

## NATURALEZA DE LAS SUSTANCIAS VOLÁTILES OBTENIDAS POR DESTILACION DEL PULQUE

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

**E**L estudio del pulque ofrece, desde el punto de vista químico, no pocas dificultades, debidas, en parte, a la naturaleza de las sustancias que lo componen, pero más aún por la variabilidad de su composición y la inestabilidad del mismo. Para asentar lo anterior partimos de la base fundamental, esto es, que hablamos del pulque sin adulteraciones de ninguna clase, del producto elaborado con aguamiel pura sin mezcla de sustancias extrañas.

El estudio del pulque parece muy fácil y resulta sumamente difícil para el químico, por no tener a la mano un producto del que pueda afirmarse que es puro. Nuestro primer trabajo consistió precisamente en conseguir la materia primà en estado de absoluta pureza. Después de haber gestionado la adquisición de esta bebida con productores e introductores de reconocida honorabilidad, nos encontramos con que no podíamos estar seguros de tener el pulque que necesitábamos, pues parece que los mayordomos, o bien los que comercian con esta bebida, la "componen" más o menos, según creen conveniente, para adaptarla a los gustos del consumidor o para obtener mayor rendimiento económico. Con esta salvedad, amigos nuestros nos proporcionaron pulque que consideraron como lo mejor que se recibe en el mercado.

Un pequeño ensayo preliminar, sobre el que insistiremos en otro trabajo, nos demostró fácilmente que una de las sustancias características del pulque era distinta según la procedencia de la bebida, pues se repitió la prueba numerosas veces, obteniendo resultados semejantes, advirtiéndome que hemos estudiado más de cien litros de pulque que nos proporcionaron como puro.

Gracias a la desinteresada ayuda que nos prestaron, primero el Q. F. Ramón Barreda y después el señor Miguel Macedo

Enciso, hemos tenido en nuestro mismo laboratorio magueyes "mansos" en producción, que nos ha dado aguamiel de excelente calidad y en condiciones higiénicas ideales, pues no había contaminación exterior de ninguna clase y uno de ellos ha sido "raspado" personalmente por el mencionado señor Macedo. Contando con aguamiel pura, el mismo señor Macedo ha preparado por bastante tiempo suficiente pulque para nuestros estudios, de modo que en este caso hemos estudiado un producto que se puede considerar como absolutamente puro. Por último, se ha estudiado pulque comprado en pulquerías de barriada. En este trabajo trataremos, pues, de las sustancias obtenidas en la destilación del pulque puro, pulque que llamaremos bueno y pulque de pulquería.

La destilación del pulque presenta algunas dificultades, pues la abundante espuma que produce al calentarlo en matraz cerrado hace imposible obtener en esta forma los productos de la destilación, pero se nota desde luego un hecho, y es el olor fétido, nauseabundo, que se produce al hervirlo en las condiciones mencionadas. Recurrimos a distintos procedimientos para evitar el anterior inconveniente: piedra pómez, tanino, etc., que es lo que se emplea generalmente en casos semejantes, pero con el pulque no dieron buen resultado y no pudimos utilizar ninguna de las sustancias que disminuyen la tensión superficial, porque pueden obrar sobre el medio originando productos extraños que falsearían los resultados. Tuvimos que recurrir al uso de álcalis puros, permanganato de potasio y ácido sulfúrico, todos ellos añadidos en pequeña proporción. Los destilados se estudiaron separadamente.

Al emplear hidróxido de sodio notamos un hecho interesante, que se refiere a lo que afirmamos al principio, esto es, la variabilidad de la composición del pulque, pues al destilar el líquido procedente de la misma fermentación y del mismo maguey, se obtuvieron resultados distintos, lo que demuestra que el líquido primitivo había experimentado modificaciones en su composición. Esto, que al principio nos sorprendió, lo encontramos después perfectamente lógico, pues es natural que actuando distintas levaduras y gérmenes en un líquido complejo, sin control biológico alguno del predominio de unas u otros, actuando en distintas condiciones de temperatura, o por variabilidad de iones o por cambios en el pH del medio, pueden producirse distintas sustancias, hecho que nos parece conveniente hacer resaltar aquí.

ya que hemos llegado a la conclusión de que no puede controlarse esta bebida en las condiciones actuales de producción, por lo que se refiere a la uniformidad de su composición química.

Es sabido que las levaduras y los gérmenes obran por sus cimazas, y siendo éstas específicas, se explica que en condiciones óptimas de acción pueden producir sus efectos propios íntegramente, pero tales sustancias producidas en la fermentación, que llamaremos principal o primaria, pueden inhibir o ser inhibidas por las cimazas producidas por otros gérmenes o levaduras que accidentalmente existan en el medio cuando no hay control biológico de la fermentación. Si ésta se desarrollase en el aguamiel estéril con determinadas levaduras y gérmenes cuya biología fuese perfectamente conocida, tendríamos un líquido fermentado de composición constante; pero como el aguamiel, líquido nutritivo, extraordinariamente apto para las fermentaciones de cualquier género, no se elabora en las condiciones mencionadas, se comprende que se produzcan líquidos semejantes, pero no de la misma composición, y que por tal razón los pulqueros, al no obtener el líquido viscoso que se considera como el mejor, le añadan gomas o diversas sustancias que aumentan la viscosidad artificialmente.

