

EL NITROGENO DEL PULQUE

II

Por JUAN ROCA Y ROBERTO LLAMAS
del Instituto de Biología

CONOCIDA es la importancia del nitrógeno como constituyente orgánico, representa el elemento fundamental y característico de la sustancia proteica en cualquiera de sus variedades, se le encuentra también en derivados de aquella y que desempeñan, a su vez, importantísimo papel en el metabolismo celular. El nitrógeno de las sustancias nitrogenadas puede dividirse, cuando se estudia en productos de procedencia vegetal o animal con atributos alimenticios, en dos grupos fundamentales: nitrógeno total, en el que se incluye el contenido en prótidos diversos, el que se encuentra integrando aminoácidos fenólicos o de cadena abierta, bien sea aislados o en combinaciones sencillas de tipo di o tri péptido, cuerpos de estructura amídica etc., etc., y otro en el que debe considerarse solamente el nitrógeno de aminoácidos. Es conveniente conocer, por lo tanto, la cifra que representan los prótidos totales por una parte, y los cuerpos de estructura amínica por la otra. Esta línea de conducta en lo que a investigación del nitrógeno se refiere, es la que nos ha parecido más conveniente, puesto que es verdad que importa conocer la cantidad total de este elemento, pero es indispensable, en un estudio de índole biológica, conocer la proporción en que está contenido el nitrógeno de aminoácidos, y de estos los que, poseyendo determinadas estructuras moleculares, son considerados como indispensables para la vida, en vista de la incapacidad de los organismos animales para sintetizarlos.

El nitrógeno total lo hemos cuantificado en 75 muestras de pulque que llamaremos puro, obtenido de la Aduana de la ciudad, es decir, de pulque que no ha sufrido adulteraciones en los expendios; el

procedimiento empleado ha sido el de Kjeldhal: 25 c. c. de pulque se colocan en un matraz de Kjeldhal, se les agrega tres o cuatro gramos de oxalato neutro de potasio y un cristal de sulfato de cobre además de veinte centímetros cúbicos de ácido sulfúrico, al cabo de tres horas se coloca el matraz al fuego hasta obtener líquido transparente de color azul. Este líquido, en el que el nitrógeno total se ha combinado en forma de sulfato de amonio, se diluye hasta 300 ó 400 c. c. con agua destilada, se vierte a un matraz Erlenmeyer, se le agregan gotas de fenoltaleína, se alcaliniza con hidróxido de sodio y conectado con un refrigerante se destila, recibiendo el destilado en un matraz pequeño en el cual se han colocado previamente 15 c. c. de ácido sulfúrico decinormal y unas gotas de anaranjado de metilo como indicador. Mediante el calentamiento, que debe llegar hasta la ebullición, el sulfato de amonio, descompuesto en amoniaco por la reacción alcalina del medio, desprende esta última sustancia, la cual es recibida en el matraz con el ácido y ahí se combina formando nuevamente sulfato de amonio, se titula después el exceso de ácido, es decir, el no combinado y se efectúa el cálculo correspondiente. Mediante este procedimiento hemos cuantificado 75 muestras de pulque puro; los resultados no son siempre los mismos, entre muestra y muestra existen variaciones a veces considerables, por lo que es imposible hablar de uniformidad en la composición de este líquido, y lo más conveniente, según nuestro modo de ver, es expresar cifras medias; la cantidad más elevada obtenida por nosotros fué de 0.0420 y la más baja de 0.0201 de nitrógeno por ciento, efectuando el promedio con las muestras estudiadas se obtiene la cifra de 0.0279 de nitrógeno por ciento o sea la de 0.279 por mil. Mediante el mismo procedimiento investigamos nitrógeno total en pulque de diversas pulquerías de la ciudad, habiendo encontrado el hecho paradójico de que las cantidades de nitrógeno fueron generalmente superiores a las del pulque de Aduana, ya que hubo muestra en que el nitrógeno existía en proporción de 0.554 por ciento, y la media de quince muestras estudiadas fué de 0.0419 por ciento, cifra muy superior a la ya mencionada del pulque puro. Seguramente que esta discordancia en las cifras de nitrógeno, y tanto más notables cuanto que al pulque se agrega agua en casi todos los expendios, debe interpretarse como debida a las diversas adulteraciones que el líquido experimenta.

