

UNIVERSIDAD DE GRANADA, FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE FARMACOGNOSIA Y FARMACODINAMIA
Prof. Dr. J. CABO TORRES

ESTUDIOS SOBRE LA GRASA DE SEMILLAS DE CHIRIMOYO

Resumen de la tesis Doctoral realizada por
J.
Prof.

Ars Pharm. XII, 203 (1971).

Desde hace tiempo se viene trabajando en nuestro Departamento, sobre la semilla de Anona. Fruto de ellos ha sido el establecimiento de los principales grupos fitoquímicos de la misma. Entre todos ellos, destaca uno por su mayor proporción, es el correspondiente a la fracción lipídica. La que ha sido el motivo del presente trabajo.

En el programa del trabajo realizado, para la caracterización del aceite de las semillas de Anona, destacan los siguientes puntos:

- I) Determinación de las constantes físicas y químicas.
- II) Análisis cualitativo de los ácidos grasos.
- III) Análisis cuantitativo de los ácidos grasos identificados.

Previamente, hemos determinado por medio del soxhlet la cantidad del aceite presente en las semillas. Los resultados han sido:

Semilla total	26 %
Semilla decortcada...	30 %

I. DETERMINACION DE LAS CONSTANTES FISICAS Y QUIMICAS

Los datos obtenidos son los que a continuación les tabulamos:

Tabulación de los datos obtenidos.

— D ₂₀ ^o } Picnómetro	0,911
— D ₂₀ ^o } Mohr-Wessphal	0,9067
— Viscosidad relativa (20°C)... ..	62,1
— Índice de refracción	1,4716
— Rotación óptica	0
— Acidez inorgánica... ..	0
— Índice de acidez	0,85 (0,88 - 0,96)
— Índice de saponificación	185,3 (185,4 - 189,1) - 190,7
— Índice de ester	186,3
— Índice de Iodo	100,1 (100,5 - 102) - 102,4
— Índice de Hidroxilo	5,4 (5,7 - 6,6) - 7,1
— Índice de carbonilo	1,6 (1,7 - 2) - 2,0
— Ácidos grasos totales	87,9 (89,2 - 91,9) - 92,2
— Insaponificable	1,5 (1,54 - 1,58) - 1,59
— Ácidos grasos volátiles:	
— I. R. M.	0,5 (0,53 - 0,59) - 0,6
— I. P.	0,08 (0,096-0,144) - 0,16.

Comparamos los datos obtenidos para nuestro aceite, con los que dan diversos autores para numerosos aceites con el fin de ver con cual de ellos presenta más analogías:

ACEITES	CONSTANTES FISICAS		CONSTANTES QUIMICAS		
	D ₄ ²⁰	nD ₂₀ ²⁰	I.OH.	I.S.	I.Y.
Chirimoyo	0,9067 - 0,9110	1,4715 - 1,4717	5,4 - 7,1	188,3 - 190,7	100,3 - 102,4
Albaricoque	0,912 - 0,917	1,471 - 1,473			
Arroz	0,900 - 0,920	1,471 - 1,472	5	180 - 196	91 - 100
Cacahuete	0,912 - 0,922	1,468 - 1,472			
Colza	0,911 - 0,914	1,471 - 1,474			
Manzana	0,898 - 0,912	1,471 - 1,472			
Melocotón				189 - 192	98 - 102
Mostaza negra	0,912 - 0,917	1,472 - 1,473			
Oliva	0,912 - 0,916	1,468 - 1,471			
Sésamo				188 - 195	103 - 112

