

# ARS PHARMACEUTICA

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD DE GRANADA

Tomo XXVI - Núm. 1

1985

*Director:*

Prof. Dr. D. Jesús Cabo Torres

*Director Ejecutivo:*

Prof. Dr. D. José Luis Valverde

*Secretario General:*

Prof. Dr. D. José Jiménez  
Martín

*Consejo de Redacción:*

D. Manuel Casares Porcel

D.<sup>a</sup> M.<sup>a</sup> Teresa Correa Sánchez

D.<sup>a</sup> M.<sup>a</sup> José Faus Dader

D. Jesús González López

D.<sup>a</sup> M.<sup>a</sup> del Mar Herrador del  
Pino

D. Eduardo Ortega Bernaldo  
de Quirós

*Secretario de Redacción:*

D. Antonio Pérez Collado

*Redacción y Administración:*

Facultad de Farmacia  
Granada - España

Dep. Legal: GR. núm. 17-1960

ISSN 0004 - 2927

*Imprime:*

Gráficas del Sur, S. A.  
Boquerón, 6  
Granada 1985

## Sumario

PAG.

### TRABAJOS ORIGINALES DE LA FACULTAD

- Determinación espectrofotométrica de metanol en la degradación de pectinas metiladas en zumos y néctares, por María F. Olea Serrano, F. Martínez Calabria y R. García-Villanova ... .. 5
- Inhibidores potenciales de monoaminooxidasa: 4-(1-arilimidazolil) metilhidracina, por M. M. Herrador del Pino, J. M. López de Gregorio y J. Sáenz de Buruaga Lerena ... 11
- Estudio de la formación de complejos de la 4,5-diamino 3-metil-2,6-dioxo- 1, 2, 3, 6, con cationes divalentes de la primera serie de transición, por A. Matilla Hernández y C. Valenzuela Calahorro ... .. 17
- La vegetación nemoral de aspecto megafórbico en los barrancos de Sierra Nevada, por José María Losa Quintana ... .. 27

### TRABAJOS DE COLABORACION

- Adherencia bacteriana a linfocitos humanos y murinos, por G. Alvarez de Cienfuegos, A. Ruiz-Bravo y A. Ramos-Cormenzana ... .. 33
- Estudio del efecto relajante de la fibra lisa, en íleo aislado de rata, inducido por derivados terpénicos, por H. López G.<sup>a</sup> de la Serrana, R. García-Villanova y E. Puche ... 39
- Crítica de libros ... .. 49

# TRABAJOS ORIGINALES DE LA FACULTAD

---

DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGIA, TOXICOLOGIA Y  
ANALISIS QUIMICO APLICADO

## DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE METANOL EN LA DEGRADACION DE PECTINAS METILADAS EN ZUMOS Y NECTARES

María F. Olea Serrano; F. Martínez Calabria y R. García-Villanova

### RESUMEN

Se ha realizado un estudio de la degradación de pectinas metiladas comerciales empleadas como aditivo en zumos y néctares. Se confirma que el medio ácido ocasiona la hidrólisis en las mismas con liberación de metanol. El método permite la determinación total de metanol contenido en la pectina así como la liberación de este alcohol en condiciones de acidez similares a las del jugo gástrico. Se hace una crítica del método de la AOAC para la determinación de metanol.

### SUMMARY

It has been done a study about the degeneracy of comercial methylated pectins which are used as additives in juices and nectars. It's shown that the acid medium produces the hydrolysis to them with the release of methanol. This method provides the total determination of methanol contained in the pectin and the release of this alcohol in similar acid conditions to those of gastric juice. AOAC's method to determine methanol has been reexamined.

### INTRODUCCION

En el trabajo publicado por Thibault y col. (1) se describen las pectinas como macromoléculas glucídicas de origen exclusivamente vegetal y cuya estructura básica está formada por moléculas de ácido D-galacturónico unidas por enlace  $\alpha$ -D-(1 $\rightarrow$ 4) que constituyen el ácido poligalacturónico o ácido péctico.

En general, las sustancias pécticas tienen una estructura más compleja como resultado de la sustitución de algunos grupos en la cadena principal y las funciones ácidas pueden estar neutralizadas por cationes mono o divalentes como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^+$ , etc., que dan lugar a las sales correspondientes denominados pectatos.

