate de soude est lavé par décantation avec la plus petite quantité possible d'éther sec, que l'on joint à la solution d'acides gras. L'éther est chassé par distillation au bain-marie (électrique si possible !) Le ballon est ensuite muni d'un bouchon traversé par un effilé de verre, plongeant jusqu'au fond, et relié à un générateur de gaz carbonique sec. La pointe de l'effilé peut avoir un diamètre intérieur de l'ordre de 0,1 mm. La tubulure latérale du ballon est reliée à une trompe à eau par l'intermédiaire d'un flacon à deux tubulures (celui-ci a pour but de recueillir des acides gras entraînés accidentellement). Le ballon est chauffé vers 120° par un bain de chlorure de calcium, jusqu'à disparition totale des dernières traces de solvant. La durée de l'opération est très variable suivant la quantité de produit traité, et le vide fourni par la trompe. Elle peut varier de 5 à 30 minutes.

Les précédents fractionnements ont scindé grossièrement les acides gras en 3 fractions :

- acides saturés
- acides peu insaturés (savons insolubles)
- acides fortement insaturés (savons solubles)

Le deuxième type de fractionnement par précipitation de savons de sodium dans l'acétone est très voisin du premier quant à son processus opératoire ; il diffère surtout par les quantités de réactifs employées. Les acides gras à traiter sont introduits, avec 1 fois environ leur volume d'acétone, dans un ballon de capacité appropriée, puis neutralisés exactement par une liqueur de soude dans l'éthanol à 50 % (généralement 2 ou 3 fois normale). Une certaine quantité d'acétone est ajoutée lentement, et en agitant le contenu du ballon. Le mélange est chauffé jusqu'à commencement d'ébullition, puis abandonné 3 à 4 heures au moins à la température ordinaire. Le précipité de savons insolubles est séparé exactement comme dans le cas précédent. Le filtrat est, ou bien traité comme précédemment (sauf l'extraction de l'insaponifiable qui n'est plus à faire), ou bien additionné d'une nouvelle quantité d'acétone, qui provoque un nouveau précipité. On le séparera à son tour après chauffage du mélange acétonique, refroidissement, et abandon de 3 à 4 heures. Les opérations peuvent se répéter plusieurs fois, donnant ainsi une série de précipités de savons, et une solution finale. Chacun de ces éléments sera traité exactement comme dans la première méthode indiquée plus haut.

On voit donc que les savons de sodium sont d'autant plus solubles dans l'acétone, qu'ils dérivent d'acides plus fortement insaturés d'une part ; que l'acétone possède une teneur plus élevée en eau et éthanol d'autre part. C'est grâce à cette deuxième propriété que l'addition d'acétone pure à un filtrat, provoque un nouveau précipité, par appauvrissement relatif de la solution en mélange eau-éthanol. Pour la même raison, il est impossible de laver les précipités car on ne peut déterminer que très difficilement le titre d'un mélange qui ne produirait ni dissolution de savon, ni colmatage du filtre par une nouvelle précipitation,

Nous devons signaler ici quelques détails de grande importance.

De très faibles quantités d'eau et d'alcool dans l'acétone utilisée, modifient dans des proportions considérables les caractères des fractions obtenues.

L'acétone récupérée, avant d'être utilisée à nouveau, doit être redistillée sur du chlorure de calcium anhydre ; ceci élimine la totalité de l'eau, et la presque totalité de l'alcool.

On pourra constater d'assez grandes différences dans deux opérations effectuées d'une manière identique, surtout lorsqu'on opérera sur des fractions à forte insaturation. Ceci est sans importance, car cette méthode doit agir avant tout par fractionnement relatif, et seuls, les résultats obtenus dans une opération doivent guider pour les fractionnements suivants. Seule l'expérience permettra d'utiliser les précipitations de savons de sodium dans l'acétone, avec le maximum de rapidité et de sûreté. Les chiffres que nous donnerons au cours des études détaillées, n'auront pas d'autre but que de fixer les idées, et d'indiquer une direction générale à suivre.

Nous terminerons l'exposé de cette question par trois remarques pratiques.

Lorsqu'on éliminera les dernières traces de solvant des acides gras issus des savons solubles, il y aura lieu de prolonger particulièrement le chauffage sous pression réduite, dans un courant de  $\text{CO}_2$  ; car, en plus du solvant, on devra éliminer certains produits de condensation de l'acétone, formés au cours des divers traitements et qui se trouvent rassemblés dans cette fraction. On reconnaît aisément ces produits à leur odeur forte, plus ou moins menthée.

Dans la plupart des cas, on pourra abrégier la durée des opérations, en évitant de chasser les dernières traces de solvant. Les acides gras contenant un peu d'éther peuvent très bien être utilisés pour une autre estérification. Il y aura cependant lieu de purifier une prise de 1 à 2 g d'acides, afin de déterminer les caractéristiques de la fraction. Dans ce but, la prise d'essai est introduite dans un tube de verre large et court, simplement plongé dans un bain-marie bouillant, pendant qu'un courant de gaz carbonique amené par un tube effilé, barbotte à travers le liquide. L'opération est ainsi très rapide.

On aura toujours intérêt, sauf dans le cas de l'extraction des « insaponifiables » à utiliser de l'éther de pétrole léger, bouillant de 40 à 60°, au lieu d'éther sulfurique. On évite ainsi le séchage sur sulfate de soude, l'entraînement des acides gras oxydés ou plus ou moins résinifiés, et une bonne partie de l'entraînement des produits de condensation de l'acétone dans le cas des acides de savons solubles. Seul, le manque d'éther de pétrole nous a obligé à utiliser l'éther sulfurique dans nos travaux.

## II. — Rectification sous pression réduite

**Préparation des esters méthyliques :** Les acides gras sont introduits dans un ballon de capacité appropriée avec 4 fois leur volume de méthanol absolu contenant 2,5% de gaz chlorhydrique en solution. Le mélange est porté à une douce ébullition sous réfrigérant à reflux, pendant deux heures environ. Le moyen de chauffage est indifférent. Lorsqu'on traite des acides à forte insaturation, il est indispensable de maintenir une atmosphère de gaz carbonique dans le ballon. Pour ceci, le bouchon traversé par le réfrigérant est également traversé par un tube de verre débouchant aux environs du niveau du

liquide, et relié à un générateur à  $\text{CO}_2$  à très faible débit. Le contenu du ballon après refroidissement est introduit dans une ampoule à décantation avec 3 à 4 fois son volume d'eau salée à 10 %, et les esters surnageants sont extraits avec 2 à 3 fois leur volume d'éther sulfurique (ou mieux d'éther de pétrole). La solution étherée est lavée deux fois à l'eau salée, séchée sur  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  anhydre, introduite dans un ballon à tubulure latérale, d'où l'éther est chassé par distillation au bain-marie. Les esters sont alors versés dans le ballon spécial à rectification sous vide, d'où les dernières traces de solvant sont éliminées par le procédé déjà décrit.

**Appareil à distiller :** Il se compose de trois parties principales :

- le ballon à distiller
- le récepteur de distillat
- l'appareil producteur de vide

Nous avons utilisé des ballons de 20 à 1.000 cc de capacité, tous du type à colonne latérale soudée, pouvant être réchauffée électriquement par une résistance indépendante. Après divers essais, nous avons mis au point un modèle de colonne très simple, apparentée à la fois aux systèmes de VIGREUX et de LADENBURG et très efficace dans le cas de la distillation des esters méthyliques d'acides gras à poids moléculaire élevé. La colonne est constituée par des boules superposées, possédant trois ou quatre pointes radiales à chaque étranglement. Elle peut être engagée dans une gouttière formée de deux résistances chauffantes plates (figure 1).

Le ballon est chauffé sur un bain de sable électrique ou à gaz. Le bouchon de la tubulure du ballon est traversé par un tube effilé extrêmement fin, plongeant jusqu'au fond du ballon. Pour fixer les idées quant au calibre de l'effilé : on doit, en soufflant fortement par l'extrémité opposée à la pointe, cette pointe plongeant dans un verre d'eau, obtenir quelques rares bulles d'air très ténues. On parvient avec un peu de pratique à faire cet effilé ; en chauffant et tournant un morceau de tube dit « tube de sûreté », dans la flamme d'un chalumeau, jusqu'à ce que l'épaississement des parois produise presque un étranglement ; les deux extrémités sont alors tirées vivement en sens opposé. Les deux effilés ainsi obtenus sont coupés à la longueur désirée.

Le thermomètre situé à l'extrémité supérieure de la colonne doit avoir sa cuve mercurielle située juste au-dessous de la tubulure latérale. Un ballon à distiller sous vide ne doit jamais contenir plus de la moitié de sa capacité totale. Il n'y a pas intérêt à utiliser des ballons de plus de 1.000 cc, et il vaut mieux répéter plusieurs fois les opérations lorsqu'on a de grandes quantités d'esters à distiller.

Les récepteurs de distillat doivent permettre des fractionnements. Dans ce but, nous avons utilisé deux types d'appareils assez semblables. Le séparateur (I) dans lequel une série de tubes, disposés circulairement, peuvent être présentés successivement sous l'embouchure d'un réfrigérant descendant. Ce système ne permet de recueillir que des fractions peu importantes, limitées par la capacité des tubes. Le séparateur (II) permet de distribuer les fractions par un entonnoir tournant à tubulure excentrée, dans 3 ballons disposés circulairement et qui peuvent avoir une capacité plus grande que celles des tubes du modèle (I).

Les extrémités des réfrigérants, au-dessus des tubes ou de l'entonnoir excentré, doivent avoir des embouchures élargies dans le sens longitudinal du tube, afin d'éviter les projections de gouttes de distillat, tout en permettant le passage du tube à travers le bouchon au cours du montage.

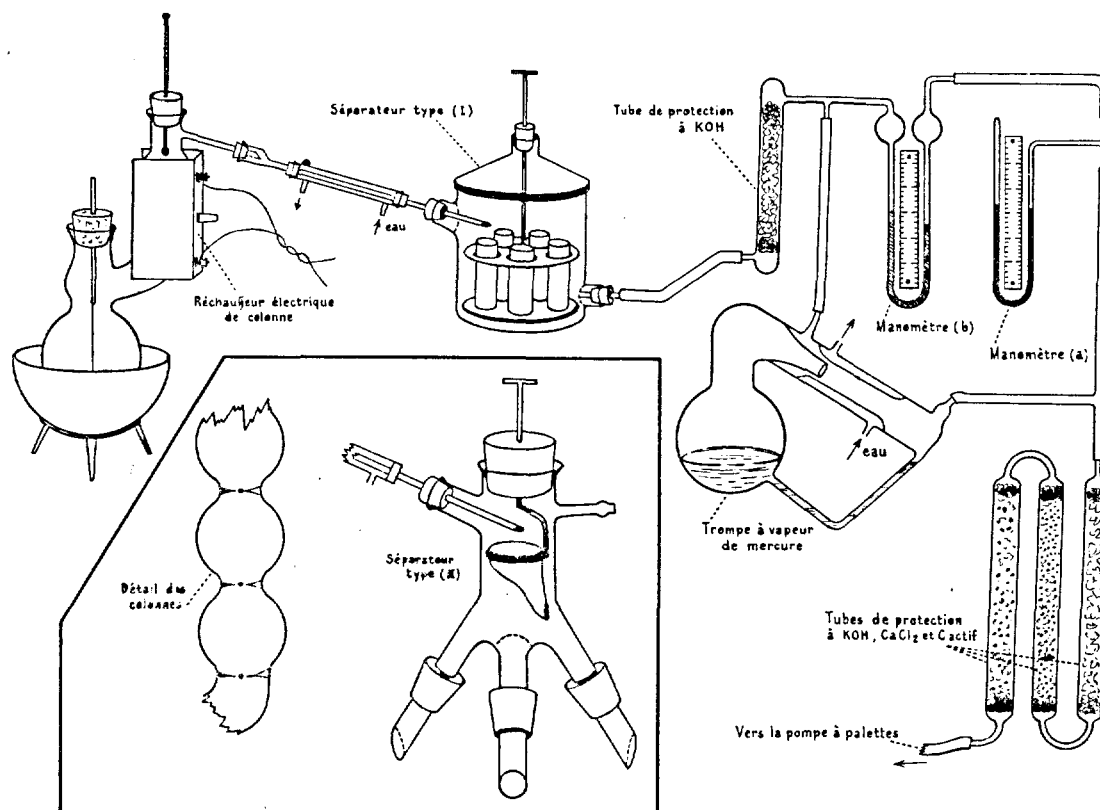


Fig. 1. — Appareil à distiller

Ces deux types de séparateurs, bien que demandant beaucoup de soins au point de vue de l'obtention de l'étanchéité, ont l'avantage sur les séparateurs classiques à robinets, de ne pas provoquer de chute de vide lorsqu'on recueille une fraction. Ceci est important avec des matériaux aussi délicats que les esters d'huiles de poissons.

Comme producteur de vide, nous avons utilisé, une pompe à palettes, de modèle classique, donnant 1 à 3 mm de pression, suivie d'une trompe à vapeur de mercure, qui peut être sans inconvénient de n'importe quel type commercial. Nous avons opéré avec une trompe double, soufflée par nous-mêmes. Le manomètre (a) au mercure, indique le vide fourni par la pompe. Le manomètre (b) est du type différentiel à huile ; il indique la différence entre le vide régnant après la trompe, c'est-à-dire plus ou moins grossièrement dans l'appareil, et celui qui est fourni par la pompe. L'huile étant environ quatorze fois moins dense que le mercure, il est facile de lire cette différence de pression. Cette lecture serait à peu près impossible avec du mercure. Ainsi, on peut admettre que la pression régnant dans l'appareil distillatoire, est égale à celle indiquée par le manomètre (a) diminuée de la différence indiquée par le manomètre (b) exprimée en hauteur de mercure. Ce dispositif, très simple et robuste, n'est évidemment pas très précis. Ce défaut n'a aucune importance dans un genre de travail où il existe une foule de facteurs produisant des différences de vide, bien supérieures à celles découlant des principes manométriques utilisés. En résumé ; on doit surtout avoir en cours de distillation, un système de contrôle relatif, simple et sur.

Tous les bouchons doivent être soigneusement sélectionnés et percés. Partout où il n'y a pas élévation de température, on doit utiliser des bouchons de caoutchouc. Les joints doivent être lanolinés ou paraffinés, On peut remédier aux petites imperfections des bouchons de liège en appliquant un vernis constitué par une solution acétonique d'acétate de cellulose, chargée de poudre d'aluminium très fine. Ce vernis doit être appliqué lorsque le vide règne dans l'appareil, afin de pénétrer dans les pores des bouchons.

Il est évident que si les moyens financiers le permettent, on a intérêt à utiliser des appareils munis uniquement de bouchons rodés. La rapidité et perfection du travail seront grandement améliorées.

**Marche d'une distillation :** L'appareil étant monté, et le ballon garni d'esters, totalement débarassés de solvants, la pompe est mise en marche, l'étanchéité est vérifiée et corrigée, le bain de sable du ballon est chauffé, ainsi que la trompe à vapeur de mercure. Lorsque le contenu du ballon tend à entrer en ébullition, le courant est envoyé dans les résistances entourant la colonne, Le chauffage du bain de sable ; de la résistance de colonne et le débit de la distillation doivent être réglés de manière telle que la colonne soit engorgée uniquement au niveau des pointes, et que le débit soit de 3 cc environ à la minute. Tous ces facteurs doivent rester sensiblement uniformes au cours de l'opération. On y arrive rapidement avec un peu de pratique. Il faut porter une grande attention à l'engorgement de la colonne, commandé en grande partie par les résistances plates chauffantes s'il est nul le pouvoir séparateur de la colonne est très faible ; s'il est trop abondant, on peut avoir entraînement direct des esters. Le fonctionnement optimum est obtenu lorsque l'engorgement limité aux niveaux des pointes ; produit une sorte de barbotage des vapeurs ascendantes.

Lorsqu'on désire un moins bon vide, il suffit de ne pas chauffer la trompe à vapeur de mercure ; tout se passe alors comme si elle n'existait pas. Avec la trompe, on peut avoir des pressions comprises entre 0,4 et 1 mm. de Hg ; sans trompe, de 1 à 3 mm.

Les températures des vapeurs passant au sommet de la colonne, n'ont qu'une valeur relative ; elles permettent tout à fait grossièrement de connaître en fonction de la pression, le poids moléculaire de l'ester qui distille. Mais ici, comme dans le cas des précipitations de savons de sodium dans l'acétone, seules les caractéristiques des fractions recueillies permettent de définir le travail fait et à faire.

On verra dans les tableaux ultérieurs, que l'on peut admettre qu'un acide isolé est suffisamment pur, lorsque les caractéristiques de deux fractions voisines, obtenues aussi bien au cours d'une distillation que d'une précipitation, sont presque égales.

**Décomposition des esters méthyliques :** On aura presque toujours à décomposer les esters, afin de soumettre les acides gras à une précipitation de savons. On verra plus loin, et l'expérience nous a montré, que la meilleure méthode de fractionnement consistait à faire alterner une rectification sous vide et une précipitation, ce qui permet un fractionnement progressif dans le sens des poids moléculaires et dans le sens des insaturations.

Les esters sont introduits dans un ballon avec environ 1,5 fois la quantité théorique de potasse alcoolique 2 N, le tout est chauffé 20 à 30 minutes au bain-marie, sous réfrigérant à reflux. La solution est ensuite versée dans 5 à 6 fois son volume d'eau salée, acidifiée ; et les acides gras sont extraits à l'éther, lavés et traités comme à l'ordinaire.

### III - Méthode d'oxydation par le permanganate

Cette méthode diffère sensiblement dans son processus opératoire, suivant qu'elle sert à oxyder les esters des acides monoéthyléniques, moyennement insaturés, ou fortement insaturés. Nous la décrirons donc ultérieurement au cours des études particulières d'acides gras.

L'expérience nous a montré que cette méthode est la meilleure dans le cas de l'oxydation des acides monoéthyléniques ; alors que l'ozonisation est bien préférable, dès que l'on a plus d'une double liaison par molécule.

La raison de cette préférence provient surtout de la difficulté très grande d'isoler les produits d'oxydation dans le cas de la méthode au permanganate.

### IV - Méthode d'oxydation par l'ozone

**Appareil producteur d'oxygène ozonisé :** N'importe quel ozoniseur de laboratoire de type commercial, pourrait convenir. Ne possédant pas un tel appareil, nous en avons construit un, tout à fait satisfaisant, de la manière suivante :

Le générateur d'ozone proprement dit était du type classique de BERTHELOT, constitué par quatre éléments de deux tubes en verre mince concentriques et soudés intérieurement à leur partie supérieure. Les tubes intérieurs remplis d'acide sulfurique dilué recevaient un fil de plomb relié à un pôle de la source à haute tension. Les tubes externes plongeaient dans un bain d'acide sulfurique dilué, relié à l'autre pôle à haute tension. L'oxygène circulait entre les deux parois de verre. Les quatre éléments étaient disposés en un carré série-parallèle.

Le courant électrique était fourni par un groupe convertisseur branché sur le secteur et fournissant un courant continu de 30 volts environ. Ce dernier alimentait, par l'intermédiaire d'un vibreur-rupteur shunté, deux primaires en série de bobines d'allumage de moteur d'automobile. Les secondaires en parallèle étaient reliés à l'ozoniseur. La fréquence du rupteur était voisine de 100 par seconde. L'oxygène provenant d'une bouteille munie d'un détenteur, était séché par passage à travers une colonne de potasse concassée ; sa vitesse d'écoulement était de 25 à 30 litres à l'heure. La production d'ozone était voisine de 2 g à l'heure, ce qui correspond à un courant d'oxygène ozonisé à 5-6 % d'ozone. Le bac contenant les tubes générateurs d'ozone et l'acide sulfurique dilué, était entouré de glace pilée. A la température ordinaire, le rendement en ozone est sensiblement diminué.

Comme on le sait, aucun joint de liège, et surtout de caoutchouc, ne doit se trouver sur le parcours de l'ozone, sous peine de destruction très rapide. Il faut prévoir des raccords à joint de mercure.

On a évidemment intérêt à utiliser un ozoniseur de type commercial, mais il semble qu'il y a lieu de s'en tenir à des chiffres voisins de ceux indiqués plus haut, quant au débit et à la concentration en ozone.

**Marche d'une ozonisation :** L'ozonisation peut s'effectuer sur les esters méthyliques dans le cas des acides moyennement insaturés ; mais on doit opérer sur l'ester amylique dans le cas des produits fortement insaturés, afin d'obtenir un ozonide plus stable, se décomposant régulièrement, et une séparation plus aisée du chaînon relié au groupe carboxylé. Dans ce but, l'ester méthylique est saponifié comme il est indiqué plus haut, par de la potasse alcoolique. La solution d'acide gras, débarassée de l'éther est introduite dans un ballon avec 10 à 20 fois la quantité théorique d'alcool amylique contenant 2 à 3 % d'acide chlorhydrique gazeux. Le mélange est porté à l'ébullition sous réfrigérant à reflux et sous atmosphère de  $\text{CO}_2$  pendant 1 heure, puis versé dans une ampoule à décantation et lavé 2 ou 3 fois à l'eau salée après addition d'éther. L'ester en solution étherée et amylique est débarassé de l'éther par chauffage au bain-marie, et de l'alcool amylique par chauffage au bain de chlorure de calcium, sous le vide d'une trompe à eau.

5 g d'ester méthylique ou amylique, suivant le cas, sont introduits dans un ballon à tubulure latérale de 150 cc de capacité, avec 50 cc environ de chloroforme sec. Le ballon est plongé dans un bain de glace pilée et de sel, afin de maintenir dans le ballon, au cours de l'opération, une température comprise entre  $-10^\circ$  et  $0^\circ$ . Un tube de verre venant de l'ozoniseur est plongé jusqu'au fond du ballon (sans bouchon). L'ozoniseur est mis en marche. Lorsque l'oxygène issu du ballon a une forte odeur d'ozone, l'opération est poursuivie encore une heure. On peut alors admettre que la saturation est totale. Suivant le nombre de liaisons éthyléniques du produit traité, la durée de l'ozonisation varie de 2 à 8 heures (pour les valeurs indiquées plus haut).

Il faut éviter de traiter plus de 5 g environ d'ester, à la fois.

**Décomposition de l'ozonide :** La tubulure latérale du ballon dans lequel s'est effectué l'ozonisation, et contenant la solution chloroformique de l'ozonide, est reliée à une trompe à eau, par l'intermédiaire d'un flacon de sûreté à deux tubulures. Le ballon plongé dans un bain-marie froid est muni d'un bouchon à tube effilé. Au cours de l'opération, la température du bain est portée progressivement jusqu'à  $30^\circ$ . Le vide fourni par la trompe doit être suffisant pour permettre une élimination totale du chloroforme à cette tempéra-

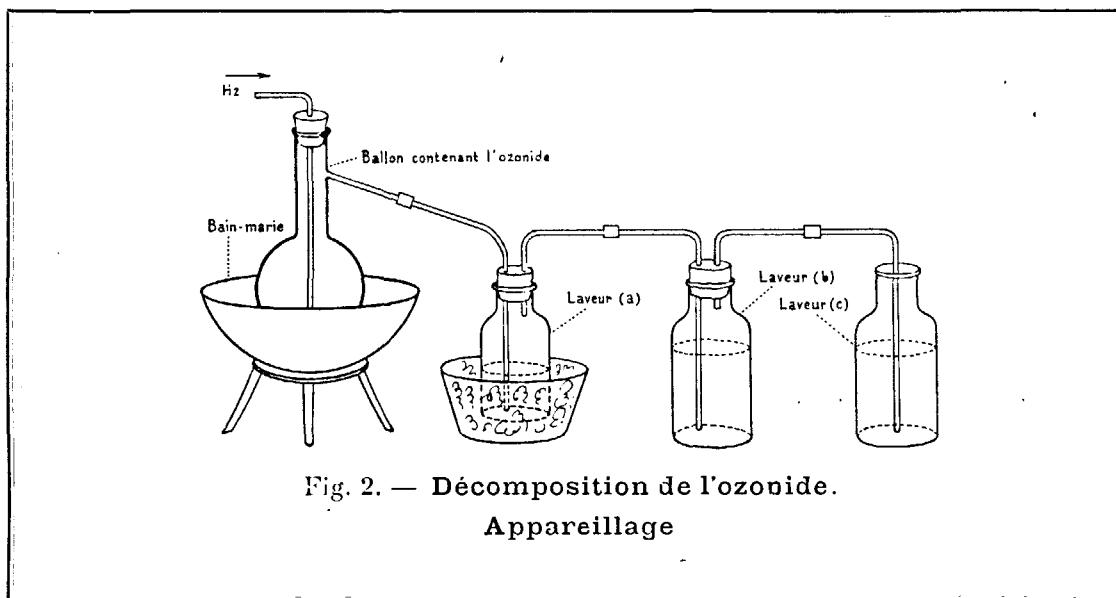
ture. Toute surchauffe doit être évitée, pouvant provoquer une décomposition explosive de l'ozonide, ou tout au moins une altération.

