

- Roberts, D.C.K., Truswell, A.S., Bencke, A., Dewar, H.M. et Farmakalidis, E. (1994). The Cholesterol-lowering Effect of a Breakfast Cereal Containing Psyllium Fibre, *Med. J. Aust.*, **161**, 660-664.
- Sprecher, D.L., Harris, B.V., Goldberg, A.C., Anderson, E.C., Bayuk, L.M., Russell, B.S., Crone, D.S., Quinn, C., Bateman, J., Kuzmak, B.R. et Allgood, L.D. (1993). Efficacy of Psyllium in Reducing Serum Cholesterol Levels in Hypercholesterolemic Patients on High- or Low-fat Diets, *Ann. Intern. Med.*, **119**, 545-554.

#### Tilo

- Buchbauer, G. et Jirovetz, L. (1992). Ätherisches Lindenblütenöl - Aromastoffanalyse, *Dtsch.-Apoth. Ztg.*, **132**, 748-750.

#### Lino

- Cui, W., Mazza, G. et Biliaderis, C.G. (1994). Chemical Structure, Molecular Size Distributions, and Rheological Properties of Flaxseed Gum, *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1891-1895.
- Phipps, W.R., Martini, M.C., Lampe, J.W., Slavin, J.L. et Kurzer, M.S. (1993). Effect of Flax Seed Ingestion on the Menstrual Cycle, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **77**, 1215-1219.
- Prasad, K. (1997). Dietary Flax Seed in Prevention of Hypercholesterolemic Atherosclerosis, *Atherosclerosis*, **132**, 69-76.
- Kobaisy, M., Oomah, B.D. et Mazza, G. (1996). Determination of Cyanogenic Glycosides in Flaxseed by Barbituric Acid-pyridine, Pyridine-pyrazolone, and High-performance Liquid Chromatography Methods, *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 3178-3181.
- Thompson, L.U., Seidl, M.M., Rickard, S.E., Orcheson, L.J. et Fong, H.H.S. (1996). Antitumorigenic Effect of a Mammalian Lignan from Flaxseed, *Nutr. Cancer*, **26**, 159-165.

#### Pectinas

- O'Neill, M., Albersheim, P. et Darvill, A. (1990). The Pectic Polysaccharides of Primary Cell Walls, in « Methods in Plant Biochemistry, vol. 2 : Carbohydrates », (Dey, P.M., éd.), p. 415-441, Academic Press, Londres.
- Thakur, B.R., Singh, R.K. et Handa, A.K. (1997). Chemistry and Uses of Pectin - A Review, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **37**, 47-73.

## LÍPIDOS

### Lípidos vegetales: generalidades

1. Generalidades .....	123
2. Triacilgliceroles .....	124
A. Estado natural, localización .....	124
B. Estructura de los triacilgliceroles .....	129
C. Propiedades de los glicéridos y de los ácidos grasos .....	129
3. Obtención de los aceites .....	131
4. Control de drogas con lípidos: ensayos de aceites .....	131
A. Generalidades .....	134
B. Farmacopea y aceites .....	136
5. Bibliografía .....	

#### 1. GENERALIDADES

Los lípidos son sustancias naturales, ésteres de ácidos grasos y de un alcohol o de un poliol. Son constituyentes de estructuras celulares como los fosfo- y glicolípidos de membranas, elementos de revestimiento como ceras o cutinas, también constituyen sustancias de reserva, fuente de energía celular.

Los lípidos –se denominan también «cuerpos grasos»– son sustancias hidrófobas y a veces anfífilas, solubles en los disolventes orgánicos apolares o poco polares, no volátiles: se habla de «fijos», en contraposición a aceites «esenciales».

Se distinguen habitualmente:

- lípidos simples, ésteres de ácidos grasos y de un alcohol que puede ser:
  - glicerol, constituyente de *triacilgliceroles* o *triglicéridos*;
  - alcohol alifático de elevada masa molecular, constituyente de *céridos*;

– lípidos complejos: fosfolípidos, glicolípidos. Desempeñan un papel fundamental en los organismos vivos, en particular como constituyentes de las membranas pero, a excepción de las lecitinas, no poseen en la actualidad aplicación farmacéutica o industrial, por lo que no se mencionarán.

De la misma forma –y como para las osas– no se abordará el origen biosintético de los lípidos, su catabolismo, sus interconversiones metabólicas, ni las propiedades fundamentales que los caracterizan y que dependen del dominio estricto de la bioquímica. Teniendo en cuenta su utilización en farmacotecnia y sus diversas aplicaciones (dietética, cosmética, industria agroalimentaria, etc.) citaremos los aceites vegetales –la Farmacopea habla de aceites *grasos* (!)– después de recordar algunas nociones generales de los triacilgliceroles que los constituyen.

## 2. TRIACILGLICEROLES (TRIGLICÉRIDOS)

### A. Estado natural, localización

Los triacilgliceroles se encuentran prácticamente ausentes en los órganos vegetativos (hojas). Se almacenan en forma de inclusiones oleosas –oleosomas originarios del retículo endoplasmático– que, a veces, confluyen en gran acúmulo en las células de los tejidos de reserva; esto es cierto especialmente a nivel de las semillas donde pueden llegar a representar más del 50% de la masa seca. El contenido en triglicéridos de las semillas aumenta a lo largo de la maduración hasta que, paralelamente, desaparecen los fosfolípidos y los glicolípidos de los tejidos seminales jóvenes. Excepcionalmente la semilla puede acumular ésteres de ácidos grasos y alcoholes alifáticos de cadena larga en vez de triacilgliceroles (*cf.* jojoba). Aunque es menos frecuente, hay frutos que concentran triacilgliceroles en su pericarpio: aceituna, aguacate, baya de laurel, etc.