De igual modo, los grupos carboxilo de estas sustancias pueden estar más o menos esterificadas por el metanol y el "grado de esterificación" se define por el porcentaje de funciones carboxílicas metiladas en la cadena principal del ácido anhidro galacturónico, parámetro que sirve de base para una clasificación de estas sustancias, considerando que si el grado de esterificación es inferior al 45-48 % se trata de pectinas débilmente metiladas (LM, low-methoxyl en la terminología inglesa) y si es superior al 50 % se trata de pectinas altamente metiladas (HM, high-methoxyl). Las sustancias pécticas están en la naturaleza altamente metiladas mientras que las débilmente metiladas son una consecuencia de fenómenos de de-esterificación química o enzimática de las primeras, bien por procesos de hidrólisis o de despolimerización.

En este trabajo se pretende determinar el metanol que puede liberarse por hidrólisis ácida "in vitro" a partir de pectinas comerciales permitidas como aditivos alimentarios con el propósito de conocer la posible toxicidad en zumos y néctares en las que es frecuente su empleo.

En este primer trabajo se ha aplicado para la determinación de metanol el método de AOAC con el ácido cromotrópico (2) modificado por MANDROU (3) y del que haremos algunos comentarios relativos a sus limitaciones.

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Material*

Espectrofotómetro UV/V Perkin-Elmer, mod, 551-S con registro gráfico modelo 561-0252.

### *Reactivos*

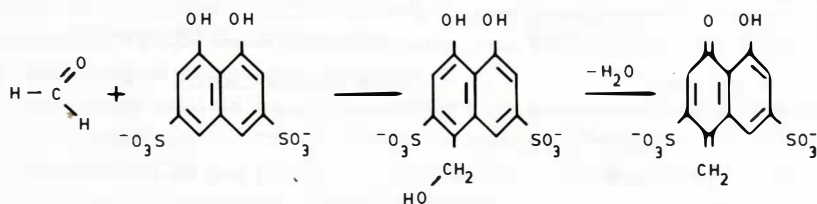
Todos los utilizados han sido de pureza analítica.

### *Disoluciones empleadas*

- Etanol al 5,5 % v/v: 5,5 ml de etanol absoluto en agua destilada hasta 100 ml
- Acido cromotrópico al 5 % : 5 gramos de sal sódica (4,5-dihidroxi-naftalen-2,7-disulfonato sódico) en agua destilada hasta 100 ml.
- Hidróxido sódico 1N.
- Acido clorhídrico 1N.
- Disolución fosfórica de permanganato potásico: 3,0 g de permanganato potásico y 15 ml de ácido fosfórico de 85 % en agua destilada hasta 100 ml.
- Metanol en 2,5 % v/v: 2,5 ml de metanol en agua destilada hasta 100 ml.
- Disolución de metanol al 0,025 % v/v en etanol al 5,5 % : 1 ml de disolución de metanol se completa hasta 100 ml con la disolución de etanol al 5,5 % .

### Comprobación del método analítico de la AOAC

Se ha seguido la técnica descrita por la AOAC en el capítulo 9 (2) basada en la oxidación permangánica del metanol para dar formaldehído y condensación de esta con el ácido cromotrópico (sal sódica) de acuerdo con el esquema.



y cuyo cromóforo es el responsable del color.

El espectro visible presenta un máximo a 575 nm de longitud de onda en la cual se han realizado todas las medidas.

Las modificaciones introducidas por nosotros han consistido en la utilización del volúmen adecuado de los destilados en función de la riqueza en metanol de la muestra. Asimismo se ha estudiado la relación absorbancia / concentración y otros aspectos del método que se discutirán más adelante.

### Determinación del % de metanol de una pectina

Se ha procedido a la hidrólisis total de los ésteres metílicos de las cadenas de ácido poligalacturónico. Para ello, a 5 g de pectina se han adicionado 25 ml de ácido clorhídrico 1N y 10 ml de agua destilada. Se somete a reflujo 30 minutos, se neutraliza con hidróxido sódico 1N y se procede a la destilación hasta recoger 15 ml de destilado. Se determina el metanol por la técnica descrita por la AOAC. Para que el valor de la absorbancia del problema concuerde con la disolución patrón es preciso diluir convenientemente. En el caso presente hemos operado con una pectina que contiene 5,94 g de metanol en 100 g de pectina y ha sido preciso diluir el destilado a la décima parte.