Lorsque tout le chloroforme a été chassé, 70 cc d'eau sont ajoutés à l'ozonide, la tubulure latérale du ballon est mise en relation avec une série de 3 flacons laveurs à deux tubulures, de 200 cc environ (figure II). Le bouchon est muni d'un tube plongeant jusqu'au fond et relié à un générateur d'hydrogène.

Le laveur (a) entouré de glace pilée, contient 50 cc d'eau, les laveurs (b) et (c) contiennent chacun 200 cc environ d'une solution aqueuse de baryte N environ.

3

Le ballon est chauffé progressivement au bain-marie, jusqu'à ébullition de celui-ci ; pendant qu'un courant lent d'hydrogène barbotte dans le liquide (environ 1 bulle par deux secondes). La durée de l'opération est de 3/4 d'heure environ pour les esters fortement insaturés, allant jusqu'à 1 heure pour les esters diéthyléniques.



L'opération terminée, on a dans le ballon à réaction, une couche huileuse (A), une solution aqueuse (B). Les flacons laveurs contiennent les éléments volatils (C).

La couche huileuse (A) est constituée principalement par des corps à fonctions acides ou aldéhydiques, de poids moléculaire moyen, peu ou pas solubles dans l'eau. Soit dans le cas des corps qui nous intéressent ici : le monoester amylique ou méthylique du diacide ou de l'aldéhyde-acide correspondant au chaînon carboxylé de l'acide primitif ; et s'il y a lieu, les acides ou aldéhydes gras de plus de 5 atomes de carbone, correspondant au chaînon opposé au groupement carboxylé. Cette fraction contient en outre un certain nombre de produits incomplètement oxydés, polymérisés, de nature plus ou moins complexe.

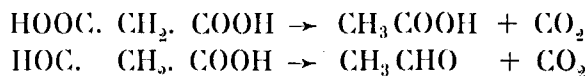
La solution aqueuse (B) contient généralement les dialdéhydes, diacides ou aldéhydes-acides succiniques, provenant des chaînons intérieurs de la molécule primitive, so-



lubles dans l'eau, mais non volatils. Elle contient en outre une partie des acides gras de 2 à 6 atomes de carbone, et des aldéhydes de 4 à 7 atomes de carbone, s'il y a lieu.

La solution aqueuse de (a) contient une partie des acides volatils (acétique) et principalement les aldéhydes volatils (éthanal, propanal).

Les laveurs (b) et (c) retiennent l'anhydride carbonique, sous forme de carbonate de baryte. L'anhydride carbonique provient de la décomposition des produits d'oxydation des groupements  $=\text{CH}.\text{CH}_2.\text{CH}=\text{}$ . Ceux-ci au lieu de fournir normalement des acides ou aldéhydes-acides maloniques, donnent des produits de décomposition de ces corps : anhydride carbonique et acide ou aldéhyde acétique suivant les réactions schématiques :



Cette décomposition est presque quantitative ; on peut donc grossièrement d'après le poids de carbonate de baryte formé, déterminer le nombre de groupements  $=\text{CH}.\text{CH}_2.\text{CH}=\text{}$  contenu dans la molécule primitive.

L'hydrolyse de l'ozonide fournit un mélange d'aldéhydes et d'acides, avec une très nette prédominance de ces derniers.

**Produits insolubles dans l'eau (A) :** Ces produits sont séparés à chaud, de la solution aqueuse (B) par simple décantation. Pour en faciliter l'étude, il y a lieu de les oxyder totalement, afin de n'avoir que des acides. Dans ce but, ils sont introduits dans un ballon de 250 cc environ, avec 20 cc d'eau et 1 cc de lessive de soude à 36° B. Le tout est agité vigoureusement à la main, et traité lentement par une solution aqueuse saturée de permanganate de potassium. Celui-ci se décolore rapidement à froid au début, pendant qu'un précipité brun de bioxyde de manganèse se forme. Lorsque la décomposition du permanganate devient plus lente, le contenu du ballon est chauffé au bain-marie, jusqu'à 60—70° en l'agitant fréquemment et en continuant l'addition de permanganate.

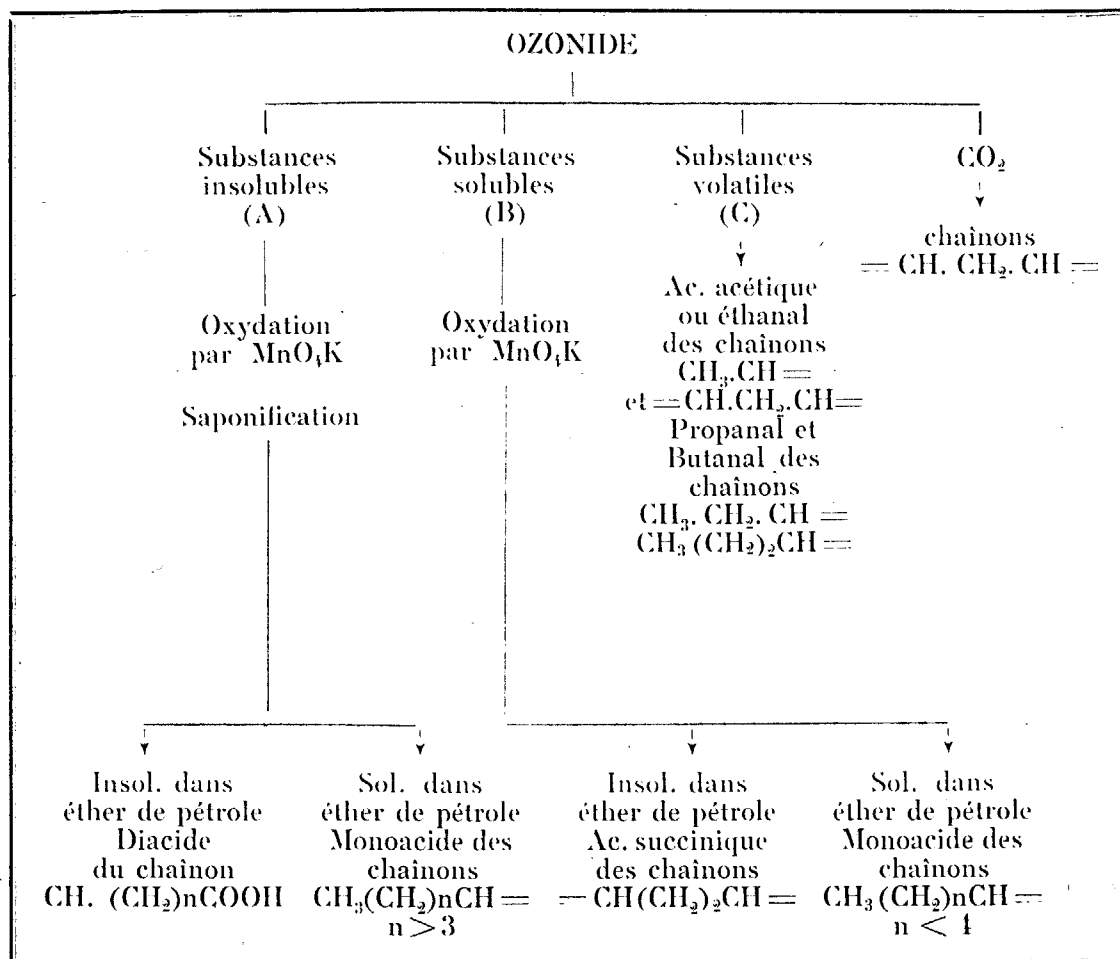
L'opération est terminée lorsque la coloration rose du permanganate persiste plus d'une minute dans le produit chauffé. L'excès de permanganate est décomposé s'il y a lieu, par quelques gouttes de bisulfite de soude, et le mélange est abandonné jusqu'à refroidissement. Le précipité de  $\text{MnO}_2$  est éliminé par essorage sur entonnoir de Büchner, lavé une fois à l'eau, puis une fois avec 100 cc d'éther sulfurique. Le filtrat est agité avec l'éther de lavage, et la couche étherée est éliminée. Elle contient des produits neutres, plus ou moins résinifiés, provenant d'oxydations incomplètes ou ancrinales ; l'étude de ces produits est en général sans intérêt.

La solution aqueuse est additionnée de 2 à 3 cc de lessive de soude, et concentrée par ébullition jusqu'à début de cristallisation des sels minéraux ; la concentration est poursuivie au bain de sable jusqu'à consistance pâteuse. Le produit est ensuite versé dans un mortier de porcelaine, acidifié à l'acide chlorhydrique, puis malaxé 5 ou 6 fois, avec chaque fois 30 cc environ d'éther sulfurique. L'ensemble de ces traitements a pour but de saponifier complètement le monoester du diacide provenant de l'extrémité carboxylée de la molécule primitive, et de réduire le plus possible la phase aqueuse, afin de permettre l'extraction de ce diacide, surtout lorsque celui-ci est de faible poids moléculaire (acide succinique). Ces diacides sont très solubles dans l'eau, et leur extraction d'une solution diluée serait incomplète ou exigerait des quantités d'éther considérables. Il est bien entendu que l'évaporation de la solution aqueuse doit s'effectuer en milieu alcalin, les acides sous forme de sels n'étant pas entraînés par la vapeur d'eau.

L'éther de la dernière solution étherée est chassé par distillation, laissant un résidu qui est agité avec 50 cc d'éther de pétrole léger. Les monoacides gras, s'il y en a, passent en solution dans l'éther de pétrole, et les diacides restent insolubles sous forme d'une pâte d'apparence plus ou moins cristallisée, plus dense que la solution étherée.

L'éther de pétrole de la couche étherée est chassé par distillation. Le résidu est introduit dans un petit ballon à distiller de 10 cc de capacité environ, dont la tubulure

TABLEAU I  
Schéma de la décomposition de l'ozonide



latérale tient lieu de réfrigérant descendant. Le distillat est recueilli dans de petits tubes à essais tarés. Pour les termes bouillant à plus de 160-170° sous la pression atmosphérique, il y a lieu d'effectuer la distillation sous le vide d'une trompe à eau. Le ballon est alors muni d'un effilé, et on utilise pour recueillir les distillats, de petits tubes à essais tarés, à tubulure latérale, fixés à l'aide d'un bouchon sur la tubulure latérale du ballon. La tubulure du récepteur est reliée à la trompe. Il est bon de prévoir un manomètre à

mercure sur un point de la canalisation de vide. Il faudra couper le vide et changer de tube, chaque fois que l'on voudra recueillir une nouvelle fraction. Ceci est sans inconvénient pour les termes qui nous intéressent ici. Dans tous les cas, le ballon est chauffé au bain de paraffine ou d'huile. Le ou les constituants des fractions recueillies sont ensuite identifiés par des méthodes décrites plus loin.

Les diacides, insolubles dans l'éther de pétrole sont purifiés par cristallisations dans des solvants appropriés, comme il sera indiqué plus loin.

**Solution aqueuse (B).** Les aldéhydes de la solution doivent être oxydés exactement comme dans le cas précédent, par le permanganate en solution aqueuse, et après addition de 1 cc de lessive de soude. Le précipité de  $MnO_2$  est éliminé par filtration sur entonnoir de Büchner et lavé à l'eau uniquement. La solution est concentrée au bain de sable jusqu'à consistance pâteuse. Cette pâte, après acidification à l'acide chlorhydrique, est malaxée dans un mortier, en 5 ou 6 reprises, avec chaque fois 30 cc environ d'éther sulfurique. La solution étherée est séchée très soigneusement sur  $SO_4 Na_2$  anhydre, puis l'éther est chassé par distillation. Le résidu est agité en plusieurs reprises avec 100 cc au total d'éther de pétrole léger.

L'éther de pétrole est chassé par distillation à travers une colonne de Vigreux, et le résidu est introduit dans un petit ballon à distiller. Le fractionnement s'effectue comme précédemment. Il n'est jamais nécessaire d'opérer sous pression réduite, car les acides ont moins de 5 atomes de carbone.

Le résidu insoluble dans l'éther de pétrole, et qui a la forme d'un magma cristallin, est purifié par cristallisation dans l'acétate d'éthyle, puis identifié. Nous n'avons jamais rencontré que de l'acide succinique dans cette fraction.

**Substances volatiles (C) :** La solution aqueuse du laveur (a) et très exactement neutralisée en présence de phénolphaléine, par une liqueur titrée de soude N/2, puis distillée jusqu'à diminution de la moitié de son volume, le distillat étant reçu dans un petit ballon entouré de glace pilée. Ce distillat peut contenir les aldéhydes éthylique, propylique et butylique, ce dernier à l'état de traces. Le résidu aqueux, non distillé est constitué par une solution très diluée d'acétate de soude, qu'il sera facile de caractériser.

Les laveurs (b) et (c) contiennent en général un précipité de carbonate de baryte. Ce dernier est recueilli sur un creuset filtrant taré ; son poids donnera des indications très utiles sur la présence et le nombre de groupements  $= CH. CH_2. CH =$ .

Les opérations décrites précédemment correspondent à 5 g d'ester initial. Nous avons vu qu'il ne fallait pas soumettre à l'ozonisation une quantité supérieure. On peut cependant, sans inconvénient, joindre et hydrolyser le produit de plusieurs ozonisations. Les quantités de réactifs et la capacité des récipients seront augmentés en conséquence. Il est clair que les opérations de fractionnements et de caractérisations seront d'autant plus facilitées que la quantité des produits traités sera plus grande.

**Caractérisation des produits d'oxydation :** Cette partie du travail est incontestablement la plus délicate de toutes les opérations analytiques sur les acides gras d'huiles de poissons. C'est elle qui réclame le plus de soins et de précision. Pour mener les choses à bien avec un maximum de chances, il faudrait disposer d'un matériel de microchimie. Il faut en outre avoir une assez grande connaissance des propriétés des acides gras de bas

poids moléculaire et des diacides. Dans un grand nombre de cas, il faudra effectuer des cristallisations fractionnées de dérivés de ces acides ; on ne peut donner que des indications générales sur ces processus opératoires, l'expérience seule indiquera les détails utiles.

Avant tout, et aussi bien pour les opérations précédentes, que pour les identifications, il faudra utiliser des solvants soigneusement rectifiés, notamment de l'éther sulfurique distillé sur de la soude ou de la potasse, car le produit commercial contient souvent de l'acide acétique, qui fausserait l'étude des produits d'oxydation.

Les monoacides solubles issus de la solution aqueuse (B) ont déjà été fractionnés grossièrement par distillation ; les tubes récepteurs tarés, permettent de connaître le poids de chaque fraction. Chacune d'elle est mise en solution dans l'eau et neutralisée exactement en présence de phénolphthaléine, par une liqueur titrée de soude. On a ainsi les éléments permettant de déterminer chaque fois l'indice de neutralisation.

On remarquera que l'indice de la première fraction est anormalement bas, cette fraction étant toujours souillée d'une certaine quantité de solvant. D'autre part, les fractions sont rarement constituées par un élément pur ; en conséquence, l'indice de neutralisation donne de sérieuses indications, mais doit être complété par l'isolement d'un ou deux dérivés cristallisés purs. Le sel d'argent et l'ester p. - bromophénacylé sont particulièrement intéressants.

Le sel d'argent est obtenu en traitant une partie aliquote de la solution aqueuse neutralisée, par un petit excès de solution de nitrate d'argent. Le précipité est recueilli sur un creuset filtrant et recristallisé plusieurs fois dans l'eau bouillante. Les sels d'argent sont d'autant moins solubles dans l'eau, que le poids moléculaire de l'acide est plus grand. Pour déterminer la teneur en argent, un poids connu de sel est traité dans l'eau bouillante par un excès d'acide chlorhydrique. Le chlorure d'argent obtenu est traité par les méthodes classiques de l'analyse quantitative minérale. Du poids de chlorure d'argent, on déduit la teneur en argent, et par conséquent le poids moléculaire du monoacide combiné.

La seconde méthode est bien préférable, car elle permet de faire entrer l'acide dans une combinaison cristallisée (ester p-bromophénacylé) de point de fusion bien défini que l'on identifiera avec le même ester issu d'un acide de pureté connu, par le procédé du point de fusion mixte. On a ainsi une certitude à peu près absolue sur la nature de l'acide étudié, les causes d'erreurs dues aux mélanges et aux eutectiques étant éliminées.

Pour préparer l'ester p-bromophénacylé, une partie aliquote de la fraction neutralisée est évaporée presque à sec et reprise par de l'éthanol. Il faut que le titre de la solution alcoolique soit de 70 à 80 %, et que son volume soit approximativement de 10 cc pour 0,01 molécule d'acide (c'est-à-dire pour 0,01 molécule de soude titrée). La solution est introduite dans un petit ballon, surmonté d'un tube de verre mince, tenant lieu de réfrigérant à reflux, avec une quantité équimoléculaire exactement pesée de bromure p-bromophénacylé, soit 2,78 g pour 0,01 molécule d'acide. Le contenu du ballon est porté à ébullition au bain-marie pendant 1/2 heure environ. Après refroidissement, il est additionné d'une petite quantité d'eau afin de provoquer la précipitation de l'ester. Cette quantité d'eau devient de plus en plus faible et même inutile à mesure que le poids moléculaire de l'acide traité augmente, car on a alors cristallisation par simple refroidissement de la solution. Le précipité est séparé sur un creuset filtrant, lavé, et recristallisé, ou fractionné par cris-

allisation, dans de l'éthanol dont le titre peut varier de 50 % pour les termes inférieurs, à 95 % pour les termes supérieurs. Les esters p-bromophénacylés sont d'autant plus solubles dans l'alcool, que le poids moléculaire de leur acide est plus bas.

Les monoacides insolubles sont traités sensiblement de la même manière que les termes solubles. La neutralisation par la soude titrée doit se faire ici en solution alcoolique. La préparation du sel d'argent exige une évaporation totale de l'alcool de la solution neutralisée. Le résidu est ensuite repris par de l'eau et traité comme dans le cas précédent. Au delà des termes en  $C_{10}$ , la solubilité des sels d'argent dans l'eau étant pratiquement nulle, il y a lieu de préparer des sels de baryum. La solution neutralisée est encore débarrassée de l'alcool et transformée en solution aqueuse. Celle-ci est portée à l'ébullition et traitée par un léger excès de chlorure de baryum. Par refroidissement, le sel de baryum précipite; il est séparé par filtration, recristallisé ou fractionné s'il y a lieu. Les cristallisations s'effectuent dans l'alcool à 50 % ou dans l'eau. La teneur en baryum se détermine aisément de la manière suivante. Un certain poids de sel de baryum est introduit dans un creuset de porcelaine calciné et taré, additionné ensuite de quelques gouttes d'acide sulfurique et d'acide nitrique concentrés. Le tout est chauffé très progressivement sur un brûleur ou dans un four à moufle, jusqu'au rouge sombre; repris après refroidissement par 1 à 2 gouttes d'acide sulfurique et 1 à 2 gouttes d'acide nitrique concentrés; porté à nouveau au rouge sombre. Le poids de sulfate de baryum obtenu permet de déterminer le poids moléculaire de l'acide d'origine.

Les esters p-bromophénacylés se préparent exactement comme dans le cas précédent. On a cependant intérêt à utiliser un volume de solution alcoolique en cours d'estérification, de 60 à 80 cc. pour 0,01 molécule d'acide.

Les diacides se purifient et se fractionnent uniquement par cristallisation. Ils sont d'autant plus solubles dans l'acétate d'éthyle, et d'autant moins solubles dans l'eau et l'alcool dilué que leur poids moléculaire est plus grand. Leur indice de neutralisation se détermine par le procédé classique à partir d'un poids connu de diacide, dissous dans l'eau ou l'alcool et neutralisé par une liqueur titrée de soude. Les diacides étant des solides cristallisés, il n'y a pas lieu de préparer des dérivés spéciaux. Leurs points de fusion simple et mixte et leur indice de neutralisation suffisent à les caractériser.

Les aldéhydes volatils obtenus en solution aqueuse après traitement de la solution du laveur (a) sont constitués principalement par de l'éthanal et du propanal. On peut préparer des dérivés cristallisés (p-nitrophénylhydrazones), ou mettre en évidence des réactions caractéristiques de ces aldéhydes. Dans la première méthode, la solution aqueuse est additionnée d'une ou deux gouttes d'acide chlorhydrique concentré, et traitée par un excès de chlorhydrate de p-nitrophénylhydrazine en solution aqueuse. Le mélange est porté à 70-80°, puis refroidi. La p-nitrophénylhydrazone est recueillie sur un creuset filtrant, recristallisée dans l'alcool à 50 %, ou fractionnée par cristallisations successives. Les termes purifiés sont ensuite identifiés par leur point de fusion. La deuxième méthode est préférable quand il y a plus d'un terme en présence. Une petite partie de la solution aqueuse est additionnée de quelques gouttes de diéthylamine et de nitroprussiate de soude en solution aqueuse. Une coloration bleue intense est caractéristique de l'éthanal. Une autre portion plus importante de la solution est acidifiée par quelques gouttes d'acide acétique, puis additionnée d'un excès de chlorhydrate de phénylhydrazine en solution aqueuse, le tout est porté à l'ébullition, puis abandonné; une phénylhydrazone se dépose, généra-

lement huileuse. Celle-ci séparée de la solution aqueuse est chauffée vers 180° en présence de chlorure de zinc anhydre. Une odeur de scatol indique la présence de propanal.

Le butanal se trouve en faible quantité dans cette fraction, on le trouve plutôt sous forme d'acide butyrique dans l'étude de la solution (B). Son étude serait sans intérêt ici.

## V - Méthodes et réactifs de dosage

Les méthodes et les réactifs utilisés dans notre étude sont ceux de l'analyse classique des corps gras. Cependant, les prises d'essai étant nombreuses au cours d'une série de fractionnements, et n'étant pas récupérables, nous nous sommes efforcés d'opérer sur des quantités de matière notablement plus faibles que dans les méthodes classiques, afin d'éviter une trop grande perte de produits.

**Indices d'iode IJ :** Nous avons utilisé la méthode de WLS. La liqueur de WLS proprement dite est obtenue en dissolvant 12,7 g d'iode pur, par litre d'acide acétique glacial, rigoureusement pur ; puis en faisant passer à travers la solution un courant de chlore sec et pur, jusqu'à ce que la teneur en halogènes de la liqueur ait doublé. Il est important de se tenir légèrement en deçà, afin d'éviter la présence de  $ICl_3$ . On reconnaît aisément ce point, à l'éclaircissement brusque de la liqueur. Si l'on a introduit une quantité de chlore trop élevée, on peut revenir en arrière, en ajoutant au mélange une quantité appropriée de solution d'iode dans l'acide acétique.

Dans un morceau de tube de verre mince, fermé à une extrémité, et ayant ainsi la forme d'un petit tube à essais de 10 mm de long sur 3 à 6 mm de diamètre, on pèse exactement une prise d'essai P de 0,05 à 0,2 g d'acide gras, d'ester, ou d'huile. On introduit le tout dans un flacon sec bouché à l'émeri de 125 à 200 cc, avec 5 cc de tétrachlorure de carbone et 10 cc exactement mesurés, au moyen d'une pipette automatique de liqueur de WLS. On agite et on abandonne le flacon dans l'obscurité pendant 5 à 6 heures, en l'agitant de temps en temps. On ajoute alors 10 cc de solution d'iodure de potassium à 10 %, 50 cc d'eau et on titre jusqu'à décoloration par une liqueur N/10 d'hyposulfite de sodium, soit n cc. Parallèlement on effectue un essai à blanc sans corps gras ; soit alors  $n_1$  cc, le volume d'hyposulfite utilisé.

$$\text{L'indice d'iode IJ est : } \frac{n_1 - n}{P} \times 1,27$$

n ne doit jamais être plus petit que  $n_1/4$ . Il y a donc lieu de prendre P en rapport avec l'insaturation présumée du produit à doser. Pour les corps à forte insaturation, P pouvant devenir trop faible et par suite trop imprécis, il vaut mieux utiliser 20 cc de liqueur de WLS. Dans ce cas, les volumes de tétrachlorure, iodure et eau sont également doublés.