### B. Estructura de los triacilgliceroles

Son triésteres de un triol, el glicerol, y de ácidos grasos, es decir de ácidos carboxílicos alifáticos, de longitud variable y que tienen normalmente un número par de átomos de carbono.

**Naturaleza de los ácidos grasos.** La gran mayoría de los ácidos grasos vegetales se dividen en dos grupos: ácidos grasos saturados y sus homólogos insaturados. En los dos grupos, los más frecuentes poseen 16 o 18 átomos de carbono.

**Ácidos grasos saturados.** Son raros en los vegetales los ácidos grasos de menos de 12 átomos de carbono: se encuentran –sobre todo los ácidos con C<sub>8</sub> y C<sub>10</sub>– en los triglicéridos de las semillas de las palmeras, principalmente constituidos por ácido láurico y mirístico. Hasta C<sub>14</sub>, los ácidos grasos se encuentran raramente en cantidad importante: manteca de laurel (C<sub>12</sub>), manteca de nuez moscada (C<sub>14</sub>). Los ácidos grasos

cuya cadena lleva 20 átomos de carbono o más son igualmente poco frecuentes: con excepción del aceite de cacahuete, no representan normalmente cada uno de ellos más del 0,5% de los ácidos grasos constitutivos de los aceites. El ácido palmítico es el constituyente saturado mayoritario en los aceites vegetales.

#### Ejemplos:

C <sub>6:0</sub> :	ácido hexanoico	=	ácido caproico
C <sub>8:0</sub> :	ácido octanoico	=	ácido caprílico
C <sub>10:0</sub> :	ácido decanoico	=	ácido cáprico
C <sub>12:0</sub> :	ácido dodecanoico	=	ácido láurico
C <sub>14:0</sub> :	ácido tetradecanoico	=	ácido mirístico
C <sub>16:0</sub> :	ácido hexadecanoico	=	ácido palmítico
C <sub>18:0</sub> :	ácido octadecanoico	=	ácido esteárico
C <sub>20:0</sub> :	ácido eicosanoico	=	ácido araquídico
C <sub>22:0</sub> :	ácido docosanoico	=	ácido behénico
C <sub>24:0</sub> :	ácido tetracosanoico	=	ácido lignocérico
C <sub>26:0</sub> :	ácido hexacosanoico	=	ácido cerótico
C <sub>28:0</sub> :	ácido octacosanoico	=	ácido montánico
C <sub>30:0</sub> :	ácido triacontanoico	=	ácido melísico

**Ácidos grasos insaturados.** Los más abundantes son los C<sub>18</sub>, la configuración de la (o de las) insaturación (es) sigue la regla general Z\*, en las moléculas poliinsaturadas, los dobles enlaces se suceden según un motivo 1,4-diénico\*\*.

\* Los ácidos grasos *trans*, presentes en la leche, mantequilla y grasas animales –se forman a través de una hidrogenación ruminal–, aparecen en grasas vegetales por isomerización que ocurre después de hidrogenación (margarinas). La dieta alimenticia aporta entre 8 y 10 g/día y persiste la interrogación sobre su inocuidad. *Cf.*: Are *Trans* Fatty Acids a Serious Risk for Disease? Discussion (1997). *Am. J. Clin. Nutr.*, **66**, suppl., 1018S-1019S, así como los artículos de A. Ascherio, A. y W.C. Willett: Health Effects of *Trans* Fatty Acids (pág. 1006S-1010S), y de S. Shapiro: Do *Trans* Fatty Acids Increase the Risk of Coronary Artery Disease? A Critique of the Epidemiologic Evidence (pág. 1011S-1017S).

\*\* Observaciones sobre la nomenclatura. Los ácidos grasos no escapan a la regla general: el carbono del carboxilo es el número 1, las insaturaciones y sustituyentes eventuales se nombran según las reglas clásicas. Sin embargo, los especialistas en lípidos (sobre todo fisiólogos y nutriólogos) utilizan frecuentemente una nomenclatura de tipo «n-x» donde x es el número de átomos de carbono entre el doble enlace distal y el metilo en el extremo de la cadena. Esta nomenclatura resalta mejor las analogías estructurales de una serie. Así, el ácido linoleico es un ácido de C<sub>18</sub>, n-6, los ácidos α- y γ-linolénicos son respectivamente n-3 y n-6. Se habla también de ácidos grasos ω-6 u ω-3 y de familia ω-6 u ω-3, el carbono del metilo terminal sería ω (respecto al C-2, que es α); ej.: ácido linoleico, ácido γ-linolénico y ácido araquidónico son ω-6. En la práctica, se abrevia frecuentemente la designación de los ácidos grasos caracterizando sencillamente el número de carbonos y el de insaturaciones, los dos números están separados por « : » (ej.: C<sub>18:1</sub>). Hay que precisar además el lugar de las insaturaciones (ej.: C<sub>18:2</sub> Δ<sup>9,12</sup>) o C<sub>18:2</sub> (9, 12).

