

## ***Posible fuente energética en dietética***

*Separación, identificación y análisis cuantitativo de los ácidos grasos presentes en los restos de la Industria Azucarera Cubana, mediante la aplicación de las cromatografías gaseosa y en capa delgada*

Por DIEGO Navia MAS(\*)

### INTRODUCCION

La mayoría de las grasas naturales se encuentran constituidas por glicéridos de uno o más ácidos grasos y éstos también en estado libre.<sup>1,7</sup> Han sido hasta ahora bastante laboriosas, por no decir difíciles las tecnologías existentes para separar, aislar e identificar los ácidos grasos que integran las grasas naturales, pero actualmente, con los medios auxiliares modernos de análisis, podemos llegar a aislar con un 98% de pureza los integrantes de las mismas e identificarlos con exactitud.

Por lo limitado del presente trabajo me concretaré a exponer el empleo de la CCD y CG para llegar a la meta trazada en un mínimo de tiempo, factor éste que suele ser importante en los procesos investigativos y por ser dichos métodos complementarios y por ser dichos métodos complementarios entre sí al rectificarse y ratificarse mutuamente sus resultados sin margen al error.

La *fracción grasa* empleada en el presente trabajo fue extraída de *la cera bruta de caña*, aislada ésta mediante solvente en contracorriente a través de la *cachaza* (resto de la defecación del jugo de la caña de azúcar: *Saccharum officinarum* L.) durante el proceso de la fabricación del azúcar. En dicha extracción se obtuvo una mezcla de

lípidos, ásteres y resinas constituyendo una masa viscosa, semisólida y que por su contenido en cera dura se le denominó *cera bruta*, la cual tratada con acetona y hexano a temperatura ambiente (TA) disolvió por selectividad una fracción semisólida, y al eliminar los solventes dejó como residuo un compuesto graso que constituye el 41.5% de la masa inicial.

La fracción grasa fue hidrolizada dejando en libertad una mezcla de ácidos grasos que representa el 71.6% de la fracción grasa y además, un 22.3% de materia insaponificable que constituyen temas de trabajos publicados (Esteroides de la Caña de Azúcar, Triterpenos en la Caña de Azúcar, etc.) siendo el resto glicerina, etc.

Una vez separada la fracción integrada por los ácidos grasos, ésta puede ser sometida a cromatografía en capa delgada (CCD) o a cromatografía al gas (CG) pero corremos el riesgo de obtener resultados inexactos al no separarse debidamente los ácidos saturados de los insaturados, que suelen formar pares críticos, así como ciertos grupos homólogos, dando por

resultado superposiciones (overlaps) en los cromatogramas.<sup>1,2,8</sup> También corremos el gran riesgo al practicar la cromatografía de gas, sin previa preparación, de propiciar polimerizaciones y destrucciones de moléculas termolábiles, por lo cual debemos, previamente, esterificar<sup>8,9</sup> y aductar<sup>0</sup> los ácidos grasos con los fines de separar los saturados de los insaturados; los insaturados por grado de insaturación y a la vez disminuir los puntos de ebullición para facilitar la CG.

No detendré a exponer métodos de esterificación<sup>8</sup> pero sí de aducción" por ser en este trabajo específico para la aplicación analítica de la CCD y la CG en los análisis de las grasas.

Generalmente, en toda mezcla de ácidos grasos suelen existir oxi, epoxi e hidroxiaácidos que interfieren en los procesos de cromatografía de gas; por lo tanto, éstos deben ser separados mediante un disolvente no polar, siendo posteriormente tratados con TMS, sometiéndoles a cromatografía de gas.<sup>5</sup>

Después de eliminados los oxiácidos, los ácidos grasos se esterificarán pasando éstos a ésteres metílicos de los ácidos correspondientes. Estos ésteres se liarán reaccionar con una solución de acetato de Hg en metanol, según Jantzen-Andreas" pasando sólo a derivados metoxiacetoximercurícos los ésteres metílicos de los ácidos insaturados, lo que al ser CCD los separaremos primeramente en saturados e insaturados y posteriormente los insaturados por su grado de insaturación sin atender al largo de la cadena carbonada.

Los ésteres metílicos pueden ser sometidos directamente a cromatografía de gas, pero, como dijimos anteriormente, suelen existir homólogos e isómeros que se superponen y sólo mediante la CCD puede definirse si existe uno o varios componentes en un área específica del cromatograma de gas; luego vale decir que

ambos métodos se complementan al rectificar y ratificar sus resultados mutuos.

Existe la gran ventaja de poder recuperar de las cromatoplasmas cada una de las fracciones aisladas, raspándolas y extrayendo el compuesto aislado, el cual puede ser seguidamente sometido a cromatografía de gas para su identificación comparativa con sustancias tipos o por su índice de retención y Rf. Los compuestos aislados mediante la CCD suelen tener un 98% de pureza y al someterlos a la cromatografía de gas aparecen de acuerdo al largo de la cadena carbonada, es decir, inversamente a la CCD de los aductos mercurícos de los ésteres insaturados.

*Parte experimental.* Las cromatografías en capa delgada CCD fueron confeccionadas con gel de sílice G (Merck); los cromatogramas de gas fueron realizados en equipos CI y virus empleando columnas de 2 y 4 empaquetadas con Cromosorb W 60-80 siliconizada y 20% de dietilenglicolsuceinato, isoterma 190 C, detector 250 C, gas-transporte Helium C, bajando la isoterma de 150 C en los ácidos menores de 10 carbonos.