L'essai à blanc doit être effectué tous les 3 à 4 jours, et la liqueur de WLS doit être conservée dans un endroit frais et obscur.

**Indices de saponification IS :** On pèse un poids P compris entre 0,5 et 1 g d'huile ou d'ester, dans un ballon de 60 à 100 cc. On ajoute ensuite 20 cc exactement mesurés de potasse alcoolique N/4 (11 g de KOH par litre d'éthanol à 95 %). On munit le ballon d'un bouchon traversé par une canne en verre mince faisant office de réfrigérant à reflux. Le contenu du ballon est porté à une douce ébullition, sur un bain marie, pendant une 1/2 heure environ. Après refroidissement, on titre la potasse en excès par une

solution N/2 d'acide sulfurique en présence de bleu alcalin 6 B. Il est bon d'utiliser une microburette de 10 cc. Soit  $n$  cc le volume d'acide versé. On effectue parallèlement un essai à blanc, sans corps gras. Soit  $n_1$  cc le volume d'acide versé dans ce cas.

l'indice de saponification IS est : 
$$\frac{n_1 - n}{p} \times 28$$

**Indice de neutralisation IN :** Nous avons préféré la méthode de titrage en retour dans laquelle on opère exactement comme dans la détermination de l'indice de saponification, mais sans chauffer le mélange d'acides gras et de potasse alcoolique. Le calcul des résultats est identique.

Il y a lieu d'effectuer l'essai à blanc de la potasse alcoolique tous les 5 à 6 jours, dans le cas des indices de saponification, comme dans celui des indices de neutralisation.

**Polybromures insolubles dans l'éther sulfurique :** On effectue cette détermination sur les acides gras. Dans tous les cas, nous avons opéré de la manière suivante. On dissout les acides gras dans 15 fois environ leur volume d'éther sulfurique sec. On refroidit le mélange au moyen de glace pilée et de nitrate d'ammoniaque jusque vers  $-10$ ,  $-15^\circ$ , pendant que l'on ajoute très lentement, en évitant tout échauffement et en agitant, un mélange à volumes égaux de brome et d'acide acétique pur. L'opération est terminée lorsque la solution a pris une teinte orange, indiquant un petit excès de brome. On laisse alors reposer le mélange à  $-5, 0^\circ$  pendant 5 heures, puis on recueille les bromures sur un creuset filtrant taré ; on les lave avec de l'éther refroidi à  $-5, 0^\circ$  jusqu'à disparition de toute coloration jaune. On abandonne quelque temps à l'air, puis à l'étuve à  $50-70^\circ$ , jusqu'à poids constant. Le poids de bromure est ramené à 100 g d'acides gras primitifs.

**Teneur en brome des polybromures :** Nous avons déterminé dans tous les cas, la teneur en brome des bromures, par la méthode classique de CARUS, qu'il est inutile de décrire ici. N'importe quelle autre méthode pourrait convenir, mais il serait bon d'effectuer un essai préalable sur des bromures connus, par exemple sur les hexabromures des acides gras de lin.

**Hydrogénation totale des chaînes insaturées :** Cette hydrogénation conduit à un ou plusieurs acides saturés, de points de fusion bien définis, donnant deux séries d'indications intéressantes : teneur de l'échantillon insaturé en acides d'un certain nombre d'atomes de carbone ; mise en évidence s'il y a lieu de termes à chaîne non linéaire.

Dans un ballon à large col de 100 cc environ de capacité, on prépare un poids de nickel de RANEY égal à 60-80 % du poids d'ester à traiter. On termine les lavages de nickel avec de l'éthanol absolu, dont on laisse dans le ballon un volume égal à 10-15 fois celui de l'ester. On introduit ce dernier, on bouche le ballon avec un bouchon traversé par un agitateur à hélice de verre, et un tube adducteur d'hydrogène. L'agitateur doit pouvoir être entraîné à 1000-2000 tours/minute par un petit moteur électrique. On remplace aussi bien que possible, l'air du ballon par de l'hydrogène et on met l'agitateur en marche. L'opération est poursuivie deux à trois heures. On sépare la solution alcoolique du ballon par décantation, on lave 1 ou 2 fois le nickel par décantation avec de l'alcool que l'on joint à la dissolution. On ajoute à celle-ci un petit excès de potasse alcoolique et on porte 1/2 heure à l'ébullition sous réfrigérant à reflux. Après avoir chassé une partie de l'alcool par distillation, on reprend le résidu par de l'eau salée, on acidifie à l'acide chlorhydrique et on extrait les acides gras à l'éther. On isole ceux-ci et on les fait recristalliser dans l'alcool.

**Teneur de l'huile en acides gras concrets :** Nous avons effectué cette détermination par la méthode classique de TWITCHELL (7), de précipitation des savons de plomb dans l'alcool.

Nous terminerons ce chapitre par le tableau II donnant les caractéristiques principales théoriques des acides et des esters méthyliques insaturés, dont il sera question directement dans notre étude particulière des acides gras.

	Esters méthyliques		Acides gras		Teneur en Br des bromures
	I J	I S	I J	I N	
Hexadécénoïque.....	94,8	208,9	100	220,5	
Octadécénoïque.....	88,8	195,8	93,3	205,8	
Octadécadiénoïque.....	179	197,1	188	207,4	54,2
Octadécatriénoïque.....	270	198,5	284	208,9	61,1
Eicosénoïque.....	78,4	172,7	82,0	180,6	
Eicosadiénoïque.....	157	173,8	165	181,8	50,9
Eicosatriénoïque.....	238	174,9	249	183,0	61,0
Eicosatétrénoïque.....	319	176,1	334	184,1	67,7
Eicosapenténoïque.....	402	177,2	420	185,4	72,5
Docosénoïque.....	72,2	159,0	75,1	165,6	
Docosadiénoïque.....	145	160,0	151	166,5	48,7
Docosatriénoïque.....	219	160,9	228	167,5	58,9
Docosatétrénoïque.....	293	161,8	306	168,5	65,8
Docosapenténoïque.....	369	162,7	385	169,6	70,8
Docosahénoïque.....	446	163,6	465	170,6	74,5
Tétracosahénoïque.....	413	151,3	428	157,2	72,9
Tétracosahépténoïque.....	483	152,1	502	158,1	76,0



## CHAPITRE III

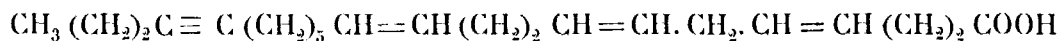
# Les acides clupanodonique et arachidonique

### 1. — Généralités

Les acides docosapenténoïque (clupanodonique) et eicosatétrénoïque (arachidonique) sont les termes les plus répandus, parmi les acides fortement insaturés des huiles de poissons et animaux marins.

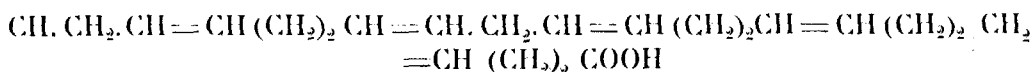
**Acide clupanodonique** : C'est l'acide clupanodonique qui a été l'objet du plus grand nombre d'études. Isolé par TSUJIMOTO (3) de l'huile de sardines du Japon ; le même auteur étudie sa constitution par ozonolyse de l'ester amylique (8) et met en évidence les groupements  $(\text{C H}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot (\text{CH}_2)_2 \text{COOH}$  et  $\text{CH}(\text{CH}_2)_2 \text{CH} =$ , ce dernier se répétant trois fois dans la molécule ; mais il ne peut que formuler des hypothèses quant aux positions respectives de ces groupements.

INOUE et SAHASHI (9) reprenant la question et opérant par oxydation permanganique, ont admis la formation d'acides butyrique, pimélique, malonique, et succinique (2 molécules). Afin de savoir dans quel ordre ces constituants se rapportent à la molécule d'acide clupanodonique, se basant sur le fait que l'hydrogène se fixe de préférence sur les doubles liaisons éloignées du carboxyle, ils effectuent une hydrogénation partielle, fixent du brome sur les doubles liaisons restantes, séparent les différents bromures, les débroment et oxydent successivement les produits ayant fourni un hexabromure, un tétrabromure, un dibromure. Ils obtiennent dans chaque cas respectif, des acides undécanoïque, pentadécanoïque et stéarique, ce qui suggère une formule possédant une liaison acétylénique :



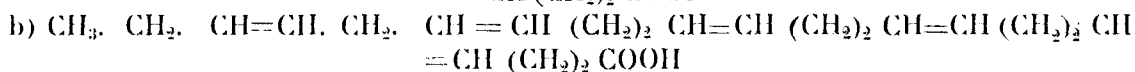
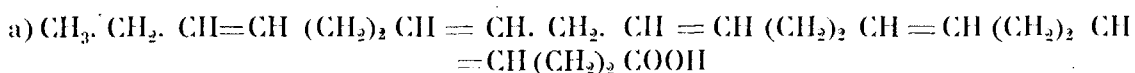
Plus récemment, TOYAMA et TSUCHIYA (10), par ozonisation du clupanodonate d'amyle, retrouvent les mêmes produits d'oxydation que TSUJIMOTO. Afin de déterminer la position exacte des groupements correspondants dans la molécule, ils ozonisent les déri-

vés partiellement bromés, ayant montré par des travaux antérieurs (11) que le brome se fixe de préférence sur les doubles liaisons les plus éloignées du carboxyle. Ils établissent ainsi la formule à 5 doubles liaisons :



Par oxydation permanganique du clupanodonte de méthyle dans l'acétone ou du clupanodonte de potassium en solution aqueuse, ils retrouvent toujours les mêmes groupements dans la molécule (12) sans entrevoir la constitution de INOUE et SAHASHI.

TAKANO (13) hydrogène partiellement le clupanodonte de méthyle jusqu'à ce que les acides gras libérés ne donnent plus de bromures insolubles dans l'éther, puis il isole la fraction de ces produits partiellement hydrogénés donnant un tétrarhodanate. Par ozonisation de cette fraction, TAKANO met en évidence des produits d'oxydation qui correspondent aux constitutions suivantes de l'acide clupanodonique :



La première est identique à celle de TOYAMA et TSUCHIYA. TAKANO suggère que la formule (b) proviendrait d'une migration de la double liaison intéressée, au cours de l'hydrogénation.

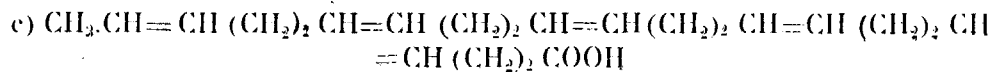
Cependant, INOUE et KATO (14) maintiennent la formule déjà énoncée par INOUE et SAHASHI, s'appuyant sur diverses considérations propres aux liaisons acétyléniques.

Dans le présent travail, nous avons isolé trois échantillons d'acide clupanodonique des huiles de foie de « Carcharodon Carcharias », de thons et de foie de morue.

Nous avons soumis le premier, sous forme d'ester méthylique à une oxydation permanganique dans l'acétone, et avons mis en évidence, parmi les produits d'oxydation, des acides propionique, acétique succinique et succinate acide de méthyle. Une autre fraction du même clupanodonte de méthyle hydrogénée aux 2/5 de la saturation totale, et oxydée dans les mêmes conditions, nous a donné principalement des acides heptanoïque, acétique, succinique et vraisemblablement de faibles quantités d'acide hexanoïque. Une dernière fraction, hydrogénée aux 1/5 a donné, toujours dans les mêmes conditions, des acides myristique, stéarique et bécénique normal. Ces résultats suggèrent une formule identique à celle de TOYAMA et TSUCHIYA (a), avec existence possible de la formule (b) en proportion assez faible.

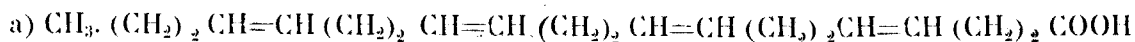
L'échantillon extrait de l'huile de thons, ozonisé sous forme d'ester amylique pur, puis sous forme d'ester amylique hydrogéné aux 2/5, nous a donné des produits d'oxydation suggérant exactement les mêmes formules que dans le cas précédent, la formule (b) en proportion très faible encore :

L'ozonisation du clupanodonte d'amylic de l'huile de foie de morue ne nous a donné comme produits d'oxydation, en quantités décelables, que des acides acétique, succinique, de l'éthanal et de l'anhydride carbonique en quantité très faible. Ceci indiquerait une nouvelle formule (c) pour l'acide clupanodonique :



Ainsi, il semble bien que l'acide clupanodonique existe sous trois formes différentes, se déduisant les unes des autres par le simple décalage d'une des deux doubles liaisons les plus éloignées du carboxyle. On peut remarquer que ces doubles liaisons sont les plus actives chimiquement, au point de vue fixation d'halogènes ou d'hydrogène. Il est peu probable que l'on soit en présence d'une isomérisation se produisant en cours de préparation ; les méthodes utilisées ont été identiques pour chacune des trois huiles étudiées, et nous avons cependant obtenu un résultat nettement différent des deux autres, dans le cas de l'acide clupanodonique de l'huile de foie de morue. D'autre part, nous avons effectué nos hydrogénations partielles à la température ordinaire, ce qui rend très improbable une isomérisation conduisant de la formule (a) à la formule (b) ou inversement. Cette hypothèse aurait pu être vraisemblable dans le cas des recherches de TAKANO qui hydrogénait à 180-200°.

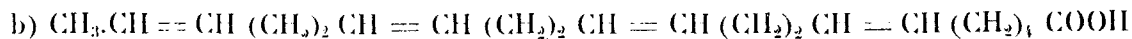
**Acide arachidonique.** — L'acide eicosatétraénoïque (arachidonique) a d'abord été signalé dans l'huile de harengs (15), puis dans les huiles de foie de morue, de menhaden, de harengs, de saumons (16) ; les chimistes japonais l'ont signalé depuis dans toutes les huiles d'animaux marins. TOYAMA et TSUCHIYA (17) l'isolent à l'état à peu près pur de l'huile de sardines du Japon, effectuent l'ozonisation de son ester amylique, et lui attribuent la formule eicosatétraène — 1.8.12.16 oïque.



Il existe un autre acide eicosatétraénoïque, isolé principalement des lipides des capsules surrénales de mammifères terrestres. Cet acide paraît avoir une formule différente de celle de l'acide des huiles de poissons. SHINOWARA et BROWN (18), lui attribuent la formule eicosatétraène — 6.10.14.16 oïque. Pour d'autres auteurs, plus nombreux (19,20,21), il répondrait à la formule eicosatétraène — 5.8.11.14 oïque.

Comme dans le cas de l'acide clupanodonique, nous avons isolé l'acide arachidonique des trois mêmes huiles de poissons.

Les arachidonates de méthyle et d'amyle de l'huile de foie de « Carcharodon Carcharias », oxydés respectivement par le permanganate et l'ozone, nous ont fourni des produits de décomposition permettant d'établir une formule (b) différente de celle de TOYAMA et TSUCHIYA.



L'arachidonate d'amyle de l'huile de foie de morue, ozonisé, nous a conduit à un mélange des formes (a) et (b) avec prédominance de la forme (a).

Dans les mêmes conditions, l'acide de l'huile de thons répondrait presque uniquement à la formule (a).

Il semble dans ce cas, comme dans le cas de l'acide clupanodonique, qu'il y a existence simultanée de deux isomères. Il ne nous est pas possible cependant de formuler une hypothèse quant au rapport qu'il y a entre ces formules et l'état zoologique ou physiologique de l'animal.

Accessoirement, nous avons effectué une étude sur la bromuration de l'arachidonate d'éthyle de l'huile de thons. Nous avons ainsi établi, d'une part que les bromurations et débromurations successives ne produisaient aucune isomérisation de position, mais provoquaient des stéréoisomérisations ; d'autre part, que les esters régénérés à partir des

bromures initiaux concrets et fluides étaient identiques entre eux, mais différents au point de vue stérique de l'ester initial. Il est tout à fait vraisemblable que ces propriétés peuvent s'étendre à tous les esters et acides fortement insaturés.

## II. — Séparation des acides clupanodonique et arachidonique de l'huile de foie de " Carcharodon Carcharias " L.

Quatre kilogrammes d'acides gras insolubles d'huile de foie de « Carcharodon Carcharias » sont traités suivant les méthodes du chapitre II, donnant après élimination des acides concrets, 3.350 g d'acides fluides d'indice de neutralisation 189,7 et d'indice d'iode 148,5. Ces acides traités par précipitation des savons de sodium dans l'acétone donnent une fraction fortement insaturée ; 350 g, IN : 169,2, IJ : 282, qui est transformée en esters méthyliques et fractionnée par distillation :

Fraction	Ebullition sous 0,4 — 0,6 mm Hg	Poids de la fraction en grammes	I S	I J
1	< 188°	112	190,3	161,5
2	188°-195°	43	178,5	233,0
3	195°-200°	98	166,0	329,0
4	200°-212°	57	158,2	371,0
5	> 212°	25	152,1	370,0
Résidu		Différence		

Les fractions 2, 3 et 4 sont traitées par une série de distillations et de précipitations de savons de sodium dans l'acétone, schématisées dans le tableau III.

— Les acides obtenus à partir des fractions 3 et 4 des esters méthyliques fortement insaturés, neutralisés par NaOH 2N (toutes les liqueurs de soude utilisées pour ces fractionnements, quel que soit leur titre, sont en solution dans l'alcool à 50 %), traités par 600 cc d'acétone, donnent (a). Le filtrat traité à son tour par 1.000 cc d'acétone et refroidi à — 10° donne (b). Le filtrat final donne (c).

— (c) neutralisée par NaOH 2N, traitée par 800 cc d'acétone donne (d) pour le précipité, (e) pour le filtrat.

— (b) et (d), jointes, transformées en esters méthyliques et rectifiées sous 0,4-0,6 mm donnent (f), (g), (h).

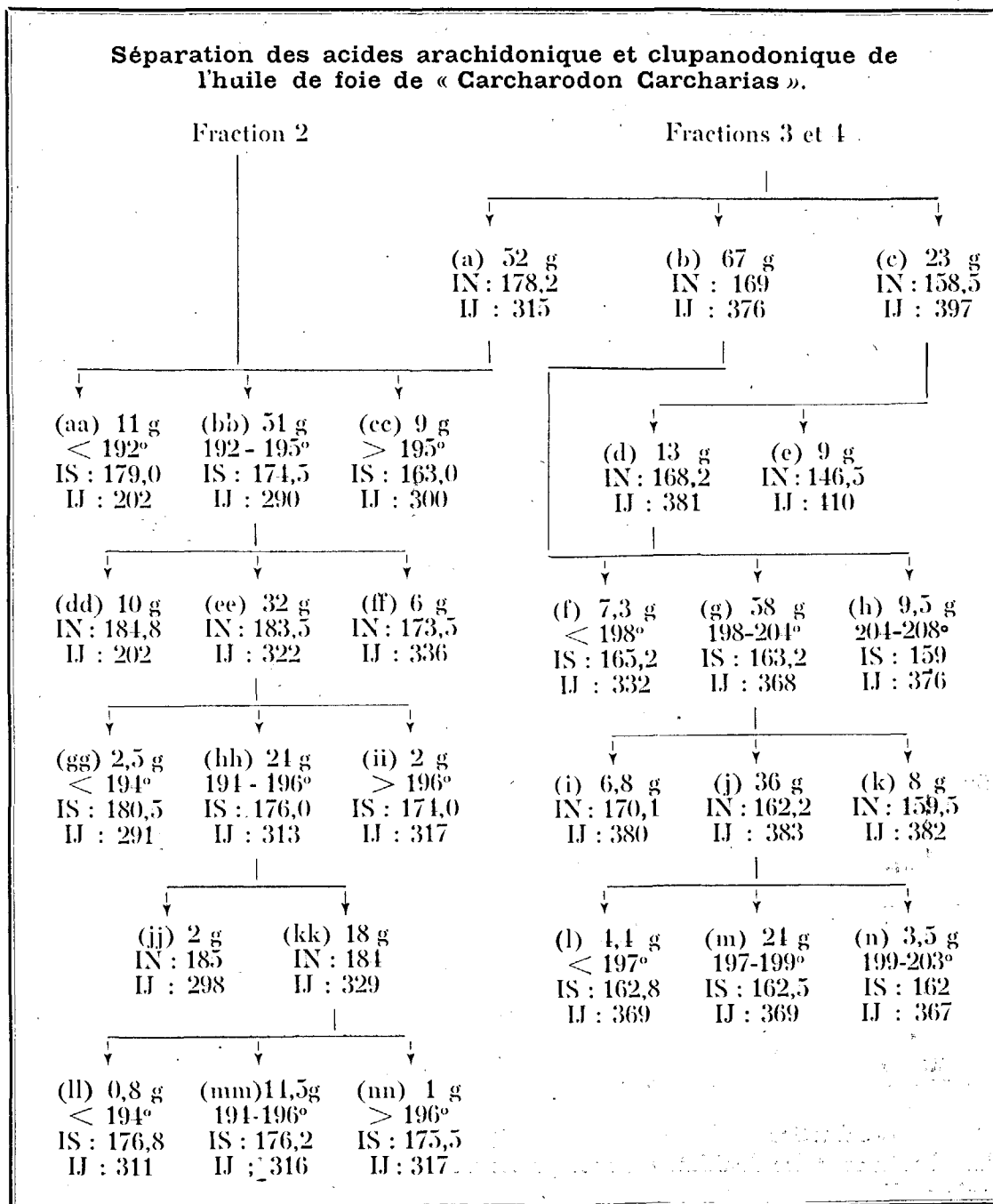
— Les acides gras de (g) neutralisés par NaOH 2N, traités par 200 cc d'acétone donnent (i), puis (j) avec 2.000 cc d'acétone à — 5,0°. Le filtrat donne (k).

— Les esters de (j) sont rectifiés sous 0,4-0,6 mm.

La fraction (m) est constituée par du clupanodonate de méthyle à peu près pur. Les autres caractéristiques de cette fraction sont les suivantes :

$$d_{4}^{15} : 0,923 \quad n_{D}^{15} : 1,4960$$

TABLEAU III



Réfraction moléculaire : 109,0

R.M. calculée pour  $C_{23}H_{36}O_2 (=)_5$  : 107,7

Acides gras bromés insolubles dans l'éther : 157 % Br % : 69,2

— Les acides de (a) sont transformés en esters méthyliques et joints à la fraction 2 du premier fonctionnement. Le mélange rectifié sous 0,6-0,8 mm donne (aa), (bb), (cc).

— Les acides de (bb) neutralisés par NaOH 3N, traités par 200 cc d'acétone, puis par 2.000 cc d'acétone à  $-10^\circ$  donnent (dd) et (ee) pour les précipités et (ff) pour le filtrat.

— (ee) rectifiée sous forme d'esters méthyliques donne (gg), (hh), (ii).

— Les acides de (hh) neutralisés par NaOH 2N, traités par 200 cc d'acétone donnent (jj) pour les savons insolubles et (kk) pour les savons solubles.

— (kk) transformée en esters méthyliques est fractionnée sous 0,6-0,8 mm.