### Influencia de la temperatura y de la acidez en la liberación del metanol de la pectina.

A 0,5 g de pectina se agregan 10 ml de HCl 1N y 10 ml de agua destilada. En matraz cerrado se mantiene en la estufa dos horas entre 37-40 °C. Pasado este tiempo se neutraliza la disolución con disolución de NaOH 1N y se destila para recoger un volúmen de 15 ml sobre 1 ml de disolución de etanol 5,5 % v/v. Después de diluir adecuadamente se determina el metanol.

Un ensayo paralelo del anterior se ha practicado dejando la disolución fuera de la estufa (temperatura ambiente). Se han realizado 11 determinaciones para aplicar el cálculo estadístico. En la Tabla I se exponen los resultados.

Tabla I.- Influencia de la temperatura y de la acidez en la liberación del metanol en las pectinas.

Temperatura ambiente g % de metanol ( $\bar{x}$ )	Temperatura 37-40 °C g % de metanol ( $\bar{x}$ )
3,85 (*)	4,03 (**)

(\*\*) Desviación típica  $\sigma = 0,24$

Error medio del resultado  $\Delta \bar{x} = \pm 0,07$

Intervalo de confianza =  $\pm 0,16$

(\*)  $\sigma = 0,19$ ;  $\Delta \bar{x} = \pm 0,06$ ; Interv. de conf. =  $\pm 0,13$

*Determinación del metanol liberado de las pectinas de zumos y néctares comerciales a temperatura y acidez similares a las fisiológicas.*

A 25 ml de zumo o néctar se adicionan 10 ml de HCl 1N y 10 ml de agua destilada, se deja en la estufa en matraz cerrado 2 horas a 37 - 40 °C. Se neutraliza con NaOH 1N y se destila para recoger 15 ml sobre 1 ml de etanol 5,5 %. Se continúa la determinación por el método indicado.

En la Tabla II se exponen los resultados encontrados en las muestras comerciales ensayadas y se indican asimismo los ml de destilado tomados para la oxidación permangánica.

Tabla II.- Cantidades liberadas de metanol en zumos y néctares después de dos horas en estufa a 37 - 40 °C y medio ácido.

MUESTRA	Metanol liberado ( $\bar{x}$ ) (mg %)	ml tomados del destilado	Desviación tí- pica ( $\sigma$ ) $\pm$	Error medio result. ( $\Delta \bar{x}$ ) $\pm$	Intervalo de confianza $\pm$
Néctar de manzana	2,20	1,5	0,05	0,01	0,03
" melocotón	6,63	2,0	0,49	0,14	0,33
" naranja	2,95	4,0	0,09	0,02	0,06
" pera	4,06	3,0	0,24	0,07	0,16
" zanahoria	3,94	3,0	0,11	0,03	0,07
Zumo de tomate	8,77	1,5	0,37	0,11	0,24

## INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Al aplicar el método de determinación de metanol por la técnica descrita en AOAC se ha comprobado que la reproducibilidad de los resultados solo se consigue cuando se parte de 1 ml de disolución de metanol al 0,025 % en etanol al 5,5 % v/v (error medio  $\Delta x = \pm 0,39$ ). En el estudio que hemos realizado de la relación absorbancia / concentración (Ley de Beer) se confirma que esta se cumple en unos márgenes muy pequeños de concentraciones lo que obliga a diluciones que contengan cantidades de metanol muy próximas.

La hidrólisis total de la pectina se consigue con disolución de HCl 1N y 30 minutos en calentamiento a reflujo antes de proceder a la destilación.

En la aplicación del método se ha empleado la temperatura de 37 - 40 °C y un tiempo de dos horas para conocer la cantidad de metanol liberado de la pectina en unas condiciones que permitan deducir la posible degradación de la pectina en el jugo gástrico cuando esta se encuentre en zumos y néctares como los aquí estudiados.

Del estudio realizado se confirma que el medio ácido libera metanol de las pectinas comerciales empleadas en la elaboración de productos alimentarios pero las cantidades encontradas por nosotros no suponen riesgo de toxicidad.

## BIBLIOGRAFIA

1. THIBAUT, J.F.; PETIT, R. - Industries Alimentaires et Agricoles, 1231 - 39 (1979).
2. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). - Official Methods of analysis. Edition XXX (1980).
3. MANDROU, B. - Travaux de la Société de Pharmacie de Montpellier 29 Frasc. 3, 170 - 173 (1969).