Ejemplos (de la serie  $C_{18}$ ):

$C_{18:1}$	: ácido 9-octadecanoico	=	ácido oleico
$C_{18:2}$	: ácido 9,12-octadecadienoico	=	ácido linoleico
$C_{18:3}$	: ácido 9,12,15-octadecatrienoico	=	ácido $\alpha$ -linolénico

Menos frecuentes son los ácidos insaturados de cadena corta ( $\leq C_{16}$ ) o de cadena que cuente con 20 o más carbonos:

$C_{14:1}$	: ácido 9-tetradecenoico	=	ácido miristoleico
$C_{16:1}$	: ácido 9-hexadecanoico	=	ácido palmitoleico
$C_{20:1}$	: ácido 9-eicosenoico	=	ácido gadoleico
$C_{22:1}$	: ácido 13-docosenoico	=	ácido erúico

Los isómeros de posición de los anteriores son igualmente poco frecuentes:

$C_{18:1}$	: ácido 6-octadecenoico	=	ácido petroselinico
$C_{18:1}$	: ácido 11-octadecenoico	=	ácido <i>cis</i> -vacénico
$C_{18:3}$	: ácido 6,9,12-octadecatrienoico	=	ácido $\gamma$ -linolénico

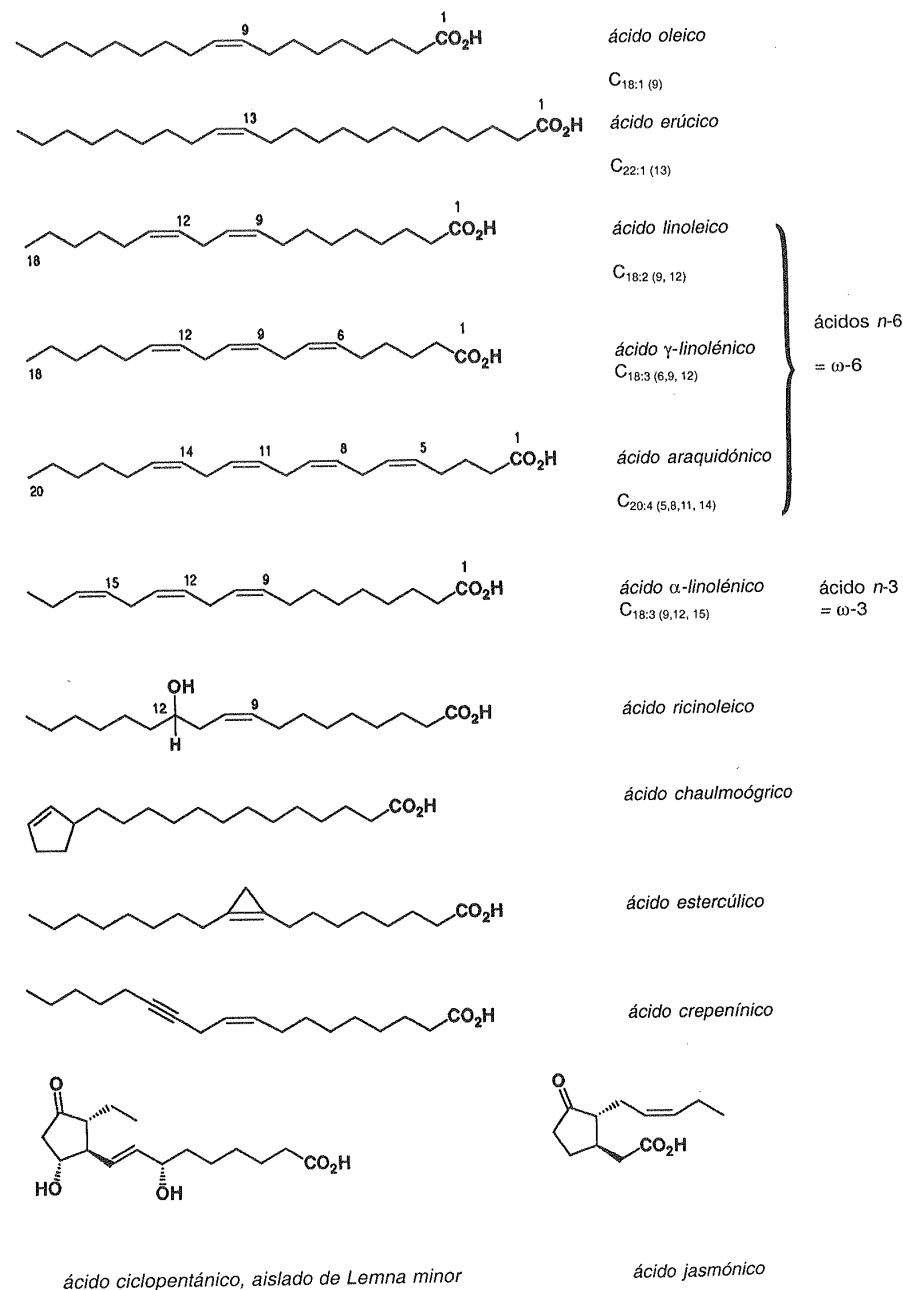
Algunos son excepcionales:

$C_{20:4}$	: ácido 5,8,11,14-octadecatetraenoico	=	ácido araquidónico
------------	---------------------------------------	---	--------------------

**Otros ácidos grasos insaturados.** Junto a estos ácidos grasos «clásicos» se conocen numerosísimas estructuras particulares, en general restringidas en su distribución a un género, a una familia o a un grupo de familias. Ejemplo: las insaturaciones habitualmente *Z* pueden ser *E* (ej.: ácido eleostearico,  $C_{18:3}$  (9*Z*,11*E*,13*E*)); una de las insaturaciones puede ser un triple enlace (ácido crepenínico). Pueden llegar a tener hasta seis insaturaciones y éstas pueden ser conjugadas (ácidos grasos alénicos, ej.: ácido parinárico,  $C_{18:4}$  (9*E*,11*E*,13*E*,15*E*));

**Ácidos grasos oxidados.** El ácido graso puede estar oxidado:

- ácidos grasos cetónicos como el ácido licánico de los aceites de Chrysobalanaceae (*Licania*, *Couepia*), especialmente el aceite de «oitica» del Brasil (ácido 4-oxo-9*E*,11*Z*,13*Z*-octadecatrienoico);
- ácidos grasos hidroxilados (ácido ricinoleico = 12-hidroxi-9*Z*-octadecenoico, ácido lesquerólico = 14-hidroxi-11*Z*-eicosenoico);
- epoxi-ácidos grasos (ácido vernólico, en  $C_{18:1}$  (9) epoxi-12,13).