*Aducción.* El aducto o derivado mercuríco, se prepara haciendo reaccionar 25 mi del reactivo por cada gramo de ésteres metílicos situados en un Erlenmeyer con tapa y dejado en la obscuridad a temperatura ambiente durante 24 lis. (El reactivo es una solución de acetato de mercurio en metanol, 2.5 mi de agua destilada y 1 mi de ácido acético glacial); a las 24 horas el metanol será eliminado a menos de 30 C al vacío y mediante una corriente de nitrógeno; el residuo seco se disolverá en 50 ml de cloroformo, lavándose 5 veces con 25 ml de agua destilada para remover el exceso de acetato, secando con sulfato de Na anhidro. La solución cloroformíca del aducto podrá conservarse a 5 C durante 3 días, como máximo, para su uso; después

de dicho tiempo, se altera.

La solución clorofórmica del aducto será punteada o extendida a 2 cm del borde de la placa y ésta se desarrollará primeramente con una mezcla de éter de petróleo 60-80 y éter dietílico (4-1) en cámara saturada debiendo ascender 18 cm en 1.5-2.0 horas. En ese primer desarrollo se separarán los ésteres saturados de los insaturados, ascendiendo los saturados hasta Rf. 0.9 mientras que los aductos de los insaturados permanecerán a Rf. 0.1.

El segundo desarrollo se realizará en la misma dirección, pero con una mezcla de n-propanol y ácido acético glacial (100-1) debiendo ascender 14 cm en 3 a 4 horas. Dejando secar la placa al aire, ésta se revelará atomizándola con una solución de 0.1% s-difenilcarbazona en etanol 95%; los aductos se podrán observar en color púrpura sobre fondo rosa pálido en el siguiente orden: los más insaturados a Rf entre 0.0-0.05; los trietilénicos entre 0.10-0.17; los dietilénicos con doble huella entre 0.40-0.60; los monoetilénicos entre 0.80-0.85 mientras que los saturados no serán visibles, pero permanecen sobre

0.9 haciéndose visibles mediante vapores de yodo protegiendo los insaturados. Después de haber obtenido la separación de los ácidos insaturados mediante CCD, éstos pueden ser recuperados individualmente raspando las huellas correspondientes y extrayendo del material raspado el aducto mediante metanol acidulado al 5% con CIH concentrado hasta agotar (3 veces), ampliando al doble del volumen con agua destilada de donde se extrae con éter dietílico varias veces, lavando la solución etérea dos veces y deshidratando con  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  anhidro. Eliminado el solvente, se

disolverá el residuo en el solvente adecuado para someterlo a cromatografía de gas.

La identificación final se realizará por comparación del índice de retención de la sustancia tipo y la sustancia problema en los cromatogramas de gas o mediante los Rf en CCD de los elementos citados; el revelador no interfiere en los cromatogramas de gas.

#### RESULTADO

Aplicando los métodos expuestos puede separar, aislar, identificar y calcular los porcentajes de los ácidos grasos que integran la fracción grasa presente en el fanguillo residual (*cachaza*) resto de la industria azucarera cubana, exponiendo a continuación los índices obtenidos: ácido linolénico 7.3%; ácido linoleico 38.1%; ácido oléico 20.0%; ácido esteárico 29.2%; ácido palmítico 0.93%; ácido mirístico 0.84%; ácido láurico 2.5%; ácido cáprico 0.8%; ácido caproico 0.4% y trazas de caprílico, behénico, etc.

#### RESUMEN

Existe una mezcla de ácidos grasos saturados e insaturados en la parte saponificable de la fracción grasa presente en los restos de la industria azucarera cubana, habiéndose aislado e identificado, hasta ahora, los ácidos: caproico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico mediante la cromatografía en capa delgada CCD y la cromatografía gaseosa CG, en cantidades de interés industrial y existiendo otros en menor cuantía.

#### SUMMARY

There exists a mixture of saturated and unsaturated fat acids in the saponifiable part of the fat fraction present

in the east of Cuban sugar industry, having, so far, isolated and identified the following acids: Caproic, caprylic, capric, lauric, myristic, palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic, through the use of gaseous and thin layer chromatography in quantities of industrial importance and others of less concern.

#### RESUME

Il existe un mélange d'huiles grasses saturées et insaturées dans la partie sa-

ponifiable de la fraction grasse présente dans les déchets de l'industrie sucrière Cubaine, ayant isolé et identifié jusqu'à présent, les acides suivants: caproïque, caprylique, caprique, laurique, miristique, palmitique, stéarique, oléique, linoléique et linoléinique au moyen de la chromatographie en couche mince et de la chromatographie gazeuse, en quantités d'importance industrielle et d'autres de moindre intérêt.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1.—Vázquez Roncero: *Grasas y Aceites*. Vol. 14, fase. 6, 1963.  
*Fontell, K Holman, R. T., Lambertsen, G.: J. Lipid Res.* 1, 391, 1960.
- 3.—Craig, J. M., Murty, A. L.: *Canad. J. Chem.* 36, 1297, 1958.  
*i. —Stahl, E.: Chem. Ztg.* 82, 323, 1958.
- 5.—Jantzen, E. Andreas, //., *Chem. Ber.* 92 1427, 1959.
6. —Wood, Raju, Reiser, J.: *Ara. O. Chem. Soc.* 42, 81-85, 1965.
- 7.—Venkateswara, Panduranga, Silva Rami Somayajulu, col.: *FSA* 68, 746, 1966. S.—Braun, W.: *Anal. Chem.* 38, 3, 514, 1966. 9.—Harward, J.: *Anal. Chem.* 32, 1412, 1960.