

R E V I S T A

DE LA

REAL ACADEMIA DE CIENCIAS

EXACTAS, FISICAS Y NATURALES

DE

M A D R I D

---

TOMO XLI

CUADERNO CUARTO



M A D R I D

DOMICILIO DE LA ACADEMIA: VALVERDE, 22

TELÉFONO 21-25-29

1947

---

Artículo 39 de los Estatutos de la Academia:

*«La Academia no se hace solidaria de las opiniones cuestionables, en materia científica, de sus individuos. Cada autor es responsable de las proposiciones y asertos que contengan los escritos del mismo que aquélla publique.»*

---

Estudio químico de las féculas de *Lathyrus sativus* (almorta)  
*Batatas edulis* (boniato), *Colocasia antiquorum* (ñame) y  
*Castanea vesca* (castaña dulce)

por

Obdulio Fernández y Rosario López Larrañeta

En trabajos precedentes relativos a la composición de féculas (1), se ha observado con cierta constancia que de las dos porciones constituyentes de la fécula sólo la amilopectina contiene ácido fosfórico, en tanto que la amilosa carece de este compuesto ácido, al que se atribuye la formación del engrudo. Se conformaban los autores, en dichos escritos, con las ideas de Samec, porque estaban acordes con los resultados que obtenían, aunque no ocultaron la sorpresa que les causaran la opinión y las experiencias de Hirst, Plant y Wilkinson (2), cuando afirmaron que la amilosa contiene fósforo como la amilopectina, y todavía más, que en aquélla puede estar combinado todo el fósforo contenido en la fécula de patata. En general, la escuela inglesa sostiene que no existen diferencias entre amilosa y amilopectina, porque el almidón, tratado en *suaves condiciones*, se conduce como si su único factor integrante fuese la amilosa. A esta conclusión llevan las experiencias de Hanes para sintetizar fécula con la fosforilasa obtenida de la patata: parece amilosa el único constituyente de esa fécula sintética.

De modo más concreto interesa el punto relativo al ácido fosfórico, en las féculas objeto de estudios anteriores. La amilosa obtenida por el agua en frío o a temperatura oscilante entre 50°, 75° u 80°, en proporción de 18 por 100 aproximadamente, carece de ácido fosfórico. La totalidad del fósforo de la fécula se encuentra en la amilopectina, opinión que comparten Stamberg y Bayli (3), deducida de sus estudios en la fécula de trigo.

---

(1) O. FERNÁNDEZ y R. OLALLA: *Revista R. A. Ciencias*. Madrid, 1944. 38. 379. O. FERNÁNDEZ y E. MARTÍNEZ: *Ib.*, 1945. 39. 401.

(2) *J. Chem. Soc.*, 1932. 2.375.

(3) *Cereal. Chem.*, 1939. 16. 309. *Chimie e Indus.* 1940. 43. 159.

Pero abandonando la actitud conformista por presentir que la mayor complicación de un factor respecto del otro es obra de la vida y que la existencia del ácido fosfórico, en unión estérea con cualquiera de las unidades de glucosa integrante de la amilosa o de la amilopectina, se conexiona con la presencia de un fermento sintetizante, siguieron buscando féculas, tanto de órganos aéreos como subterráneos, y encontraron nuevos datos, que no confirman en absoluto la opinión de Samec, ni la suya, sino que la contradicen. Karrer y Kraus (4) encuentran fósforo en tres fracciones de las féculas de patata y de tapioca, y además en las fracciones solubles de la última hallaron más fósforo que en la insoluble: 0,0095 de P, contra 0,0087 por 100. En la fécula de *Arum Maculatum* ya habían hallado fósforo en la amilosa (5). Tenemos ahora cuatro féculas más: la de *Lathyrus sativus* (almortas), *Batatas edulis* (boniato rosa, variedad importada de América), *Colocasia antiquorum* (ñame de Canarias), procedente de Guinea, conocida allí con los nombres de Matu y Atu (dos variedades, redonda y alargada), y la de *Castanea vesca* (castaña dulce). Las dos primeras y la variedad alargada de colocasia, relativamente abundantes en fósforo, elemento que se halla repartido entre los dos componentes del almidón; la amilosa soluble y la amilopectina insoluble en agua y en disolución de hidrato de cloral al 33 por 100. Samec quiso localizar en el éster fosfórico de la fécula la capacidad de ésta para producir engrudo, buscando la prueba en el hecho de que esterificando con ácido fosfórico la amilosa adquiere aquella cualidad y se torna en este aspecto semejante a la amilopectina. Surgió entonces la medida del índice de viscosidad como medio diferencial, pero lo impugnaron Karrer y Kraus (6), sosteniendo que la viscosidad puede modificarse por la presencia de sílice o de materias albuminoideas, además del influjo de la presión y de otros factores que también la modifican. En cuanto se refiere a los albuminoides, que se determinan cuantitativamente por el nitrógeno, se ha expresado la opinión (7) de que este elemento se encuentra como constituyente de los lecitanos que se hallan en muchas féculas, aunque no procedan de órganos aéreos.

En lo relativo a la sílice, hemos comprobado su existencia por la reacción que aconseja Karrer (8), fundada en la producción de un complejo:  $\text{SiO}_2$ ,  $12 \text{ MoO}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  de color azul.

Se ha practicado la cuantitativa, con los siguientes resultados:

---

(4) *Helv. Ch. Ac.*, 1929. 12. 1.144.

(5) O. FERNÁNDEZ y E. MARTÍNEZ: *Loc. cit.*

(6) *Helv. Ch. Ac.*, 1929. 12. 1.144.

(7) O. FERNÁNDEZ y R. OLALLA: *Loc. cit.*

(8) F. OBERHAUER y J. SCHORMULLER: *Zeit. Anorg. Chemie.*, 1929. 178. 371.

Almortas ... ..	0,0184 % de SiO <sub>2</sub>
Boniato ... ..	0,38 % de SiO <sub>2</sub>
Colocasia redonda ... ..	0,1562 % de SiO <sub>2</sub>
Colocasia alargada ... ..	0,033 % de SiO <sub>2</sub>
Castaña dulce ... ..	No existe.

No debe ser sólo el ácido fosfórico el causante de la viscosidad o de la propiedad de formar jalea, porque hemos obtenido éster fosfórico de almidón de patata, siguiendo la técnica de Karrer, Koenig y Usteri (9), y no produce pseudosolución más espesa que una amilosa de igual concentración. El éster obtenido contiene 14,59 por 100 de fósforo, lo cual prueba que el ácido fosfórico sólo entra a esterificar un oxhidrilo, como es corriente en ácidos nucleínicos y otros compuestos de igual o parecida estructura química.

#### LA AMILOSA Y LA AMILOPECTINA.

Hemos procedido siempre de igual modo en la separación de estos constituyentes de la fécula: a 75°-80° con agua, o en frío con disolución de hidrato de cloral al 33 por 100, agitando continuamente durante quince días.

K. H. Meyer y P. Heinrich (10) sostienen, frente a una tabla de análisis, las diferencias halladas en diversos almidones, para justificar una composición diferente. Hasta ahora, en los nuestros, sólo hay un descenso considerable de amilosa en la de boniato, pero las diferencias en amilopectina no son muy marcadas.

Obtenemos:

Almortas ... ..	18,5 de amilosa y 72 de amilopectina
Boniato rosa ... ..	12,8 » y 75 »
Colocasia redonda ... ..	17,5 » y 79,4 »
Colocasia alargada ... ..	16,6 » y 79 »
Castaña dulce .. ...	16,3 » y 81,5 »

Estas proporciones no tienen valor absoluto, sino que pueden cambiar con la temperatura, la cual, si se eleva, aumenta la cifra de amilosa, porque los constituyentes poco ramificados de la amilopectina también se disuelven. Quizá esto ocurrió con la fécula de *Arum Maculatum*, cuya amilosa no fué totalmente solubilizada por la  $\beta$ -amilasa (11).

Está probado que la elevación de temperatura influye en la metamorfosis

(9) *Helv. Ch. Ac.*, 1943. 26. 1.296.

(10) *Helv. Ch. Ac.*, 1942. 25. 1.639.

(11) O. FERNÁNDEZ y E. MARTÍNEZ: *Loc. cit.*

de amilosa en amilopectina, y esto creemos que debe atribuirse más que a la capacidad del calor para aumentar la solubilidad, a la desramificación de la amilopectina. Cundo no intervienen en la síntesis temperaturas superiores a 20°, como ocurre en la de Hanes, toda la fécula se compone de amilosa, y cuando se practica la extracción pasando de 75°, la cifra de amilosa sube en la pseudo-disolución del almidón. El agua hirviente extrae parte del factor ramificado (12), dato muy de acuerdo con experiencias anteriores de G. Santoni (13), quien altera las cifras de amilosa y de amilopectina, aumentando la primera a expensas de la segunda. Extrayendo con agua 30' a 90°, las cifras 21 y 77 por 100 se convierten en 32 y 63 por 100, respectivamente.

También de la lectura de un trabajo de Cready se puede inferir que una fracción precipitada por alcohol metílico a 50 por 100, de un líquido extraído, con poca diferencia en el modo de separarlo al de Meyer, está constituido por una mezcla de amilosa y de *amilopectina de composición poco ramificada*.

En las desacetilaciones de los derivados acéticos de la amilosa no obtenemos un producto idéntico al inicial, contra lo que se afirma frecuentemente (14), sino que muchas veces se colorea en violeta y aun en rojo, como si durante la fase del tratamiento la amilosa se hubiera convertido en amilopectina, a lo menos de modo parcial.

El tránsito de amilosa a amilopectina lo admiten implícitamente R. Meyer y P. Heinrich, al advertir que la amilosa por ellos obtenida va acompañada de un poco de amilopectina muy ramificada o de una amilopectina fácilmente soluble y poco ramificada, que deja escasa cantidad de dextrina residual, después de la degradación por la  $\beta$ -amilasa.