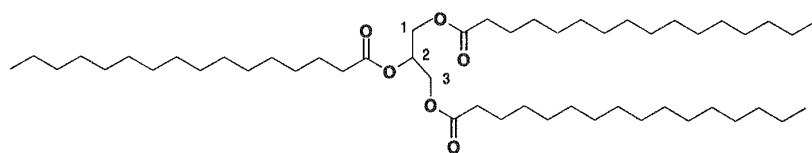


**Ácidos grasos ciclados.** En algunos casos la cadena carbonada se encuentra parcialmente ciclada: ácidos grasos ciclopropánicos y ciclopropénicos de las Sterculiaceae (ácidos malvático y estercúlico) o del aceite de las semillas de lichi (*Litchi sinensis* Sonn., Sapindaceae), ácidos grasos ciclopenténicos de las Flacourtiaceae\*.

También se conocen estructuras ciclopentánicas hidroxiladas que se asemejan a las de las prostaglandinas de los organismos animales. Algunas de estas moléculas –como ocurre con el ácido (-)-jasmónico y sus derivados– con propiedades hormonales, son reguladoras del crecimiento vegetal.

**Estructura de los ésteres del glicerol.** Un triacilglicerol (triglicérido) puede ser homogéneo o heterogéneo, según que las moléculas de los ácidos grasos que esterifican las tres funciones alcoholílicas del glicerol sean idénticas o diferentes. En general, los triacilgliceróles son heterogéneos y un aceite vegetal es una mezcla compleja de triésteres. Es preciso señalar sin embargo que los ácidos grasos saturados esterifican preferentemente la función alcohol primaria (posiciones  $\alpha$  y  $\alpha'$ ) del glicerol y que los ácidos grasos insaturados esterifican principalmente su función alcohol secundaria (posición  $\beta$ ).

La nomenclatura oficial de los triacilgliceróles sustituye las denominaciones clásicas  $\alpha$ ,  $\alpha'$  y  $\beta$  por la numeración 1, 2, 3 de los carbonos del D-glicerol representado según la convención de Fischer, alcohol secundario a la izquierda, C-1 encima y C-3



triacilglicerol: tripalmitato

\* Estos ácidos (ácido chaulmoógrico [= ácido 13-ciclo-2-pentenil-*n*-tridecanoico], ácido hidnocárpico, ácido górgico) son constituyentes de los triglicéridos de los aceites de chaulmoogras utilizados antes del descubrimiento de las sulfonas, en el tratamiento de la lepra. Se preparaban a partir de las semillas de Flacourtiaceae de la India y de la península Indochina (*Hydnocarpus kurzii* [King] Warb., *H. Anthelminthica* Pierre ex Lanessan y otras spp.). Se encuentran también en semillas de especies africanas (*Caloncoba echinata* [Oliver] Gilg.) y sudamericanas (*Carpotroche brasiliensis* Endl.). Cf. Norton, S.A. (1994). Useful Plants of Dermatologic. I. *Hydnocarpus* and *Chaulmoogra*, *J. Am. Acad. Dermatol.*, 31, 683-686.

Las Flacourtiaceae no son utilizadas en Francia, a no ser la *Aphloia madagascariensis* Clos., que se considera diurética y que figura todavía en un pequeño número de especialidades. Las hojas de esta *Aphloia* contienen una tetrahidroxixantona, taninos y saponósidos, esteres en C-28 de ácidos urs-12-en-28-oicos hidroxilados. Dijoux, M.-G., Lavaud, C., Massiot, G., Le Men-Olivier, L. y Sheeley, D.M. (1993). A Saponin from Leaves of *Aphloia madagascariensis*, *Phytochemistry*, 34, 497-499.

debajo. Se numeran seguidamente los radicales recurriendo, por comodidad, a las denominaciones usuales (ej.: 1-palmitil-2-oleil-3-esterilglicerol, 1,3-dipalmitil-2-linoleilglicerol). En la práctica, se admite recurrir a una simbología reducida: los precedentes ejemplos se convierten en POS, PLP.

### C. Propiedades de los glicéridos y de los ácidos grasos

Los triacilgliceróles son solubles en los disolventes orgánicos, e incluso en acetona, lo que les diferencia de los fosfolípidos. Tratados por un hidróxido alcalino, liberan una molécula de glicerol y tres moléculas de ácidos grasos: el índice de saponificación que se determina por este método informa sobre la longitud media de las cadenas (*vide infra*). Los triacilgliceróles de ácidos grasos insaturados se enrancian: dejados al aire libre, producen más o menos rápidamente malos olores. Este fenómeno está ligado a la peroxidación de los ácidos grasos insaturados: los peróxidos formados se pueden polimerizar –es el fin que se busca en las pinturas a base de aceite de lino u otros aceites secantes–, también se pueden romper produciendo aldehídos, cetonas y ácidos de olor desagradable.

A temperatura ambiente los ácidos grasos son líquidos si su cadena carbonada consta de menos de 10 átomos de carbono; en caso contrario son sólidos. Todos ellos son insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos. Los insaturados absorben en el ultravioleta lo que permite plantear su valoración. Por ser ácidos formarán sales: esto constituye la base de la industria de jabones y detergentes (sales alcalinas, sales de bases orgánicas). Por ser ácidos serán esterificables: la volatilidad de los esteres metílicos, mayor que la de los ácidos, permite su estudio por CG.