La fraction (mm) est constituée par de l'arachidonate de méthyle à peu près pur. Les autres caractéristiques de la fraction sont :

$$d_4^{20} : 0,9168$$

$$n_D^{20} : 1,4875$$

Réfraction moléculaire : 99,7

R.M. calculée pour  $C_{21}H_{34}O_2 (=)_4$  98,85

Acides gras bromés insolubles : 128 % Br % : 67,7

### III. — Séparation des acides clupanodonique et arachidonique de l'huile de thons

Sept kilogrammes d'acides gras insolubles d'huile de thons, sont traités comme précédemment, donnant après élimination des acides concrets :

Acides des savons insolubles : 4910 g IN : 184,3 IJ : 174

« « « solubles : 790 g IN : 163,2 IJ : 298

Les acides fortement insaturés sont transformés en esters méthyliques et fractionnés :

Fraction	Ebullition sous 0,5 — 0,8 mm Hg	Poids de la fraction en grammes	I S	I J
1	< 190°	220	188,2	173
2	190-195°	128	176,3	263
3	195-200°	218	165,5	369
4	200-210°	105	158,5	102
5	210-215°	52	152,0	428
Résidu		Différence		

Les fractions 2, 3 et 4 sont traitées par des précipitations de savons de sodium dans l'acétone et des distillations fractionnées d'esters méthyliques, suivant le schéma du tableau IV.

— Les acides de 3 et 4, mélangés, neutralisés par NaOH4N, traités par 900 cc puis par 2.500 cc d'acétone, donnent (a) et (b) pour les précipités et (c) pour le filtrat.

— (b) est transformée en esters méthyliques et fractionnée sous 0,4-0,6 mm, donnant (d), (e), (f).

— Les acides de (e), neutralisés par NaOH4N et traités successivement par 350 cc et 3.500 cc d'acétone donnent (g), (h) et (i).

— (h) transformée en esters méthyliques donne par distillation sous 0,4-0,9 mm, (j) (k), (l).

— Les acides de (k) neutralisés par NaOH4N, traités par 150 cc puis par 2.000 cc d'acétone donnent (m), (n) et (o).

— (n) transformée en esters méthyliques et rectifiée sous 0,4-0,6 mm.

La fraction (q) est constituée par du clupanodonte de méthyle à peu près pur :

$$d_4^{20} : 0,9208 \qquad n_D^{20} : 1,4918$$

Réfraction moléculaire : 108,9    Calculée : 107,7

Acides gras bromés insolubles : 153 %    Br % : 70,9

Hydrogénation totale et saponification : acide n-docosanoïque ; F : 78-79°

— Les acides de la fraction 2 sont joints à ceux de (a). Le mélange est neutralisé par NaOH 3N et traité successivement par 700 cc et 5.000 cc d'acétone, donnant (aa), (bb) et (cc).

— (bb) transformée en esters méthyliques et rectifiée sous 0,6-0,8 mm donne (dd), (ee) et (ff).

— Les acides de (ee) neutralisés par NaOH 3N et traités successivement par 250 cc et 4.000 cc d'acétone donnent (gg), (hh) et (ii).

— (hh) transformée en esters méthyliques est rectifiée sous 0,9-0,8 mm.

La fraction (kk) est constituée par de l'arachidonate de méthyle à peu près pur

$$d_4^{20} : 0,9160 \qquad n_D^{20} : 1,4868$$

Réfraction moléculaire : 99,8    Calculée : 98,85

Acides gras bromés insolubles : 115 %    Br % : 67,8

Hydrogénation et saponification : acide n-eicosanoïque ; F : 74-75°

#### IV. — Séparation des acides clupanodonique et arachidonique de l'huile de foie de morue

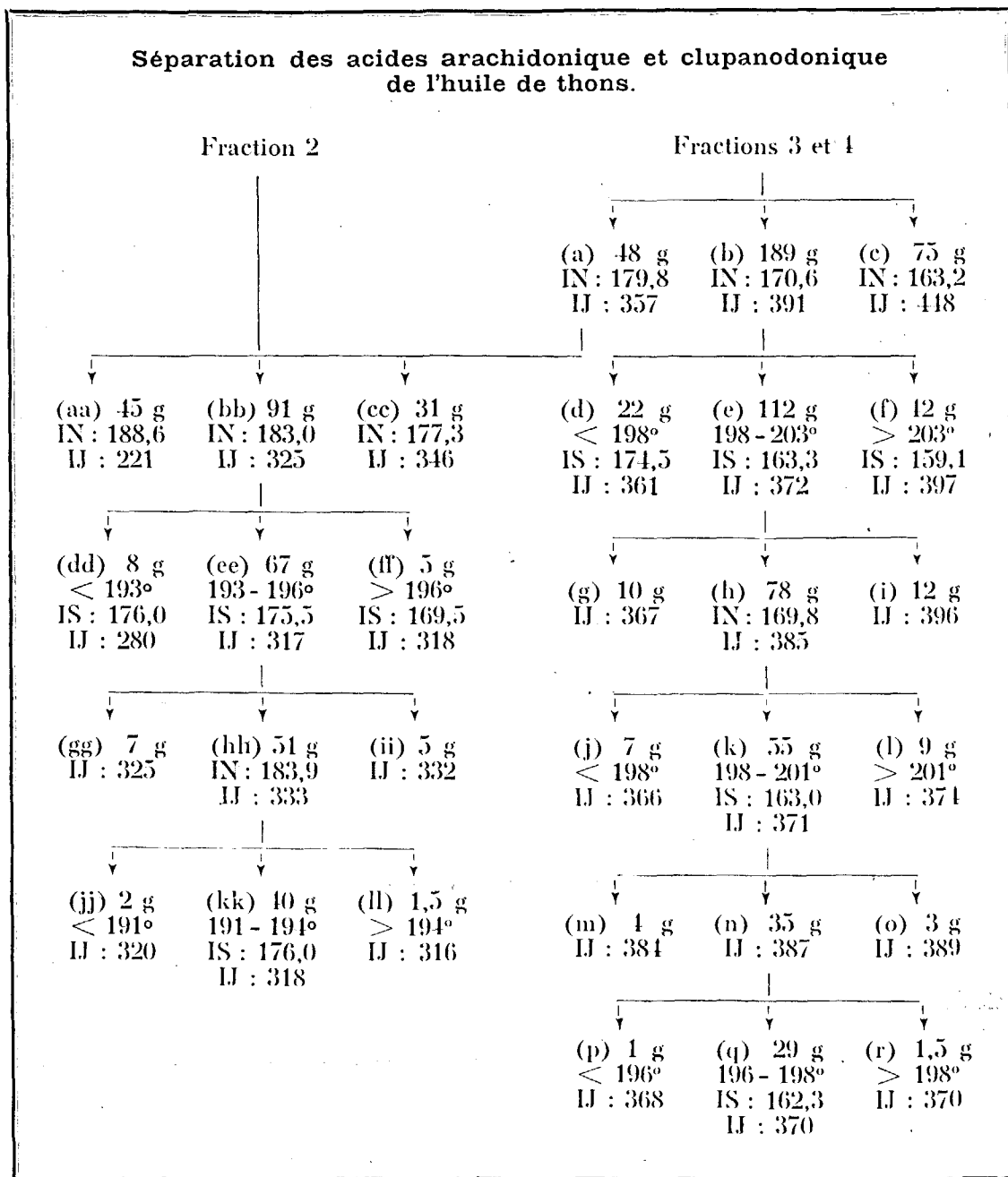
Nous avons préparé les clupanodonte et arachidonate de méthyle d'huile de foie de morue, suivant une technique exactement calquée sur la précédente, à partir de 3 kg 500 d'huile. Les caractéristiques des fractions finales sont :

Clupanodonte de méthyle 13 g    IS : 162,4    IJ : 371

$$d_4^{20} : 0,9211 \qquad n_D^{20} : 1,4910$$

Acides gras bromés insolubles : 162 %    Br % : 70,9

TABLEAU IV





Hydrogénation et saponification : acide n-docasanoïque F : 78-79°

Arachidonate de méthyle 22 g IS : 176,2 IJ : 318

$$d_4^{20} : 0,9157 \qquad n_D^{20} : 1,4865$$

Acides gras bromés insolubles : 123 % Br % 67,9

Hydrogénation et saponification : acide n-eicosanoïque F : 74-75°

### V. — Oxydation du clupanodonte de méthyle de l'huile de foie de " Carcharodon Carcharias ". L.

Cette étude est la première que nous ayons effectuée sur les acides fortement insaturés. Nous avons opéré par oxydation permanganique dans l'acétone. L'expérience nous a montré que cette méthode est autant que possible à éviter dans le cas des acides polyéthyléniques. L'ozonisation simplifie beaucoup le travail, tout en donnant des résultats au moins aussi bons.

**Oxydation du clupanodonte de méthyle pur.** 5 g d'ester sont dissous dans 100 cc d'acétone ; 10 g de permanganate de potassium finement pulvérisé sont ajoutés à la solution froide pendant 2 heures, en agitant constamment le mélange. Après repos de 30 minutes, le ballon est muni d'un réfrigérant à reflux, chauffé au bain-marie, et son contenu est maintenu à une ébullition douce pendant que 30 g de permanganate sont ajoutés par petites portions dans le cours de 3 heures. L'ébullition est maintenue 5 heures. Après repos de 12 heures, l'ébullition est reprise et 35 g de permanganate sont ajoutés en 5 heures. L'ébullition est maintenue 5 heures encore.

L'acétone est chassée par distillation, le résidu est repris par 250 cc d'eau, puis traité par un courant de gaz sulfureux jusqu'à disparition totale des oxydes de manganèse.

Une fraction huileuse (A) surnage ; elle est séparée par décantation.

La solution aqueuse (B) est agitée en une vingtaine de reprises, avec chaque fois 100 cc d'éther sulfurique. On a ainsi une solution étherée (C).

L'éther de (C) est chassé par distillation à travers un tube de Vigreux jusqu'à obtention d'un résidu de 50 cc environ. Ce résidu est agité avec 5 cc de solution de permanganate à 5 %, puis filtré. Le filtrat, soigneusement séché sur  $SO_4Na_2$  est concentré à 10 cc (à travers un tube de Vigreux). Ce résidu repris par 200 cc d'éther de pétrole léger abandonne une fraction insoluble ( $C_1$ ). La solution étherée est concentrée par distillation à travers un tube de Vigreux, jusqu'à 10 cc environ, puis introduite dans un petit ballon à distiller et fractionnée :

Fraction 1	< 90°	7,2 g	réaction acide
" 2	90-130°	0,6 g	IN : 623
" 3	130-150°	0,35g	IN : 771

La solution neutralisée de la fraction 2 est traitée par du bromure de p-bromophénacyle (voir chapitre II). L'ester, après plusieurs cristallisations dans l'alcool à 70 % fondait à 84-85°, pur ou mélangé à de l'acétate de p-bromophénacyle. La fraction 2 est

donc constituée par de l'acide acétique souillé d'éther de pétrole. Cet acide proviendrait d'un ou plusieurs chaînons  $\text{=CH, CH}_2, \text{CH=}$  suivant une décomposition déjà signalée. La fraction 3 paraît contenir une assez grande proportion d'acide propionique (IN théorique : 757). Son ester p-bromophénacylé purifié fondait à 62-63°, pur ou mélangé à du propionate de p-bromophénacycle. On a donc la présence du chaînon  $\text{CH}_2, \text{CH}_2, \text{CH=}$

La fraction insoluble (A), dissoute dans 50 cc d'éther et agitée avec 20 cc de solution de potasse à 10 %, donne une solution aqueuse contenant les produits acides sous forme de sels et une solution étherée retenant les produits neutres incomplètement oxydés. La solution aqueuse, acidifiée et agitée avec de l'éther fournit un produit ayant : IN : 417, IS : 830 (calculé pour le succinate acide de méthyle : IN : 424, IS 850). L'acide récupéré des solutions de dosage, recristallisé dans l'acétate d'éthyle fondait à 178-179°, pur ou mélangé à de l'acide succinique. On a donc la présence d'un chaînon  $\text{=CH(CH}_2)_2\text{COOH}$ .

La solution aqueuse (B) est traitée jusqu'à alcalinité par une solution de potasse à 10 % ; les précipités d'hydrates de manganèse sont séparés par filtration. Le filtrat, concentré jusqu'à début de cristallisation est traité par 500 cc d'alcool à 95 %. La majeure partie de sels minéraux de potassium ainsi rendue insoluble est éliminée. Le filtrat est évaporé à sec et le résidu est extrait trois fois avec chaque fois 200 cc d'alcool bouillant. L'alcool de la solution est chassé par distillation, le résidu est acidifié et traité par de l'acétate d'éthyle bouillant. Par cristallisation cette dernière solution abandonne des cristaux fondant à 181-182° ayant : IN : 917 (calculé pour l'acide succinique ; IN : 950 F : 182-183°)

Le résidu (C<sub>1</sub>) insoluble dans l'éther de pétrole, recristallisé dans l'acétate d'éthyle fournit encore de l'acide succinique ; IN : 914 F : 180-181°

Les quantités totales d'acide succinique trouvées, permettent d'attribuer à la molécule d'acide clupanodonique 3 chaînes  $\text{=CH(CH}_2)_2\text{CH=}$

**Oxydation du clupanodonate de méthyle hydrogéné aux 2.5 :** Le catalyseur utilisé pour l'hydrogénation est obtenu par réduction du carbonate de nickel technique, à 300°, pendant 10 heures dans un courant lent d'hydrogène. Nous avons choisi ce catalyseur d'activité moyenne, afin d'avoir une plus grande sélectivité dans l'hydrogénation des doubles liaisons.

L'appareil à hydrogéner est identique à celui qui est décrit dans le chapitre II mais le ballon a ici 500 cc de capacité, et l'étanchéité parfaite de la gaine d'agitateur est assurée par un joint à mercure. Le tube adducteur est relié à un gazomètre contenant de l'hydrogène pur, afin de permettre à chaque instant la lecture du volume d'hydrogène absorbé.

10 gr de clupanodonate de méthyle sont dissous dans 100 cc de méthanol pur, puis 5 gr. de catalyseur fraîchement réduit sont ajoutés. L'air du ballon est remplacé par de l'hydrogène et l'agitateur est mis en marche. L'opération est poursuivie jusqu'à absorption de 1 l, 300 d'hydrogène (6 heures 30 environ). Après filtration et élimination du méthanol, le produit a un indice d'iode de 221.

L'ester partiellement hydrogéné est dissous dans 150 cc d'acétone et oxydé par 90 gr. de permanganate, suivant un processus exactement semblable au précédent.

La solution aqueuse obtenue après traitement au gaz sulfureux est agitée une vingtaine de fois, avec chaque fois 50 cc d'éther sulfurique. On obtient une solution aqueuse (A) et une solution étherée (B).

L'éther de (B) est chassé à travers un tube de Vigreux jusqu'à obtention d'un résidu de 50 cc. Ce résidu est agité avec 5 cc de permanganate à 5 % puis filtré. Le filtrat est séché sur  $\text{SO}_4 \text{Na}_2$  anhydre, puis concentré jusqu'à 10 cc (à travers un tube de Vigreux)

Le résidu est saponifié, puis après acidification, les acides gras sont extraits avec 500 cc d'éther de pétrole léger. On obtient ainsi : une solution aqueuse (C), une solution dans l'éther de pétrole (D), un résidu insoluble à la fois dans l'eau et l'éther de pétrole (E).

L'éther de pétrole de (D) est chassé par distillation à travers un tube de Vigreux et le résidu fractionné par distillation.

1 <sup>o</sup> Fraction	< 100°	3,2 g	Réaction acide
2 <sup>o</sup> " "	100-180°	0,8 g	IN : 818

La distillation est poursuivie sous 20 mm de Hg.

3 <sup>o</sup> fraction	117 - 122°	1,7 g	IN : 445
4 <sup>o</sup> " "	122 - 128°	0,4 g	IN : 380
5 <sup>o</sup> " "	128 - 136°	1,0 g	IN : 319

Les fractions 1 et 2 paraissent contenir de l'éther de pétrole et des acides acétique et propionique.

La fraction 3 est transformée en sel de baryum et en ester p-bromophénaçylé (voir Chapitre II : Caractérisation des produits d'oxydation). Le sel de baryum, après une simple cristallisation contenait 35,5 % de Ba (Calculé pour l'heptanoate de Ba : 34,7 %, pour le caproate de Ba : 37,4 %). Après trois nouvelles cristallisations, le sel contenait 35,0 % de Ba. L'ester p-bromophénaçylé recristallisé plusieurs fois dans l'alcool à 90 % fondait à 70-71°, pur ou mélangé à de l'heptanoate de p-bromophénaçyle. On est donc en présence d'acide heptanoïque, indiquant un chaînon  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5 \text{CH} =$  avec sans doute une faible quantité d'acide caproïque, indiquant l'existence possible d'un chaînon  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4 \text{CH} =$ .

La fraction 5 traitée comme la fraction 3 donne un sel de baryum contenant 28,3 % de Ba (Calculé pour le caprate de Ba : 28,6 %) et un ester p-bromophénaçylé fondant à 66-67°, pur ou mélangé à du caprate de p-bromophénaçyle. On a donc la présence du chaînon  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8 \text{CH} =$ .

La fraction (E) est constituée par un mélange de divers diacides et de produits incomplètement oxydés. Nous n'avons pu isoler aucun corps défini.

La solution (C) est évaporée à sec, et le résidu extrait à l'acétate d'éthyle fournit de l'acide succinique F : 181-182°, provenant du chaînon carboxylé.

La solution (A) est traitée exactement comme la solution (B) dans le cas de l'oxydation du clupanodonate de méthyle pur. Elle fournit principalement de l'acide succinique.

**Oxydation du clupanodonate de méthyle hydrogéné aux 4/5.** 5,5 g de clupanodonate de méthyle sont hydrogénés comme précédemment avec 5 g. de catalyseur et 60 cc de méthanol. L'hydrogénation est poursuivie jusqu'à absorption de 1 litre 14 d'hydrogène. L'ester hydrogéné a : IJ : 76, F : 33-35°.

Cet ester est oxydé dans 50 cc d'acétone avec 20 g de permanganate.

La solution aqueuse après traitement par le gaz sulfureux est agitée avec 100 cc d'éther de pétrole, donnant ainsi une solution aqueuse (A) et une solution étherée (B).

L'éther de pétrole de (B) est chassé par distillation.

Le résidu est saponifié, acidifié, les acides libérés sont extraits à l'éther de pétrole donnant la solution étherée (C), et la solution aqueuse (D). Ces opérations ont pour but de décomposer le semi-ester du groupe carboxylé et de le rendre insoluble dans l'éther de pétrole.

L'éther de (C), chassé par distillation, laisse un résidu (3,2 g) fondant à 57-58°, que l'on dissout dans 100 cc d'alcool à 95 %, puis neutralise exactement par de la soude N/2. 50 cc d'acétate de magnésium à 5 % sont ajoutés à l'ébullition. Après refroidissement, le précipité de sels de magnésium est séparé ; ses acides gras sont libérés par acidification, extraits à l'éther, débarassés de l'éther et dissous dans 50 cc d'alcool à 95 % bouillant. Cette dernière solution, maintenue plusieurs heures à 20-25° abandonne des cristaux, qui après plusieurs cristallisations dans l'alcool fondaient à 79-80° (acide n-docosanoïque, F : 80,3°). La solution alcoolique refroidie à 5-10° abandonne de nouveaux cristaux que l'on purifie par cristallisations fractionnées dans l'alcool ; F : 68-69°, IN : 195,2 (Acide stéarique, IN : 197,3, F : 70°). La solution des sels de magnésium, acidifiée et extraite à l'éther, fournit des acides gras qui après plusieurs cristallisations dans le méthanol à 85 % fondaient à 18-19° ; IN 238 (Acide myristique ; IN : 245,5, F : 54°).

La solution aqueuse (D) fournit de l'acide succinique par les procédés habituels.

La solution aqueuse (A) traitée comme ses semblables des cas précédents, fournit un mélange de divers diacides qui ne peuvent être identifiés.

En résumé, l'ester hydrogéné aux 15 indique la présence des groupements  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}=\text{}$  et  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}=\text{}$ . Ce qui, rapproché des résultats précédents, permet de donner à l'acide clupanodonique de l'huile de foie de « Carcharodon Carcharias » la formule docosapentène — 4. 8. 12. 15. 19 oïque avec existence possible d'une formule : docosapentène — 4. 8. 12. 16. 19. oïque.

## VI. — Oxydation du clupanodonte d'amyle de l'huile de thons

Nous avons opéré ici exactement suivant la méthode générale type indiquée dans le Chapitre II ; sur l'ester amylique pur, puis sur l'ester amylique hydrogéné aux 2/5. L'hydrogénation s'est effectuée comme dans le cas du clupanodonte de « Carcharodon » mais en utilisant de l'alcool amylique, au lieu de méthanol, comme solvant.

Nous avons effectué deux ozonisations de 5 g chacune de clupanodonte d'amyle pur. Nous avons mis en évidence des acides propionique, acétique, succinique, de l'éthanal, du propanal et de l'anhydride carbonique en quantité paraissant correspondre à un chaînon  $=\text{CH}.\text{CH}_2.\text{CH}=\text{}$ .

Trois ozonisations de 5 g de clupanodonte d'amyle hydrogéné aux 2/5, nous ont permis d'isoler de faibles quantités d'acides et aldéhydes acétique et propionique, d'anhydride carbonique ; des acides caproïque et pimélique en quantités nettement décelables ; des acides heptanoïque, caprique, succinique en quantités importantes.

Ces résultats conduisent aux mêmes constitutions que celles de l'acide de « Carcharodon Carcharias ».

## VII. — Oxydation du clupanodonte d'amyle de l'huile de foie de morue

Nous avons ozonisé 5 g de clupanodonte d'amyle, mettant en évidence des acides acétique et succinique, de l'anhydride carbonique en quantité faible, de l'éthanal. Ces résultats indiquent une nouvelle formule pour l'acide clupanodonique : docosapentène 4. 8. 12. 16. 20 oïque. La présence d'une faible quantité d'anhydride carbonique proviendrait soit d'une certaine teneur en acide de formule analogue à celle des cas précédents, soit plutôt de la présence d'impuretés dans l'échantillon étudié (acide docosahexénoïque, par exemple).

## VIII. — Oxydation des esters des divers échantillons d'acide arachidonique

Nous avons effectué l'oxydation par l'ozone sur l'ester amylique de chacun des trois acides isolés plus haut.

L'acide de l'huile de foie de « Carcharodon Carcharias » nous a donné principalement de l'éthanal et des acides acétique, succinique et adipique. Ce dernier correspondant au chaînon carboxylé.

Les produits d'oxydation de l'arachidonate d'amyle de l'huile de thons étaient constitués principalement par du butanal et des acides butyrique et succinique. Ceux de l'arachidonate d'amyle de l'huile de foie de morue étaient constitués par de l'éthanal, du butanal, des acides butyrique, acétique, succinique, adipique, ce dernier correspondant à un chaînon carboxylé. Il y a donc lieu d'admettre l'existence de deux acides arachidoniques isomères : eicosatétrène — 6. 10. 11. 18 oïque et eicosatétrène — 4. 8. 12. 16. oïque.

## IX. — Etude des produits de bromuration de l'arachidonate d'éthyle de l'huile de thons

Le but de ce travail était de mettre en évidence le comportement des chaînes acides fortement insaturées lorsqu'on fixe du brome sur leurs doubles liaisons, et lorsqu'on élimine celui-ci des produits bromés.

L'arachidonate de méthyle de l'huile de thons, est transformé en ester éthylique par saponification, libération de l'acide et réestérification. Cette opération permet d'avoir un même ester au cours de toute l'étude. Si l'on partait initialement de l'ester méthylique, on aboutirait à la suite des débromurations dans l'éthanol chlorhydrique, par suite de phénomènes de transestérification à un mélange d'esters méthyliques et éthyliques ; différence qui fausserait la rigueur scientifique du travail.

30 g d'arachidonate d'éthyle (I<sub>2</sub> : 301) sont bromés dans l'éther suivant la méthode du chapitre II, donnant 31,5 g de bromures solides (115 %). La solution éthérée (filtrat)

est agitée avec une solution aqueuse diluée de sulfite de soude, afin d'éliminer l'excès de brome ; puis lavée deux fois à l'eau salée, et enfin séchée sur  $\text{SO}_4\text{Na}_2$ . L'éther chassé par distillation laisse un résidu constitué par 52 g de bromures huileux (172 %). On remarquera que le poids total de bromures obtenus est de 86,5 g presque identique au poids théorique : 87,8 g ; la bromuration est donc quantitative et totale sur toutes les doubles liaisons.