También es conocido un fenómeno completamente antagónico, descubierto por Hopkins, Stopter y Dolby (15), el de isomerizarse la amilopectina en amilosa, lo cual, en la hipótesis admitida, implica la supresión de toda arborescencia, es decir, la conversión en cadena lineal. Si se hace una pasta con almidón y se dispersa a más de 100° para después someterla a la electroforesis, la amilopectina sometida al influjo de la  $\beta$ -amilasa se vuelve sacarificable, pudiéndose así obtener a la temperatura indicada 80 por 100 de amilosa, prueba en la que se evidencia cómo las cadenas arborescentes se perdieron, o más verosíblemente se tornaron lineales, tanto por la temperatura como por la electroforesis.

Por las razones expuestas, nos permitimos afirmar que los números que presentamos como resultado del análisis de varias féculas sólo tienen valor

---

(12) K. H. MEYER y P. HEINRICH: *Helv. Ch. Ac.*, 1942. 25. 1.639.

(13) THESE. MARSEILLE: *Contribution à l'étude de la constitution de l'Amidon*, 1939.

(14) K. MYRBÄCK: *The Svedberg*. Libro homenaje Upsala, 1945, pág. 474.

(15) J. Inst. Brew., 1940. 46. 426; de *Annual Reports of the Progress of Chemistry*, volumen 37. 422.

relativo y en tanto se mantengan siempre las mismas condiciones para la extracción de los dos factores integrantes de la fécula. Sólo así se evitará hallar diferencias tan considerables para amilosa de patata, 8 por 100 R. Meyer y 16 por 100 Santoni.

¿Habrá alguna fécula constituida sólo por uno de los dos factores?

Se ha expuesto la opinión de la escuela inglesa, favorable a la unidad de composición y explicable con la estructura laminar propuesta por Haworth, y a ella la asiste el buen sentido, que no acierta a explicar la coexistencia de cadenas abiertas y ramificadas (16), a pesar de lo cual Haworth y sus discípulos admiten ya la tesis de la ramificación, aunque combatan injusta y sañudamente la estructura propuesta por K. H. Meyer, que nosotros aceptamos como consecuencia de la semejanza de los resultados de sus experimentos y de los nuestros.

Admitidos los dos grupos, ha surgido el problema de las diferencias entre los dos constituyentes frente al reactivo yodo-yodurado. Se dice a menudo que las féculas producen con el yodo color azul, cuando se agrega este reactivo a su pseudodisolución acuosa: en realidad, parece que el azul se ha de atribuir a los constituyentes de cadena lineal de la amilosa, puesto que R. H. Meyer y P. Heinrich, ya citados, señalan una especie de fécula, la del maíz llamado *waxy*, que causa color rojo con el yodo; dato que Schopmeyer confirma, asegurando que sólo contiene amilopectina, la cual a muy bajas concentraciones produce jaleas muy espesas, hecho que asegura para la *Amioca* un gran porvenir industrial (17); la variedad glutinosa de la *Oryza sativa* contiene una fécula productora de color rojizo, de lo que debe deducirse que ambas féculas carecen de amilosa. En cambio, la del guisante, según Gilbert y Mc. Masters, es muy rica en amilosa de 60-70 por 100, cifra puesta de relieve en su alta temperatura de gelatinización, una hora a 120° (18).

El primer caso de anomalía de color con la fécula y el yodo lo observó Nageli en las semillas del *Chelidonium Majus*. En la fécula de hojas de *Iris Germánica* y de *Gentiana lutea* también se observa igual fenómeno, y por creer Doffert que era una fécula especial la hallada en esas plantas, la denominó eritrogranulosa (19); por tanto, la amilosa produce color azul y la amilopectina, rojo o rojo violáceo.

Las cuatro féculas que ahora presentamos producen fuerte color azul, tanto la amilosa como la amilopectina; luego no es tan constante esa característica al yodo para los dos constituyentes de las féculas. No es éste el caso de los dos componentes amiláceos procedentes de desacetilar sus respectivos ésteres acéticos. La amilosa y la amilopectina así regeneradas dan color

---

(16) GUNNAR, SILLEN y K. MYRBÄCK: *Svensk. Tidss. Kr.*, 1943. 55. 294.

(17) *Ch. Abstrats.*, 1946. 40. 2.331.

(18) *J. Biol. Chemistry*, 1946. 162. 229.

(19) K. H. MEYER y MARÍA FULD: *Helv. Ch. Ac.*, 1941. 24. 1.404.

violeta, rojo o tenuamente rojo, y, en este último extremo, se ofrece ya un indicio claro e indudable de una acción profunda, que lleva a reducir el reactivo de Fehling. Es cierto que toda la serie de manipulaciones a que se somete el producto contribuye a escindirle, separándose algún agrupamiento; la acetilación primero y la saponificación con potasa no son garantías de estabilidad ante enlaces moleculares de poca robustez.

Un problema se ofrece antes de continuar: *¿serán siempre iguales la amilosa y la amilopectina en todas las féculas?* Si la unión de los monómeros se realiza según la idea de G. Sillen y K. Myrbäck (20), de punta a fin de flecha representativo de uniones glucosídicas  $1:4 \longrightarrow$ , todas las amilosas son iguales, producirán derivados metilados, que en su desdoblamiento suministren iguales cifras de tri y tetrametilglucosa y el mismo número de *grupos finales*.

No obstante la teoría apuntada, la característica externa de la amilosa del boniato induce a estimar una diferencia respecto a las demás: es una masa córnea, en la que destacan puntos brillantes con aspecto cristalino. La amilosa de la colocasia redonda es de un blanco deslumbrador; a los pocos días de obtenida por disolución en hidrato de cloral se cubre de una eflorescencia cristalina, y rota la masa, también se ven en los centros cristales de igual naturaleza. Estos cristales son de *cloralido* y no de posible tricloropentenona, por la intervención de la acetona en precipitar la amilosa. La síntesis del cloralido se verifica por dos OH de una molécula del monómero, y entonces, ¿por qué la amilosa de la fécula de colocasia produce cloralido y las demás no?

De otra parte, esta amilosa, que a diferencia de las otras dos carece de fósforo, es soluble en agua tibia más fácilmente que ellas, y por añadidura es *inactiva* a la *luz polarizada*, como la de la castaña. No inactiva, pero sí escasamente activa, es la amilosa de boniato, de contenido en ácido fosfórico bastante alto. La amilosa de *Arum maculatum*, también fosforada, se reveló como inactiva al polarímetro (21).

El problema adquiere otro aspecto para la amilopectina, que en parte resuelve el análisis de los grupos finales; pero la ramificación que se denota, indicadora de enlaces glucosídicos  $1:6$  (de isomaltosa)  $\nearrow$ , y los lugares de ramificación deben implicar diferencia de propiedades, es decir, tipos de isomería, que han de acatarse por haber ganado terreno la idea de las anomalías.

Esta concepción acerca de la diferencia de propiedades se encuentra impugnada tácitamente en una memoria de Sillen y Myrbäck (22), en la que se estudian las probabilidades de la unión en  $1:4$  (cadena recta) y en  $1:6$  (cadena ramificada). Sostienen los químicos suecos citados que a moderados

---

(20) *Loc. cit.*

(21) O. FERNÁNDEZ y E. MARTÍNEZ: *Loc. cit.*

(22) MYRBÄCK: *The Swedberg*. Libro homenaje. Upsala, 1945. 474.



progresos de polimerización de la glucosa para constituir fécula con *anomalías*, el grado de ramificación, o sea el número de puntos de inserción de cadenas laterales, alcanza un valor constante, fundándose en que las féculas de distinto grado de polimerización tienen casi el mismo número de grupos finales, el cual, dicen, prácticamente debe ser el mismo que el de puntos de ramificación.

Sin embargo de criterio tan autorizado y respetable, creemos que si los puntos de inserción de cadenas laterales no son los mismos en todos los casos, se creará la isomería generadora de diferencia de propiedades.

El número de uniones y el de cadenas ramificadas, así como el punto de su inserción, arguyen propiedades distintas para cada amilopectina. Además, la presencia del ácido fosfórico, con constancia que no existe en las amilasas, presupone una nueva cualidad, que se refleja en la formación de engrudo.

La distinción no estriba, fundamentalmente, en la mayor o menor capacidad para formar jalea; debe hallarse en las ramificaciones y en su posición en la cadena, posiblemente recta, como supone Staudinger. De la química, como puede juzgarse en lo escrito, no hay que esperar mucho más, si no es por el lado de la sílice; debe acudir a la biología y al empleo de fermentos capaces de romper ligaduras  $\alpha$  1 : 4 (amilasas) y 1 : 6 ( $\alpha$ -glucosidasas). La amilopectina de *Arum maculatum* deja descubrir su primera arborescencia por medio de la mezcla de  $\alpha$  y  $\beta$  amilasas al sacarificar 84 % de producto y su IV dextrina residual, cuando se ha sacarificado 94 %. La amilopectina del *Cyperus rotundus* revela su IV dextrina residual al separarse 80,76 %, cifra próxima a la anterior; en cambio, la amilopectina del *Cyperus esculentus* deja un residuo de dextrina al alcanzar 67,57 %, y la de *Oxalis purpurata* forma su IV dextrina después de sacarificar 51,3 % de la sustancia inicial.

Números igualmente elevados de sacarificación encuentran Myrbäck y Limden (23) haciendo actuar sucesivamente sobre engrudo de almidón  $\alpha$ -amilasa y  $\beta$ -amilasa, 85 por 100 para el originario de maíz y 75 por 100 para el procedente de la patata.

Las diferencias que ofrecemos las patentizan igualmente otras cifras expuestas por R. Meyer y P. Heinrich (24), aunque no comprenden más que la acción de la  $\beta$ -amilasa, por tanto, de la primera dextrina residual, que para mayor claridad debe representar el punto de inserción de la primera cadena lateral. La degradación alcanza el 54 por 100 en la amilopectina del maíz, el 66 por 100 para la de sagú, 57 por 100 para la de guisante y 76 por 100 para el almidón de maíz *waxy*, que, de acuerdo con lo antes escrito, carece de amilosa.