### 3. OBTENCIÓN DE LOS ACEITES

El principio de la obtención de aceites no ha variado desde la descripción de la obtención del aceite de oliva por Plinio o la, más antigua, prensa asiria para el aceite de sésamo, hasta las más modernas prensas de tornillo: la presión de la materia prima produce directamente el aceite. Los procedimientos actuales utilizan igualmente disolventes orgánicos y, en ambos casos, el aceite bruto se somete habitualmente a diversas operaciones de refinado.

Antes de proceder a la recuperación del aceite contenido en los órganos vegetales a tratar, se impone un control cuidadoso de la materia prima (elementos extraños, semillas deterioradas, etc.) y normalmente son necesarias operaciones preliminares, bien sean generales (lavado, secado) o específicas: lavado de las aceitunas, eliminación de la pelusa del algodón, descortado del cacahuete, de la soja o del girasol.

• **Extracción por presión.** Generalmente se utilizan prensas de rosca con las que se obtiene mayor rendimiento en aceite que con las antiguas prensas hidráulicas: trabajan a una presión más elevada y, ventaja suplementaria, funcionan continuamente. Antes de ser prensadas, las semillas oleaginosas ricas en proteínas sufren una cocción a 90°C

que libera aceite al romper las estructuras celulares y coagular las proteínas. La cocción suele ir seguida de un secado rápido.

- **Extracción por disolventes.** Este tipo de extracción se puede aplicar tanto a las semillas intactas como a las desengrasadas parcialmente mediante prensado. El disolvente —generalmente hexano (PE: 65°C) —se vierte sobre las semillas limpias, descortizadas y groseramente trituradas. Se recupera así una fase orgánica, disolución del aceite en el disolvente —la miscela— y una harina desengrasada embebida de disolvente. Las instalaciones industriales generalmente funcionan según un esquema de contracorriente. La proporción de recuperación del aceite varía del 95 al 99%.

- **Refinado del aceite bruto.** Los aceites brutos pueden contener agua, ácidos grasos libres, lecitinas, resinas, pigmentos (caroteno, clorofila), esteroides, ceras, sustancias olorosas y sápidas, así como a veces contaminantes externos (pesticidas). El refinado conlleva sucesivamente:

- demucilaginación (degomado). Se hace con el propósito de eliminar las lecitinas, proteínas y otros constituyentes que existen en el aceite en forma de dispersión coloidal. En la práctica se procede a una hidratación en caliente del aceite: los coloides forman un gel denso que se separa del aceite, más ligero. El gel se elimina y el aceite se deshidrata a vacío. En la mayoría de los casos, este tratamiento se reemplaza por inyección de ácido fosfórico al aceite calentado: después de neutralizar con hidróxido sódico precipitan los fosfolípidos;

- neutralización. Los ácidos grasos libres, siempre presentes en el aceite bruto, se neutralizan por hidróxido sódico diluido. El jabón que se forma (*soapstock* = pasta de neutralización) arrastra por adsorción una parte de las impurezas: colorantes, fenoles, esteroides, ceras, trazas metálicas y diversos productos de oxidación. El jabón y el hidróxido sódico en exceso se eliminan tras lavado con agua caliente;

- decoloración: por paso sobre tierras adsorbentes o sobre carbón activo. El agente decolorante se elimina por filtración.

- descerado. Los aceites brutos que contienen muchas ceras (girasol, maíz, algodón, etc.), se liberan de las mismas mediante enfriamiento (winterización): las ceras cristalizadas se eliminan por filtración;

- desodorización. Los aldehídos y cetonas responsables de los olores poco agradables de los aceites brutos se eliminan mediante inyección de vapor de agua en el aceite llevado a elevada temperatura (> 200°C), y vacío.

- **Tratamientos posteriores de los aceites.** Conciernen esencialmente a la industria agroalimentaria: hidrogenación, interesterificación, etc. (margarinería, consultar obras especializadas). En cualquier caso las tortas se recuperan, tratan (se elimina el disolvente) y, llegado el caso se destoxifican. Salvo empleos especiales, se destinan a la nutrición animal.

