

ANALISIS BROMATOLOGICO

MARCHA SISTEMATICA EN EL ANALISIS MICROSCOPICO DE HARINAS

Comunicación remitida por el Dr. Hermann Schmidt-Hebbel,
Químico-Farmacéutico-Bromatólogo.

*(Trabajo dedicado especialmente a la Academia Nacional de Farmacia,
con motivo de su reciente nombramiento de Académico Correspondiente
de dicha Institución).*

leído por el Dr. Hergueta en la sesión del día 18 de mayo de 1932.

Al efectuar el análisis químico de los diferentes alimentos, condimentos y bebidas, nos encontramos frecuentemente, en la práctica bromatológica, con un grupo de estos productos en los cuales los métodos químicos no nos permiten establecer un criterio acerca de su calidad y pureza, debiéndose recurrir indispensablemente a la ayuda del microscopio. A este grupo de sustancias —que si bien se considera su número, en relación con el número total de alimentos, condimentos y bebidas, éste resulta ser relativamente pequeño— pertenecen, sin embargo, productos de gran importancia para la alimentación, siendo los más importantes las harinas, el café y sus numerosos sucedáneos y los condimentos con sus numerosos casos de falsificaciones. En las líneas presentes me dedicaré exclusivamente a la descripción del análisis de las harinas, tratando de establecer las bases para una clasificación sistemática de los diferentes casos, y siguiendo aproximadamente el camino que se utiliza con tanto éxito en el análisis sistemático de la química analítica, para facilitar la identificación de los diferentes metales.

Para este objeto trataremos de aplicar principalmente los conocimientos y las experiencias prácticas que hemos logrado obtener en el Laboratorio de Química de Alimentos y Fermentos, de la Universidad Politécnica de Dresde, al efectuar nuestros trabajos prácticos, necesarios para optar al título profesional de perito bromatólogo, concedido por el Estado alemán.

Así como el análisis químico exige la clasificación de los di-

ferentes elementos en grupos, también el análisis microscópico de las harinas necesita, como primera condición, de una buena clasificación sistemática en secciones, de las cuales cada una comprende un número mayor o menor de tipos de harinas, unidas principalmente por el parentesco en los caracteres morfológicos de sus granos, lo que, por otra parte, coincide, en la mayoría de los casos, con un parentesco respecto a su origen botánico.

En efecto, la clasificación que tuvimos ocasión de conocer en los trabajos de microscopia cumple con las condiciones indicadas. Distinguimos siete *Grupos* diferentes, de los cuales cada uno comprende diferentes *Tipos*:

1. Grupo de los *Cereales*: Trigo, Centeno, Cebada.
2. Grupo de las *Leguminosas*: Haba, Arveja, Lenteja.
3. Grupo de los *Tubérculos*: Patata, Maranta, Cúrcuma, Banana, Canna.
4. Grupo de las *Palmas*: Metroxylon, Borassus, Cycas, Zamia.
5. Grupo de la *Tapioca*: Tapioca.
6. Grupo del *Maíz*: Maíz, Mijo.
7. Grupo del *Arroz*: Arroz, Avena, Fagopiro.

En las descripciones que siguen trataré de relatar principalmente aquéllos métodos y características que, según la experiencia, conceden las mayores facilidades para poder realizar en forma sistemática el análisis de una *mezcla* de harinas, dejando a un lado las descripciones corrientes y los dibujos que se encuentran reproducidos en todos los tratados respectivos.

PRIMER GRUPO (CEREALES)

La característica común de este grupo consiste en la presencia de dos clases de granos de almidón, que se diferencian por su tamaño, faltando generalmente las formas intermedias, lo que se explica por el hecho que, dentro de las células del endosperma, sólo algunos de los granos alcanzan a desarrollarse completamente, mientras que los demás quedan reducidos a servir de material de relleno entre los granos grandes y las paredes celulares. Los grandes miden hasta 40 μ , y, vistos de frente (como se ven en su mayoría), presentan una forma casi redonda. Al tratarse de mezclas de harinas, es de importancia tomar

en cuenta que los granos pequeños de los cereales, de 5 a 8 μ , son siempre redondos, en lo que se diferencian de los granos de arroz y avena, los cuales presentan aristas vivas y están frecuentemente reunidos a grandes conglomerados (véase tipo 7). Los tres tipos de este grupo muestran bastante analogía, siendo la única diferencia apreciable que el centeno presenta con mayor frecuencia en el interior de sus granos de tres a cinco ranuras anchas, que forman frecuentemente una figura estrellada. También presentan algunas diferencias en su tamaño, siendo los granos de cebada los más pequeños, y presentando el centeno siempre algunos granos bastante más grandes, diferencias que pueden apreciarse mediante un micrómetro ocular.