Todavía hay que tomar en cuenta, además del número de cadenas, el peso molecular de éstas. Ejemplificando el asunto de la amilopectina del *Arum Ma-*

---

(23) *Loc. cit.*

(24) *Helv. Ch. Act.*, 1942. 25. 1.645.



estimar que el  $\alpha$  es una especie de sensibilizador sobre el  $\beta$ . La realidad nos enseñó que no es así, a juzgar por los resultados, y que el  $\alpha$  ejecuta una metamorfosis que no interpretábamos exactamente, pero que Myrbäck ha esclarecido en varios trabajos (25).

La  $\beta$ -amilasa inicia la ruptura molecular de las féculas por el grupo final, no reductor, produciendo maltosa en forma que, si las unidades glucosa están enlazadas por el esquema de la maltosa, la formación de este azúcar alcanza la cifra de 100. Si la cadena es ramificada el enzima suspende su actividad al encontrar el punto de ramificación de aquélla. Las dextrinas residuales procedentes de estas cadenas ramificadas (amilopectina) son de peso molecular alto.

La  $\alpha$  amilasa ataca las cadenas lejos de los grupos finales; por consecuencia, su enlace a la molécula del almidón para iniciar su obra demoledora no es por los grupos periféricos; ataca a los centrales de la amilosa y a las cadenas internas de la amilopectina, rompiéndolas por los puntos de ramificación. De aquí que Myrbäck la califique de *endoamilasa*, y por tales motivos, las dextrinas que engendra la  $\alpha$  poseen una molécula más pequeña que las producidas por la  $\beta$  amilasa. Es suficiente para provocar una ruptura que la cadena conste de 7 unidades glucosa.

Estas circunstancias justifican que no consideremos a la amilasa  $\alpha$  como un sensibilizador, en los términos que empleó Haworth. En un aspecto exclusivamente es adaptable el calificativo: en el rendimiento en azúcares producidos en la fragmentación, porque la fécula hidrolizada por  $\beta$ -amilasa sólo origina 62 por 100 de maltosa, en tanto que con  $\alpha + \beta$  llega, como se deduce de nuestras experiencias, a 94 por 100.

Como lo que interesaba a nuestro proyecto diferencial de almidones era, preferentemente, la máxima hidrólisis para alcanzar las dextrinas residuales, aunque al principio trabajamos con la  $\beta$ -amilasa desprovista por la acción del calor o por el cambio de acidez de la  $\alpha$ , preferimos emplear el conjunto de enzimas, con el riesgo de perder el grupo fosfórico, porque con las amilasas coexisten fosfatasas. Por tal causa, como complemento de la hidrólisis por amilasas de levadura hemos utilizado pancreatina, conjunto enzimico en el que no existe fosfatasa que libere ácido fosfórico de su combinación estérea en la fécula.

#### ACETILACION

Es práctica corriente para inquirir el número de oxhidrilos esterificables, y como operación previa para metilar, la acetilación. Hemos utilizado de modo constante la misma técnica de Barnet, con anhídrido acético y cloruro de sulfuro, y en ella se consiguen ésteres triacéticos. Pero en alguna de las féculas

---

(25) K. MYRBÄCK y R. LIMDEN: *Arkiv f. Kemi.*, 1946. 23. A. núm. 7.

que hemos estudiado parece, según frase de la escuela inglesa, un poco *drástica* la operación, quizá porque, a consecuencia del estado físico de la amilosa o de la amilopectina, ha sido necesario prolongar el tiempo de contacto de los reactivos a la temperatura del baño de agua para conseguir la disolución de la sustancia. Ya Karrer y Kraus (26) señalan varias dificultades por ellos observadas, y mencionan ejemplos de acetilaciones fáciles y difíciles y tiempos largos y cortos aun dentro del grupo de la celulosa. Si nos adherimos al calificativo de drástico es porque en el ejemplo de la *colocasia* el número de acetilo que hemos obtenido sobrepasa el límite del derivado triacetilado, 50 por 100, cuando el número corriente es de 40-44 por 100. También se observó este fenómeno en el análisis de la fécula de *Arum Maculatum* por O. Fernández y E. Martínez. Además hay otra razón: el ester acético, privado del acetilo por ligera ebullición con álcali, sobre todo el de la amilopectina, no produce color rojo ni violeta con el yodo y reduce débilmente el Fehling, prueba de que la acetilación o la saponificación alcalina fueron más allá de lo conveniente, separando algún grupo de exosa o de biosa, que se hace ostensible por su cualidad reductora del líquido cupro-alkalino. Nos hallamos frente al caso notado por Higginbotham y Richardson (27) acerca de las metamorfosis que es capaz de motivar la acetilación en la molécula de los almidones.

En el almidón de boniato el cambio no ha sido tan profundo, porque después de desacetilado sólo se notó color rojo al yodo, pero sin manifestar la aptitud reductora para el Fehling. La amilosa desacetilada no causó ningún color con el yodo y la amilopectina lo ocasionó rojo, en tanto que ambos factores del almidón antes de ser acetilados producían color azul.

Apoya nuestra tesis el bajo poder rotatorio de algunos de los derivados acetilados en disolución clorofórmica al 1,32 por 100, como es práctica usual. En la memoria aludida varias veces (28) se hacía notar la diferencia en números de las acetilamilosas y acetilamilopectinas de *Oxalis*, *Cyperus* y *Aesculus* respecto de otros usuales, cuyo valor, obtenido por Hirst y Young, es de 174° y su decrecimiento comparado con los esteres acéticos de la fécula integral; y ahora la baja se acentúa mucho en los ésteres acéticos de las féculas de *Lathyrus sativus* cuyo  $[\alpha]_D$  para la acetilamilosa es de 130° 8 y 147° 9 para la acetilamilopectina. Para los mismos derivados de *Batata edulis* los valores se aproximan un poco más a los de las féculas corrientes: 164° 8 y 145° 7.

Esta interpretación tiene el rigor de la lógica, pero no excluye otra muy correcta, de la que son partidarios los dos químicos aludidos, cual es que las féculas ofrecen estructura distinta, y por tanto, se han de conducir también de distinto modo ante los reactivos. Es tesis por nosotros sostenida, porque

---

(26) *Loc. cit.*, 1929. 12. 1.144.

(27) *J. Chem. Soc. Ind.*, 1938. 57. 234.

(28) O. FERNÁNDEZ y R. OLALLA: *Loc. cit.*

si los colores con el yodo no son los mismos que los iniciales, si los poderes rotatorios también son diferentes y las propiedades no son iguales, es porque las féculas tampoco son idénticas, y como consecuencia, no ha de atribuirse a modificaciones por la acetilación lo que es inherente a la estructura particular de cada fécula. Por eso se escribió en la memoria de O. Fernández y R. Olla (29): «Al establecer la relación lineal entre viscosidad y longitud de cadenas, quizá con un poco de audacia se pueda inferir la distinta estructura interna del almidón de cada especie vegetal.» Sin embargo, conviene ser parcos en deducciones hasta no ver bien establecida por métodos biológicos la posible relación entre la longitud de las cadenas y su número.

#### FECULA DE ALMORTAS

Ha sido extraída del polvo de la semilla por el método habitual.

**Fósforo:** Contiene cantidad de fósforo de relativa consideración, determinado según la técnica del *Official Methods of Analysis*, 1925; 0,551 gramos de fécula producen 0,0094 g. de pirofosfato magnésico, equivalente a 1,08 gramos por 100 de  $P_2O_5$  y a 0,2357 g. de P por 100.

La harina de la almorta contiene 1,76 % de fosfatidos, extraídos con la mezcla de alcohol benceno (80 : 20). Este fosfatido se hidrolizó siguiendo la técnica de Fourneau y Pietri (30); 9,5 g. producen 0,565 g. de colina y colamina (teórico, 1,4; teórico de ácido glicerofosfórico, 2,5 por 100; teórico de lecitina, 2,5) y 0,134 de anhídrido fosfórico, equivalente a 0,7476 g. de ácido glicerofosfórico (teórico, 0,892).

**Silicio:** La cifra de silicio es baja y no se presta a interpretaciones relativas a su modo de unión en la fécula.

3,5 g. producen 0,0006 g., que corresponden a 0,0154 g. por 100 de  $SiO_2$ .

**Pentosas:** Esta fécula contiene pentosas, que han sido evaluadas transformando el furfural que producen en ebullición clorhídrica en 2,4 dinitrofenilhidrazona.

1 g. produce 0,00195 g. de hidrazona, equivalente a 0,678 de furfural por 100 y 1,06 g. por 100 de pentosana.

*Fraccionamiento con agua a temperatura de 80°:*

Conduce a separar: amilosa, 18 por 100; amilopectina, 72 por 100.

Los dos constituyentes se colorean en azul por el yodo.

El intento de aislarlos por medio de la disolución de hidrato de cloral al 33 por 100 no es tan lisonjero como con el agua. No parece que haya separado gran cantidad de amilosa. La disolución obtenida en el hidrato de cloral no

---

(29) *Loc. cit.*

(30) FOURNEAU Y PIETRI: *Síntesis de medicamentos orgánicos*. Madrid, p. 404

es activa a la luz polarizada, fenómeno que se volverá a observar con otras amilasas.

*Reparto del fósforo:* Contra lo que han supuesto varios observadores con carácter general, y nosotros hemos corroborado, el fósforo debe concentrarse en la amilopectina. En esta semilla farinácea el fósforo se halla repartido, entre los componentes, aunque la menor cantidad corresponde a la amilosa.

0,5112 g. amilosa producen 0,0028 g. de pirofosfato magnésico, equivalente a 0,348 g. por 100 de  $P_2O_5$  y a 0,07596 g. por 100 de P.

0,6436 g. amilopéc. producen 0,00674 g. de pirofosfato magnésico, equivalente a 0,688 g. por 100 de  $P_2O_5$  y a 0,1501 g. por 100 de P.

La suma de P por 100 es 0,2186.

*Acetilación.*—Para obtener el ester triacético de la fécula se ha seguido la técnica de Barnet, con cloruro de sulfurilo y anhídrido acético (31). Hay que reconocer que ésta es una de las féculas difíciles de acetilar y que los resultados exactos de la saponificación del ester también son ásperos de conseguir.