Les bromures solides sont introduits dans un ballon avec 100 cc d'éthanol et 60 g de zinc pulvérisé. Le ballon est surmonté d'un réfrigérant à reflux, d'un entonnoir à robinet et d'un tube adducteur de  $\text{CO}_2$ . Le contenu du ballon est porté à l'ébullition sur un bain-marie, pendant que l'on verse goutte à goutte par l'entonnoir à robinet 100 cc d'éthanol saturé de gaz chlorhydrique. Au bout de 8 heures, la majeure partie des bromures solides en suspension a disparu. La solution est reprise par de l'eau salée, l'ester est extrait à l'éther, isolé suivant les procédés habituels, et rectifié sous 0,4-0,6 mm, donnant 6 g d'arachidonate d'éthyle régénéré, I J : 301.

Les bromures liquides sont traités de la même manière, mais ici, la débromuration se poursuit violemment dès que l'on ajoute quelques gouttes d'éthanol chlorhydrique. On doit refroidir le ballon au début, pour modérer la réaction, et ne chauffer pendant une dizaine de minutes que lorsqu'elle est calmée. L'ester est rectifié, donnant 13 g d'arachidonate régénéré IJ : 292.

Une partie de chacun des esters régénérés est bromée à son tour comme précédemment. On n'obtient plus que 82% de bromures solides dans le cas de l'arachidonate régénéré des bromures solides et 72% dans le cas de l'arachidonate des bromures fluides. La fixation de brome est encore quantitative.

L'ozonisation de l'autre partie des esters régénérés montre que chacun d'eux répond toujours à la formule eicosatétrène — 1.8.12.16 oate d'éthyle.

Ces résultats indiquent qu'il n'y a aucune isomérisation de position au cours des divers traitements ; mais le rendement plus faible en bromure concret des esters régénérés indique une stéréoisomérisation de la molécule. Les esters régénérés paraissent sensiblement identiques entre eux au point de vue stérique.

Au sujet des rendements en bromures solides insolubles il est intéressant de constater leur variation suivant la formule de l'acide ; 128 % dans le cas de l'eicosatétrène — 6.10.11-18 oïque de l'huile de « Carcharodon » ; 115 % dans celui de l'eicosatétrène — 1.8.12.16 oïque de l'huile de thons ; 123 % dans celui de l'acide de l'huile de foie de morue, qui est un mélange des deux formes.

## CHAPITRE IV

# Les autres acides gras fortement insaturés

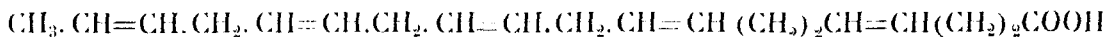
### I. — Généralités

En dehors des acides elupanodonique et arachidonique, divers autres termes fortement insaturés ont été signalés, isolés ou étudiés ; et bien qu'existant en proportions plus faibles que les deux acides ci-dessus, ils paraissent exister dans toutes les variétés d'huiles de poissons.

Un acide tétraéthylénique à 18 atomes de carbone a été isolé par TOYAMA et TSUCHIYA (22) dans l'huile de sardines du Japon. Etudiant sa constitution, les mêmes auteurs lui ont attribué la formule : octadécatriène — 1.8.12.15 oïque.

Dans la série des acides à 20 atomes de carbone, le terme pentaéthylénique a souvent été signalé. TOYAMA et TSUCHIYA (23) l'ont isolé de l'huile de sardines du Japon et ont établi sa formule probable : eicosapentène — 1.8.12.15.18 oïque.

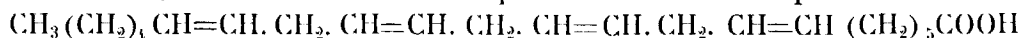
Nous avons extrait un échantillon de cet acide de l'huile de thons et nous avons étudié sa constitution. Celle-ci correspondrait bien à la formule indiquée par TOYAMA et TSUCHIYA.



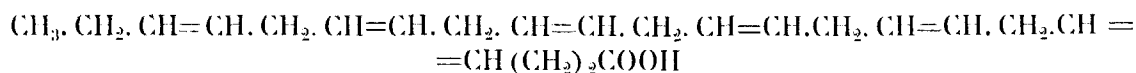
L'acide tétraéthylénique à 22 atomes de carbone a été fréquemment signalé dans les huiles d'animaux marins, où il accompagne l'acide elupanodonique ; notamment dans les huiles de cétacés (24.25.26.27), de requins et de raies (28), dans les huiles d'œufs de « squalus sucklii » (29). On l'a reconnu également dans les huiles d'alligator (1), dans la graisse de foie de bœuf (30) et même dans le règne végétal où TSUMOTO (2) l'aurait trouvé dans les huiles extraites de certaines algues « sargassum sagamianum » et « laminaria japonica ». Jusqu'à présent sa constitution ne paraît avoir fait l'objet d'aucune étude.

Nous avons isolé de l'huile de foie de « Carcharodon Carcharias », un échantillon de docosatétrénoate de méthyle assez impur, qui paraissait contenir 10 à 15% de elupanodonate de méthyle. Après ozonisation, nous avons admis trois formules possibles : docosatétrène — 8.12.16.20 ou — 8.12.16.19 ou — 8.12.15.19 oïque.

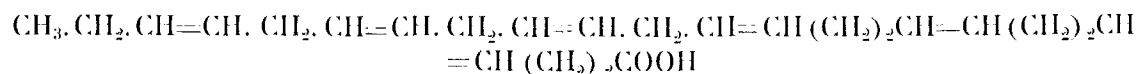
L'huile de thons paraissait plus riche en cet acide ; nous avons pu l'isoler plus aisément, à l'état d'ester méthylique à peu près pur. L'ozonisation nous a indiqué une formule docosatétrène — 7.10.13.16 oïque ; nettement différente de celles trouvées précédemment. Cependant, étant donné l'état d'impureté certain de l'échantillon de l'huile de « Carcharodon », c'est la dernière formule que nous admettons de préférence :



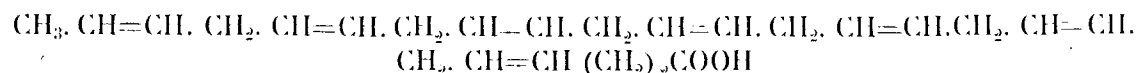
L'acide docosahénoïque se rencontrerait également dans toutes les huiles d'animaux marins. TOYAMA et TSUCHIYA, étudiant cet acide, extrait de l'huile de sardines du Japon, lui ont attribué les formules docosahénoïque — 4.8.12.15.18.21 ou — 4.8.11.14.17.20 oïque. Nous avons isolé un échantillon à peu près pur de docosahénoate de méthyle de l'huile de thons ; les produits d'oxydation par l'ozone de l'ester amylique nous ont conduit à la formule docosahénoïque — 4.7.10.13.16.19. oïque.



Les acides fortement insaturés à 24 atomes de carbone ont aussi fait l'objet d'un certain nombre d'études ; ils paraissent répandus dans un grand nombre d'huiles. Les principaux sont l'acide tétracosapenténoïque (scoliodonique) (31) et tétracosahénoïque (nisinique) (32). Ce dernier serait le tétracosahénoïque — 4.8.12.15.18.21 oïque. Nous avons isolé de l'huile de thons un tétracosahénoate et un tétracosahépténoate de méthyle. Etudiant leur constitution par les méthodes habituelles, nous avons pu mettre en évidence pour le terme hexaéthylénique, une formule probablement identique à celle de l'acide nisinique :



L'acide héptaéthylénique répondrait à la formule tétracosahéptène — 4.7.10.13.16.19.22 oïque :



Enfin, des termes à 26 atomes de carbone penta et hexaéthyléniques ont aussi été signalés (33-34).

L'existence de certains acides fortement insaturés a été contestée. Au cours d'un important travail, FARMER et VAN DEN HEUVEL (35), séparant par distillations moléculaires les esters méthyliques d'acides fortement insaturés d'huile de foie de morue, à des températures inférieures à 120°, ont trouvé que l'insaturation moyenne des termes en C<sub>22</sub> et C<sub>20</sub> correspondrait au seul acide docosahénoïque et pratiquement au seul acide eicosapenténoïque. Ces auteurs suggèrent que les autres acides d'insaturation plus faible, proviendraient d'isomérisations thermiques (probablement avec cyclisation), aux températures souvent supérieures à 200°, nécessaires aux distillations dans un vide non moléculaire. Notamment, l'acide elupanodonique serait issu d'une décomposition de l'acide docosahénoïque.

Nous avons ici envisagé le problème d'une autre manière. Nous avons isolé une fraction d'acide fortement insaturé, sans avoir recours à des distillations ; uniquement par quelques précipitations fractionnées de savons de sodium dans l'acétone ; nous n'avons



TABLEAU V

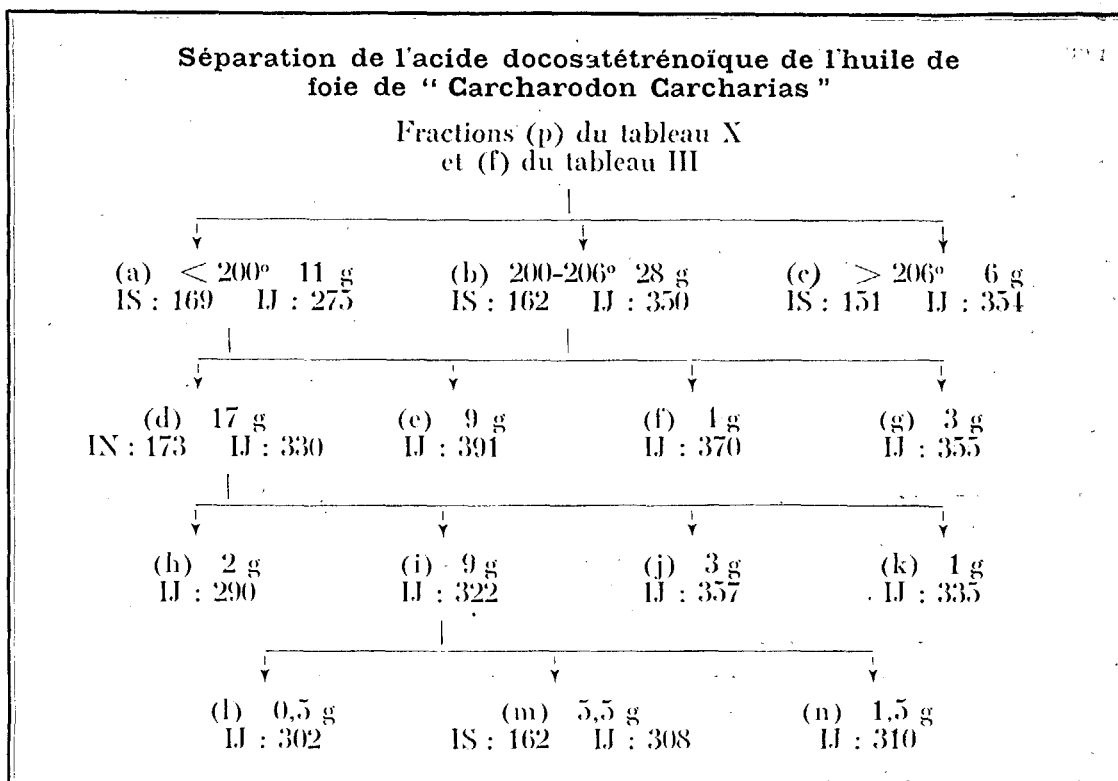
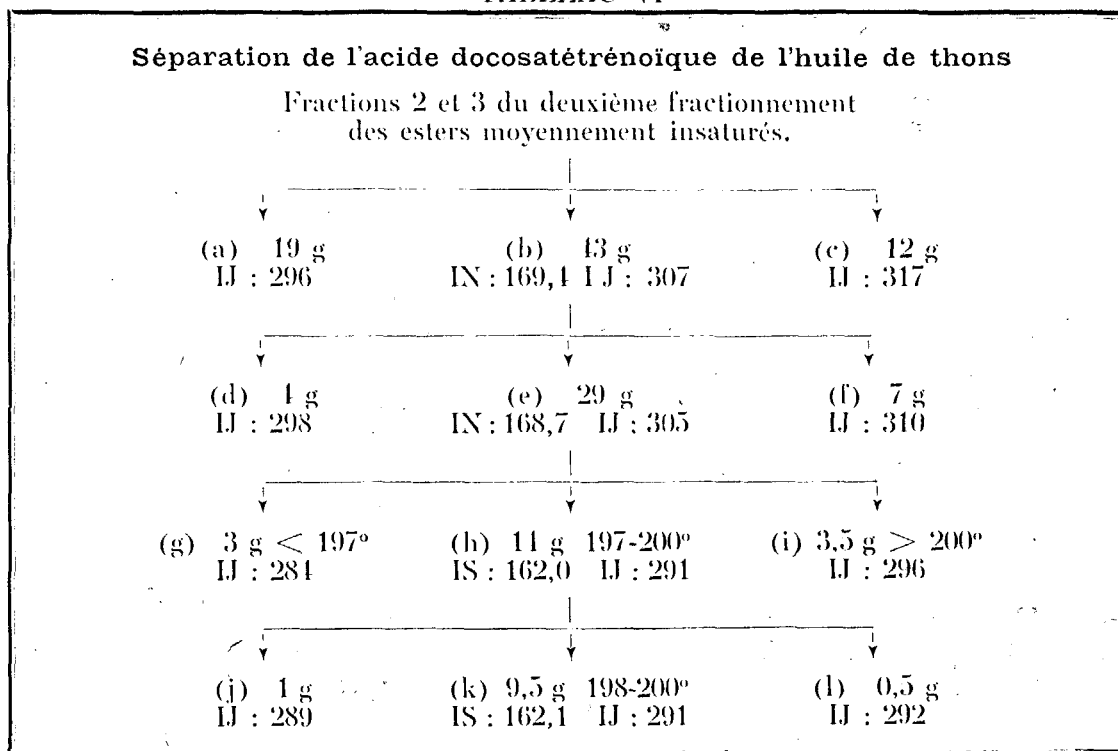


TABLEAU VI



jamais chauffé les acides en présence d'un excès d'alcali au delà de 60°, et en milieu neutre ou faiblement acide, au delà de 100°. Parallèlement, nous avons préparé, sans aucun ménagement, par des distillations sous 2 à 3 mm, et des ébullitions prolongées avec de la potasse alcoolique, une fraction fortement insaturée de caractéristiques à peu près analogues à celles de la première. Nous avons ensuite ozonisé un même poids d'ester amylique de chacune des fractions, et nous avons trouvé dans les deux cas, des quantités sensiblement identiques de groupements  $=\text{CII} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} =$  et  $=\text{CII} (\text{CH}_2)_2 \text{CH} =$ .

D'après l'hypothèse de FARMER et VAN DEN HEUVEL, nous aurions dû trouver, dans le cas du produit isolé à basse température, des proportions nettement plus importantes de groupements  $=\text{CII} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} =$ . D'autre part, si l'on admet l'existence d'un phénomène de cyclisation, les hydrogénations à basse température, notamment celles de l'acide clupanodonique, n'auraient pas fourni de l'acide n-docosanoïque avec un rendement presque quantitatif.

## II. — Séparation et constitution de l'acide docosatétrénoïque de l'huile de foie de « Carcharodon Carcharias » L.

L'acide docosatétrénoïque se trouvait aussi bien parmi les acides de savons solubles dans l'acétone que parmi ceux des savons insolubles. Pour l'extraire, nous avons donc utilisé à la fois une fraction résiduelle de la séparation de l'acide clupanodonique et une fraction résiduelle de la séparation de l'acide docosatriénoïque (voir plus loin, chapitre V, tableau X).

Les opérations sont schématisées dans le tableau V.

— La fraction (p) du tableau X est transformée en esters méthyliques et jointe à la fraction (f) du tableau III. Le mélange est rectifié sous 0,4 — 0,6 mm donnant (a), (b), (c).

Les acides gras de (a) et (b) sont neutralisés par NaOH 3N (il s'agit toujours de NaOH en solution dans l'alcool à 50 %), et traités par 200 cc d'acétone. Les savons solubles donnent (e). Le précipité est traité par 200 cc d'acétone bouillante contenant 7 % d'alcool à 50 % ; après refroidissement et repos de 2 à 3 heures, le précipité est séparé par filtration et traité à nouveau par 200 cc d'acétone bouillante contenant 7 % d'alcool à 50 %. Le précipité final donne (d) et les deux solutions acétoniques donnent (f) et (g).

— (d) est neutralisée par NaOH 3N et traitée par 30 cc d'acétone. Le précipité donne (h). La solution traitée par 150 cc d'acétone donne (j) pour les savons solubles. Le précipité est traité par 100 cc d'acétone bouillante contenant 7 % d'alcool à 50 %. Après refroidissement, repos et filtration, on obtient (i) pour le précipité et (k) pour le filtrat.

— (i) est transformée en esters méthyliques et fractionnée sous 0,4 - 0,8 mm.

La fraction (m) paraît constituée par 85-90 % de docosatétrénoate de méthyle et par 10-15 % de clupanodonate de méthyle.

Acides gras bromés insolubles dans l'éther : 68 % ; noircissant sans fondre à 200°, Br % : 67,1.

L'ozonisation suivant les procédés habituels nous a donné de l'éthanal, du propanal de l'anhydride carbonique, des acides acétique, propionique, succinique, subéri-

que ; ce dernier provenant du groupe carboxylé. Il semble que l'on se trouve en présence d'un acide possédant 4 doubles liaisons communes avec l'acide clupanodonique. On peut donc envisager 3 formules possibles : docosatétrène —8.12.16.20 ou —8.12.16.19 ou —8 ; 12.15.19 oïque. Cependant, le produit étudié paraît assez impur et la valeur du résultat est douteuse.

### III. — Séparation et constitution de l'acide docosatétrénoïque de l'huile de thons

D'après les résultats du tableau IV, il semble que l'acide en question se trouve surtout dans les acides de savons insolubles primitifs ; 4910 g, IN : 184,3, IJ : 174.

200 g de ces derniers sont transformés en esters méthyliques et fractionnés.

Fraction	Ebullition sous 0,6-0,8 mm	Poids de la fraction en grammes	I S	I J
1	< 195°	1510	187,5	138
2	195-200°	235	169,7	237
3	200-207°	158	160,2	306

La fraction 3 est refractionnée à son tour.

Fraction	Ebullition sous 0,4 — 0,6 mm	Poids de la fraction en grammes	I S	I J
1	192-195°	22	167,0	242
2	195-197°	36	163,5	286
3	197-200°	45	161,2	298
4	200-204°	35	160,0	318
5	> 210°	11	153,4	324
Résidu		Différence		

Les traitements ultérieurs sont schématisés dans le tableau VI.

— Les acides des fractions 2 et 3 sont neutralisés par NaOH 3N et traités par 400 cc d'acétone ; le précipité donne (a). Le filtrat traité par 600 cc d'acétone donne (b) pour le nouveau précipité et (c) pour le filtrat final.

— (b) est neutralisée par NaOH 3N et traitée successivement par 150 cc et 800 cc d'acétone, donnant (d) et (e) pour les précipités et (f) pour le filtrat.

— (e) est transformée en esters méthyliques et fractionnée sous 0,4—0,6 mm, donnant (g), (h), (i),

— (h) est fractionnée à nouveau sous 0,4—0,6 mm.

La fraction (k) paraît constituée par du docosatétrénoate de méthyle à peu près pur.

Acides bromés insolubles dans l'éther : 72 % Br % : 66,5

Hydrogénation et saponification : acide n-docosanoïque, F : 78°.

L'ozonisation de l'ester précédent nous a donné de l'éthanal, de l'anhydride carbonique en quantité paraissant correspondre à  $3 = \text{CH. CH}_2. \text{CH} =$ , des acides acétique, caproïque et pimélique, ce dernier faisant partie du groupe carboxylé. Ces résultats suggèrent la formule docosatétrène-7. 10. 13. 16. oïque. Le produit étudié était d'une pureté nettement supérieure à celle du précédent ; c'est cette formule qui mérite d'être retenue ;

#### IV. — Séparation et constitution des acides docosahénoïque et eicosapenténoïque de l'huile de thons

**Acide docosahénoïque.** Les opérations sont schématisées dans le tableau VII.

— Les fractions (f), (c) et (i) du tableau IV sont neutralisées par NaOH 4N et traitées par 500 cc d'acétone, donnant (a) pour les acides de savons insolubles et (b) pour les acides de savons solubles.

— (b) est neutralisée par NaOH 4N et traitée par 300 cc d'acétone, donnant (c) pour le précipité, (d) pour le filtrat.

— (d) est transformée en esters méthyliques et fractionnée par distillation sous 0,4-0,6 mm donnant (e), (f) et (g).

— (f) est refractionnée à son tour sous 0,4-0,6mm.

La fraction (i) est constituée par du docosahénoate de méthyle à peu près pur.

Acides bromés insolubles dans l'éther : 180 % Br % : 74,1

Hydrogénation et saponification : acide n-docosanoïque, F : 78°

L'ozonisation de l'ester amylique nous a fourni de grandes quantités d'éthanal, d'acide acétique et de  $\text{CO}_2$ , paraissant correspondre à 5 chaînons  $= \text{CH. CH}_2. \text{CH} =$  ; des acides et aldéhyde propionique (présence douteuse), de l'acide succinique en relation avec le groupe carboxylé. Ces résultats permettent d'établir une formule : docosahénoène-1. 7. 10. 13. 16. 19. oïque.

**Acide eicosapenténoïque :** Les opérations schématisées dans le tableau VII se conduisent comme suit :

— Les fractions (a) et (c) jointes à la fraction (cc) du tableau IV sont transformées en esters méthyliques et fractionnées sous 0,4-0,6 mm (k), (l) et (m).

Les acides de (l) neutralisés par NaOH 1N et traités par 300 cc d'acétone donnent (n) pour le précipité et (o) pour le filtrat.

— (o) neutralisée par NaOH 1N et traitée par 100 cc d'acétone donne (p) pour le précipité, (q) pour le filtrat.

— (q) transformée en esters méthyliques est fractionnée sous 0,4-0,6 mm.

La fraction (s) paraît constituée par de l'eicosapenténoate de méthyle à peu près pur.

L'ozonisation de l'ester amylique nous a fourni de l'éthanal, de l'anhydride carbonique, des acides acétique et succinique. Si l'on se rapporte aux travaux de TOYAMA et TSUCHIYA, ainsi qu'à la présente étude de l'acide clupanodonique, on constate que dans une molécule comportant des chaînons  $= \text{CH. CH}_2. \text{CH} =$  et  $= \text{CH} (\text{CH}_2)_2 \text{CH} =$ , ces derniers se trouvent rassemblés de préférence du côté du chaînon carboxylé. On peut donc admettre pour l'acide étudié, la formule : eicosapentène-1. 8. 12. 15. 18 oïque.