La cuantificación de aminoácidos totales se realizó siguiendo el mismo método anterior. El problema consistía en desembarazar al pulque de todas las sustancias en suspensión, tales como proteínas,

gomas, etc., y obtener un líquido transparente en el cual se encontrasen solamente las sustancias disueltas, incluyendo entre ellas el nitrógeno filtrable, es decir, el de aminoácidos fundamentales; después de ensayar diversos métodos tales como el tanino, ácido fosfotúngstico, etc., etc., los filtrados que se obtenían eran turbios y daban claramente la reacción del biuret, por lo que eran inapropiados para el objeto que se perseguía. Se pensó entonces en emplear el tungstato de sodio y el ácido sulfúrico, tal como se utiliza para precipitar proteínas de sangre, y después de algunos ensayos encontramos que, añadiendo un gramo de tungstato de sodio a 100 c. c. de pulque y después de disueltos 10 c. c. de ácido sulfúrico Q. P., se obtenía precipitado abundante que al ser filtrado permitía separar líquido absolutamente transparente e incoloro de aspecto de agua destilada; 50 c. c. de este líquido se trataban por el procedimiento de Kjeldhal y se cuantificaba el nitrógeno filtrable en la forma ya mencionada; este nitrógeno representa fundamentalmente el nitrógeno amínico total; las cantidades obtenidas son variables también, pero siempre encontramos cifras proporcionales entre el nitrógeno total y el amínico, ya que constantemente efectuábamos ambas determinaciones en la misma muestra de pulque; el nitrógeno amínico representa aproximadamente un 40.35 por ciento del total, es decir, si el nitrógeno total de una muestra resultó de 0.0347, por ciento la cantidad de amínico se reducía a 0.0140, estableciendo una cifra proporcional a la media que representa el nitrógeno total (0.0279 por ciento), la cantidad correspondiente de amínico (cifra media) es de 0.0112 por ciento.

La cuantificación de aminoácidos fenólicos, calculados en tirosina, la efectuamos siguiendo el método de Sorensen, basado en el empleo del conocido reactivo de fenoles; este reactivo, al ponerse en contacto con soluciones en las que existen cuerpos de esta estructura química, producen color azul, tanto más intenso cuanto mayor sea la cantidad de ellos. En probeta de 25 c. c. se pone un centímetro cúbico del filtrado que se utilizó para la determinación del nitrógeno amínico total, se añaden 0.50 c. c. del reactivo de fenoles, se diluye con agua hasta 20 c. c., se agregan 3 c. c. de solución de carbonato de sodio al 20 por ciento y se completa con agua hasta volumen final de 25 c. c.. En otra probeta igual a la anterior, se pone 1 c. c. de la solución tipo de tirosina más 1 c. c. de ácido sulfúrico al 5%, se agregan 0.50 c. c. del reactivo de fenoles, se diluye a 20 c. c., se añaden 3 c. c. de la solución de carbonato de sodio mencionada y se lleva a

volumen final de 25 c. c.. El ácido sulfúrico no se utiliza en la primera probeta por el hecho de que el filtrado ya lo tiene. Los líquidos adquieren rápidamente color azul, que va intensificándose lentamente, consideramos que después de 60 minutos pueden compararse los colores en el colorímetro y efectuar los cálculos correspondientes.

Siguiendo el anterior procedimiento, hemos encontrado cifras que oscilan entre 0.0131 por mil, como mínima y 0.0211 por mil como máxima. Existe en todos los casos evidente relación entre las cifras de nitrógeno total, amínico total y fenólico tal como puede observarse en el cuadro que a continuación insertamos, en el cual hemos tomado los resultados comparativos de solo cuatro cuestras estudiadas.

Pulque obtenido de la Aduana. Tantos por mil. Fenólico			
Muestra 1. Nitrógeno total.	0.347	Amínico total	0.140 0.0211
Muestra 2.	0.246		0.0812 0.0131
Muestra 3.	0.240		0.0840 0.0122
Muestra 4.	0.364		0.142 0.0215

El nitrógeno total debe considerarse fundamentalmente constituido por proteínas de tipo sencillo, por pequeñas cantidades de albúmina vegetal y por nucleoproteidos, contenidos, estos últimos, en las levaduras del líquido. Las sustancias proteicas, como puede juzgarse por las cifras del nitrógeno total, se encuentran en muy pequeña cantidad, y efectuando los cálculos correspondientes, encontramos la cifra de 1.0437 gramos por mil de proteínas, como media, previa substracción del nitrógeno amínico al total y multiplicación por seis veinticinco.

La cifra global de proteínas es pues muy baja, y considerado desde este punto de vista, el pulque no puede considerarse como dotado de propiedades alimenticias; el examen, sin embargo, de las cifras del nitrógeno de aminoácidos totales, y muy principalmente del de aminoácidos fenólicos, sí nos permite asegurar que puede considerarse a este líquido como fuente de aminoácidos cíclicos, sobre todo en aquellos casos en que existe deficiencia de prótidos en la alimentación, pero, como hacemos notar en otro trabajo, sobre las acciones diastásicas del pulque, estos cuerpos sufren seguramente transformaciones debidas a fermentos y son convertidos, por lo menos parcialmente, en aminas tóxicas para el organismo.