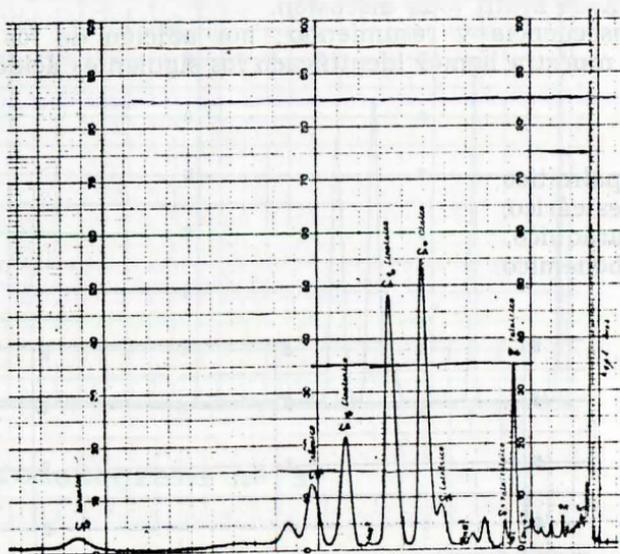
II. ANALISIS CUALITATIVO DE LOS ACIDOS GRASOS

No es de extrañar que nos hayamos circunscrito al estudio de los ácidos grasos, ya que a estos los podemos considerar, por así decir, como los pilares básicos en los que descansa la estructura glicéridica.

La identificación de los diferentes ácidos grasos, se ha realizado por Cromatografía Gaseosa, para la que hemos empleado dos columnas de diferente fase estacionaria. El motivo se debe a la posibilidad de existir dos componentes que para una misma fase estacionaria presenten

igual respuesta. Circunstancia que se elimina utilizando otra columna de diferente fase estacionaria y observar si existe una correlación con los datos obtenidos en ambas columnas. En nuestro caso se han conseguido idénticos resultados por lo que en este resumen nos vamos a referir a la metódica seguida, ya que es la misma para las dos columnas.

Preparada la muestra de los ácidos grasos en forma de esteres metílicos, elegimos las condiciones más idóneas, obteniendo el siguiente cromatograma.



Cromatograma nº 1

Los diferentes componentes que hemos conseguido separar en este cromatograma los identificamos:

II.1. *Por adición de componentes puros a la muestra problema.*

Para facilitar el trabajo, el cromatograma general lo hemos dividido en otros dos. Los cuales nos han servido como tipos comparativos para los obtenidos de la muestra problema más patrón.

Como ejemplo, describimos lo referente al ácido palmítico.

Partimos de 0,02 microlitros del ester metílico del ácido palmítico puro, en solución etil-bencénica y 0,2 microlitros de la muestra problema. Introducimos esta mezcla en el cromatografo, obteniendo el cromatograma núm. 3, en las condiciones que en él se indican.

Realizando el mismo análisis sólo con la muestra problema, y en las condiciones anteriormente señaladas obtenemos el cromatograma número 2.

Comparando ambos cromatogramas. Se observa que se produce un incremento del pico A en el cromatograma núm. 3 con respecto al del cromatograma núm. 2. Luego podemos predecir que este pico debe ser el correspondiente al *ácido palmítico*.

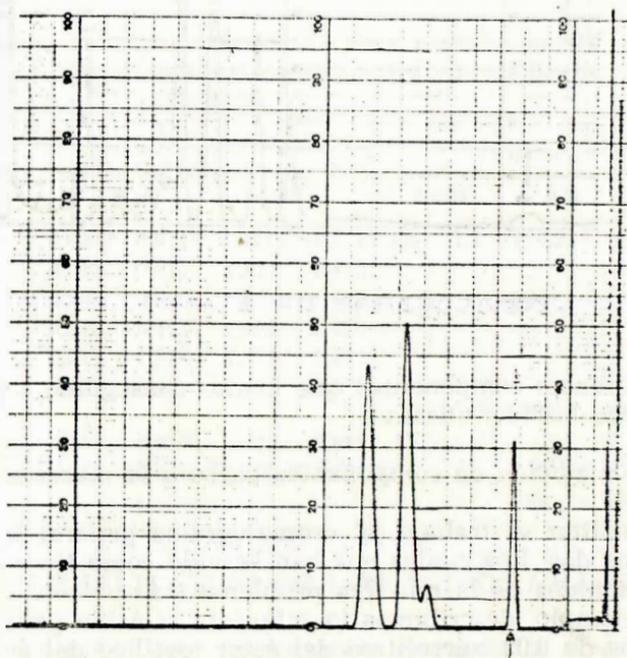
Resumen datos obtenidos:

Tras la adición a la muestra, de cada uno de los esteres metílicos aislados, el incremento del pico correspondiente es registrado en los cromatogramas con tal limpieza y elegancia que, dada la especificidad de la C.G. hace inútil toda discusión.

