

LAS VITAMINAS DEL PULQUE

Por JUAN ROCA y ROBERTO LLAMAS,
del Instituto de Biología.

EL hecho de que el pulque constituya un líquido de procedencia vegetal y que sea rico en levaduras, autoriza a suponer que existan, como integrantes del mismo, las vitaminas hidrosolubles C y B, pero para poder asegurarlo es menester practicar estudio detenido que, a la vez que ponga en evidencia la existencia de estos cuerpos, permita calcular la proporción en que se encuentran, con el fin de poder asegurar o no, si la mencionada bebida es capaz de suministrar a quien la ingiere el número de unidades necesarias para el intercambio metabólico normal.

Entre nosotros se han realizado interesantes trabajos sobre el valor vitamínico del pulque, experimentando esta bebida en animales avitaminósicos, resultando, como es sabido, que en realidad contiene vitaminas en su composición. Nuestro trabajo tiene por objeto evidenciar, desde el punto de vista bioquímico, la existencia de las dos vitaminas mencionadas, y más aún, poder evaluar en unidades internacionales la riqueza del pulque en estas sustancias.

Para la investigación y dosificación de ambas vitaminas hemos recurrido a procedimientos que evidencian claramente la existencia de estos cuerpos y permiten su cuantificación con margen de error relativamente pequeño.

La vitamina C fue investigada y dosificada utilizando el 2-6 diclorofenolindofenol en solución saturada; este reactivo, de color azul intenso, se decolora instantáneamente en presencia de vitamina C, debido a un proceso de reducción, puesto que es bien sabido que la vitamina C identificada plenamente como ácido L ascórbico es una sustancia ávida de oxígeno y por lo tanto reductora energética. El procedimiento consisten en preparar solución saturada del reactivo indicado, en caliente; al mismo tiempo se prepara solución tipo de vitamina C, nosotros hemos utilizado Cebión, de la Casa Merck, en el cual previamente comprobamos su exacta concentración mediante el patrón internacional suministrado por The League of Nations Health Organi-

sation. A la solución tipo, conteniendo determinado número de unidades, se agrega el reactivo contenido en una microbureta y se anota la cantidad gastada hasta que la solución adquiera color azul persistente, el color azul se obtiene cuando la mencionada solución tiene reacción neutra o alcalina, cuando, por lo contrario, es ácida, el color es rojo, en ambos casos tiene el mismo valor con la condición que persista treinta segundos por lo menos; una vez hecho esto se anota la cantidad de reactivo empleada, la cual corresponderá, naturalmente, al número de unidades de vitamina contenida en la solución tipo. A continuación se toma una cantidad de pulque perfectamente medida y se le deja caer gota a gota el reactivo hasta color persistente, que en este caso es rojo por la reacción ácida del líquido, entonces se establece una sencilla proporción y directamente se sabe el número de unidades internacionales contenidas en el volumen de pulque estudiado. Este procedimiento tiene la desventaja de que el final de la reacción no se puede apreciar con entera claridad y por lo tanto, los resultados no son absolutamente exactos; para obviar este inconveniente practicamos la cuantificación poniendo en vaso de precipitados el reactivo en cantidad exactamente medida y dejando caer de la bureta el pulque hasta decoloración de aquél, en esta forma el final de la reacción se puede apreciar perfectamente y los resultados son más exactos. Previamente es necesario valorar el reactivo; nosotros encontramos que 10 c. c. de éste son decolorados por 34 unidades internacionales de vitamina C, utilizando una solución en la que 10 unidades se encontraban contenidas en 1 c. c. Las muestras de pulque estudiadas dieron concentraciones variables (como en general es variable este líquido en su composición), la cifra más alta fue de 8.5 unidades internacionales por centímetro cúbico, y la más pequeña, obtenida tan sólo en una muestra, fue de 3.6; el resto de las muestras estudiadas arrojaron cifras de 6 a 7 unidades por c. c., y como promedio de 25 muestras examinadas se puede fijar la cifra de 6.5 unidades por centímetro cúbico. Respecto a la vitamina C, queremos hacer las siguientes consideraciones: es bien sabido que el ácido 1 ascórbico es fuertemente reductor de tal modo que se oxida con facilidad y pierde sus características esenciales, hemos podido comprobar que el pulque persiste largo tiempo y su presencia se puede demostrar en pulques extraídos 36 y hasta 48 horas antes, esta persistencia la explicamos teniendo en cuenta que el pulque es un líquido en el que existe anhídrido car-

bónico, gas que constantemente se está produciendo como resultado de acciones diastásicas sobre los carbohidratos del líquido.