El rendimiento en ester acético no es el normal y la saponificación dió número de acetilo oscilantes entre 30,09 y 31,63 por 100 empleando potasa alcohólica N/2. Con sosa acuosa alcanzó la cifra de 44,7 por 100, que excede un poco de los valores correspondientes al ester triacético.

*Fósforo en el derivado acetilado.*—La acetilación separa de la fécula de almortas próximamente la décima parte del fósforo.

0,2506 g. de acetilalmidón producen 0,00193 g. de pirofosfato magnésico correspondiente a 0,491 g. de  $P_2O_5$  por 100 y a 0,1071 de P por 100. Calculando 40 por 100 de acetilo como media y restando su valor de 0,2506, quedan 0,518. La diferencia a 1,08 es 0,162 por 100.

*Desacetilación.*—El producto obtenido precipitando por alcohol la fécula resultante de saponificar el ester, hervido con agua, origina después de frío color rojo con el yodo, que lentamente va hacia el morado.

*Acetilación de la amilosa.*—Con la técnica habitual se obtuvo escaso rendimiento, por la finura del polvo obtenido, que atravesaba los filtros.

Su  $[\alpha]_D^{130}$ , 8. 0,3352 g. de sustancia en 25 cc. de cloroformo desvían  $3^\circ,51$ .

La saponificación dió números de acetilo de valor 44,4 por 100 utilizando sosa N/2 acuosa. Con potasa alcohólica los números fueron más bajos, alrededor de 30.

#### *Fósforo en la acetilamilosa.*

0,4528 g. producen 0,00173 g. de pirofosfato magnésico que conduce a 0,243 g. de  $P_2O_5$  por 100 y a 0,0530 por 100 de P. Pierde 30 por 100.

---

(31) *J. Chem. Soc.* 1928. 2.685. R. OLALLA. Tesis doc. Madrid, 1944.

*Acetilación de la amilopectina.*—El producto originado en la acción del sistema cloruro de sulfurilo anhídrido acético, posee un poder rotatorio de

$$[\alpha]_D = 147^{\circ} 9 \text{ (en 25 c. c. de cloroformo desvía } 3^{\circ} 36).$$

El contenido en acetilo es muy variable; el número más alto que se ha hallado es 43,6, pero hay cifras de 27,6 por 100.

La amilopectina regenerada de su ester acético causa color morado con el yodo.

*Fósforo en la acetilamilopectina.*—Durante el proceso de la acetilación no se pierde, o si acaso hay pérdida de fósforo es muy escasa.

0,2286 gr. de sustancia producen 0,002 g. de pirofosfato magnésico, equivalente a 0,557 g. de  $P_2O_5$  por 100 y a 0,122 g. de P por 100.

*Hidrólisis enzimica de la fécula.*—Se ha practicado haciendo actuar sucesivamente amilasas  $\alpha$  y  $\beta$ , contenidas en el macerado de cebada germinada y  $\alpha$ -glucosidasa existente en otro macerado de levadura de cerveza lavada.

8 g. de fécula convertida en engrudo con 120 cc. de agua y 70 cc. de macerado de cebada germinada, cinco días a temperatura ambiente y a pH = 5,6 dejan un residuo de dextrina I que pesa 3,2196 g., y representa la sacarificación por el fermento de 59,75 por 100 de fécula. La dextrina obtenida no produce con el yodo color típico ni azul ni rojo.

Los 3,2196 gr. de dextrina I diluidos en 20 cc. de agua, 3 cc. de fosfato bipotásico y 6 cc. de fosfato monosódico con 2 cc. de macerado de levadura de cerveza a 37°, pierden muy escasa cantidad por sacarificación. El residuo no sacarificado, constituido por dextrina II, pesa 3,0998 g., luego se ha convertido en azúcar soluble sólo 1,49 por 100.

Los 3,0998 g. de dextrina II, desprovistos de la ramificación primera, se diluyen en el macerado de cebada germinada, dejando una dextrina III cuyo peso es 2,3532 g. Se ha disuelto por sacarificación 9,33 por 100 es la cadena recta corta.

A esta dextrina III se la mezcla con el macerado de levadura, que apenas se modifica en peso, prueba de que la acción de la  $\alpha$  glucosidasa no ha sido intensa. Los 2,3532 g. empleados pesan 2,331 g. después de la sacarificación: que son dextrina IV. Se ha sacarificado una cadena cuyo peso es 0,0221 g., y representa 0,276 por 100 (gráfico I).

Se han repetido muchas veces los ensayos: los valores correspondientes a las amilasas cambian poco por aumento de la cantidad de fermento; en cambio se eleva bastante *aumentando la de  $\alpha$ -glucosidasa*; las cantidades de los primeros ensayos eran insuficientes en cuanto a este fermento. He aquí un ejemplo de lo que ocurre duplicando la dosis de  $\alpha$  glucosidasa; las cadenas pesan más: la primera cuatro veces más y la segunda nueve.

Se ha alcanzado la dextrina VI (gráfico II).

*Fecula almortas.*

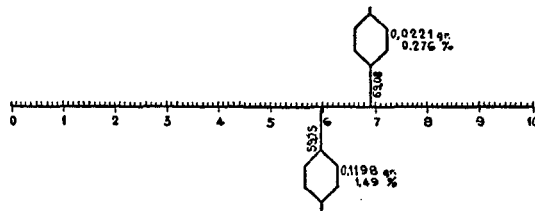


GRAFICO I

*Fecula almortas.*

FECULA  
(AMILASAS)

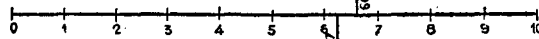


GRAFICO II

AMILOPECTINA  
(AMILASAS)

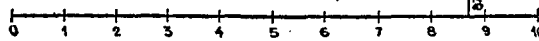


GRAFICO III

AMILOPECTINA LEULIER

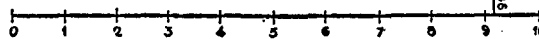


GRAFICO IV

FECULA  
(PANCREATINA)

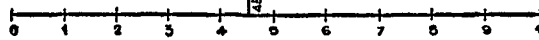


GRAFICO V

AMILOPECTINA  
(PANCREATINA)

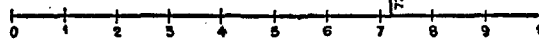


GRAFICO VI



*Hidrólisis enzimica de la amilopectina.*—Conduciendo la transformación en los términos expresados para la fécula se consigue una sacarificación más avanzada, en la que se alcanza la cifra de 87,5 por 100, en tanto que la fécula produce sólo 59,76; desproporción que se nota también en otros casos, y que quizá pueda atribuirse a que en la fécula exista algún principio que por su cantidad exigua haya pasado inadvertido, que actúa como inhibidor del fermento antes de alcanzar la cifra de 87,4 que produce la amilopectina (gráfico III).

El fenómeno se agranda con la fécula preparada conforme aconseja Leulier (32), en la que por intervención de reactivos el supuesto tóxico se ha disuelto o ha desaparecido, y entonces el fermento logra una sacarificación más amplia.

*Hidrólisis de la amilopectina preparada con la técnica de Leulier.*—Se ha realizado también la hidrólisis de amilopectina aislada de almidón preparado según la técnica de Leulier, y es notable el cambio que se observa, porque la primera hidrólisis con amilasas alcanza la cifra de 91,76 y las inserciones y pesos de las cadenas también sufren variación considerable (gráfico IV).

*Hidrólisis de la fécula con pancreatina.*—Con el objeto de no separar residuos fosfóricos de la fécula, se empleó por algunos investigadores la pancreatina, en la inteligencia de que este conjunto de fermentos carece de fosfatasa, y por tanto, no debe hidrolizar los esteres fosfóricos, que pueden localizarse en las últimas ramificaciones de la molécula o sea en las dextrinas residuales o límites.

Se inicia la operación con 8 g. de fécula en 120 cc. de agua a  $\text{pH} = 9,2$  con regulador de sosa y acetato sódico.

Se obtiene una dextrina I que causa color azul al yodo, y cuyo peso es 4,36 g., de manera que la parte sacarificada equivale a 45,5 por 100.

Se obtuvo hasta la IV dextrina residual (gráfico V).

Procediendo de igual modo con amilopectina, se reitera el hecho enunciado. La actividad fragmentadora es más fuerte que en la fécula, como si en ésta hubiera alguna sustancia tóxica para el fermento que inhiba su acción antes de alcanzar la cifra de 72 por 100 que se logra con pancreatina y amilopectina.

Se obtuvo la dextrina IV (gráfico VI).

Las magnitudes de cadenas laterales y las distancias de las inserciones cambian bastante hasta 100 por 100 respecto de las obtenidas con fécula. La explicación puede ser ésta: la almorta es responsable de la enfermedad conocida con el nombre de latirismo, que O. Fernández, G. Mirasierra y López

---

(32) Bull. Soc. Chim. Biologique. 1940. 22. 339.

Bustos atribuyen a la existencia de selenio (33). Como la fécula se obtiene solamente por lavados con agua fría, posiblemente aquél queda retenido o absorbido por los granos. El aislamiento de la amilopectina implica calefacción durante algún tiempo y lavados mucho más largos, y por esa causa carece de selenio.

#### FECULA DE BONIATOS

Procede esta fécula del tubérculo de la planta *Batatas edulis*, importada de California y adaptada al suelo andaluz (Motril): variedad rosada y rica en carotenos y xantofila.

Se ha obtenida por el método al chorro de agua, y después de lavada con alcohol, fué desecada al vacío.

*Fósforo*.—Contiene fósforo, determinado como en el caso anterior.

0,6505 g. de fécula producen 0,00733 g. de pirofosfato magnésico, correspondiente a 0,718 g. de  $P_2O_5$  y a 0,1515 de P por 100.

*Silicio*.—La cantidad de silicio es de alguna consideración, mas no la concedemos gran valor por tratarse de un órgano subterráneo, hasta tanto que en varias féculas de órganos aéreos se hallen números convincentes.

4,2 gr. de fécula producen 0,0016 gr. de  $SiO_2$ , que corresponden a 0,38 g. de  $SiO_2$  por 100.

*Inositolofosfórico*.—No tiene.