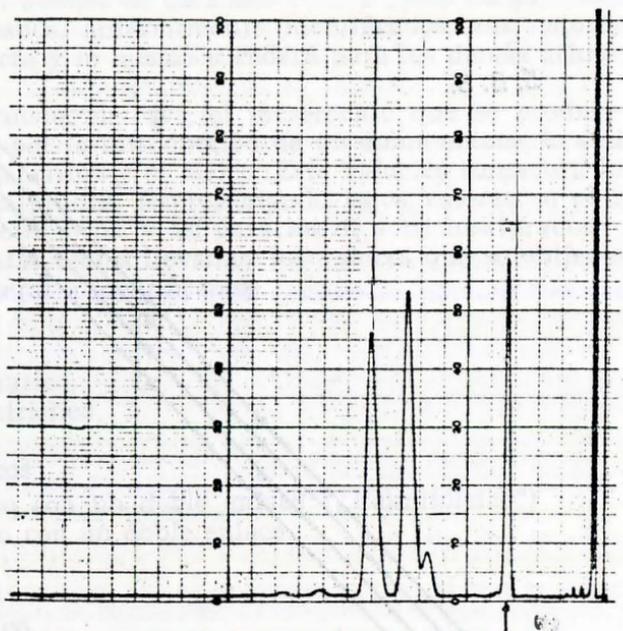
En consecuencia y resumiendo; por adición de los componentes puros, a la muestra hemos identificado los siguientes ácidos grasos:

Saturados

Acido palmítico.
Acido esteárico.
Acido aráquico.
Acido behémico.



Cromatograma nº 2



Cromatograma nº 3

Monoetilénico

Acido oléico.

Dietilénicos

Acido linoléico.

II.2. *Empleando las curvas de retención.*

Se basa en que los ácidos grasos, como constituyentes de una misma serie homóloga, la introducción de un grupo metílico, de un doble enlace, etc., producirá un incremento de los valores de retención que será igual para todos los componentes de la serie.