La vitamina B-1 fue investigada y cuantificada utilizando el reactivo de Pauly y mediante una técnica propuesta por Henry Wulff, Kinnersly Rudolph Albert Peters, consistente en la introducción del formaldehído en la reacción. El reactivo consta de dos líquidos que se mantienen separados y se mezclan en partes iguales en el momento de emplearse, el primero contiene ácido sulfanílico al 0.5% en ácido clorhídrico al 2%, y el segundo nitrito de sodio al 0.5%, además se emplea solución de carbonato de sodio al 10% y formol químicamente puro. El procedimiento consiste en poner partes iguales de los dos primeros reactivos, tomar de la mezcla 0.5 c. c. y añadir 10 c. c. de la solución alcalina y un minuto después una gota de formol, en seguida se agrega un c. c. de la solución tipo de vitamina B-1 y aparece coloración roja que aumenta paulatinamente hasta adquirir su máximo de intensidad a los 60 minutos, aproximadamente; si a varios tubos de ensaye preparados con el reactivo se agregan cantidades crecientes de vitamina B-1, se observa que la intensidad de los colores es proporcional a la cantidad de vitamina, lo que quiere decir que pueden perfectamente utilizarse como tipos de comparación frente a un líquido problema. Como el pulque es un líquido turbio y la apreciación de los colores se dificultaba, tratamos las muestras estudiadas con acetato de plomo hasta formación de precipitado amarillento, en seguida se filtraba, a los filtrados se les añadía bióxido de bario para precipitar el plomo, nueva filtración y adición de ácido sulfúrico para precipitar el exceso de bario bajo forma de sulfato de bario insoluble, eliminado éste por filtración, obtuvimos líquidos de ligera reacción ácida y lo suficientemente límpidos para apreciar debidamente los colores. Siguiendo esta técnica hemos encontrado que en el pulque existe vitamina B-1, en cantidad también muy variable, según las muestras, pudiéndose fijar la cifra de 25 a 30 unidades internacionales por centímetro cúbico como promedio.

La necesidad de vitamina C de los organismos ha sido apreciada distintamente por los autores, para Matthew Steel serían necesarios de 19 a 27 miligramos diarios de ácido ascórbico para que no aparecieran fenómenos de carencia, estas cantidades equivalen, respectivamente, a 380 y a 540 unidades internacionales; el mismo autor asienta, en *Biological and Clinical Che-*

mistry, que el niño necesita cantidad doble de la mencionada vitamina. Szent Gyorgyi, para no citar sino a otro investigador, opina que un adulto precisa de 25 a 50 miligramos diarios, es decir, de 500 a 1,000 unidades internacionales por día, cifra esta última encontrada también por H. Wieters en su estudio sobre el balance de la vitamina C del hombre en pruebas funcionales.

En el pulque, hemos dicho, existen como promedio 6,500 unidades por litro, o sea, en peso, 325 miligramos de ácido ascórbico, la cifra, como se ve, es elevada, y bastan cantidades pequeñas de dicha bebida para llenar cumplidamente las necesidades que de vitamina C tiene el organismo humano.

El ingreso diario de vitamina B-1 ha sido apreciado distintamente también por los autores; la experimentación en animales de laboratorio: cuyes y ratas, sobre todo, ha permitido fijar cifras casi exactas y constantes, pero para el hombre aún no sabemos con exactitud qué cantidad de vitamina B-1 es necesaria. Seguramente dicha cantidad es variable con el tipo de alimentación, condiciones de clima, etc., etc., siendo así que se dan cifras mínimas de un cuarto de miligramo por algunos autores, y cifras de 10 miligramos por otros; por estas razones se aconseja tan sólo que en la alimentación exista vitamina B-1 en abundancia. El pulque posee la mencionada vitamina en considerable proporción, lo cual no es de extrañarse si se piensa que en dicha bebida existen abundantes levaduras. Queremos hacer notar, por último, que para la cuantificación de la vitamina B-1, hemos empleado Betabion de Merck comprobado también con el patrón suministrado por The League of Nations Health Organisation.

B I B L I O G R A F I A

- Biological and Clinical Chemistry by Matthew Steel.
 BIRCH AND HARRIS. *Biochem. Journ.* 28. 602. 1934.
 EVANS H. HENDERSON. *Journ. Of. Biol. Chem.* Vol. 113. 319. 1936.
 HEES AND WEINSTOCK. *Journ. Of. Biol. Chem.* 64. 139. 1925.
 OLCOTT H. S. AND MATILL H. A. *Journ. Of. Biol. Chem.* 104. 423. 1934.
 MINDINS ROWLAND L. BUTTLER ALLAN M. *Journ. Of. Biol. Chem.* 132. 1938.
 H. WIETERS. El balance de la vitamina C del hombre en pruebas funcionales. *Anales E. Merck*, 1938. Primera parte.
 BARGER VON EULER. *Willstatter. Hormonas, vitaminas y fermentos*. 1934.
 HENRY WULFF KINNERSLEY AND RUDOLF ALBERT PETERS. *The Biochemical Journal*. Vol. 28. 667. 1934.
 ALBERT VON SZENT GYORGYI. Nuevas orientaciones de la vitaminoterapia. *Anales E. Merck*, 1938. Primera parte.