*Pentosas*.—1 g. de fécula da 0,0466 g. de 2,4 dinitrofenilhidrazona del furfural, correspondiente a 2,75 por 100 de pentosas.

*Fraccionamiento con agua a temperatura de 80°.*

Permite separar: Amilosa, 12,8 por 100; amilopectina, 75 por 100.

La disolución de cloral al 33 por 100, que ha permanecido en contacto con la fécula a la temperatura de 20° durante catorce días, separó amilosa inactiva a la luz polarizada.

Los dos componentes aislados originan color azul con el yodo. La amilosa ofrece un aspecto particular al examen microscópico: sobre una masa córnea aparecen cristales superpuestos incompletamente formados.

*Reparto del fósforo*.—En esta fécula las dos sustancias integrantes de ella contienen fósforo: más del doble en la amilopectina que en la amilosa.

0,4702 g. de amilosa produce 0,00153 g. de pirofosfato magnésico, equivalente a 0,207 g. de  $P_2O_5$  y a 0,043 g. de P por 100.

0,558 g. de amilopectina produce 0,0042 g. de pirofosfato magnésico, equivalente a 0,481 g. de  $P_2O_5$  y a 0,101 g. de P por 100.

La suma de P por 100 es 0,144 g. y el hallado en la fécula es 0,1515 g.

*Acetilación de la fécula.*—Realizada como con la fécula de almortas, origina un derivado acetilado que por saponificación con potasa N/2 revela 40,76 de acetilo y al Perkins (saponificación con ácido sulfúrico y alcohol etílico), 41,82 por 100. Cifras que se hallan dentro de las correspondientes a un ester triacético.

El ester desacetilado conduce a un producto que da con el yodo color pardo rojizo y menisco violeta. No reduce el reactivo de Fehling.

*Acetilación de la amilosa.*—El ester acético resultante posee un  $[\alpha]_D = 164^\circ 88$ , bastante más elevado que el de otras acetilamilosas.

Contenido en acetilo: 40,78 por 100, casi igual al del acetilalmidón de igual origen.

Por desacetilación se obtiene una amilosa que frente al yodo es indiferente, pero comienza a reducir el Fehling, prueba de una transformación de cierta intensidad.

*Acetilación de la amilopectina.*—Se realiza sin dificultades. El derivado acetilado obtenido  $[\alpha]_D = 145^\circ 78$ , y su riqueza en acetilo es 44,8 por 100, número algo excesivo que va a la par con la baja en el poder rotatorio, prueba de impurezas que no se logró eliminar en el lavado.

La amilopectina regenerada por saponificación y sometida al yodo engendra color rojo.

#### *Fósforo en la acetilamilosa.*

0,441 g. de sustancia produce 0,0006 g. de pirofosfato magnésico, equivalente a 0,087 g. por 100 de  $P_2O_5$  y a 0,0183 g. de P por 100.

#### *Fósforo en la acetilamilopectina.*

0,461 g. produce 0,002 g. de pirofosfato magnésico, equivalente a 0,227 gramos de  $P_2O_5$  y a 0,00479 g. de P por 100.

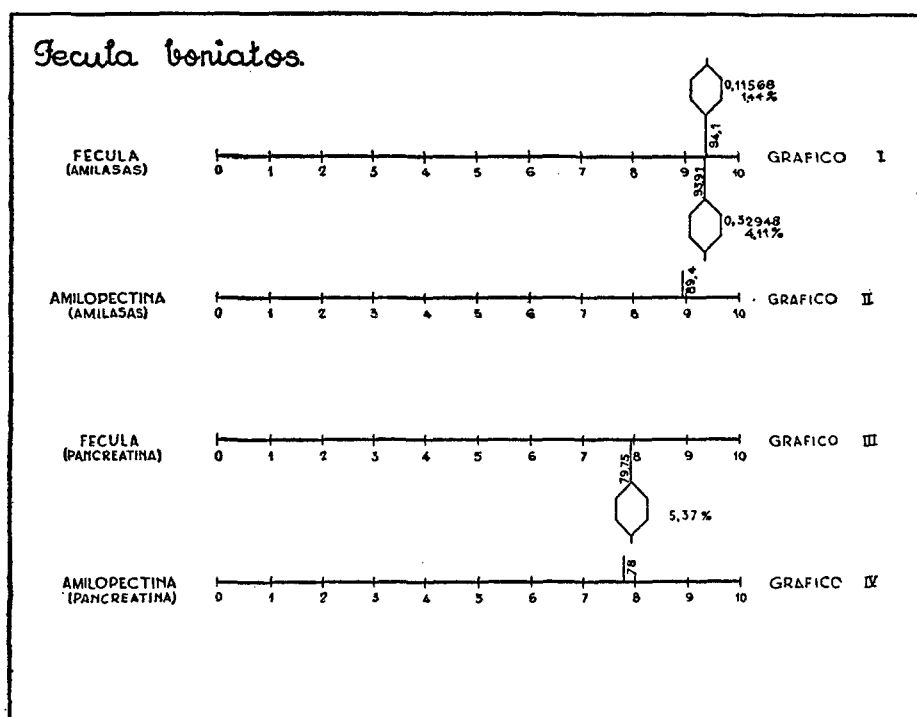
*Hidrólisis enzimica de la fécula.*—Procediendo como en los casos anteriores, se han mezclado 8 g. de fécula con 120 cc. de agua para hacer engrudo, y después de frío se agregan 70 cc. de macerado de cebada germinada que contiene  $\alpha$  y  $\beta$  amilasa.

El residuo resultante de la sacarificación pesó 0,4872 g., o sea que se ha sacarificado 93,91 por 100 de fécula y que la dextrina I representa 6,09 por 100. De no actuar la  $\alpha$  amilasa, la cadena recta es de las más largas que hemos encontrado en nuestros experimentos.

De los 4872 diezmiligramos de dextrina I mezclados con 5 cc. de  $\alpha$  glucosidasa de levadura y la cantidad necesaria de regulador, a 37°, quedan sin

sacarificar 1578. Esta cifra es la representativa de la dextrina II, cifra relativamente alta, lo que prueba que la arborescencia, que pesa 0,3294 g., y que equivale a 4,11 por 100 de la fécula, es bastante larga.

Los 1578 diezmiligramos de dextrina II con macerado de amilasa son levemente alterados, por cuanto disminuyen muy poco de peso, por hallarse muy próxima la ramificación inmediata. La dextrina III pesa 1388 diezmiligramos; la cadena recta es, pues, de escasa longitud, porque su peso es de 190 diezmiligramos, que inducen a 0,23 por 100 la totalidad de esa dextrina,



1388 diezmiligramos, con nuevo volumen de macerado de levadura, pierde de peso, hasta reducirse a 232 diezmiligramos de dextrina IV. La pérdida de peso por sacarificación de la dextrina III es de una cadena lateral equivalente a 1156 diezmiligramos, o sea un 1,44 por 100 (gráfico I).

*Hidrólisis enzimica de la amilopectina.*—Verificada en las condiciones expuestas, el macerado de malta produce una sacarificación equivalente a 89,4 por 100, cifra alta en relación con la fécula; pero debe notarse que este fenómeno más exagerado todavía se reitera en otras amilopectinas (gráfico II).

La primera dextrina con el yodo origina color rojo, con tendencia al morado.

*Hidrólisis de la fécula con pancreatina.*—Como ocurre en los demás casos aquí estudiados, la pancreatina lleva la sacarificación primera de la fécula a la cifra 79,75 por 100. La dextrina I produce color azul verdoso con el yodo. La primera cadena lateral, revelada por la  $\alpha$ -glucosidasa da peso muy semejante al obtenido en el ensayo I 5,37 por 100 (gráfico III).

*Hidrólisis de la amilopeptina con pancreatina.*—Se ha realizado en iguales términos que para la fécula y los valores apenas han cambiado. Se ha conseguido la primera dextrina en cantidad de 78 por 100, que es próximamente la misma que para la fécula (gráfico IV).

Se ha obtenido la IV dextrina.

#### FECULA DE COLOCASIA (ñame de Canarias, atu, matu)

Por la Dirección General de Marruecos y Colonias, en el verano de 1945, nos fueron remitidos de la Guinea Española tubérculos de la planta *Colocasia antiquorum*, Schott; unos destinados a la alimentación humana, y otros a la reproducción; los primeros son redondos y los segundos alargados. Estimamos un deber testimoniar nuestra gratitud al señor Director general y al señor Ingeniero Jefe del Servicio Agronómico.

De las dos clases de tubérculos ha sido extraída la fécula por el método clásico.

##### a) REDONDA

*Fósforo.*—No es fécula rica en fósforo, pero lo contiene en buena proporción, aunque menor que otra especie de la misma familia de las Aráceas estudiada por O. Fernández y E. Martínez, el *Arum Maculatum* (34).

2,378 g. producen 0,0106 g. de pirofosfato magnésico, correspondiente a 0,284 g. de  $P_2O_5$  y a 0,124 g. de P por 100.

La fécula de colocasia redonda extraída con éter libera un lipoide en proporción de 0,28 por 100 de color amarillo verdoso y de olor fuertemente aromático. La cantidad de nitrógeno de este lipoide es 3,3, doble de la lecitina. No se pudo determinar fósforo. Seguramente habrá que deducir de la cifra total de fósforo hallado la que existe en el lípido.

*Silicio.*—6,592 g. de fécula dejan 0,0102 g. de  $SiO_2$ , que corresponden a 0,1562 por 100 de  $SiO_2$ . Este valor, en cotejo con otros de féculas, no puede considerarse alto: en Guinea gran número de vegetales, incluso árboles maderables, son muy silíceos, aparte de que la fécula fué extraída de órganos subterráneos, y existe el temor de que contenga tierra interpuesta, a pesar de los lavados continuos y abundantes.

---

(34) *Loc. cit.*

*Pentosanas.*—1,1988 g. de fécula da 0,0543 g. de 2:4 binitrofenilhidrazona del furfuro, equivalente a 0,9555 g. por 100 de aldehído y a 1,4915 g. de pentosanas por 100.

*Fraccionamiento con agua a 80°.*

Se obtiene: Amilosa, 14,2 por 100; amilopectina, 79,44 por 100.