La diferenciación de estos tres tipos resulta, sin embargo, sólo segura al efectuar la investigación microscópica de las partículas del salvado. Como en una harina de buena calidad el salvado se encuentra sólo en pequeña cantidad, se hace necesario el empleo de un procedimiento especial, que permite una acumulación de las partículas del salvado. Para este objeto existen dos métodos: uno, de *sacarificación*, que consiste en transformar el almidón de la harina en azúcar soluble, quedando el salvado, junto con la albúmina, como residuo insoluble, y luego, el método de *enriquecimiento*, que consiste en una simple ebullición de la harina con agua, con lo cual las partículas del salvado, más livianas, se van a la superficie junto con la espuma que se produce en la ebullición.

Operando de la manera siguiente he podido modificar estos procedimientos, al refundirlos en uno solo, lo que presenta una economía en tiempo y en la cantidad de harina que se necesita para la investigación. A 2-3 gramos de harina se agrega en un vaso de precipitado unos 250 c. c. de agua y se calienta a la ebullición (método de enriquecimiento). Una vez producida una abundante espuma, se decanta ésta mediante una pequeña cápsula de porcelana u otro objeto útil, se deja reposar un poco la espuma, y en seguida se colocará una gota del sedimento en cada uno de unos tres o cuatro portaobjetos. Después de colocar el cubreobjeto se efectúa la investigación microscópica, buscando, primero con aumento menor, uno de los elementos que se encuentran reproducidos en las figuras 1-4. En general, en esta prueba se encontrarán, después de una búsqueda dete-

nida en los tres o cuatro preparados, principalmente los pelos que proceden de los tejidos del salvado, mientras que la prueba de sacarificación permite principalmente la observación microscópica de los tejidos mismos del salvado. Para efectuar esta prueba he encontrado que no hay necesidad de tomar una nueva muestra, sino que el mismo líquido en ebullición se adiciona

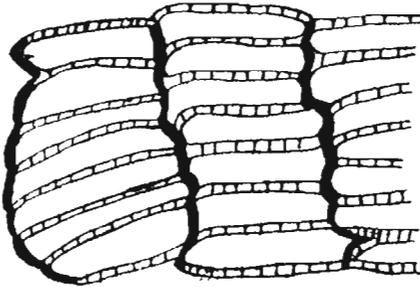


Fig. 1.—Células transversales de un tejido de salvado de trigo, con las paredes engrosadas en forma de cadenas de perlas. (Reproducción según una microfotografía de C. Griebel.)

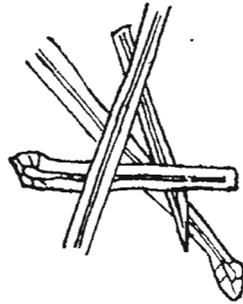


Fig. 2.—Pelos de pared muy engrosada que cubren los tejidos del salvado de trigo. (Según un grabado de Hager-Tobler, en su obra *El microscopio*.)

(después de haber separado por decantación la abundante espuma que contiene los pelos) de HCl concentrado en la cantidad de 5 c. c., y que se agrega lentamente por pequeñas porciones. Se sigue con la ebullición del líquido durante unos diez minutos, con lo que se produce la sacarificación de la fécula por el ácido diluido. En seguida se deja reposar corto tiempo y se somete el sedimento a la investigación microscópica. He encontrado que es de importancia no esperar mucho tiempo con la sedimentación, pues en este caso sedimentan también los grumos de albúmina que no se ha disuelto, y que entorpecen la observación microscópica, mientras que los tejidos de salvado son los primeros en sedimentar.