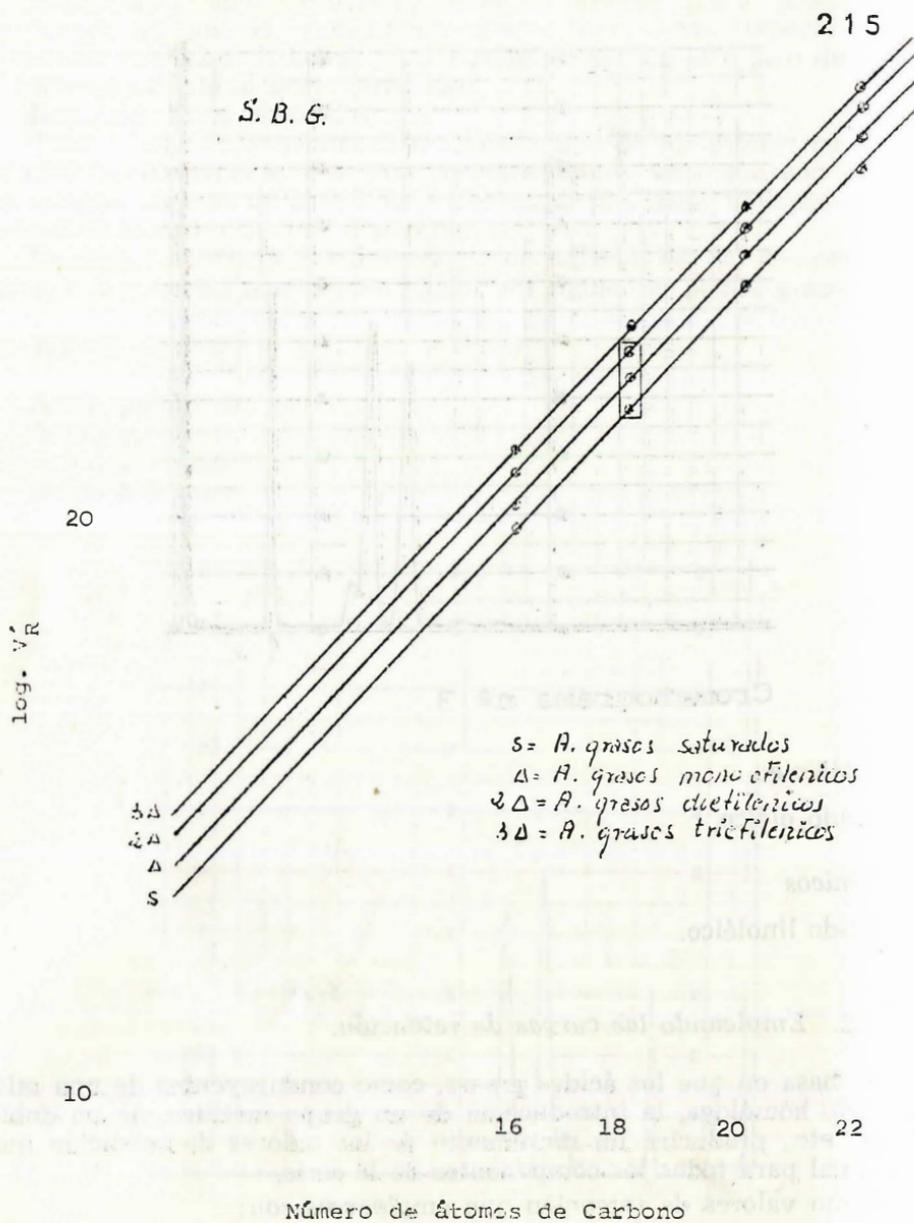
Como valores de retención que empleamos son:

t^R Tiempo de retención corregido)

V^R (Volumen de retención corregido)

I (Indice de retención de Kovats).

Nos circunscribimos a los V^R , basándonos en los ácidos grasos anteriormente identificados, con los que construimos sus curvas.



En un eje de coordenadas llevamos a ordenadas log. V'R y en abscisas número átomos de carbono. Vemos como los valores de los ácidos grasos saturados, anteriormente identificados, sus valores caen sobre una línea recta y lo mismo sucederá para los demás ácidos grasos saturados.

En los monoetilénicos, el incremento que se produce en el valor de retención por la introducción de un doble enlace, lo deducimos comparando el esteárico y el oleico. Este valor es sumado a los demás ácidos grasos saturados. Representando estos valores se obtiene la recta de los monoetilénicos, y así para los di y tri insaturados.

Sobre estas rectas llevamos los valores que se obtienen del cromatograma general e identificamos.

Saturados

Acido laurico.

Acido mirístico.

Monoetilénicos

Palmítico con un doble enlace (¿Palmitoleico?)

Araquico con un doble enlace.

Trietilénicos

Linolénico.

Datos generales

Confrontando los datos obtenidos en ambas columnas, vemos como existe una correlación entre los mismos. Por lo que podemos indicar ya, con *cierta seguridad*, como resultado final del análisis cualitativo:

Saturados

Laurico.

Mirístico.

Palmítico.

Esteárico.

Araquico.

Behénico.

Monoetilénicos

Palmitoléico

Oléico

Araquico con un doble enlace.

Dietilénicos

Linoléico.

Trietilénicos

Linolénico.

III. ANALISIS CUANTITATIVO

De los componentes de la mezcla ya identificados, hemos calculado, la proporción relativa de cada uno. Los cálculos cuantitativos han sido relativos, por el siguiente motivo. En la cromatografía de gases se manejan cantidades pequeñísimas, del orden de las décimas de microlitro, de una solución de la sustancia problema. Por ello, manejamos de estas sustancias fracciones de gammas.