#### 4. CONTROL DE DROGAS CON LÍPIDOS: ENSAYOS DE ACEITES

##### A. Generalidades

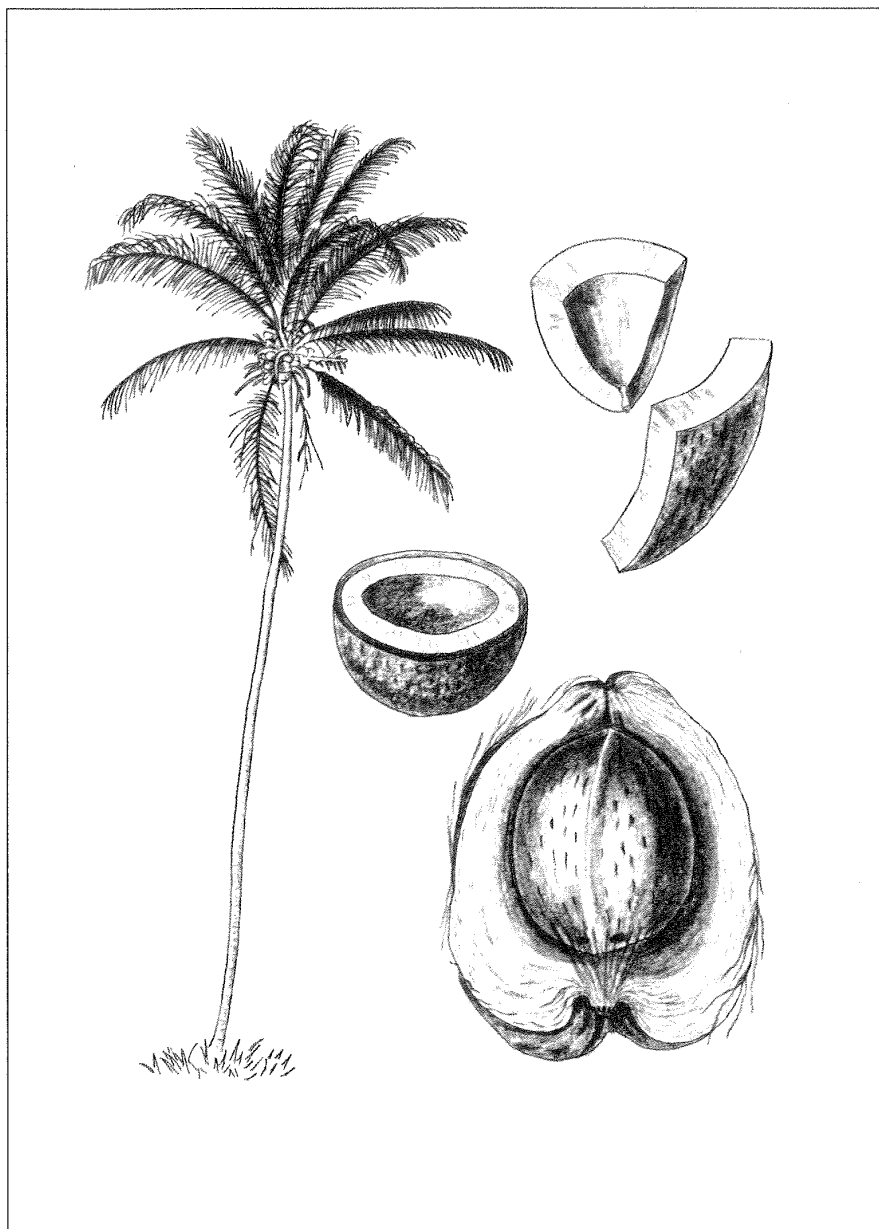
El control de las drogas con lípidos no es diferente del de otras drogas: verificación de la identidad y de la ausencia de falsificaciones, seguida de la determinación del contenido en aceite, constituye lo esencial del ensayo y no presenta importantes problemas\*. En el caso del aceite en sí, el control es más complejo: la evaluación de la pureza pasa obligatoriamente por técnicas analíticas finas que permitan determinar la composición en ácidos grasos, la estructura glicerídica, la composición de la fracción insaponificable. El principio de los métodos empleados se expone y comenta en obras especializadas, los métodos están normalizados (AFNOR, AOCS, ISO) y su aplicación atañe en primer lugar a las industrias agroalimentarias: por lo que no se recordarán aquí más que algunos datos básicos.

- La determinación de la composición en ácidos grasos es fácil; se realiza sobre los ésteres metílicos obtenidos por metilación\*\* después de saponificación o, más directamente, por metanolisis alcalina. Este método es con mucho el más utilizado para el análisis de grasas. En cromatografía isoterma, los ésteres de ácidos grasos se identifican por su «longitud de cadena equivalente», *i.e.* la longitud de la cadena grasa saturada que tendría, en las mismas condiciones de trabajo, el mismo volumen de retención que el ácido graso estudiado. Este valor se deduce de la relación existente entre el logaritmo del volumen de retención reducido y el número de átomos de carbono del ácido graso. El contenido de cada componente se determina por el método de normalización (en porcentaje de la superficie total de todos los picos). Este conocimiento de la composición en ácidos grasos no es siempre suficiente para afirmar la pureza del aceite analizado: serán necesarios análisis complementarios, sobre todo el estudio de «marcadores» que constituyen determinados compuestos de la fracción insaponificable.

- Los principales constituyentes del insaponificable son hidrocarburos saturados e insaturados, alifáticos o tetraterpénicos (carotenos), esteroides, alcoholes triterpénicos, alcoholes grasos, vitaminas (tocoferoles, tocotrienoles). Los esteroides son, bajo el punto de vista analítico, los elementos más interesantes del insaponificable. Están representados generalmente por entre 2 y 5 esteroides mayoritarios normalmente  $\Delta^5$ -esteroides (sitosterol, campesterol, estigmasterol). La composición en esteroides y las relaciones de composición esterídica que pueden deducirse constituyen buenos indicadores de la

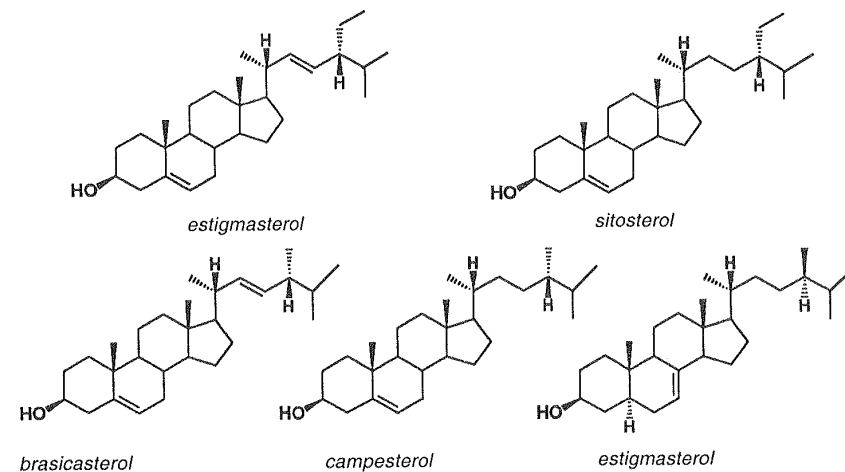
\* En la industria de las oleaginosas, se puede utilizar un método extractivo (determinación del extracto hexánico, [norma NF ISO 659]), o uno por espectrometría de resonancia magnética nuclear de baja resolución y onda continua (norma NF ISO 5511).