El aislamiento de la amilosa con disolución de hidrato de cloral al 33 por 100, conduce a 17,5 por 100.

El factor soluble es ópticamente inactivo, y no se consigue dotarle de poder rotatorio por el nitrato de uranio. Es absoluta y totalmente soluble en agua caliente y esta disolución se colorea en azul con el yodo. El precipitado obtenido por acetona del líquido clorálico tiene apariencia cristalina y dentro de las masas se ven cristales aciculares brillantes, *que deben ser de cloralido*, como se indicó en la parte teórica. Es de un blanco deslumbrador y *no contiene fósforo*.

La amilopectina también es muy blanca y como la amilosa produce color azul con el yodo. No se ha practicado ninguna medida absorciométrica para saber el valor de las unidades fijas de amilopectina yodada.

*Reparto del fósforo.*—Este elemento se halla sólo en la fracción de amilopectina.

0,5036 g. producen 0,0038 g. de pirofosfato magnésico que conduce a 0,354 g. por 100 de  $P_2O_5$  y a 0,7472 de P por 100.

Hay una diferencia de 0,07 g. por 100 en  $P_2O_5$  con el de la fécula.

*Acetilación de la fécula.*—Se practica con la técnica usual para las demás féculas. Es fácilmente acetilable y con rendimiento excelente; aunque el ester, o retiene anhídrido acético que dificulta la evaluación de los acetilos, o se forma un producto más acetilado. En ésta se alcanzan cifras de 50 por 100, que exceden en 7-8 unidades a la teórica.

El acetilalmidón regenera una fécula que da al yodo color violeta, no azul como antes de acetilar.  $[\alpha]_D = +90^{\circ},5$ .

*Acetilamilosa.*—Se logra con facilidad, procediendo con la técnica expuesta de Barnet.

Contenido en acetilo 43,8 %.  $[\alpha]_D = 81^{\circ},9$ .

El producto desacetilado adquiere color violeta con el yodo y reduce el Fehling, pero no el Barfoed, testimonio de la escisión molecular, que lleva el fraccionamiento a piezas más sencillas poseedoras de un grupo terminal reductor.

*Acetilamilopectina.*—Retiene cantidad considerable de anhídrido acético, que no se separa ni por ebullición con etanol. El número más bajo de los hallados en acetilo es 50,6, que sobrepasa al teórico. Es muy soluble en cloroformo y en acetona.  $[\alpha]_D = 155^{\circ}$ .

La amilopectina regenerada por saponificación alcalina reduce débilmente el Fehling y no causa color con el yodo.

*Hidrólisis enzimica de la fécula.*—Efectuada con la técnica de las anteriores féculas, resulta que la mezcla de amilasas de macerado de cebada germinada sacarifica sólo el 60 por 100 de la fécula. La  $\alpha$  glucosidasa provoca sobre la dextrina I una metamorfosis intensa, por cuanto la cadena lateral (dextrina II) representa el 17,25 por 100. Es el primer caso de una cadena lateral de magnitud molecular tan elevada, y que se reitera también en la colocasia larga (semilla) (gráfico I).

Se obtiene sin dificultad la IV dextrina, que es ya límite.

*Hidrólisis enzimica de la amilopectina.*—Procediendo al modo usual se obtiene un grado de sacarificación alto, mucho mayor que con fécula, 88,5 por 100. Se exalta en la colocasia el fenómeno percibido con la almorta. En esa fécula se examinó la posibilidad de que el selenio que en mínima proporción contiene actúe como un inhibidor de las amilasas. En la colocasia no hay tóxico de origen inorgánico, pero sí hay una grasa, que hemos aislado en cantidad muy estimable, y de olor aromático intenso y con más alto contenido en fósforo que una lecitina. Quizá en la grasa radique el principio inhibidor (gráfico II).

El empleo sucesivo de  $\alpha$  glucosidasa y de nueva amilasa revela otra inserción de las cadenas laterales.

## 6) ALARGADA.

*Fósforo.*—La riqueza en fósforo de estos tubérculos, que los indígenas de la Guinea española dedican a la siembra y que son piriformes, es mayor que en la otra especie de la misma familia de las Aráceas, el *Arum Maculatum*, como en aquel caso el contenido en fosfórico se acrecienta con el cultivo: se halla repartido entre amilosa y amilopectina.

0,2948 g. causa 0,0048 g. de pirofosfato magnésico, que conduce a 1,030 gramos por 100 de  $P_2O_5$  y a 0,2174 de P por 100.

*Silicio.*—1,0186 g. de fécula producen 0,0034 g. de  $SiO_2$ , que corresponde a 0,033 por 100 de  $SiO_2$ : la cifra es cinco veces más pequeña que en la colocasia cultivada.

*Pentosanas.*—0,998 g. de fécula producen 0,0552 g. de 2,4 dinitrofenilhidrazona del furfural, que corresponden a 1,922 g. por 100 de furfural y a 2,99 gramos por 100 de pentosanas.

*Fraccionamiento con agua.*—Se aíslan: amilosa, 16,6 por 100; amilopectina, 75 por 100, cifras que no discrepan mucho de las obtenidas con planta cultivada.

Con el hidrato de cloral se separa 12,77 por 100 de amilosa, disolución que es ópticamente inactiva. Es totalmente soluble en agua y coloreable en azul con el yodo. La amilopectina es insoluble en agua, pero se colorea el líquido sobrenadante de la agitación en azul con el yodo.

*Reparto del fósforo.*—Así como en la variedad redonda sólo se encuentra

éster fosfórico, en la amilopectina, en la alargada, se reparte, pero con predominio en la amilosa, hecho no corriente, porque cuando hay distribución, la mayor parte se halla en la amilopectina.

0,4262 g. amilosa producen 0,0042 g. de pirofosfato magnésico, equivalente a 0,62 por 100 de  $P_2O_5$  y a 0,131 de P por 100.

0,5078 g. amilopec. producen 0,0034 g. de pirofosfato magnésico, correspondiente a 0,426 g. por 100 de  $P_2O_5$  y a 0,0899 de P. por 100.

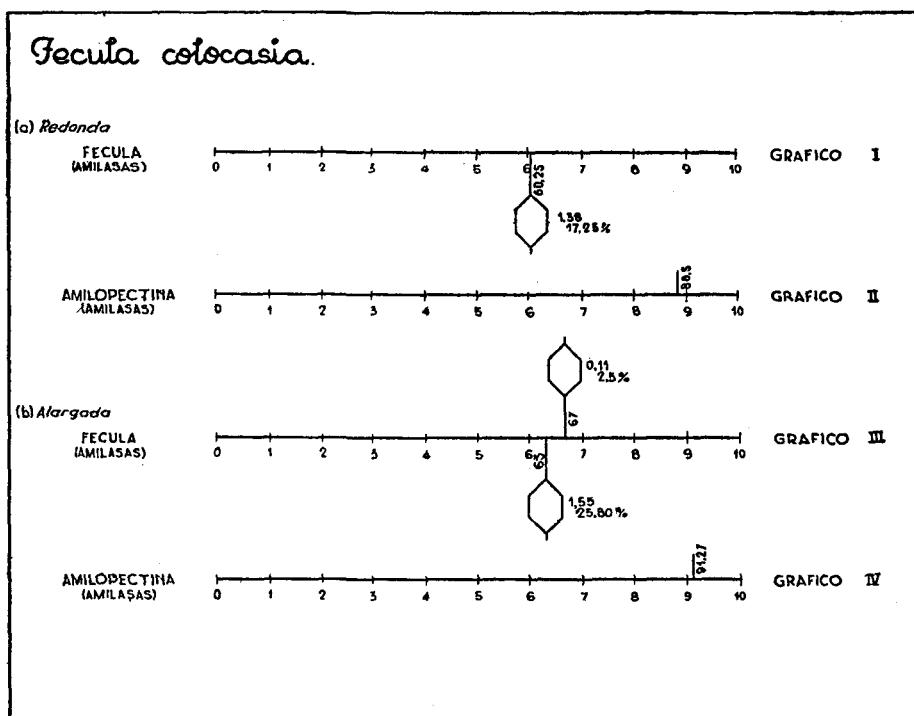
*Acetilación de la amilosa.*—La amilosa se acetila bien, pero el rendimiento es muy débil, porque el producto es un polvo muy tenue que atraviesa el filtro. 2 g. sólo han originado 1,3 g.

Es soluble en cloroformo y su disolución al 0,7 por 100 ocasiona un poder rotatorio específico de 196°, cifra desusada.

La cantidad de acetilo contenida en el ester acético es de 36,7 por 100.

*Acetilación de la amilopectina.*—Con rendimiento teórico se obtuvo una acetilamilopectina muy soluble en el cloroformo, con  $[\alpha]_D = 163^\circ$ , y con un contenido en acetilo superior al teórico: 53,4 por 100.

Interpuesta en agua no produce color al yodo.



*Hidrólisis enzimática de la fécula.*—Practicada en los términos conocidos, se observa paralelismo, bien explicable con la fragmentación de fécula procedente de la colocasia cultivada (redonda). La cifra de maltosa resultante es



de 63 por 100 (60 en la redonda), y la cadena lateral primera separada por la  $\alpha$ -glucosidasa de levadura es 25,8 por 100. La cadena recta corta representa el 4 por 100, y la segunda ramificación, 2,5 por 100 (gráfico III).

*Hidrólisis enzimica de la amilopectina.*—Percíbese en esta metamorfosis el paralelismo en la conducta de las dos variedades de colocasia. La sacarificación con el macerado de cebada germinada logra términos más altos; el número obtenido es 91,27 por 100, los términos intermedios discrepan, pero la segunda ramificación es casi igual: 2,8 por 100 (gráfico IV).

*Hidrólisis de la amilopectina con pancreatina.*—La sacarificación primera es inferior a la causada por las amilasas. La cadena recta larga es de 71,2 por 100, y las demás son muy semejantes a las producidas por las amilasas, incluyendo la primera ramificación.

Se ha alcanzado la IV dextrina.

#### C A S T A Ñ A   D U L C E

La fécula de semilla de *Castanea vesca* se ha aislado como las precedentes. Forma fácilmente engrudo.