De todo lo expuesto, sacamos la siguiente conclusión: cualquier error de medida nos va a influenciar mucho el resultado final. Por lo que los valores absolutos, van a estar muy influenciados por las manipulaciones operatorias. Sin embargo, las proporciones relativas de los diferentes componentes, por errores de manipulación, permanecen constantes. Este ha sido el motivo de que, en el análisis cuantitativo, hayamos calculado las proporciones relativas de los diferentes componentes de la mezcla.

Las áreas de los diferentes picos, han sido calculadas por planimetría, obteniendo los siguientes resultados:

n.º át. C.	%
C ₁₆	12
C ₁₆ Δ	0,3
C ₁₈	8
C ₁₈ Δ	43
C ₁₈ 2Δ	35
C ₁₈ 3Δ	1
C ₂₀	0,5
C ₂₂	0,1-0,2

Y trazas de C₁₂, C₁₄ y C₂₀, aunque también, tomamos como trazas al C₁₆Δ, C₂₀ y C₂₂, por estar en una proporción menor de la unidad.

CONCLUSIONES

- 1.—El contenido oleoso de la semilla del fruto comestible de la *Annona cherimolia*, por extracción con éter etílico, es del 30 por ciento referido a semilla "decorticada" (sin tegumentos) y del 26 por ciento referido a semilla total.
- 2.—Las principales constantes físicas del aceite de semilla de *chirimoya* son:

Densidad (a 20°C)	0,9067 - 0,9110
Viscosidad relativa (a 20°C)	62,1
Indice de refracción... ..	1,4715 - 1,4717
Rotación óptica... ..	negativa

- 3.—Al comparar los datos referentes a densidad e índice de refracción con los que diversos autores dan para numerosos aceites, se señala la coincidencia con los de: albaricoque, arroz, cacahuete, colza, manzana, mostaza negra, oliva.
- 4.—En el aceite reciente, la acidez inorgánica es nula y el índice de acidez es de $0,92 \pm 0,04$ (0,88 - 0,96).
- 5.—Otros índices clásicos de carácter químico que establecemos en este aceite son:

I. de saponificación	185,3 - 190,7
I. de Iodo... ..	100,1 - 102,4
I. de hidroxilo... ..	5,4 - 7,1

- 6.—Del estudio comparativo de estos índices químicos con los límites señalados para otros aceites (excepto el índice de carbonilo que no suele tabularse), se concluye que tan sólo hay coincidencia con los aceites de arroz, melocotón, y sésamo; especialmente con el primero, que por otra parte es el único también coincidente en las constantes físicas (conclusión 3).
- 7.—Otros datos y constantes establecidos son: Insaponificable (I) Ácidos grasos totales (Ac. T.), Ácidos grasos volátiles solubles (I. Reichert-Meissl) e insolubles (I. Polenske), que no suelen tabularse con los otros datos clásicos:

Insaponificable	1,5 - 1,59
Ácidos grasos totales... ..	87,9 - 92,2
Índice de Reichert-Meissl	0,5 - 0,6
Índice de Polenske	0,08 - 0,16

- 8.—La técnica de metilación de ácidos grasos propuesta por Wolff da muy buenos resultados, conseguimos prolongar la conservación de los ésteres metílicos obtenidos si, en el proceso de obtención, se realizan los lavados acuosos controlando que las últimas aguas de lavado sean neutras. En otras palabras, el número de lavados no debe ser caprichoso sino controlando su eficacia.
- 9.—Trabajando con cromatografo P. E. modelo F-11, en columna S.B.G. sobre chromosorb W, 80-100 mesh (80/92), a temperatura de 185°C (horno) y 300°C (bloque), a un flujo del gas portador (N) de 29-ml/minuto, obtenemos con la mezcla de ésteres metílicos de los ácidos grasos del aceite de chirimoyo (E.E. M.M. - An), una imagen cromatográfica bien definida con cuatro picos de considerables dimensiones, y numerosos menores, de dimensiones variables.
- 10.—En tales condiciones experimentales, la adición a (E.E. M.M. - An) de diversos patrones puros de E.M. de ácidos grasos (E.M. - Ac.) da en los cromatogramas incrementos del pico correspondiente, lo que permite concluir la presencia de los ácidos siguientes:

Saturados

Acido Palmítico.
 Acido esteárico
 Acido aráquico.
 Acido behénico.