\*\* En caso de que el aceite contenga ácidos grasos de cadena corta, es necesario adaptar el método de metilación teniendo en cuenta la volatilidad y la solubilidad de sus ésteres.



***Cocos nucifera* L.**

09/7/7



identidad: ciertos esteroides son específicos (brassicasterol de las Brassicaceae) o, al menos, su contenido es significativo ( $\Delta^7$ -stigmasterol del aceite de girasol o de cártamo [Asteraceae]). En los casos más corrientes, este análisis de esteroides puede permitir la detección de adiciones fraudulentas. Se procede generalmente al análisis de los esteroides y, ocasionalmente, al de los tocoferoles. En los dos casos, es necesario extraer previamente el insaponificable (dióxido de etilo, hexano) y fraccionarlo, lo que se hace fácilmente por cromatografía en capa fina preparativa. La fracción esterólica recuperada se analiza directamente por CG.

- En lo que respecta al estudio de la estructura glicéridica, hay que elegir entre la complejidad del problema (el número de combinaciones posibles entre los ácidos grasos y el glicerol) y la necesidad de trabajar de forma rutinaria; es lo que se hace al determinar una estructura simplificada con la ayuda de los métodos cromatográficos clásicos:

- reparto de los triacilglicéridos por masa molecular (CG);
- separación e identificación de los principales triacilglicéridos por CLAR en fases reversas. La separación de los triacilglicéridos por grupos en función de su insaturación global es interesante para descubrir las adulteraciones de un aceite por otro;
- hidrólisis selectiva y análisis de los 2-monoglicéridos.

- La determinación de diversos índices, exigidos por las farmacopeas, es a veces interesante para la evaluación de la calidad, pero no siempre es significativa: por ejemplo, un aceite peroxidado, *calentado* a más de 120°C tendría un índice de peroxidación muy bajo. En estos casos la medida de la absorbancia es más significativa para detectar los productos originados por la ruptura de los peróxidos (*vide infra*).

## B. Farmacopea y aceites

El control de los aceites inscritos en la Farmacopea europea incluye determinaciones comunes y, llegado el caso, ensayos específicos del aceite considerado: se mencionarán en las correspondientes monografías. Las determinaciones comunes son las siguientes:

### 1. Densidad relativa (2.2.5\*);

**2. Índice de acidez (2.5.1).** Es el número que expresa en miligramos la cantidad de hidróxido potásico necesario para la neutralización de los ácidos libres presentes en 1 g de sustancia. Mide el estado de alteración de un aceite o, en su caso, la calidad del refinado.

**3. Índice de peróxido (2.5.5).** Es el número que expresa en miliequivalentes de oxígeno activo la cantidad de peróxido contenido en 1.000 g de sustancia (determinado por el método descrito en la Farmacopea);

**4. Insaponificable (2.5.7).** Son las «sustancias, no volátiles a 100-105°C, obtenidas por extracción, con un disolvente orgánico, de una disolución de la sustancia a examinar después de saponificación». En la práctica, se extrae una dilución acuosa del medio de saponificación con dióxido de etilo; después de lavados y eliminación del disolvente, el residuo se pesa. Se debe verificar la ausencia de cantidades significativas de ácidos grasos en este residuo (acidimetría);

**5. Aceites extraños en aceites.** Este ensayo se puede realizar por cromatografía en capa fina (2.4.21), pero las monografías que lo exigen (todas menos el aceite de ricino) prescriben efectuar esta investigación por cromatografía en fase gaseosa (2.4.22).

En CCF, se utilizan placas previamente impregnadas por migración de una disolución de parafina en éter de petróleo\*\*. La disolución problema está constituida por la mezcla de los ácidos grasos obtenidos por saponificación, y la disolución testigo está formada por la mezcla de ácidos grasos obtenidos de la saponificación de una mezcla (19-1) de los aceites de maíz y colza. Después de desarrollar el cromatograma, las manchas correspondientes a los ácidos grasos se revelan con vapores de yodo.

El análisis por CG no se realiza sobre el aceite sino sobre los ésteres metílicos de los ácidos grasos que lo constituyen (metilación por reflujo bajo nitrógeno en metanol anhidro en medio alcalino, seguida de extracción con heptano de los ésteres de los ácidos grasos). Se opera comparando con una disolución testigo de ésteres metílicos y

\* Las cifras remiten a los párrafos de la 3.ª edición de la Farmacopea europea.

\*\* Frecuentemente se utilizan capas de sílice impregnadas de una disolución acuosa de nitrato de plata: la interacción entre los iones  $\text{Ag}^+$  y los dobles enlaces permiten una buena resolución de los ácidos grasos insaturados (mono-, di-, y trienos, Z y E, etc.).

el cromatograma se somete a una doble evaluación: cualitativa (curva de calibración, longitud de la cadena equivalente) y cuantitativa (integración). Para cada monografía, la Farmacopea precisa los contenidos mínimos y/o máximos de los ácidos grasos normalmente contenidos en el aceite considerado. Se puede también trabajar a temperatura programada lineal.