*Fósforo.*—Contiene fósforo en corta cantidad y se halla exclusivamente en la fracción de *amilopectina*.

3,792 g. de fécula producen 0,0062 g. de pirofosfato magnésico, que equivale a 0,142 g. de  $P_2O_5$  y a 0,03 de P por 100.

La fécula extraída por la mezcla de alcohol benceno deja al disolvente un lípido en proporción de 2,927 por 100.

El extracto seco de 10 g. 0,2927 g. produce 0,0058 g. de pirofosfato magnésico, equivalente a 0,266 g. de P y a 1,262 g. de  $P_2O_5$  por 100.

Los 10 g. de extracto contienen 0,1262 de anhídrido fosfórico y los 100 gramos de fécula 0,142, de suerte que la mayor parte del fósforo se encuentra en forma de lípido.

*Silicio.*—No contiene.

*Pentosanas.*—1, 1784 g. producen 0,025 g. de 2 : 4 binitrofenilhidrazona de furfurool, que conducen a 0,738 por 100 de aldehído y a 1,152 g. de pentosanas por 100.

*Fraccionamiento de agua a 80°.*—Conduce a separar: amilosa, 16,3 g. por 100; amilopectina, 81,5 g. por 100.

*Reparto del fósforo.*—Se encuentra únicamente fósforo en la amilopectina, como antes se indicó.

1,643 g. producen 0,0038 g. de pirofosfato magnésico, equivalente a 0,154 gramos de  $P_2O_5$  y a 0,033 de P por 100. Mas, como antes se escribió, la fécula contiene un lípido fosforado: si se resta su contenido en anhídrido fosfórico

del número hallado para la amilopectina, queda para ésta un valor en fosfórico de 0,028 por 100.

*Acetilación de la fécula.*—Se practicó en los términos conocidos, con buen rendimiento. La mezcla de ésteres acéticos de amilosa y amilopectina es soluble en cloroformo, en cuyo disolvente revela un  $[\alpha]_D = 145^{\circ}07$ . Con el agua yodada no se observa aparición de color.

Acetilo por 100 = 44,10.

*Fósforo de acetilalmidón.*—1,542 g. fécula originan 0,0024 g. de pirofosfato magnésico, equivalente a 0,103 g. de  $P_2O_5$  por 100 y a 0,022 de P por 100.

*Acetilamilosa.*—Se obtuvo con buen rendimiento, porque no está constituida por polvo fino, como las de otra procedencia.

Su  $[\alpha]_D = 159^{\circ}02$ .

El peso del acetilo en el ester es 32,94 por 100.

*Acetilamilopectina.*—Se logra con rendimiento excesivo. 5 g. producen 9 gramos. No se colorea con yodo.

Soluble en cloroformo  $[\alpha]_D = 160^{\circ}5$ , casi igual al de la acetilamilosa.

La cifra de acetilo es más elevada de la que corresponde: 58,1. Como el rendimiento en éster acético también es muy alto, debe suponerse que la acetilación sobrepasa el éster triacético, y por consecuencia, la cifra de acetilo marcha paralelamente a la intensidad de la acetilación. No es inverosímil que alguna cadena, quizá de maltotriosa, se haya separado, acetilándose a la par, y de ahí resulta una mezcla de derivado acetilado extraño de gran contenido en acetilo, respecto al del almidón.

*Fósforo en la acetilamilopectina.*—3,0768 g. producen 0,0032 g. de pirofosfato magnésico, equivalente a 0,066 g. de  $P_2O_5$  por 100 y a 0,0144 de P por 100.

*Hidrólisis enzimica de la fécula.*—Se ha verificado con la pauta indicada para las demás féculas.

8 g. dejan un residuo de 0,43 de dextrina I, que adquiere color pardo al yodo, equivalente a 94,63 por 100 de sustancia sacarificada.

Se alcanzó la IV dextrina (gráfico I).

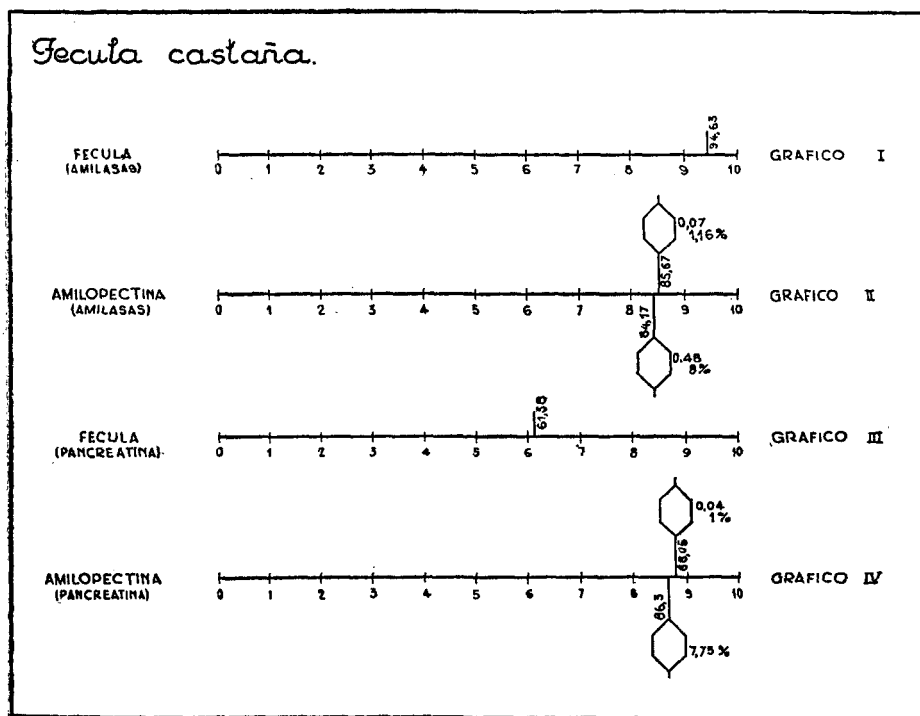
*Hidrólisis enzimica de la amilopectina.*—6 g. de sustancia en las condiciones expuestas, sometidos a la hidrólisis con la mezcla de amilasas, deja un residuo cuyo peso es 0,95 g. La parte sacarificada equivale a 84,17 por 100 de maltosa.

Los 0,95 g. de dextrina I, por la acción de la  $\alpha$  glucosidasa, perdieron casi la mitad de su peso. Representa la magnitud de esta primera cadena 8 por 100. Esta II dextrina, que todavía da color con yodo, sometida de nuevo a la acción de las amilasas se convierte de 0,47 g. en 0,38 g. de dextrina III, ya incolora para el yodo; se ha sacarificado el 1,5 por 100, que es el peso de la cadena recta corta.

Los 0,38 g. de dextrina III, expuestos de nuevo a la acción del macerado

de levadura, pierden de su peso 0,07 g., obteniéndose 0,31 g. de dextrina IV. El 1,16 por 100 que representa esta sacarificación es la segunda arborescencia (gráfico II).

*Hidrólisis de la fécula con pancreatina.*—8 g. de fécula con regulador iónico de ácido acético y acetato sódico y un gramo de pancreatina a 37° durante veinticinco horas dejan 3,09 g. de dextrina I, que da color azul con el yodo y representa para lo sacarificado el 61,38 por 100, prueba de que no marcha la



hidrólisis como con amilasas, a tenor de lo que ocurre en otros ejemplos de sacarificación.

*Hidrólisis de la amilopectina con pancreatina.*—Se ha realizado en iguales condiciones que la fécula. 4 g. de amilopectina dejan 0,55 g. de dextrina I, alcanzando, por lo tanto, la primera sacarificación el 86,3 por 100. La acción de la  $\alpha$ -glucosidasa sobre estos 0,55 g. produce 0,24 g. de dextrina II; ambas dextrinas se colorean con yodo. La magnitud de la primera cadena lateral es de 7,75 por 100.

Estos 0,24 g. de dextrina II sacarifican 0,07 g. por nueva acción de la pancreatina. La cadena recta corta representa 1,75 por 100.

Se obtienen 0,13 g. de dextrina IV por acción de  $\alpha$ -glucosidasa, siendo la

sacarificación del 1 por 100, que corresponde a la segunda cadena ramificada (gráfico IV). Es la ocasión presente la primera en que se ha percibido mayor semejanza en la conducta de las amilasas de la cebada germinada y de la pancreatina. La cadena larga recta, las ramificadas y las cadenas rectas intermedias son próximamente iguales en los dos casos.

#### EL FOSFORO EN LAS DEXTRINAS LIMITES

Muy discutida ha sido la presencia del ácido fosfórico en la amilosa y su reparto entre los dos factores integrantes del almidón. Ya se ha visto, cómo en unas féculas se halla exclusivamente localizado en un factor y cómo en otras se distribuye a veces (en la colocasia, alargada) con predominio en la amilosa. Por consecuencia, la hipótesis del ácido fosfórico como constituyente estéreo de los almidones queda confirmada en varios de ellos.

En las primeras discusiones se destacó la intervención de T. Posternak (35), al sostener la diferencia de estructura química del compuesto fosforado de los almidones procedentes de órganos aéreos y de partes subterráneas de los vegetales: en los primeros existe como lecitinas y ácidos glicerofosfóricos, y en los segundos como integrante de un éster poliosa unifosfórico, forma la última que no pudimos confirmar en las féculas analizadas en nuestro laboratorio (36).

En los estudios de Tychowski y Masiór (37) se pueden leer las primeras observaciones acerca del reparto del ácido fosfórico utilizando hidrólisis sucesivas con amilasas, y con clorhídrico. En las dextrinas precipitadas por el alcohol hallaban siempre mayor cantidad de fósforo que la inicial de la fécula, de cuyos hechos dedujeron que la saponificación del ácido amilofosfórico transcurre con más lentitud que la del almidón y que el ácido fosfórico no ejerce influencia alguna en la metamorfosis de la fécula con amilasas.