TABLEAU VII

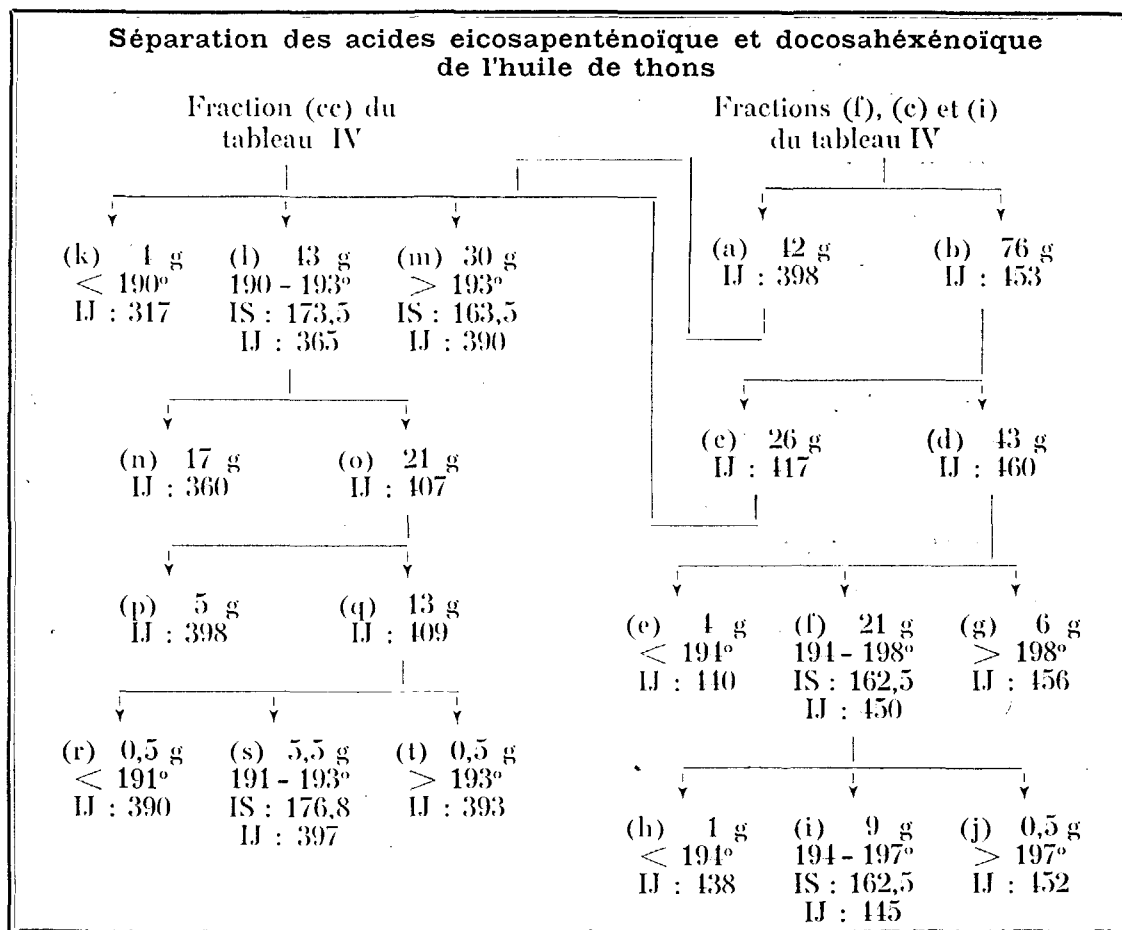
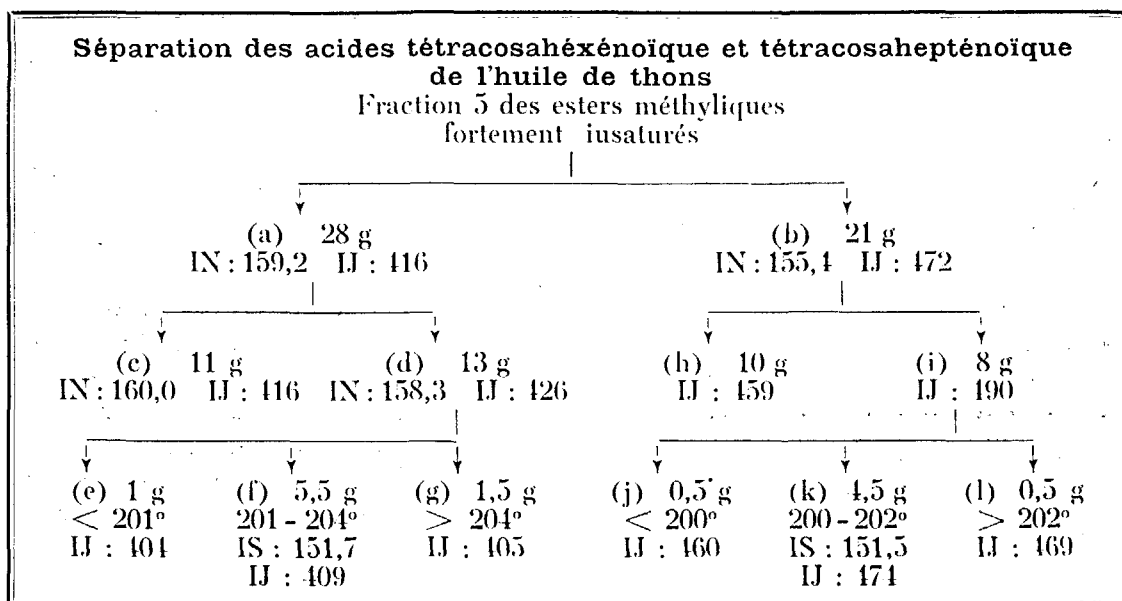


TABLEAU VIII



## V. — Séparation et constitution des acides tétracosahexénoïque et tétracosahépténoïque de l'huile de thons

Les opérations de fractionnement sont schématisées dans le tableau VIII.

— Les acides de la fraction 5 des esters méthyliques fortement insaturés, sont neutralisés par NaOH 3N et traités par 700 cc d'acétone. On obtient (a) pour les savons insolubles et (b) pour les savons solubles.

— (a) est neutralisée par NaOH 3N et traitée par 100 cc d'acétone, donnant (c) pour le précipité, (d) pour le filtrat.

— (d) transformée en esters méthyliques est fractionnée sous 0,4-0,6 mm.

La fraction (f) paraît constituée par du tétracosahéxénoate de méthyle à peu près pur.

— (b) est neutralisée par NaOH 1N et traitée par 800 cc d'acétone, donnant (h) pour le précipité, (i) pour le filtrat.

— (i) transformée en esters méthyliques est fractionnée sous 0,4-0,6 mm.

La fraction (k) paraît très riche en tétracosahépténoate de méthyle.

L'ozonisation de l'ester amylique de (f) nous a fourni de l'éthanal, du propanal, de l'anhydride carbonique, des acides acétiques, propionique, succinique, une partie de ce dernier en relation avec le carboxyle. Les proportions de ces produits nous permettent, compte tenu de la remarque faite précédemment au sujet de la position des chaînons  $\text{= CH (CH}_2\text{)}_2\text{CH =}$ , d'établir une formule : tétracosahéxène-4. 8. 12. 15. 18. 21 oïque.

L'ozonisation de l'ester amylique de (k) nous a fourni uniquement de l'éthanal, du  $\text{CO}_2$ , des acides acétique et succinique, ce dernier issu du chaînon carboxylé. Ces résultats correspondent à la formule : tétracosahéptène-4. 7. 10. 13. 16. 19. 22 oïque.

## VI. — Influence des méthodes de séparation sur la constitution des acides gras fortement insaturés

Cent trente grammes d'huile de foie de morue sont saponifiés avec deux fois la quantité théorique de KOH 2N dans l'éthanol à 95 %, par ébullition de 6 heures sous réfrigérant à reflux. Les acides gras libérés sont transformés en esters méthyliques et fractionnés sous 2 — 3 mm. Une fraction bouillant à 206-215° est recueillie ; refractionnée, donnant une fraction passant à 207-211° ; 12 g, IS : 170,3, IJ : 301. Un dernier fractionnement nous a donné 8 g d'esters bouillant de 208 à 212° ; IS : 169,5 IJ : 303 ; qui ont été transformés en esters amyliques suivant les procédés habituels.

Une autre portion de 130 g d'huile de foie de morue, est saponifiée par agitation mécanique de 2 heures avec 1,5 fois la quantité théorique de KOH alcoolique 2N, à une température toujours inférieure à 60°. Les acides libérés sont traités suivant la première méthode de précipitation des savons de sodium dans l'acétone du chapitre II, donnant pour les savons solubles, 15 g d'acides, IN : 177,0 IJ : 305. Ceux-ci sont neutralisés par NaOH 4N (solution dans l'alcool à 50 %) et traités par 50 cc d'acétone, suivant la méthode habituelle, donnant un premier précipité qui est éliminé ; puis par 800 cc d'acétone, don-

nant après refroidissement à  $-5,0^{\circ}$ , un deuxième précipité contenant 9 g d'acides gras ; IN : 177,5, IJ : 220. Ces derniers sont transformés en esters amyliques, avec un grand excès d'alcool amylique à 2,5 % de ClH, par chauffage de 2 heures au bain-marie, afin de maintenir la température du mélange réactionnel au dessous de  $100^{\circ}$ . Toutes les extractions sont effectuées à l'éther de pétrole, et les produits n'ont jamais été portés à plus de  $100^{\circ}$ .

Des quantités égales (5 g) de chacun des esters amyliques sont ozonisées dans des conditions rigoureusement identiques. Dans le premier cas, nous avons obtenu 5,1 g de carbonate de baryte et 2,4 g d'acide succinique ; dans le deuxième cas 5,4 g de carbonate de baryte et 2,2 g d'acide succinique. Les produits d'oxydation correspondant aux groupements méthylés et carboxylés n'ont évidemment pas pu être identifiés, étant constitués par des mélanges complexes ; cependant, leur composition générale était identique dans les deux cas.

Ces résultats montrent que la répartition interne quantitative des chaînons  $=\text{CH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} =$  et  $=\text{CH} (\text{CH}_2)_2 \text{CH} =$  n'est pratiquement pas modifiée par des méthodes de séparation brutales et à action assez prolongée. L'ensemble des molécules ne paraît subir aucune isomérisation de position. L'oxydation et la polymérisation, ainsi que nous l'avons déjà signalé dans le chapitre I, restent les deux facteurs les plus actifs, susceptibles d'altérer les molécules acides fortement insaturées.

---

## CHAPITRE V

# Les acides gras moyennement insaturés

---

### 1. — Généralités

Nous avons donné le nom d'acides gras moyennement insaturés aux termes à 2 et 3 doubles liaisons du type linoléique et linoléinique. Ces deux derniers acides sont connus depuis très longtemps dans les huiles grasses du règne végétal ; ils ont été l'objet d'études nombreuses et complètes. Par contre, leur existence dans les lipides du règne animal a été longtemps incertaine. On avait bien constaté la présence d'acides di et triéthyléniques à 18 atomes de carbone, mais rien ne permettait d'affirmer qu'il s'agissait d'acides linoléique et linoléinique de formes identiques à celles des produits d'origine végétale. Cependant, il semble que l'identité de ces acides soit établie actuellement, tout au moins en ce qui concerne les lipides de mammifères terrestres (36).

Au sujet des huiles d'animaux marins, le problème est très complexe, et la solution encore incertaine. L'existence d'un acide octadécatriénoïque est à peu près confirmée (37), ainsi que celle d'un acide octadécadiénoïque, très souvent signalée ; mais il est tout à fait probable que l'on a affaire à des stéréoisomères des acides végétaux homologues.

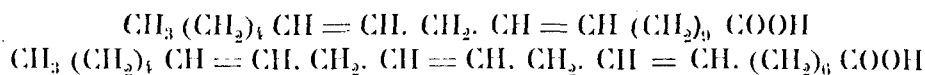
Les huiles d'animaux marins et de poissons paraissent contenir en outre des termes di et triéthyléniques à 16, 20 et 22 atomes de carbone. Le terme en  $C_{16}$  a été l'objet d'une étude complète (38). Il s'agit de l'hexadécatriène 6-10-14 oïque. Les termes en  $C_{20}$  et  $C_{22}$  ont été souvent entrevus, mais leur isolement, à un état de pureté suffisant pour permettre une étude, semble très difficile ; en raison surtout des teneurs faibles des huiles en ces acides. Au cours du présent travail, nous avons pu extraire des quantités appréciables d'acides di et triéthyléniques en  $C_{20}$  et  $C_{22}$  de l'huile de foie de « Carcharodon Carcharias » et d'acides di et triéthyléniques en  $C_{20}$  de l'huile de poissons d'Indo-Chine ; mais des essais sur l'huile de thons se sont terminés par un échec. Il semblerait que la séparation est en général plus aisée avec les huiles de faible insaturation qu'avec celles qui contiennent une forte proportion d'acides très insaturés.

Dans le cas de l'huile de foie de « Carcharodon », nous avons procédé par des fractionnements d'esters méthyliques, de savons de sodium dans l'acétone ou de savons

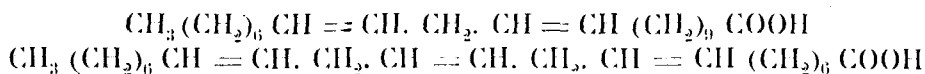


de plomb dans l'éthanol. Dans le cas de l'huile de poissons d'Indo-Chine, nous avons effectué en outre des fractionnements de dérivés bromés.

Nous avons établi pour les termes en  $C_{20}$  des formules eicosadiène — 11.14 oïque et eicosatriène — 8.11-11 oïque :



Et pour les termes en  $C_{22}$ , les formules docosadiène — 11.14 oïque et docosatriène — 8.11.14 oïque :



On voit qu'il y a une certaine analogie avec les formules des acides linoléique et linoléinique qui sont respectivement les octadécadiène — 9.12 oïque et octadécatriène — 9.12.15 oïque. Mais contrairement à ces derniers, ils ne donnent que peu ou pas de bromures insolubles dans l'éther de pétrole ou l'éther sulfurique. Cette propriété serait l'indice d'une configuration stérique différente de celle des termes linoléique et linoléinique.

## II. — Séparation et constitution des acides eicosadiénoïque et docosadiénoïque de l'huile de foie de « Carcharodon Carcharias » L.

On utilise ici la fraction des acides gras ayant donné des savons insolubles dans l'acétone au cours du fractionnement d'origine (Chapitre III). Ces acides (3000 g IX :196 ; IJ :132) sont distillés jusqu'à une température de 195° sous 0,6-0,8 mm. Le résidu est dissous dans 3 litres d'éther de pétrole, et les produits insolubles (acides oxydés) sont séparés par décantation. Les acides de la solution sont transformés en esters méthyliques et fractionnés :

Fraction	Ebullition sous 0,6-0,8 mm	Poids de la fraction en grammes	I S	I J
1	< 190°	680	190,6	112
2	190-195°	110	185,2	135
3	195-200°	97	176,7	196
4	200-205°	61	165,2	275
5	> 205°	75	158,5	342

Les fractions 2, 3, 4 et 5 sont jointes et refractionnées :

Fraction	Ebullition sous 0,6 — 0,8 mm	Poids de la fraction en grammes	I S	I J
1	< 190°	53	190,2	114
2	190-193°	65	182,7	118
3	193-197°	45	175,7	201
4	197-200°	78	172,0	230
5	200-204°	55	164,1	297
6	> 204°	38	155,3	351

Les traitements ultérieurs sont schématisés dans le tableau IX.

**Acide eicosadiénoïque :** Les fractions 2, 3 et 1 sont jointes et les acides gras libérés dissous dans 2 litres d'éthanol à 95 %. La solution bouillante est traitée par 30 g d'acétate de plomb dissous dans 1 litre d'éthanol bouillant. Après repos de plusieurs heures entre 0 et 5°, les savons insolubles sont recueillis par filtration sur Büchner et lavés avec 20 à 30 cc d'éthanol ; il sont ensuite introduits dans un bécber contenant 300 cc d'eau chaude et 30 cc d'acide chlorhydrique concentré. Le tout est agité jusqu'à ce que les acides se rassemblent en une couche huileuse. Après refroidissement, 50 à 100 cc d'éther sont ajoutés et l'ensemble est filtré sur un Büchner muni d'une toile fine, afin d'éliminer le précipité de chlorure de plomb. Ce dernier est lavé avec un peu d'éther. On a ainsi une solution aqueuse surmontée d'une couche étherée, le tout parfaitement limpide. La couche étherée contenant les acides gras est traitée comme d'habitude, donnant la fraction (a). Le filtrat alcoolique contenant les savons solubles est débarassé de l'alcool par distillation, et le résidu est décomposé exactement comme les savons insolubles. Cependant, les acides gras sont toujours souillés par une petite quantité d'esters éthyliques formés au cours de l'élimination de l'alcool. Les produits extraits doivent donc être saponifiés comme s'ils étaient constitués uniquement par des esters, et ceci par les procédés habituels. On obtient alors la fraction (b). Cette éthanolyse partielle dans la méthode de précipitation des savons de plomb dans l'alcool est tout à fait générale.

— (b) est neutralisée exactement par NaOH 2N (solution dans l'alcool à 50 %) puis traitée par 1000 cc d'acétone. Les savons solubles donnent (c). Le précipité est traité par 1000 cc d'acétone bouillante contenant 10 % d'alcool à 50 %. Après refroidissement repos de 2 à 3 heures et filtration, une deuxième solution est obtenue donnant la fraction (d). Le précipité est traité à nouveau de la même manière, donnant (e) pour la solution, et (f) pour le précipité final.

— (f) est transformée en esters méthyliques et fractionnée sous 0,6-0,8 mm donnant (g), (h), (i).

— Les acides de (h) sont dissous dans 800 cc d'éthanol et traités comme précédemment par 5 g d'acétate de plomb dissous dans 100 cc d'éthanol donnent (j) pour les savons insolubles, et (k) pour les savons solubles.

— (k) est neutralisée par NaOH 2N et traitée par 300 cc d'acétone donnant (l) pour le précipité et (m) pour le filtrat.

— (l) est transformée en esters méthyliques et fractionnée sous 0,6-0,8 mm.

La fraction (o) paraît constituée par de l'eicosadiénoate de méthyle à peu près pur.

Les autres caractéristiques de cette fraction sont :

$$d_4^{20} : 0,8881 \quad n_D^{20} : 1,4646$$

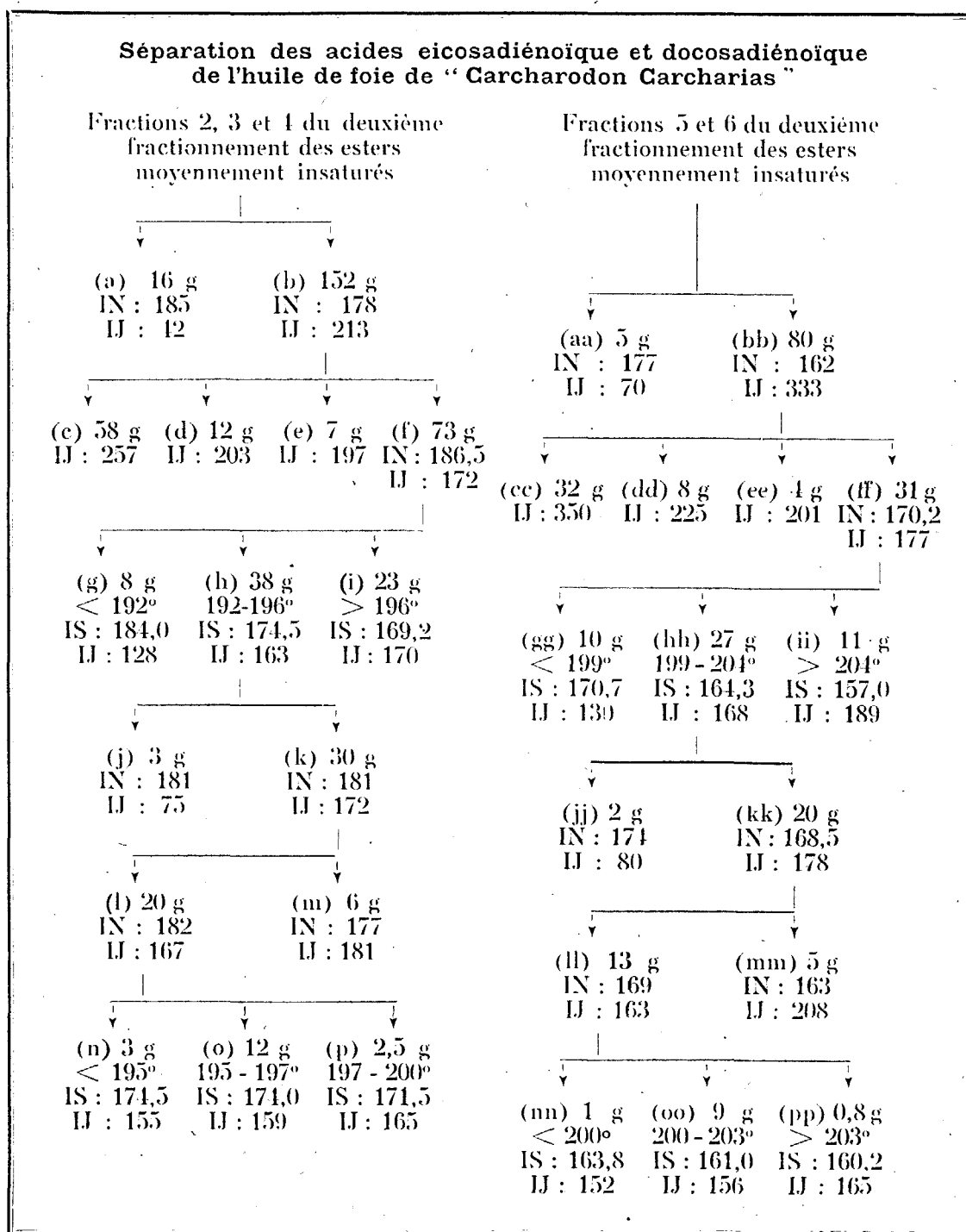
Réfraction moléculaire : 100,3

R.M. calculée pour  $C_{24}H_{38}O_2 (=)_{24}$  : 99,8

Par bromuration de l'acide libéré, dans l'éther de pétrole, 1 % environ de bromures insolubles, noircissant vers 220° sans fondre, et contenant 65 % de brome, ont été obtenus. Il s'agit vraisemblablement de traces d'acides fortement insaturés existant comme impuretés.

L'ozonisation de l'ester méthylique nous a fourni de l'éthanal, de l'anhydride carbonique, des acides acétique, caproïque et undécane-dicarboxylique. Nous avons égale-

TABLEAU IX



ment effectué une oxydation permanganique dans l'acétone ; mais nous avons déjà signalé que ce procédé était peu intéressant dans le cas des acides polyéthyléniques ; nous ne le décrirons pas ici (39). Les résultats obtenus ont d'ailleurs été identiques à ceux de l'ozonisation et nous ont conduit à une formule : eicosadiène — 11. 11 oïque.

**Acide docosadiénoïque.** — Les fractions 5 et 6 du deuxième fractionnement d'origine des esters moyennement insaturés, sont saponifiées et leurs acides gras dissous dans 1 litre d'éthanol à 95 % et traités à l'ébullition par 15 g d'acétate de plomb dissous dans 1 litre d'éthanol, comme il est indiqué précédemment. Les savons solubles donnent (bb) et les savons insolubles (aa).

-- (bb) est neutralisée par NaOH 2N et traitée par 600 cc d'acétone. La solution donne (cc). Le précipité est traité par 500 cc d'acétone bouillante contenant 10 % d'alcool à 50 % ; deux fois successivement, comme dans le cas de la séparation de l'acide eicosadiénoïque, donnant (dd) et (ee) pour les solutions et (ff) pour le précipité final.

— (ff) est transformée en esters méthyliques, jointe à (i), et le mélange est fractionné par distillation, donnant (gg), (hh) et (ii).

— Les acides de (hh) sont dissous dans 600 cc d'alcool à 95 % et traités comme précédemment par 4 g d'acétate de plomb dissous dans 100 cc d'alcool, donnant (jj) pour le précipité et (kk) pour le filtrat.

— (kk) est neutralisée par NaOH 2N et traitée par 400 cc d'acétone, donnant (ll) pour le précipité et (mm) pour le filtrat.

— (ll) est transformée en esters méthyliques et fractionnée.

La fraction (oo) paraît constituée par du docosadiénoate de méthyle à peu près pur. Les autres caractéristiques sont les suivantes :

$$d_{4}^{20} : 0,8990 \quad n_{D}^{20} : 1,4700$$

Réfraction moléculaire : 108,5

R.M. calculée pour  $C_{22}H_{42}O_2 (=)_{2} : 109,0$

Par bromuration de l'acide gras libéré, dans l'éther de pétrole 7 % de bromures insolubles ont été obtenus. Ils noircissaient sans fondre à 220° ; Br % : 61,3. Comme dans le cas de l'acide eicosadiénoïque, on se trouve en présence d'impuretés, et l'acide lui-même ne donne pas de bromures insolubles.