Procediendo a la investigación microscópica, encontraremos en la espuma los pelos (figuras 2 y 4), que presentan un aspecto distinto, según que se trate de trigo o de centeno, mientras que la cebada no posee pelos característicos, de modo que su ausencia completa ya da una cierta indicación hacia la presencia de cebada. En efecto, los pelos del trigo tienen paredes sumamente engrosadas, de manera que su lumen es más angosto que el gro-

sor de sus paredes, y además, la base de los pelos es generalmente de cantos agudos, y su pared engrosada está atravesada de finos canalículos. Al contrario, el centeno muestra pelos, cuyas paredes presentan un grosor menor que la anchura del lumen, el cual es bastante apreciable. La base de estos pelos es redondeada, y su pared, desprovista de canalículos. También los tejidos (figuras 1 y 3) presentan una estructura microscópica distinta, y su observación se efectuará principalmente al hacer la prueba de sacarificación. El salvado de trigo presenta un tejido cuyas células longitudinales y transversales presentan paredes muy engrosadas y dotadas de canalículos que les dan el aspecto de pequeñas cadenas de perlas. Al contrario, en el cen-

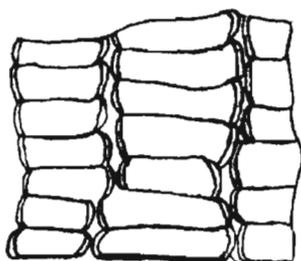


Figura 3.—Células transversales de un tejido de salvado de centeno. (Reproducción según Hager-Tobler.)



Fig. 4.—Pelos de pared no engrosada y lumen ancho, que cubren los tejidos de salvado de centeno. (Según Hager-Tobler en la obra citada.)

teno, estas paredes son delgadas y no presentan el aspecto de cadenas, como se observa en el trigo. Finalmente, ya hemos visto que la cebada no posee pelos característicos; pero, en cambio, presenta tejidos, por los cuales su reconocimiento se hace fácil en la prueba de sacarificación. En efecto, se trata aquí de células que se distinguen por su engrosamiento en forma de ondulaciones, que sólo podrían confundirse con las del salvado de avena, pero que son un poco más agudas y que, por otra parte, se diferencian por los caracteres morfológicos de sus granos de fécula.

Muchos han sido los esfuerzos que han hecho los investigadores para encontrar reacciones químicas de coloración que se-

rían capaces de facilitar precisamente el diagnóstico en estos tres tipos de harinas. En el número de diciembre 31 de la *Chemiker Zeitung*, los autores Rudolph y Barsch dan diferentes indicaciones para diferenciarlos por vía química, y que se basan en el distinto comportamiento de las albúminas contenidas en las harinas. Al verificar estas reacciones he encontrado que, en efecto, ellas pueden servir de apoyo para el análisis, siempre que se disponga de la cantidad suficiente para realizar las distintas pruebas. En cambio, he tenido ocasión de conocer una reacción muy útil y práctica, ideada por el ayudante-jefe del Laboratorio de Química de Alimentos y Fermentos, en Dresde: el Dr. W. Bie-than. La reacción es muy sencilla, pues consiste sólo en calentar en un tubo de ensayos más o menos un gramo de harina con cinco centímetros cúbicos de alcohol absoluto, y una vez hervido el líquido se agrega igual volumen de HCl concentrado y se calienta nuevamente a la ebullición. En este caso, el centeno toma rápidamente un color pardorrojizo, que con el tiempo se vuelve aún más intenso. Debido al interés de esta reacción, la he realizado con las otras harinas, y he encontrado que no sólo el trigo y la cebada permanecían incoloros, sino también las harinas pertenecientes a todos los demás grupos, con excepción de la harina de fagopiro, que me dió un color rojo, muy intenso y fácil de distinguir del pardorrojo que da el centeno. La harina de trigo puede dar un ligero tinte rosáceo, pero éste no podrá ser confundido con la coloración del centeno. Se trata aquí, sin duda, de una reacción que se debe a la diferente estructura de la albúmina de centeno con relación a las demás, y es de admitir que el día en que conozcamos la estructura de las albúminas de todas estas harinas nos permitirá también idear fijas reacciones de coloración, capaces de aventajar a la investigación microscópica, lo que hoy día aún no es posible. De todas maneras, esta reacción es muy útil para la orientación: si el microscopio nos indica la presencia de una harina de algún cereal, bastará efectuar la reacción descrita para saber si hay centeno.