En la hidrólisis enzimática de almidones realizada alternativamente con la mezcla de  $\alpha$  y  $\beta$  amilasas y de  $\alpha$ -glucosidasa se alcanza una dextrina residual, corrientemente la IV, en la que el contenido en ácido fosfórico es bastante alto. En la misma transformación efectuada por medio de la pancreatina, complejo fermento en el que se admite la ausencia de fosfatasas hidrolizantes de los ésteres fosfóricos, también las dextrinas contienen cantidad considerable del ácido mencionado; en algunos de los ejemplares (boniato) que hemos sometido a esas transformaciones se ha encontrado casi todo el ácido fosfórico en las dextrinas límites, pero en otras no, lo cual supone que a

---

(35) *Helvet. Ch. Acta.* 1935. 18. 1.351.

(36) O. FERNÁNDEZ y R. OLALLA: *Rev. Ac. Ciencias.* Madrid. 1944. 38.379.

(37) *Bloch. Zeit.* 1937. 292. 141.

medida que se han separado cadenas laterales o fragmentos de la cadena recta se han llevado parte del ácido fosfórico.

Aunque el fenómeno no es completamente paralelo ante la pérdida de fosfórico durante la acetilación, debe señalarse.

Para los investigadores de la escuela sueca, la inserción del ácido fosfórico en una cadena constituiría una anomalía semejante a la de una cadena lateral de residuos maltósicos, y por lo tanto, sería un inhibidor de la amilasa  $\beta$ . Es lógico entonces que las dextrinas límites de gran peso molecular obtenidas con  $\beta$ -amilasa contengan, si no toda, la mayor cantidad de ácido fosfórico existente en el almidón, y que a él deba su estabilidad ante los fermentos que sueltan los enlaces 1 : 4.

En la fécula de patata, utilizando la pancreatina, se forma 26 por 100 de dextrina límite, que retiene todo el ácido fosfórico. Sustituyendo la pancreatina por amilasa de malta, la cifra de dextrina baja a 14 por 100, pero se lleva todo el fósforo. Con la fécula de arrow-root y takadiastasa queda 28 por 100 de dextrina muy fosforada. y con la de guisante ocurre algo parecido, pero no igual, porque se libera ácido fosfórico. Las diferencias que los autores hallan pueden imputarse al fermento o al sustrato.

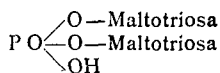
Existen, pues, razones para suponer que si todo el grupo fosfórico no se acumula en las dextrinas residuales gran parte se queda combinado en forma de éster. Quizá es propiedad específica de cada fécula distribuirlo en cadenas laterales algo separadas de las propiamente dextrínicas, las residuales.

En el trabajo aludido de T. Posternak se prueba el aislamiento de una combinación fosfórica integrada por una tetraosa y un residuo de ácido, dato algo parecido, pero no absolutamente concordante con el resultado de una experiencia de Myrbäck y Thorsell, según el cual no se separan cadenas de un número de unidades de glucosa inferior a cinco, número adoptado también por Hanes para expresar la forma de distribución de las moléculas de glucosa. Claro está que el número puede variar en cada amilopectina y que los dos experimentadores arriba mencionados no han trabajado con productos de igual origen.

Hopkins y Kulka se refieren a un fragmento hexo-osa existente en algunos almidones en proporción de 15 por 100.

¿Qué relación puede existir entre el éster aislado por T. Posternak y las dextrinas límites? Según los autores suecos antes citados, las dextrinas se hallan constituidas por una mezcla de tetra y hexa-sacáridos y otros sacáridos de largas cadenas, cuyo alto contenido en ácido fosfórico hace presumir su influencia en la estabilidad. ¿Serán estos poli-sacáridos los formadores del ácido poliosa unifosfórico de Posternak? Probablemente sí, aunque para todas las féculas extraídas de órganos aéreos no puede ser válida la afirmación. ¿O lo serán también los tetra y hexa-sacáridos fosforados? Considerado así el supuesto, lo importante ahora sería averiguar la clase de uniones

de las unidades maltosa-glucosa componentes de estos ésteres fosfóricos. En las dextrinas límites se admite como bien demostrado que las uniones isomaltosas 1 : 6 subsisten porque las amilasas son impotentes para soltarlas. En nuestras experiencias hemos eliminado la posibilidad de subsistir las uniones isomaltosas, porque después de la actuación de la mezcla amilásica ha intervenido el macerado de levadura de cerveza, que por su riqueza en  $\alpha$ -glucosidasa garantiza la ruptura de las cadenas isomaltósicas. De suerte que, a menos que se haya creado una inhibición no prevista, las ligaduras isomaltósicas han debido desaparecer, tanto cuanto que su número oscila al lado del 3 por 100 del total de uniones glucosídicas. ¿Qué unión puede subsistir? Como verosímil queda la producción de un ester fosfórico, un ácido con dos cadenas constituidas por dos o tres unidades maltosas, quizá dos de *maltotriosa*.



Inclúyese aquí la maltotriosa porque hasta hace poco tiempo no se había logrado separarla de los productos de hidrólisis y además porque una dextrina límite procedente de maíz, después de metilada, la han resuelto Myrbäck, Ortenblach y Ahlborg en dos moléculas de trimetil-glucosa 2, 3, 4 y una de tetrametil-glucosa (38).

De momento queda subsistente el hecho de que en unas féculas, las menos, el ácido fosfórico se disemina formando ésteres en cadenas relativamente alejadas del fin de la molécula, y en otras, la mayor parte, se agrupa en las dextrinas, localizándose en un extremo, constituyendo ramificaciones, las dextrinas límites, que darán a la molécula el aspecto de una palmera con el penacho integrado por las arborescencias.

#### ALMORTAS

*Fécula*.—De ordinario, con amilasas queda algo más de la mitad del fósforo en la dextrina IV.

Con pancreatina en la fécula queda todo en aquella dextrina: donde debía haber 0,0864 g. de  $\text{P}_2\text{O}_5$  se han hallado 0,08528 g. de anhídrido fosfórico. caso análogo al de la patata, citado por varios investigadores.

*Amilopectina*.—Con amilasas queda próximamente la mitad. La dextrina IV, que tiene 0,0123 g., debería tener 0,027 de anhídrido fosfórico.

Es de notar que en la amilopectina aislada de almidón preparado según Leulier, la IV dextrina sólo retiene la décima parte del fósforo del producto

---

(38) *Bioch. Zeit.* 1940, 307. 49, 53 y 68.

inicial. La dextrina IV resultante de la amilolisis debía contener 0,0306 g., y contiene solamente 0,00318.

Esta experiencia se halla acorde con los resultados de otras efectuadas con almidón Leulier o sus constituyentes.

En la amilopectina con *pancreatina* se reiteran las cifras obtenidas con amilasas: la mitad del fósforo queda en la dextrina IV. En la amilopectina hidrolizada había 0,055 g. y en la cantidad equivalente de dextrina residual se encuentran 0,27 g. de anhídrido fosfórico.

#### BONIATOS

*Fécula*.—Con amilasas queda en la dextrina residual de la octava a la décima parte del ácido fosfórico.

No se percibe cambio importante de cifras reemplazando las amilasas por *pancreatina*; el análisis da para la IV dextrina 0,0069 g. de anhídrido fosfórico, y debió obtenerse 0,0574 g.

Conviene advertir que en la amilosa se halla buena cantidad de fósforo.

*Amilopectina*.—Hidrolizando con amilasas sólo un tercio del ácido fosfórico queda unido a la IV dextrina residual, 0,088 g. de esta última contienen 0,0062 g. de anhídrido fosfórico, y en los 4 g. de amilopectina de los que procede la dextrina existen 0,0192 g.

Como en la amilopectina se puntualizan mejor los resultados, en este como en otros casos se trasluce el influjo de las fosfatasas coexistentes en la mezcla de amilasas.

Con *pancreatina* la cifra se eleva en la dextrina IV; algo más de la mitad del fósforo está unido a ella. Los 8 g. de amilopectina utilizados en el ensayo contienen 0,0334 g. y la cifra de residuo fosfórico de la cantidad equivalente de dextrina IV es 0,0193 g., de suerte que en la amilopectina algo más de la mitad del fósforo se halla esterificado en la dextrina IV.

Obsérvase marcado contraste en estas féculas comparadas con las analizadas por O. Fernández y R. Olalla. Aunque los resultados no han sido publicados, los cotejaremos con los obtenidos en las cuatro féculas objeto de esta memoria. En las amilopectinas de *Oxalis purpurata* y *Cyperus rotundus* la totalidad del fósforo se halla en las dextrinas residuales.

En la primera, el peso de anhídrido fosfórico de la IV dextrina es gramos 0,01212, y en la cantidad originaria de amilopectina es 0,01154. En la segunda el peso de fosfórico es también 0,01212 g., y de la amilopectina productora de esa dextrina IV es 0,01139; todavía hay 0,0007 g. de diferencia por exceso.

En la amilopectina de *Cyperus esculentus* sólo  $\frac{2}{3}$  de ácido fosfórico se hallan en la IV dextrina. Donde debería pesarse 0,0804 g. sólo se han pesado 0,0513 de  $P_2O_5$ .

## CONCLUSIONES

1.º En tres de las féculas analizadas: almortas, boniato y colocasia (siembra), el fósforo se reparte entre la amilosa y la amilopectina.

En la de colocasia redonda y en la de castaña dulce el fósforo se sitúa, como es frecuente, en la amilopectina.

2.º El ácido fosfórico en la amilopectina esterifica los extremos de la cadena, que constituyen las dextrinas límites o se aproximan a ellas: la mitad del fósforo por lo menos se encuentra en esas dextrinas. En alguna fécula, como la de castaña, se halla repartido en las cadenas laterales alejadas de las ramificaciones integrantes de las dextrinas límites.

3.º Acerca del silicio no se puede deducir conclusión definitiva, por no estimarse suficiente el número de féculas analizadas, pero se observa que no interviene en la formación de engrudo y que las féculas más ricas en sílice son las de los órganos subterráneos (boniato).

Agradecemos a la R. Academia de Ciencias la concesión a uno de nosotros (R. L.) de una beca de la Fundación Conde de Cartagena.

Universidad de Madrid.—Facultad de Farmacia.