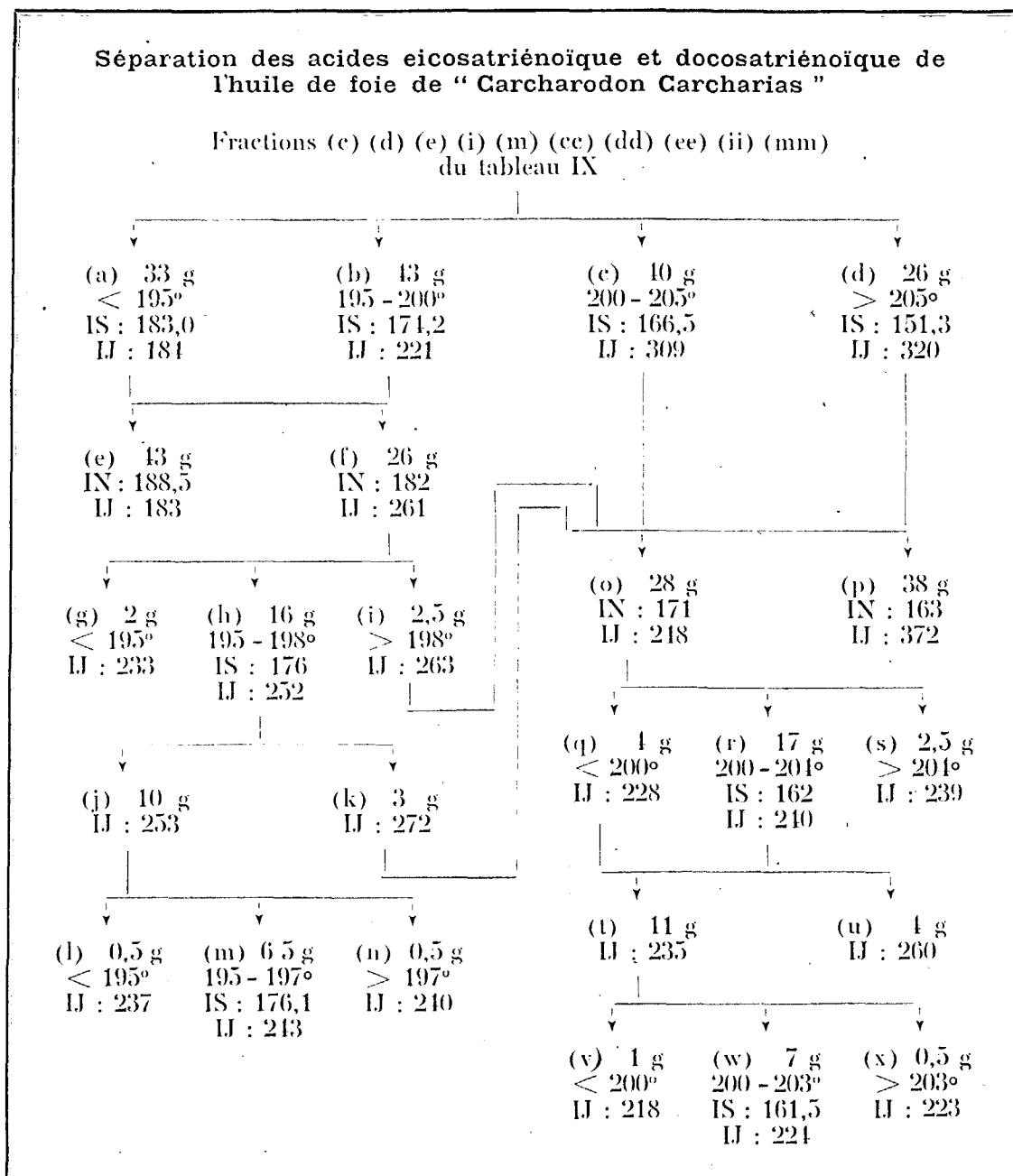
L'ozonisation nous a fourni de l'éthanal, de l'anhydride carbonique et des acides acétique, caprylique et undécane-dicarboxylique, ce qui conduit à la formule : docosadiène — 11. 11 oïque.

### III. — Séparation et constitution des acides eicosatriénoïque et docosatriénoïque de l'huile de foie de « Carcharodon Carcharias » L.

Les opérations de fractionnement sont schématisées dans le tableau X.

— Les fractions (c), (d), (e), (i), (m), (cc), (dd), (ee), (ii), (mm) du tableau IX sont jointes, transformées en esters méthyliques et fractionnées sous 0,6-0,8 mm, donnant (a), (b), (c) et (d).

TABLEAU X



**Acide eicosatriénoïque.** — Les acides des fractions (a) et (b) sont neutralisés par NaOH 2N et traités par 300 cc d'acétone, donnant (e) pour les savons insolubles et (f) pour les savons solubles.

(f) est transformée en esters méthyliques et fractionnée par distillation, donnant (g), (h) et (i).

— Les acides de (b) neutralisés par NaOH 2N et traités par 250 cc d'acétone donnent (j) pour les savons insolubles et (k) pour les savons solubles.

— (j) transformée en esters méthyliques est fractionnée sous 0,6—0,8 mm.

La fraction (m) paraît être très riche en eicosatriénoate de méthyle.

L'acide gras libéré, bromé dans l'éther sulfurique donnait 8 % environ de bromures insolubles, noircissant sans fondre à 220°, Br : 66 %. Ces bromures proviennent donc principalement de traces d'acides fortement insaturés existant comme impuretés.

L'ozonisation nous a fourni de l'éthanal et de l'anhydride carbonique paraissant correspondre à  $2=CH.CH_2.CH=$ , des acides acétique, caproïque et subérique. Ces résultats conduisent à la formule : eicosatriène—8.11.11 oïque.

**Acide docosatriénoïque.** — Les acides des fractions (c), (d), (i), (k) sont neutralisés par NaOH 2N et traités par 250 cc d'acétone donnant (o) pour les savons insolubles et (p) pour les savons solubles.

— (o) transformée en esters méthyliques et fractionnée sous 0,6—0,8 mm donne (q), (r), (s).

— Les acides de (q) et (r) neutralisés par NaOH 2N et traités par 250 cc d'acétone donnent (t) pour les savons insolubles et (u) pour les savons solubles.

— (t) transformée en esters méthyliques est fractionnée sous 0,6—0,8 mm.

La fraction (w) paraît constituée principalement par du docosatriénoate de méthyle.

Par bromuration dans l'éther sulfurique, nous avons obtenu 8 à 9 % de bromures insolubles noircissant sans fondre vers 220° ; Br % : 67. Ces bromures proviendraient donc encore d'acides fortement insaturés existant comme impuretés.

L'ozonisation nous a fourni de l'éthanal, de l'anhydride carbonique, des acides acétique, caprylique, subérique ; indiquant une formule docosatriène —8.11.11 oïque.

#### IV. — Séparation et constitution des acides eicosadiénoïque et eicosatriénoïque de l'huile de poissons d'Indochine

Les acides gras obtenus à partir de 1 kilogramme d'huile sont traités par les méthodes préliminaires habituelles. Les acides des savons insolubles dans l'acétone sont estérifiés par le méthanol, et les esters distillés. La fraction bouillant de 195 à 205° sous 0,8 mm est recueillie et soumise à une série de fractionnements : précipitations de savons de plomb dans l'alcool, de savons de sodium dans l'acétone, et de rectifications d'esters méthyliques, suivant une technique tout à fait analogue à celle des cas précédents. La fraction finale : 19 g avait les caractéristiques suivantes :

IS : 175,2, IJ : 198

Une prise d'essai, hydrogénée totalement et saponifiée, a donné de l'acide n—eicosanoïque pur ; F : 75-76°.

Les acides libérés sont bromés dans l'éther sulfurique suivant la méthode du chapitre II, donnant 3,9 g de bromures solides (A). La solution étherée (filtrat) est lavée avec une solution de sulfite de soude à 5 %, puis à l'eau salée. L'éther est chassé sous pression réduite. Le résidu est dissous dans 200 cc d'éther de pétrole léger et la solution est maintenue 4 heures à — 10°, abandonnant un mélange de liquide brun visqueux et de solide cristallin (B). La solution débarrassée de l'éther de pétrole laisse un résidu huileux (C).

Les bromures (A) contenaient 66,1 % de Br ; il s'agit donc d'un mélange d'héxa et d'octobromures. Ils sont traités par 100 cc d'acétate d'éthyle bouillant ; après refroidissement et filtration, l'acétate d'éthyle est chassé du filtrat par distillation ; le résidu est repris par de l'acétate d'éthyle ; et les opérations sont répétées cinq fois, en diminuant chaque fois la quantité d'acétate d'éthyle. Le résidu final : 0,4 g, Br % : 62,1, F : 110° environ, contenait l'hexabromure souillé d'un peu d'octobromure.

Les bromures (B) (3,3 g) sont dissous dans un peu d'éther et la solution est refroidie à — 10°. Par filtration rapide, les bromures visqueux et cristallisés sont séparés. Les premiers débromés par le zinc et l'éthanol chlorhydrique, donnaient un produit partiellement insoluble dans l'éther de pétrole ; ils proviendraient donc d'acides en partie oxydés, saturés par le brome. Les seconds, après deux cristallisations dans l'éther de pétrole ont fourni : 0,2 g, F : 110° environ, Br % 61,7 ; ils paraissent identiques aux bromures extraits de (A).

Les bromures (C) liquides (28 g, Br % 53,8) sont soumis à toute une série de fractionnements basés sur la propriété qu'ont les bromures liquides d'être d'autant moins solubles dans l'alcool dilué qu'ils sont plus riches en brome. La technique est la suivante : le bromure est dissous dans de l'alcool à 95 % (environ 10 fois son poids), et on ajoute de l'eau goutte à goutte en agitant, jusqu'à ce qu'une couche insoluble se sépare ; on recommence l'opération avec le bromure déposé ou avec le bromure extrait de la solution alcoolique ; les opérations sont poursuivies méthodiquement jusqu'à ce que deux fractions successives aient des teneurs en brome sensiblement égales. Dans le cas présent, nous avons obtenu en définitive, une fraction des bromures les plus solubles : (C<sub>1</sub>), 8 g, Br % : 50,3 et une fraction des bromures les moins solubles : (C<sub>2</sub>), 9,5 g, Br % : 60,5. Chacune de ces fractions est débromée par le zinc et l'éthanol, comme il a été indiqué dans le chapitre III au sujet des produits de bromuration de l'arachidonate d'éthyle. (C<sub>1</sub>) a fourni 4 g et (C<sub>2</sub>) 3,5 g d'esters éthyliques qui ont été ozonisés, donnant de l'éthanal, de l'anhydride carbonique, des acides acétique, caproïque dans les deux cas, avec de l'acide undécane-dicarboxylique dans le cas de l'ester de (C<sub>1</sub>) et de l'acide subérique dans le cas de l'ester de (C<sub>2</sub>). Ces résultats confirment les formules déjà indiquées, c'est-à-dire : eicosadiène—11.11 oïque et eicosatriène — 8.11.11 oïque.

## CHAPITRE VI

# Les acides gras monoéthyléniques

### I. — Généralités

Une étude complète des acides gras insaturés d'huiles de poissons ne peut négliger les termes monoéthyléniques. Ceux-ci existent en forte proportion (cas des acides oléique et palmitoléique) ou sont tout à fait caractéristiques (cas de certains termes à 12, 14, 20, 22, 24 atomes de carbone).

L'acide dodécénoïque (laurooléique) se rencontrerait toujours en faible proportion et serait le dodécène-3 oïque (10-11).

L'acide tétradécénoïque (myristoléique) se rencontrerait sous deux formes dans les huiles de poissons et animaux marins (10, 11, 12) : Tétradécène-9 oïque et tétradécène-5 oïque.

L'acide hexadécénoïque (palmitoléique) se trouve en quantités très importantes dans presque toutes les huiles de poissons. C'est l'hexadécène-9 oïque. Dans un travail publié par ailleurs (13) nous avons effectué une synthèse totale de cet acide, sous ses formes *cis* et *trans*, et avons étudié parallèlement l'acide extrait de l'huile de foie de « Carcharodon Carcharias », confirmant ainsi avec certitude la formule hexadécène-9 oïque.

L'acide oléique (octadécène-9 oïque) est le constituant le plus répandu aussi bien parmi les huiles animales en général, que parmi les huiles végétales.

L'acide eicosénoïque (gadoléique) se trouverait en faible quantité dans presque toutes les huiles de poissons. Sa formule la plus répandue serait : eicosène-9 oïque (14-15). Nous avons étudié l'acide eicosénoïque extrait de l'huile de foie de « Carcharodon », sa formule était : eicosène-11 oïque ; il s'agit peut-être de l'acide gondoïque, mis en évidence dans certaines huiles (16) mais de constitution encore indéterminée. L'acide eicosénoïque de l'huile de thons répondait par contre à la formule classique : eicosène-9 oïque.

L'acide docosénoïque (cétoléique) se rencontre aussi en faibles quantités, ce serait le docosène-11 oïque (17). Étudiant les acides docosénoïques extraits des huiles de foie de « Carcharodon » et de thons, nous avons trouvé dans les deux cas une formule



docosène-11 oïque, avec existence dans le cas de l'acide de l'huile de thons, d'une certaine proportion de docosène-13 oïque, identique sans doute avec l'acide érucique des huiles de graines de crucifères.

L'acide tétracosénoïque (sélacholéique) se trouve également à l'état de traces dans un grand nombre d'huiles de poissons, il s'agit très vraisemblablement du tétracosène-15 oïque (18).

Il est intéressant de considérer les formes des acides monoéthyléniques, en rapport avec celles des termes polyéthyléniques à même nombre d'atomes de carbone. On sait déjà depuis longtemps que la double liaison de l'acide oléique se retrouve dans les acides linoléique et linoléique. Les résultats substantiels obtenus dans la présente étude des acides gras d'huiles de poissons, nous permettent d'envisager de la même manière les chaînes à 20 et 22 atomes de carbone de ces huiles. On constatera donc que la double liaison de l'acide eicosénoïque de l'huile de foie de « Carcharodon » se retrouve dans les acides eicosadiénoïque et eicosatriénoïque. Il est aussi très intéressant de constater qu'à la forme eicosène-11 oïque de l'huile de « Carcharodon » correspond une forme eicosatétrène-6.10.11.18 oïque de l'acide tétraéthylénique, et qu'à l'eicosène-9 oïque de l'huile de thons, correspond un eicosatétrène-4.8.12.16 oïque. Il n'y a pas dans ces deux cas de doubles liaisons communes, mais un décalage de deux atomes de carbone de l'ensemble des doubles liaisons, dans le même sens.

On constatera de la même manière que la double liaison du docosène-11 oïque de l'huile « Carcharodon » se retrouve dans les termes di et triéthyléniques correspondants. Dans le cas de l'huile de thons, comportant une certaine proportion de forme docosène-13 oïque, la double liaison en position 13 se retrouve dans le docosatétrène-7.10.13.16 oïque.

Au delà d'une certaine insaturation, évidemment variable suivant la longueur de la chaîne, il semble que les acides gras obéissent à une autre règle, leur forme n'étant plus reliée à celle du terme monoéthylénique, mais tendant vers une insaturation limite avec présence dans la molécule d'un nombre maximum de chaînons  $=\text{CH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} =$ , les chaînons carboxylés et méthylés ne descendant jamais au dessous  $=\text{CH} (\text{CH}_2)_2 \text{COOH}$  et  $\text{CH}_3 \cdot \text{CH} =$ , et les chaînons intermédiaires ne possédant jamais plus de 1 et moins de 3 atomes de carbone.

L'étude des acides monoéthyléniques est beaucoup plus aisée que celle des termes moyennement et fortement insaturés ; elle s'effectue par des méthodes tout à fait classiques de l'analyse des corps gras, sur lesquelles nous n'insisterons pas. La constitution s'étudie très avantageusement par oxydation permanganique dans l'acétone.

## II.— L'acide hexadécénoïque de l'huile de foie de « Carcharodon Carcharias » L.

Dans le travail signalé plus haut (13), nous avons préparé un échantillon d'acide palmitoléique pur à partir de la fraction la plus volatile des acides gras de l'huile de foie de « Carcharodon » (voir le chapitre V). La purification a été poursuivie par des cristallisations dans le méthanol froid, des précipitations de savons de sodium dans l'acétone et des rectifications d'esters méthyliques. Nous avons préparé un échantillon de haute pureté en terminant les opérations par une chromatographie sur alumine. L'acide fondait à 1° et son ester p-bromophénacyle à 39,5-40°.

L'élaidinisation ne semble pas se faire par les procédés classiques : action de l'acide nitreux ou chauffage sur sélénium, nous l'avons obtenue par voie chimique détournée : oxydation par l'acide peracétique, action de l'acide bromhydrique sur le dihydroxy-acide obtenu, débromuration. L'acide stéréoisomère de l'acide naturel, ainsi obtenu fondait à 32-33°.

Nous avons préparé l'acide de synthèse par condensation acyloïnique de l'éthoxy-8 octanoate d'éthyle et de l'heptanoate d'éthyle. L'acyloïne nous a conduit après hydrogénation aux éthoxy-1 pentadécane diol-8.9 de formes stéréoisomères  $\beta$  et  $\alpha$ . Les diols éthoxylés traités par l'acide bromhydrique ont donné les dérivés tribromés correspondants, qui débromés par le zinc ont donné les bromo-1 pentadécène-8. Ces derniers nous ont conduit aux hexadécène-9 oïque cis et trans par action du cyanure de potassium et hydrolyse du nitrile. Ces produits étaient identiques aux acides naturel et élaidinisé.

### III. — Séparation et constitution des acides eicosénoïque et docosénoïque de l'huile de foie de « Carcharodon Carcharias » L.

**Acide eicosénoïque :** Les acides des fractions (a) et (j) du tableau IX sont joints, dissous dans 10 fois leur poids de méthanol à 90 %. Après repos de 10 heures à 0, 5°, les acides précipités sont séparés par filtration ; ils paraissent constitués principalement par des acides stéarique et arachidique. Les acides solubles, transformés en esters méthyliques, sont fractionnés à deux reprises par distillation. La fraction finale (8 g) avait les caractéristiques suivantes : IS :173.0 IJ :75.5. L'hydrogénation fournissait de l'acide n-eicosanoïque.

Une fraction de 1,5 g d'ester précédent est introduite dans un ballon de 150 cc surmonté d'un réfrigérant à reflux, avec 25 cc d'acétone. La solution est maintenue à une douce ébullition au bain-marie ; 15 g de permanganate de potasse finement pulvérisé sont ensuite ajoutés par petites portions pendant 5 heures. L'ébullition est maintenue 5 heures encore. L'acétone est chassée par distillation, et le résidu est repris par 50 cc d'eau et traité par un courant de gaz sulfureux jusqu'à disparition de tous les oxydes de manganèse. La solution aqueuse et la couche huileuse surnageante sont agitées avec 200 cc d'éther sulfurique. La solution étherée est séchée sur  $\text{SO}_4 \text{Na}_2$  anhydre, et l'éther est éliminé par distillation, laissant un résidu qui est dissous dans quelques centimètres cubes d'alcool froid et traité par une solution de potasse alcoolique 2N froide. La solution est reprise immédiatement par 150 à 200 cc d'eau froide, puis agitée avec 100 cc environ d'éther. Ce dernier entraîne les produits neutres incomplètement oxydés et les esters méthyliques d'acides saturés pouvant exister comme impuretés dans l'échantillon étudié ; cette solution étherée est éliminée. La neutralisation par la potasse doit s'effectuer rapidement et à froid, pour éviter précisément un commencement de saponification de ces esters. La couche aqueuse contient l'acide issu du chaînon carboxylé, à l'état de sels de potasse. Elle est additionnée de 1 à 2 cc de lessive de soude à 36° Bé et portée à une douce ébullition jusqu'à réduction à un volume de 50 cc environ ; cette dernière opération a pour but principal de saponifier totalement le semi ester. La solution est ensuite acidifiée et les produits acides sont extraits à l'éther sulfurique. La solution étherée est traitée comme à

l'ordinaire, laissant un résidu qui est agité avec 100 cc d'éther de pétrole léger, donnant une solution et un résidu plus ou moins cristallisé insoluble.

L'éther de pétrole de la solution est chassé par distillation abandonnant un résidu qui est rectifié, traité et identifié exactement comme dans le cas des monoacides issus des oxydations par l'ozone (Chapitre II).

Le résidu insoluble dans l'éther de pétrole est purifié par cristallisation et identifié, toujours par les méthodes déjà décrites.

Dans le cas de l'acide eicosénoïque de l'huile de « Carcharodon », nous avons trouvé, de l'acide nonanoïque et de l'acide undécanedicarboxylique ; ce qui conduit à une formule eicosène-11 oïque.

**Acide docosénoïque :** Nous l'avons obtenu exactement comme l'acide précédent, à partir des fractions (aa) et (jj) du tableau IX. L'ester final (3 g) IS :160,5 IJ :69,5, oxydé par le permanganate dans l'acétone, toujours comme dans le cas précédent, nous a fourni des acides undécanoïque et undécanedicarboxylique, conduisant à la formule docosène-11 oïque.

#### IV. — Séparation et constitution des acides eicosénoïque et docosénoïque de l'huile de thons

Nous avons préparé des échantillons d'eicosénoate et de docosénoate de méthyle, à partir des fractions d'acides gras donnant des savons de plomb insolubles dans l'alcool ; le produit de départ étant constitué par les acides gras de savons insolubles dans l'acétone du fractionnement initial, et dont une partie avait déjà été utilisée pour la séparation de l'acide docosatétrénoïque.

Les fractions finales d'esters méthyliques ont été oxydées par le permanganate dans l'acétone, suivant la technique déjà décrite, fournissant dans le cas de l'acide eicosénoïque des acides undécanoïque et azélaïque ; dans le cas de l'acide docosénoïque, des acides undécanoïque et undécanedicarboxylique principalement, des acides nonanoïque et tridécanedicarboxylique en quantités faibles mais nettement décelables. Ces résultats indiquent donc une formule eicosène-9 oïque pour le terme en  $C_{20}$  et un mélange de formes docosène-11 oïque et docosène-13 oïque, avec prédominance de la première, pour le terme en  $C_{22}$ .

## CONCLUSION

---

Il est possible d'énoncer ici un certain nombre d'hypothèses dérivant des résultats du présent travail et des connaissances les plus solidement acquises actuellement sur les huiles de poissons et animaux marins.

Toutes les chaînes d'acides gras paraissent linéaires et constituées par un nombre pair d'atomes de carbone, compris entre 12 et 26. L'ordre d'importance décroissante le plus général serait ; 18, 16, 22, 20, 24, 14, 26, 12.

Pour chaque longueur de chaîne, il est très probable que l'on rencontre tous les degrés d'insaturation, depuis le terme saturé, jusqu'à l'insaturation limite qui sera définie plus loin. La répartition de ces degrés d'insaturation est très inégale. Les chaînes à 14, 16, 18 atomes de carbone sont constituées principalement par des termes saturés ou monoéthyléniques, alors que les chaînes à 20, 22, 24 atomes de carbone sont constituées presque uniquement par des termes fortement insaturés. Les termes à insaturation moyenne se rencontreraient en quantités inégales ; faibles mais appréciables dans les huiles d'insaturation faible, presque nulles dans les huiles à forte insaturation.

Les acides monoéthyléniques à 18 et 16 atomes de carbone paraissent avoir une formule identique dans tous les cas, avec leur double liaison en position 9 : 10. Les termes à 14, 20, 22 atomes de carbone au contraire, paraissent comporter plusieurs isomères ; mais les deux fractions de la chaîne situées de part et d'autre de la double liaison ont toujours un nombre impair d'atomes de carbone ; la double liaison s'écarterait assez peu d'une position médiane.

Les acides d'insaturation moyenne ont une double liaison commune avec le terme monoéthylénique correspondant ; les doubles liaisons nouvelles étant toujours en position 3, ou 3 et 6 d'un côté ou de l'autre de la double liaison correspondant à celle du terme monoéthylénique. Cette hypothèse est valable notamment pour les termes di et triéthyléniques en  $C_{20}$ , di, tri et tétraéthyléniques en  $C_{22}$ .

A partir d'une certaine insaturation, pour laquelle il y a possibilité d'arrangement plus ou moins symétrique dans la molécule, de chaînons à 1 atome de carbone, la double liaison commune avec le terme monoéthylénique cesse d'exister, et on rencontre dans la molécule un maximum de chaînons à 1 atome de carbone compatible avec l'existence d'un chaînon méthylé ayant au plus 1 atome de carbone, et un chaînon carboxylé en possédant 1 au moins. La forme du terme monoéthylénique peut cependant avoir une influence sur l'ensemble des positions des doubles liaisons du terme polyéthylénique (cas de l'acide arachidonique).