SEGUNDO GRUPO (LEGUMINOSAS)

La forma de los granos de fécula es tan distinta de las demás clases de harinas, que, en general, no hay necesidad de pro-

ceder a la investigación de los fragmentos de la cubierta de sus semillas, que, por otra parte, no se encontrarán más que en aquellas harinas que se han preparado con semillas aún dotadas de su cubierta. Por otro lado, tanto estos fragmentos como también los caracteres morfológicos de los granos son tan semejantes en la haba, la arveja y la lenteja, que una diferenciación microscópica resulta prácticamente imposible. Las leguminosas poseen granos de almidón, de forma generalmente ovalada y de estratificación concéntrica y muy visible. En el centro presentan una gran hendidura, de la cual parten hacia la periferia del grane una serie de ranuras radiales cortas y anchas, tomando así en conjunto el aspecto de estrella, de letra X o de palo bifurcado.

TERCER GRUPO (TUBERCULOS)

Patata.—Presenta distintas características, que permiten su reconocimiento a la primera vista: *a*) Presencia de granos pequeños, a veces reunidos de a dos o tres y de forma redondeada. *b*) Tamaño de los granos grandes, de 70-100 μ . *c*) Forma: piri-forme, ovalada o triangular. *d*) Estratificación excéntrica con el núcleo en la parte más angosta del grano.

Maranta.—Procedente del rizoma de *Maranta arundinácea*. Se diferencia claramente de la patata por los siguientes caracteres de sus granos de fécula: *a*) Ausencia de granos pequeños. *b*) El tamaño de los granos alcanza sólo unos 50 μ , como máximo. *c*) La forma es algo menos irregular que en la patata. *d*) La estratificación es más débil, a veces invisible, y el núcleo está situado generalmente en la parte más ancha del grano. Del núcleo parten en algunos granos (que nunca faltan, pero nunca en todos) dos grietas, formando en conjunto una recta o, más a menudo, un ángulo más o menos obtuso, lo que da la impresión de un ave en vuelo. Esta figura falta en los granos de patata.

Cúrcuma.—Procedente del rizoma de *Curcuma* sp. Los granos son de forma muy diversa, pero siempre muy aplanados y sencillos, con estratificación excéntrica y marcada. El diagnóstico más seguro consiste, en este caso, en la reacción de coloración que da la sustancia colorante amarilla contenida en el rizoma. Para efectuarla se coloca pequeña cantidad del polvo sobre un portaobjeto y se agrega una gota de H_2SO_4 concen-

trado y dos de alcohol. Al efectuar la observación al microscopio se ve que todo el campo queda dominado por grumos de color rojo intenso.

Canna o almidón de Queensland.—Procedente de los tubérculos de diferentes especies de género *Canna*, como *C. indica* y *C. edulis*. Se caracteriza a primera vista por la forma aplanada y redondeada y, sobre todo, por el tamaño considerable (130μ como máximo) de sus granos.

Banana o plátano.—Procedente del fruto metamorfoseado de *Musa paradisiaca*. Los granos son de forma variada; pero entre ellos se encuentran siempre gran número que se caracterizan fácilmente por su forma muy alargada, tomando aspecto de botella, salchichón o de maza. Presentan un tamaño de 20 a 40μ , una estratificación manifiesta y excéntrica con el núcleo cerca de un extremo. Además encontraremos en la harina fragmentos rojizos de los tejidos del fruto y raramente agujas de oxalato de calcio.

CUARTO GRUPO (PALMAS)

El *Sagú* legítimo (hoy día la mayor parte del sagú del comercio está constituido por tapioca) proviene de la medula del tronco de diferentes *Palmas*, principalmente *Metroxylon Rumphii* y *Borassus Flabelliformis*, y a veces también de algunas *Cycadáceas*, como de las especies del género *Cycas* y *Zamia*. La principal característica microscópica del Sagú consiste en la presencia de abundantes restos de tejidos libres de fécula y cristales de oxalato de Ca, de forma muy variada. Los granos son irregulares, con porciones abultadas en la superficie y con un núcleo excéntrico y provisto a veces de una ranura recta o ramificada. A veces también se reúnen, agrupándose varios pequeños alrededor de uno grande.