Monoetilénicos

Acido oléico.

Dietilénicos

Acido linoléico.

- 11.—Recurriendo al empleo de curvas de retención podemos además deducir la presencia —aunque sea en hipótesis de otros ácidos grasos de los que no se poseen patrones puros. Mediante tal sistema y en las condiciones de experimentación señaladas anteriormente se detectan además de los ácidos citados en la conclusión anterior:

Saturados

Acido laurico.
 Acido mirístico.

Monoinsaturados

Un exadecen-oico (Palmitoleico?)

Triinsaturados

Un octodeca-trien-oico (Linolenico?).

- 12.—Trabajando en columna de S.E.G. con igual relleno y en las restantes condiciones idénticas a las definidas en la conclusión 9, la muestra (E.E. M.M. - An) da como entonces cromatogramas bien definidos aunque con lógicas diferencias con aquellos.
- 13.—Con esta columna de S.E.G., en las condiciones de trabajo citadas y operando con patrones puros de (E.M. - Ac.) como en la conclusión 10, se llega a idénticos resultados. Esta conclusión es pues una ratificación de la núm. 10, trabajando con diferentes columnas.
- 14.—Con columna S.E.G., el procedimiento de las curvas de retención ratifica la conclusión núm. 11:
- 15.—La confrontación de las conclusiones 10, 11, 13 y 14, permite a su vez concluir como resumen del análisis cualitativo de los componentes ácidos del aceite de semilla de Anona cherimolía que estos son:

Saturados

Laurico
 Mirístico
 Palmítico
 Estearico
 Aráquico
 Behénico

Monoetilénicos

Palmitoleico
 Oléico
 Aráquico, con un doble enlace

Dietilénicos

Linoléico

Trietilénicos

Linolénico

- 16.—Respecto al análisis cuantitativo, el cálculo planimétrico aplicado a los picos de los cromatogramas nos permite establecer la siguiente composición aproximada respecto a los ácidos grasos del aceite estudiado:

n.º át. C.	%
C_{16}	12
$C_{16}\Delta$	0,3
C_{18}	8
$C_{18}\Delta$	43
$C_{18}2\Delta$	35
$C_{18}3\Delta$	1
C_{20}	0,5
C_{22}	0,1 - 0,2

Y trazas de C_{12} , C_{14} y $C_{20}\Delta$, aunque también, tomamos como trazas al $C_{16}\Delta$, C_{20} y C_{22} , por estar en una proporción menor de la unidad.

- 17.—Del estudio de los datos que anteceden se deduce a su vez que: los componentes mayoritarios, con notable diferencia son el ácido oléico (43 por ciento) y linoléico (35 por ciento) seguidos del palmítico (12 por ciento) y estearico (8 por ciento). Los restantes entrarían en proporciones inferiores a la unidad.

Los componentes menores se ordenarían así: Linolenico (1 por ciento), aráquico (0,5 por ciento), palmitoleico (0,3 por ciento), behénico (0,1-0,2), C_{12} , C_{14} , $C_{20}\Delta$ (trazas).

- 18.—Tanto en lo cuali. como en lo cuantitativo los ácidos grasos que parecen constituir los glicéridos del aceite de semilla de chirimoyo, presentan una analogía contundentemente clara con los datos hallados en la bibliografía para el aceite del *salvado de arroz*, como claramente puede apreciarse:

Ac.	Aceite sem. (Nosotros)	Aceite salvado de Arroz Otros A.A.
Oléico	43	39,2 - 52,0
Linoléico	35	29,0 - 42,0
Palmítico	12	11,7 - 22,1
Esteárico	8	1,7 - 1,9
Linolénico.	1	0,0 - 3,0
Aráquico	Trazas	trazas
Lignocérico		trazas