L'insaturation continuant à croître, il existe simultanément dans la molécule des chaînons à 3 et 4 atomes de carbone. Dans ce cas, le chaînon carboxylé possède 4 atomes de carbone et le chaînon méthylé 3 au plus et 2 au moins. Les chaînons intermédiaires à 4 atomes de carbone se trouvant de préférence du côté du carboxyle.

L'insaturation limite semble atteinte lorsque la molécule contient le maximum de chaînons à 3 atomes de carbone compatible avec un chaînon carboxylé à 4 atomes de carbone et un chaînon méthylé à 2 atomes de carbone au moins et 3 au plus.

Les doubles liaisons conjuguées et les triples liaisons paraissent à peu près inexistantes ; ainsi que les chaînons intermédiaires à plus de 4 atomes de carbone.

Les termes fortement insaturés paraissent peu sensibles aux phénomènes d'isomérisation de position, mais sont sensibles à la stéréoisomérisation et très sensibles à l'oxydation et à la polymérisation.

Ainsi, la présente étude et les hypothèses qui en découlent ont un intérêt biochimique certain ; elles peuvent aussi être le point de départ de recherches biologiques méthodiques et fructueuses sur le métabolisme des lipides d'animaux marins.

Au point de vue industriel, elles renforcent la connaissance des propriétés et par conséquent des utilisations possibles des huiles d'animaux marins. Associées avec des connaissances générales sur les molécules polyéthyléniques — encore très mal connues — elles permettront sans aucun doute d'utiliser les acides gras fortement insaturés comme matériaux de départ pour la synthèse de molécules très diverses intéressant la pharmacie, la parfumerie, les matières plastiques, etc.

---

## BIBLIOGRAPHIE

---

- (1) KOBAYASHI, J. Soc. Chem. Ind. Japan, 1922, 25, 691.
- (2) TSUJIMOTO, Chem. Umschau, 1925, 32, 125.
- (3) — J. Soc. Chem. Ind. Japan, 1920, 23, 272.
- (4) DAVIES et GILL, J. Soc. Chem. Ind., 1936, 55, 141 T.
- (5) BAUDART, Bull. Soc. Chim., 1942, 9, 733, 919, 922 ; 1943, 10, 440, 443 ; 1944, 11, 174 ; 1945, 12, 36.
- (6) TOYAMA et TSUCHIYA, Chem. Umschau, 1925, 32, 206.
- (7) TWITCHELL, J. Ind. Eng. Chem., 1921, 13, 806.
- (8) TSUJIMOTO, Bull. Chem. Soc. Japan, 1928, 3, 299.
- (9) INOUE et SAHASHI, Proc. Imp. Acad. Tokyo, 1932, 8, 371
- (10) TOYAMA et TSUCHIYA, Bull. Chem. Soc. Japan, 1935, 10, 411
- (11) — J. Soc. Chem. Ind., Japan, 1935, 38, 35
- (12) — Bull. Chem. Soc. Japan, 1936, 11, 745, 751
- (13) TAKANO, J. Soc. Chem. Ind. Japan, 1935, 38, 652 B ; 1937, 40, 165  
Bull. Chem. Soc. Japan, 1937, 12, 395
- (14) INOUE et KATO, Proc. Imp. Acad. Tokyo, 1931, 10, 463
- (15) BULL, J. Soc. Chem. Ind., 1900, 19, 73
- (16) BROWN et BEAL, J. Am. Chem. Soc., 1923, 45, 1289
- (17) TOYAMA et TSUCHIYA, Bull. Chem. Soc. Japan, 1935, 10, 241, 296
- (18) SHINOWARA et BROW, J. Biol. Chem. 1940, 134, 331
- (19) DOLBYL, NUNN et SMEDLEY MACLEAN, Bioch. J., 1940, 34, 1422
- (20) MOWRY, BRODE et BROWN, J., Biol. Chem. 1942, 142, 671
- (21) ARCUS et SMEDLEY MACLEAN, Bioch. J., 1943, 37, 16
- (22) TOYAMA et TSUCHIYA, Bull. Chem. Soc. Japan, 1935, 10, 192, 199
- (23) — — — — — 1935, 10, 296, 300
- (24) TOYAMA, Chem. Umschau, 1924, 31, 221, 238
- (25) — J. Soc. Chem. Ind. Japan, 1926, 29, 531
- (26) TOYAMA et TSUCHIYA, Chem. Umschau, 1927, 34, 19
- (27) SUZUKI, Proc. Imp. Acad. Tokyo, 1929, 5, 265
- (28) TOYAMA et TSUCHIYA, J. Soc. Chem. Ind. Japan, 1927, 30, 116
- (29) ONO, J. Agr. Chem. Ind. Japan, 1932, 8, 788
- (30) KIMURA, J., Soc. Chem. Ind. Japan, 1925, 28, 1366

- (31) UENO et IWAI, J. Soc. Chem. Ind. Japan, 1931, 37, 251 B
  - (32) TOYAMA et TSUCHIYA, Bull. Chem. Soc. Japan, 1935, 10, 539
  - (33) UENO et YONESE, idem 1936, 11, 437
  - (34) UENO et IWAI, idem 1936, 11, 643
  - (35) FARMER et VAN DEN HEUVEL, J. Soc. Chem. Ind., 1938, 57, 24 T
  - (36) KNIGHT, JORDAN et SWERN, J. Biol. Chem., 1916, 164, 477
  - (37) TOYAMA et TSUCHIYA, Bull. Chem. Soc. Japan, 1936, 11, 741
  - (38) ——— idem 1935, 10, 83, 192
  - (39) BAUDART, Bull. Soc. Chem. 1942, 9, 926
  - (40) TOYAMA et TSUCHIYA, Bull. Chem. Soc. Japan, 1935, 10, 563
  - (41) HILDITCH et LOVERN, J. Soc. Chem. Ind., 1928, 47, 105 T
  - (42) TSUJIMOTO, J. Soc. Chem. Ind. Japan, 1927, 30, 10
  - (43) BAUDART, Bull. Mat. Gr. Inst. Col. Marseille, 1945, 29, 75
  - (44) TAKANO, J. Soc. Chem. Ind. Japan, 1933, 36, 1317
  - (45) TOYAMA et TSUCHIYA, idem 1934, 37, 11, 17
  - (46) TOYAMA et ISHIKAWA, idem 1934, 37, 536
  - (47) TOYAMA, idem 1927, 30, 597
  - (48) TSUJIMOTO, idem 1927, 30, 868
-

# TABLE DES MATIÈRES

---

Préface

Introduction

## CHAPITRE I

### Propriétés générales des acides gras fortement insaturés

I. Importance pratique des acides fortement insaturés .. .. .	1
II. Séparation analytique des acides gras fortement insaturés.. .. .	2
III. Fragilité des molécules d'acides gras fortement insaturés .. .. .	3
IV. Scission oxydante contrôlée des acides gras fortement insaturés .. .. .	4

## CHAPITRE II

<b>Technique opératoire .. .. .</b>	<b>6</b>
I. <i>Méthodes de séparation par précipitation .. .. .</i>	<i>7</i>
Préparation des acides gras .. .. .	7
L'élimination partielle des acides saturés .. .. .	8
Précipitation fractionnée de savons de sodium dans l'acétone.. .. .	8
II. <i>Rectification sous pression réduite .. .. .</i>	<i>10</i>
Préparation des esters méthyliques .. .. .	10
appareil à distiller .. .. .	11
marche d'une distillation .. .. .	13
Décomposition des esters méthyliques .. .. .	14
III. <i>Méthode d'oxydation par le permanganate.. .. .</i>	<i>14</i>
IV. <i>Méthode d'oxydation par l'ozone .. .. .</i>	<i>14</i>
Appareil producteur d'oxygène ozonisé .. .. .	14
Marche d'une ozonisation .. .. .	15
Décomposition de l'ozonide .. .. .	15
Produits insolubles dans l'eau .. .. .	17
Solution aqueuse .. .. .	19
Substances volatiles .. .. .	19
Caractérisation des produits d'oxydation.. .. .	19
V. <i>Méthodes et réactifs de dosage .. .. .</i>	<i>22</i>
Indice d'iode I.J. .. .. .	22
Indice de saponification I.S. .. .. .	22



Indice de neutralisation I.N. . . . .	23
Polybromures insolubles dans l'éther sulfurique.. . . .	23
Teneur en brome des polybromures . . . . .	23
Hydrogénation totale des chaînes insaturées.. . . .	23
Teneur de l'huile en acides gras concrets . . . . .	21

### CHAPITRE III

<b>Les acides gras clupanodonique et arachidonique.. . . .</b>	<b>25</b>
I. Généralités . . . . .	25
Acide clupanodonique . . . . .	25
II. Séparations des acides clupanodonique et arachidonique de l'huile de Carcharodon Carcharias L. . . . .	28
III. Séparation des mêmes acides de l'huile de thons.. . . .	30
IV. Séparation des mêmes acides de l'huile de foie de morue . . . . .	31
V. Oxydation du clupanodonate de méthyle de l'huile de foie de Carcharodon Carcharias L. . . . .	33
Oxydation du Clupanodonate de méthyle pur . . . . .	33
Hydrogéné aux 2/5 . . . . .	34
Hydrogéné aux 1/5 . . . . .	35
VI. Oxydation du clupanodonate d'amyle de l'huile de thons.. . . .	36
VII. Oxydation du clupanodonate d'amyle de l'huile de foie de morue . . . . .	37
VIII. Oxydation des esters de divers échantillons d'acide arachidonique.. . . .	37
IX. Etude des produits de bromuration de l'arachidonate d'éthyle de l'huile de thons . . . . .	37

### CHAPITRE IV

<b>Les autres acides gras fortement insaturés.. . . .</b>	<b>39</b>
I. Généralités.. . . .	39
II. Séparation et constitution de l'acide docosatétrénoïque de l'huile de foie de Carcharodon Carcharias L. . . . .	42
III. Séparation et constitution de l'acide docosatétrénoïque de l'huile de foie de thons.. . . .	43
IV. Séparation et constitution des acides docosahéxénoïque et eicosapenténoïque de l'huile de thons.. . . .	44
Acide docosahéxénoïque . . . . .	44
Acide eicosapenténoïque . . . . .	44
V. Séparation et constitution des acides tetracosahéxénoïque et tetracosaepténoïque de l'huile de thons . . . . .	46
VI. Influence des méthodes de séparation sur la constitution des acides gras fortement insaturés.. . . .	46

## CHAPITRE V

<b>Les acides gras moyennement insaturés</b> .. .. .	18
I. <i>Généralités</i> .. .. .	18
II. <i>Séparation et constitution des acides eicosadiénoïque et docosadiénoïque de l'huile de foie de Carcharodon Carcharias L.</i> .. .. .	19
Acide eicosadiénoïque .. .. .	50
Acide docosadiénoïque.. .. .	52
III. <i>Séparation et constitution des acides eicosatriénoïque et docosatriénoïque de l'huile de foie de Carcharodon Carcharias L.</i> .. .. .	52
Acide eicosatriénoïque.. .. .	51
Acide docosatriénoïque .. .. .	51
IV. <i>Séparation et constitution des acides eicosadiénoïque et eicosatriénoïque de l'huile de poissons d'Indochine</i> .. .. .	51

## CHAPITRE VI

<b>Les acides gras monoéthyléniques</b> .. .. .	56
I. <i>Généralités</i> .. .. .	56
II. <i>L'acide hexadécénoïque de l'huile de Carcharodon Carcharias L.</i> .. .. .	57
III. <i>Séparation et constitution des acides eicosénoïque et docosénoïque de l'huile de foie de Carcharodon Carcharias L.</i> .. .. .	58
Acide eicosénoïque.. .. .	58
Acide docosénoïque .. .. .	59
IV. <i>Séparation et constitution des acides eicosénoïque et docosénoïque de l'huile de thons</i> .. .. .	59
<b>Conclusion</b> .. .. .	60
<b>Bibliographie</b> .. .. .	62

# LES PUBLICATIONS DE L'OFFICE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DES PÊCHES MARITIMES

L'Office Scientifique et Technique des Pêches Maritimes reprend ses publications.

Malgré les difficultés présentes, cet Organisme d'Etat estime nécessaire ne pas devoir attendre plus longtemps pour faire connaître, dans l'intérêt de la science océanographique et des multiples industries de la pêche maritime, les résultats de ses travaux et de ses recherches.

La présentation matérielle de ces publications se ressentira des conditions actuelles ; mais, nous espérons que la qualité des travaux présentés rachètera cette présentation modeste qui ira en s'améliorant dès que les circonstances le permettront.

—o—

La série des Publications de l'Office Scientifique et Technique des Pêches, Maritimes comprendra :

## 1° LA REVUE DES TRAVAUX DE L'OFFICE DES PÊCHES.

Régulièrement éditée de 1928 à 1938, sous la forme de Fascicules trimestriels, format : 27 × 22, Tomes I à XI et dont le Tome XII (Volume Jubilaire) résume les Travaux de l'Office depuis sa création en 1921, le Tome XIII : les résultats de ses travaux pendant les hostilités.

Le Tome XIV, fascicules 1 à 4 rapportant les recherches effectuées en 1945 et 1946 reprendra cette série de publications qui se poursuivra régulièrement par fascicules dès que les circonstances le permettront.

La « REVUE DES TRAVAUX » est réservée à la publication des résultats des recherches entreprises à l'Office des Pêches Maritimes par son personnel scientifique et technique et par ses collaborateurs extérieurs qui, dans leurs laboratoires, poursuivent certaines recherches particulières en rapport avec l'exploration scientifique de la mer et l'exploitation de ses ressources.

## 2° LES NOTES ET RAPPORTS.

Nous estimons utile de reprendre cette publication interrompue depuis 1928 (N° 53).

La nouvelle série des « Notes et Rapports » qui paraîtra sous le même format que l'ancienne in-8° : (16 × 24) sera réservée à la mise au point, dans un but de vulgarisation, des différentes questions intéressant la pêche maritime et ses industries connexes.

Ces « Notes et Rapports », dont le nombre de pages variera suivant l'importance du sujet traité, n'auront pas un caractère périodique. Groupées par ordre de parution, ces brochures constitueront une succession de « Volumes » d'environ 200 pages.

Sont parus :

*Notes et Rapports* (Nouvelle Série) N° 1 :

R. LEFAUX. — Contribution à l'étude de la fabrication des boîtes métalliques hermétiques.

*Notes et Rapports* (Nouvelle Série) N° 2 :

Dr J.V. LE GALL. — Valeur nutritive et thérapeutique des huîtres.

*Notes et rapports* (Nouvelle Série). N° 3 :

**Bibliographie analytique des Publications de l'Office Scientifique et Technique des Pêches Maritimes.**

**A paraître :**

*Notes et Rapports* (Nouvelle série) : N° 4

J. LE GALL. — La pêche et l'utilisation industrielle des requins.

Les trois premières publications constitueront le volume 1 des NOTES ET RAPPORTS (Nouvelle série).

3° LES « MÉMOIRES » :

Ces « Mémoires » sont réservés à la publication *hors série* de travaux importants avec planches de grand format et présentant un caractère définitif.

Les derniers volumes parus dans cette série (Volumes 9 à 12) constituent le « Manuel des Pêches Maritimes » qui sera rapidement épuisé.

Sont actuellement sous presse :

MÉMOIRE N° 13.

Pierre BAUDART, Ingénieur Chimiste. — Etude analytique de quelques acides gras insaturés d'huiles de poissons.

MÉMOIRE N° 14.

J. LE GALL. — Le Fumage du Poisson (Edition revue et complétée de l'étude parue dans la Revue des Travaux de l'Office. Tome XI, fasc. 1, actuellement épuisée).

En préparation : le Mémoire N° 15 : *Les Fonds de pêche de la Côte Occidentale d'Afrique*. Présentation originale des lieux et époques de pêche du Maroc, de la Mauritanie et du Sénégal.

#### ECHANGE

La *Revue des Travaux*, les *Notes et Rapports* seront adressés gracieusement à tout organisme s'intéressant à l'exploration scientifique de la mer et à l'exploitation de ses ressources qui nous adressera, en échange, ses publications et sera inscrit au Service d'Echange des publications de l'Office Scientifique et Technique des Pêches Maritimes.

Les demandes d'échange de publications doivent être adressées à :

M. le Directeur de l'Office Scientifique et Technique des Pêches Maritimes,  
59, avenue Raymond-Poincaré, PARIS (16<sup>me</sup>).

## ABONNEMENTS

L'instabilité des frais d'édition ne nous permet plus d'accepter les abonnements à prix fixé aux différentes publications de l'*Office Scientifique et Technique des Pêches Maritimes*.

Les personnes, organismes et institutions désirant s'assurer le service régulier de ces publications pourront manifester leur désir en demandant leur inscription à l'*Office Scientifique et Technique des Pêches Maritimes*.

Ils seront informés de la date de parution et du prix de chaque publication

*Pour tous renseignements concernant les publications de*  
**L'OFFICE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE  
DES PÊCHES MARITIMES**

*s'adresser au :*

**Directeur de l'OFFICE SCIENTIFIQUE  
et TECHNIQUE des PÊCHES MARITIMES**

**59, avenue Raymond Poincaré, 59**

**PARIS (16<sup>e</sup>)**

Téléphone : KLEber 74-57, 77-32, 77-33

Les envois de fonds (mandats, chèques bancaires, chèques postaux) doivent être adressés *sous une forme impersonnelle*

à Monsieur le *Régisseur de l'Office Scientifique et Technique des Pêches Maritimes*, 59, Avenue Raymond Poincaré Paris (16<sup>e</sup>)

Compte courant postal : Paris 5.782.39

**Le Service d'Information et de Documentation  
de l'Office Scientifique et Technique des Pêches Maritimes**  
est actuellement en mesure :

- de fournir aux personnes intéressées des copies photographiques ou microphotographiques des études et travaux publiés par cet Organisme ainsi que de tous autres documents français et étrangers concernant les industries des pêches maritimes.
- de faire établir toute bibliographie concernant l'Océanographie physique et biologique, la biologie des espèces marines comestibles, les industries de la pêche maritime et le traitement des produits et sous-produits de la pêche.
- de faire procéder à toutes traductions des publications concernant ces mêmes sujets.

*Pêcheurs, Armateurs,  
Ostréiculteurs, Mytiliculteurs, Conchyliculteurs,  
Saleurs, Fumeurs, Conserveurs,  
Industriels de la Pêche,  
Fournisseurs des Industries de la Pêche Maritime.*

## **LES LABORATOIRES**

de l'

# **OFFICE SCIENTIFIQUE & TECHNIQUE DES PÊCHES MARITIMES**

*(Biologie, Chimie et Essais Techniques)*

59, Avenue Raymond Poincaré, 59

PARIS (VII<sup>e</sup>)

Tél. KLEber 74-57

*sont spécialisés dans l'étude de tous les produits  
intéressant votre industrie  
et procèdent à tarifs réduits*

*à toutes Analyses*

---

---

CHARBONS, HUILES DE GRAISSAGE,  
CORDAGES, FILETS, MÉTAUX, FERS  
BLANCS, VERNIS ET PEINTURES, HUILES  
DE FRITURE ET DE COUVERTURES,  
SELS, EXTRAITS TANNANTS, FARINES  
--- ENGRAIS, HUILES DE POISSONS, ---  
DOSAGE DES VITAMINES A et D, ETC.

# MÉMOIRES

## DE L'OFFICE SCIENTIFIQUE DES PÊCHES MARITIMES <sup>(1)</sup>

**CATALOGUE ILLUSTRÉ DES ANIMAUX MARINS COMESTIBLES DES CÔTES DE FRANCE ET DES MERS LIMITOPHES** avec leurs noms français et étrangers :

### MÉMOIRE I.

#### LES POISSONS OSSEUX

par MM. Louis JOUBIN, Membre de l'Institut, et Ed. LE DANOIS, Docteur ès Sciences, Directeur et Sous-Directeur de l'Office Scientifique des Pêches.

Epuisé

### MÉMOIRE II.

**LES POISSONS CARTILAGINEUX, MOLLUSQUES CRUSTACÉS, etc.** Des mêmes auteurs.

Prix : 250 francs. — Port en sus.

### MÉMOIRE III.

**RECHERCHES SUR LES FONDS CHALUTABLES DES CÔTES DE L'ALGÉRIE ET DE LA TUNISIE,** par Ed. LE DANOIS.

Prix : 150 francs. — Port en sus.

### MÉMOIRE IV.

**LA PÊCHE EN NORVÈGE** (Notes de Mission) par Jean LE GALL, Agrégé de l'Université, Directeur du Laboratoire de l'Office Scientifique des Pêches à Boulogne-sur-Mer (Station Aquicole).

Prix : 300 francs. — Port en sus.

### MÉMOIRE V.

**LA PÊCHE SUR LES BANCs DE TERRE-NEUVE ET AUTOUR DES ILES SAINT-PIERRE ET MIQUELON** par R. RALLIER DU BATY.

Prix : 200 francs. — Port en sus.

### MÉMOIRE VI.

**MÉMOIRES DIVERS SUR LES MOYENS D'ACCROITRE LA CONSOMMATION DU POISSON.** Concours de l'Institut Océanographique 1926.

Prix : 200 francs. — Port en sus.

### MÉMOIRE VII.

**TERRE-NEUVE ET ISLANDE, Campagnes 1926 :**

1<sup>o</sup> — La pêche sur le Banc de Terre-Neuve et autour des Iles Saint-Pierre et Miquelon, par R. RALLIER DU BATY.

2<sup>o</sup> — Recherches océanographiques effectuées par l'avis *Ville d'Ys* autour de l'Islande et sur le Banc de Terre-Neuve, par J. HABERT, Enseigne de Vaisseau.

Prix : 250 francs. — Port en sus.

### MÉMOIRE VIII.

**INDEX ALPHABÉTIQUE DU CATALOGUE ILLUSTRÉ DES ANIMAUX MARINS** dressé par M<sup>me</sup> BELLOC, préparatrice au laboratoire de l'Office des Pêches, à la Rochelle. Cet index renferme en outre des ajoutés aux Mémoires I et II. Il est le complément indispensable de ces deux Mémoires.

Prix : 250 francs. — Port en sus.

## REVUE DES TRAVAUX DE L'OFFICE <sup>(1)</sup>

Cette publication paraît chaque trimestre depuis 1928 à raison de quatre fascicule par an  
Prix du fascicule : 250 fr. (port en sus).

## CARTES DE PÊCHE <sup>(1)</sup>

Éditées par le Service Hydrographique de la Marine et l'Office des Pêches Maritimes  
Cartes établies par M. LE DANOIS

Golfe de Gascogne. . . . .	100 fr.	Côtes Sud-Ouest de l'Irlande et Banc de Porcupine	100 fr.
Entrée Ouest de la Manche. . . . .	100 fr.	Côtes du Maroc. . . . .	100 fr.
Entrée Ouest de la Manche (Carte n <sup>o</sup> 2). . . . .	50 fr.	Carte des Régions de Pêche (Convention Internationale). . . . .	90 fr.
Carte D, Trou Baleine. . . . .	50 fr.		

Port en sus.

(1) EN VENTE A L'OFFICE DES PÊCHES MARITIMES, 59, AVENUE RAYMOND POINCARÉ  
PARIS 16<sup>e</sup>

UN DOCUMENT UNIQUE  
sur  
L'INDUSTRIE des PÊCHES MARITIMES

LE MANUEL  
DES  
PÊCHES MARITIMES  
FRANÇAISES

paru dans la Collection des  
*Mémoires de l'Office scientifique et technique  
des Pêches Maritimes*

Quatre Fascicules : (MÉMOIRES N° 9, 10, 11 et 12)

sera expédié sur demande au prix de

**MILLE FRANCS**

(Port en sus)

payable à la commande, exclusivement par Virement Postal établi au nom du  
*Régisseur de l'Office Scientifique et Technique  
des Pêches Maritimes*

59, avenue Raymond Poincaré, PARIS (16°)

Compte Courant Postal : PARIS 5782-39