Ahora bien, la sosa que se añade antes de la destilación altera el líquido, como puede verse porque cambia de color pasando al amarillo oscuro; pero al utilizarla en pequeña proporción: 2.5 gr. por mil, se comprueba que, a lo sumo, puede obrar sobre glúcidos complejos, hidrolizándolos pero no descomponiéndolos, ya que la sosa es hidrolizante cuando se utiliza diluída.

Para confirmarlo hicimos la experiencia siguiente: se separaron del pulque todas las sustancias precipitables por el alcohol, agitando después una pequeña porción del precipitado en agua destilada y filtrando: ésta no redujo directamente el Fehling, y destilando el resto del líquido, previa alcalinización con sosa en la proporción de 2.5 gr. por mil, no se obtuvo destilado nauseabundo ni redujo el Fehling el residuo de la destilación. Se repitió la misma experiencia con solución de saponina, obteniendo idénticos resultados, pero en este caso el líquido tomó color café intenso. Con esto nos convencimos de que el calentamiento del pulque, previa alcalinización con sosa, no altera profundamente el producto ni origina sustancias volátiles.

Con el permanganato de potasio se obtuvo destilado menos nauseabundo que el anterior, pero se comprende que en este caso

sí puede haber profundas alteraciones, ya que se emplea una sustancia de acción oxidante intensa.

Con el ácido sulfúrico se obtuvieron destilados que al principio despedían marcado olor a éteres, después eran también nauseabundos como los anteriormente mencionados y muchas veces aparecieron turbios, haciendo notar que con este procedimiento se observa gran diferencia entre los destilados de pulques de distintas procedencias.

Por todas estas razones, se ha dado la preferencia al procedimiento de alcalinización con sosa, recogiendo separadamente dos productos: uno, que destila hasta 90 grados, y otro, hasta que queda casi una tercera parte del volumen primitivo, en ningún caso pudimos obtener destilados a temperaturas superiores a 100 grados.

Haremos notar, en primer lugar, que todos los destilados tienen olor fétido y repugnante, especialmente los obtenidos de pulque de pulquerías.

En las tres clases de pulque se hizo la experiencia de recoger el destilado en solución de subacetato de plomo y en los tres casos se obtuvo precipitado negro de sulfuro de plomo, algunas veces muy abundante, sobre todo en los pulques de pulquería, lo que demuestra la presencia de gas sulfhídrico.

Los destilados se reunieron en matraces adecuados, catalogándolos según la clase de pulque y según fuesen de primera o de segunda destilación, para someterlos después a destilación fraccionada y dedicarlos a investigación de alcoholes.

Entre las diversas sustancias que investigamos en el destilado, una de ellas fue el furfurol, obteniendo resultado positivo. La presencia de esta sustancia se explica fácilmente si se tiene en cuenta lo siguiente: es bien sabido que la glucosa puede presentar algunas diferencias estructurales en su íntima constitución, como lo demuestra el hecho de que uno de los pasos necesarios para su aprovechamiento es su transformación en glucosa furánica, lo que se verifica en presencia de fosfatos y cimazas, sustancias que existen en el pulque. La reacción de Molisch demuestra precisamente esos cambios de estructura y aparece color púrpura debido a la formación de furfurol. Es natural que en el pulque, en el que actúan cimazas transformadoras de los glúcidos, pueda aparecer el furfurol, sea por oxidación de la sacarosa en ácido dextrosacárico, reducción a glicurónico primero, luego a furfurol o bien por el desdoblamiento de la saca-

rosa directamente en ácido levulínico y furfurool, ya que el aprovechamiento de la sacarosa en la fermentación no es completo.

También hemos encontrado acetona en pequeña cantidad, utilizando para ello diversas reacciones que no describimos por ser bien conocidas.

El conocimiento íntimo de las reacciones intermedias que tienen lugar en el proceso de la fermentación, se ha esclarecido mucho con el estudio de las fermentaciones derivadas, esto es, desarrollándolas en presencia de sustancias que se combinen con los productos a medida que van formándose, impidiendo que avance la fermentación hasta su término final de oxidación. Por este procedimiento se ha podido demostrar que la invertasa transforma parte de la sacarosa en glucosa, y ésta al combinarse con los fosfatos da la exosa fosfato, pasando después a aldehído pirúvico, ácido pirúvico y aldehído acético, el que a su vez da alcohol etílico; pero en circunstancias especiales, o sea en fermentaciones derivadas, parte del aldehído acético da un aldol y luego los ácidos beta oxibutírico, así como acetilacético y finalmente acetona, por lo que no es de sorprender que en este líquido, sujeto a diversas fermentaciones, pueda aparecer acetona como residuo de oxidaciones anormales.