QUINTO GRUPO (TAPIOCA)

Este grupo es comparable al del Mg en la marcha química de análisis, pues se compone de un solo representante, y debe su origen más bien a razones didácticas. Proviene de la raíz de *Manihot*, utilísima, y se llama también Arrowroot del Brasil o manioc. La característica predominante es la presencia de granos compuestos de dos a cuatro elementos, que están aplanados

en los lados de contacto. Sin embargo, la práctica demuestra que, en forma pulverizada, estos granos compuestos se han separado ya en sus elementos aislados en la mayoría, existiendo entonces, a veces, la posibilidad de confundirlos con los de maíz. Adóptense en este caso las siguientes características diferenciales: a) Los granos de tapioca alcanzan sólo un tamaño de 20-30 μ . b) Ausencia de los granos poliédricos de maíz, y, en cambio, presencia de granos aplanados en un lado, presentando entonces la forma típica de un timbal. c) Las ranuras estrelladas son menos frecuentes que en el maíz.

SEXTO GRUPO (MAÍZ)

Maíz.—Las características morfológicas son las siguientes:

a) Tamaño, 35 μ . b) Los granos, que carecen de estratificación visible, son de dos clases: unos, de aristas vivas y poliédricos, que provienen de la parte exterior, amarilla, del grano de maíz, y otros, redondeados, y procedentes de la parte blanca, interior del grano. c) En el centro se encuentra un núcleo o una ranura estrellada.

Mijo.—La diferenciación con el maíz es muy fácil, pues ambos presentan un tamaño muy diferente de sus granos, siendo los de mijo sólo de 6-8 μ . En el mijo procedente de los frutos de *Paniculum miliaceum*, *Andropogon Sorghum* y de *Setaria italica*, los granos de almidón están incluidos en una red de perlas de materia albuminoidea, en lo que se diferencian de todos los demás granos. Para observar esta red al microscopio (lo que, sin duda, es una operación delicada) se destruyen en el mismo portaobjeto los granos mediante la adición de una gota de lejía de sosa y se observa el preparado.

SEPTIMO GRUPO (ARROZ)

Arroz.—Tanto la harina de arroz como la de avena presentan granos compuestos, de los cuales muchos se rompen durante los procesos de molienda y desecación, de manera que el almidón está formado principalmente por los granos pequeños, de unos 4 a 6 μ , de forma poliédrica y de aristas vivas, de manera que aparecen casi como pequeños cristales. La diferenciación de arroz y avena se efectúa principalmente por los siguientes caracteres: a) La presencia en la avena de granos sencillos,

también pequeños y que presentan un aspecto piriforme, o bien de huso aguzado en ambos extremos; estos granos faltan por completo en el arroz. b) En el arroz, los granos compuestos, bien conservados, son muy raros, pues están casi todos disgregados y frecuentemente acumulados en grumos irregulares; en cambio, en la avena se observan aún con bastante frecuencia los granos compuestos de límites precisos, mientras que la acumulación en grumos es menos frecuente. c) Como ya se mencionó en la cebada, la avena posee un engrosamiento ondulado muy característico en las paredes de las células, que constituyen las partículas del salvado, y que se observarán al hacer una prueba de sacarificación, destinada, pues, en este caso, a la diferenciación de arroz y avena. En una mezcla de arroz y avena el reconocimiento de ambos se hace prácticamente imposible, aunque tampoco es de admitir que en la práctica se presente un caso de una mezcla de ambos.

Fagopiro.—Al describir la reacción de coloración del centeno ya se mencionó igualmente la aplicación de esta reacción para reconocer esta harina, al dar un color rojo intenso y muy característico. La investigación microscópica se basa en la presencia de granos pequeños y poliédricos, parecidos a los de arroz y avena. En realidad, se trata aquí de granos sencillos en un principio, pero ellos se han acumulado en grandes grumos en el interior de las células del endosperma. Estas acumulaciones de granos se distinguen de las de arroz y avena por el hecho de ser muy aplanadas, de manera que aparecen como masas de mosaicos muy claros al observarlos con aumento menor.

Además de las harinas citadas existe, naturalmente, todavía un gran número de otros vegetales, ricos en almidón, y que pueden servir como materia prima para harinas; pero en las líneas anteriores se han incluido todas aquellas que por su uso frecuente deben estar representadas en la marcha sistemática de un análisis, así como existen también numerosos metales raros que no se incluyen en la marcha química corriente.

Marzo de 1932.