### 6. La mayoría de las monografías requieren además la determinación de:

- impurezas con reacción alcalina (2.4.19): neutralización de una disolución acetónica de aceite en presencia de azul de bromotimol;

- índice de refracción (2.2.6);

- índice de saponificación (2.5.6). Es el número que expresa en miligramos la cantidad de hidróxido potásico necesaria para la neutralización de los ácidos libres y la saponificación de los ésteres presentes en 1 g de sustancia\*. Este índice es tanto mayor cuanto más cortas sean las cadenas grasas de los ácidos que componen los triacilglicerol;

- contenido en agua (2.5.12), cuando los aceites se destinan a la preparación de formas farmacéuticas administradas por vía parenteral; se determina por semimicrovaloración y debe ser inferior a un límite fijado en cada monografía (0,05, 0,1 o 0,3%). Se advierte además que los valores límite de los índices de acidez y peróxido son más bajos en el caso de aceites destinados a la vía parenteral.

- esterol (2.4.23). Después de aislar el insaponificable (2.5.7) y separar la fracción esterólica por CCF preparativa (2.2.27), esta se sililea y posteriormente se analiza por CG (2.2.28). Los picos se identifican por comparación con testigos (insaponificables de los aceites de colza y de girasol); un testigo interno (betulina = lup-20(29)-eno-3 $\beta$ ,28-diol) permite la valoración de los diferentes constituyentes.

**7. En algunos casos la Farmacopea exige igualmente la medida de la absorbancia (2.2.25):** los dienos conjugados y las alquenonas originadas en la descomposición de los peróxidos absorben respectivamente a 232 y 270 nm: se determinará la relación  $A_{232}/A_{270}$  (aceite de oliva) o, simplemente, la absorbancia hacia 270 nm (aceite de «huesos», aceite de oliva refinado p.p.i., aceite de ricino)\*\*.

\* Se puede por lo tanto deducir, si es necesario, el índice de éster que es igual a la diferencia entre el índice de saponificación y el índice de acidez. El índice de saponificación se puede determinar asimismo por reflectancia en el infrarrojo cercano.

\*\* En el caso de la relación  $A_{232}/A_{270}$ , ésta debe ser superior a un valor básico (cuanto mayor es la descomposición, más aumenta el contenido en productos secundarios de la oxidación). En el caso de una única medida a 270 nm, el valor debe ser inferior a un valor límite publicado. La oxidación de los aceites en contacto con el aire origina aldehídos: esto explica que se pueda, si es necesario, apreciar el estado de oxidación determinando el índice de anisidina (formación de derivados coloreados por la reacción de los aldehídos con la p-anisidina).

La determinación de otros índices clásicos (índice de yodo, de hidroxilo\*), como por otra parte el ángulo de rotación óptica (2.2.7), sólo se exige para el aceite de ricino (por el hecho de su particular composición).

La determinación de la composición en triglicéridos por CLAR (2.2.29) sólo se exige actualmente para el aceite de sésamo.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- AFNOR (1993). Recueil de normes françaises. Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés, 5<sup>e</sup> éd., Afnor, Paris.
- Dacosta, Y. (1998). La supplémentation nutritionnelle par les acides gras oméga-3, Lavoisier Tec et Doc, Paris.
- Haumann, B.F. (1997). Mechanical Extraction - Capitalizing on Solvent-free Processing, *INFORM*, 8 (2), 165-174.
- Karleskind, A., éd. (1992). Manuel des corps gras, 2 vol., Lavoisier - Tec et Doc, Paris.
- Wolff, J.-P. (1991). Analyse et dosage des lipides, in « Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires », (Multon, J.-L., éd.), vol. 4, p. 157-199, Lavoisier - Tec et Doc, Paris.
- Lie Ken Jie, M.S.F., Pasha, M.K. et Syed-Rahmatullah, M.S.K. (1997). Fatty Acids, Fatty Acid Analogues and their Derivatives, *Nat. Prod. Rep.*, 14, 163-189.

\* Índice de yodo (2.5.4): es el número que expresa en gramos la cantidad de halógeno, calculada en yodo, susceptible de fijarse, en condiciones precisas, a 100 g de sustancia. Permite la evaluación de la insaturación global de la sustancia grasa. Índice de hidroxilo (2.5.3): es el número que expresa en miligramos la cantidad de hidróxido potásico necesario para la neutralización del ácido que se combina por acilación a 1 g de sustancia (aplicable, entre otros, al aceite de ricino).

## Lípidos: aceites vegetales

1. Aceites que son objeto de monografía en la Farmacopea (europea o francesa) .....	138
aceite de almendra .....	138
aceite de cacahuete .....	139
aceite de maíz .....	142
aceite de «huesos» .....	142
aceite de oliva .....	143
aceite de ricino .....	144
aceite de sésamo .....	146
aceite de soja .....	148
lecitinas de soja .....	149
otros emulsificantes .....	150
2. Aceites de uso frecuente en alimentación .....	150
aceite de colza .....	150
aceite de girasol .....	152
3. Otros aceites alimenticios .....	153
aceites de Palmae .....	153
4. Aceites diversos .....	156
A. Aceites con ácido $\gamma$ -linolénico .....	156
aceite de onagra .....	157
aceite de borraja .....	159
B. Sapotaceae con aceites .....	159
5. Insaponificables y compuestos relacionados .....	160
A. Insaponificables: aguacate .....	160
B. Insaponificables: tocoferoles .....	160
C. Compuestos relacionados con los insaponificables .....	161
ciruelo de África .....	161
palmera de Florida .....	163
6. Bibliografía .....	165