Los productos obtenidos en la destilación fraccionada, separados debidamente, se destinaron a caracterizar la naturaleza de los alcoholes: el primer paso consistió en investigar la posible presencia de alcoholes monoatómicos primarios, secundarios y terciarios. Es bien sabido que los primeros, por oxidación dan aldehídos y por oxidación posterior se transforman en un ácido orgánico monobásico con el mismo número de átomos de carbono que el alcohol sometido a la oxidación, mientras que los secundarios, en las mismas condiciones, dan, primero cetonas y después ácidos de menor número de átomos de carbono, y los terciarios por oxidación se descomponen directamente en ácidos de menor número de átomos de carbono, sin pasar por los estados intermedios de aldehídos o cetonas. También puede verse fácilmente lo mismo convirtiendo los alcoholes en los yoduros correspondientes por la acción del yodo y fósforo, destilando el yoduro formado, con doble cantidad de nitrito de plata, agitando el destilado con una solución concentrada de nitrito potásico en hidróxido de sodio y añadiendo, finalmente, gota a gota, ácido sulfúrico diluído hasta reacción ácida; en estas condiciones los alcoholes primarios dan ácido nítrico, coloración roja; los se-

cundarios dan seudonitrol, coloración azul, y los terciarios no dan color alguno.

Esta reacción, así como la modificada, que consiste en desecar el ioduro, añadirle un peso igual de nitrito argéntico, previamente mezclado con su volumen de arena fina lavada, calentando la mezcla y destilando, recogiendo el destilado en una solución de nitrito potásico en potasa concentrada, para añadir finalmente el ácido sulfúrico hasta reacción ácida como en el caso anterior, nos dió con los destilados del pulque exclusivamente color rojo, lo que demuestra, junto con la oxidación por ácido crómico, que los alcoholes del pulque son exclusivamente primarios: todos los destilados dieron exclusivamente ácido acético.

Investigamos la presencia de metanol en los destilados fraccionados, de punto de ebullición más bajo, siguiendo para ello varios procedimientos. A una pequeña cantidad de destilado se añadieron cuatro volúmenes al 20%, después permanganato de potasio en polvo: al desaparecer el color violeta del líquido se filtró en tubo de ensaye y a una pequeña parte del filtrado se añadieron 5 c. c. de ácido sulfúrico puro, y enfriada la mezcla se vertió pequeña cantidad de solución de cloruro de morfina en ácido sulfúrico, apareciendo poco antes de los diez minutos de agitación, color violeta, lo que indica que sí había metanol.

Otra de las reacciones practicadas está fundada en la formación de violeta de metilo: se tratan 10 c. c. del destilado con 15 gramos de iodo y dos gramos de fósforo rojo para formar los yoduros correspondientes, los que se destilan, recogiendo el destilado en agua; en estas condiciones se obtienen los yoduros en forma de líquido espeso y denso; decantando el agua se añaden 5 c. c. de anilina, enfriando la mezcla al principio y luego acelerando la reacción por el calor; una hora después hierve con agua y se añade solución de hidróxido de sodio con lo que se separan las bases de la superficie; se toma 1 c. c. de esa capa y se oxida con 10 gramos de una mezcla formada con 100 gramos de arena lavada, 2 de cloruro de sodio y 3 de nitrato cúprico; al digerir el producto de la oxidación, con etanol hasta 100 c. c. toma el líquido tinte violeta, más o menos intenso, según la proporción de alcohol metílico; en nuestro caso la reacción fué positiva, pero no muy intensa, lo que demuestra la presencia de metanol en pequeña proporción.

La mayor parte del alcohol destilado del pulque está constituida por etanol, lo que pudimos demostrar fácilmente por medio de las reacciones correspondientes, que no detallamos por ser muy conocidas.

Las últimas porciones del destilado se presentaban generalmente más o menos turbias y con las de pulque de pulquería el enturbiamiento fué siempre más intenso; es bien sabido que el alcohol amílico es insoluble en agua. Demostramos la presencia del alcohol amílico o insoamílico por las reacciones siguientes: calentando una porción del destilado con una y media o dos veces su peso de ácido sulfúrico concentrado se formó  $C_5H_{11}HSO_4$ , de color rojizo no muy intenso, pero sí lo suficiente para poder afirmar su presencia; en los destilados de pulque puro la reacción fué positiva, y mucho más intensa en los de pulquería. Calentando con acetato de sodio y ácido sulfúrico concentrado dió olor a peras, olor que por otra parte ya se aprecia en el pulque puro directamente, esto es, en el mismo proceso de fermentación.

Con esto llegamos a las siguientes conclusiones:

1ª Para el estudio de las sustancias volátiles del pulque es conveniente partir de pulque elaborado en el mismo laboratorio.

2ª Aun en estas condiciones es variable en su composición química, debido a diferencias en el proceso de fermentación.

3ª Los pulques comerciales son más variables en su composición debido a la presencia de sustancias extrañas.

4ª En los destilados de pulque hemos encontrado siempre, las siguientes substancias preformadas en el mismo: gas sulfhídrico, acetona, furfurol y alcoholes metílico, etílico y amílico.

5ª el sulfhídrico y los alcoholes metílico y amílico existen en mayor proporción en los pulques de pulquería.