

## Tesis de Posgrado

# Contribución al estudio de los maices dulces

Graells, Rosa Susana

1947

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química  
de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Graells, Rosa Susana. (1947). Contribución al estudio de los maices dulces. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0479\\_Graells.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0479_Graells.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Graells, Rosa Susana. "Contribución al estudio de los maices dulces". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1947.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0479\\_Graells.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0479_Graells.pdf)

Universidad de Buenos Aires

Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales

CONTRIBUCION A L ESTUDIO  
DE LOS MAICES DULCES

Rosa Susana Gralls

*Tesis 279*

TESIS

Para optar al título de Doctor en Química

1947

Agradezco al Dr. Ventura Morera su constante ayuda durante la realización del presente estudio, efectuado por su indicación.

Deseo también expresar mi agradecimiento al Dr. Emilio Calderón por sus consejos y guía en la investigación cualitativa de azúcares.

Me es particularmente grato dejar constancia de mi reconocimiento al Ing. Agr. S. Horovitz, Director del Instituto Fitotécnico de Santa Catalina y al Ing. Agr. A. H. Marchioni - quien tiene a su cargo la Sección mejoramiento de maíces, por su amplia y generosa cooperación, que hizo posible la realización del presente trabajo.

## INTRODUCCION

La realización del presente estudio nos fué sugerida por el Sr. Ventura Morera, como una contribución de detalle a estudios más amplios, que actualmente se están realizando sobre este tema.

Es sabido que los métodos de la Genética (1) permiten variar los rendimientos de las plantas en determinados productos (2) así como modificar ciertas propiedades de las mismas.

La aplicación de estas técnicas ha permitido realizar en nuestro país interesantes estudios, obteniendo maíces "amargos para la langosta" (3) (4) (5) o bien maíces "superazucarados" para el consumo humano (6) mediante el empleo sistemático de dichos métodos genéticos.

El empleo práctico de los métodos genéticos, en escala cada vez más amplia, permite preveer para esa ciencia posibilidades insospechadas para el progreso económico del país.

Nuestro estudio fué iniciado dosificando los azúcares reductores y totales, contenidos en diversas muestras de granos de maíces comunes, así como de maíces azucarados y "superazucarados" provenientes de plantas cultivadas en el Instituto Fitotécnico de Santa Catalina.

En el cultivo y selección de las muestras examinadas contamos con la ayuda y valioso consejo del Ing. Agr. S. Horovitz, director del establecimiento y del Ing. Agr. A. Marchioni, quien tiene a su cargo la Sección mejoramiento de maíces, así como de otros colaboradores que forman parte de dicho Instituto.

Posteriormente se amplió el estudio a otras partes de la plan

## INTRODUCCIÓN

ta examinando marcos y tallos de las mismas "líneas" (1), cuidadosamente seleccionadas por los técnicos arriba citados. Algunas de estas "líneas" fueron especialmente cultivadas y mantenidas en invernáculo, con destino al presente trabajo.

Diversos autores han publicado datos referentes a maíces agucarados (7). También en nuestro país se han dado a conocer algunos estudios sobre el tema, dedicados en su mayoría a estudios genéticos sobre mutaciones incluyendo valoraciones de glúcidos en granos (6).

(1). Denomínase línea a la planta o individuo puro, que se mantiene al estado homocigota para un determinado carácter.

CONTENIDO EN AZUCARES EN GRANOS DE MAICES

En 1821, Gorhan (7) determinó los carbohidratos existentes en el maíz común, obteniendo los siguientes resultados: azúcares 1,59 %; gomas 1,92%; "fibra" 3,30%; almidón 84,6%. Estas cifras de simple interés histórico, fueron consideradas en los últimos años como poco aceptables, a pesar de que están seguramente más cerca de la verdad que las que obtuvo Archbold (8) (7) : agua 11,20%; gomas y azúcares 2,9 %; celulosa 16,4% y almidón 54,8%.

La presencia de sacarosa en el maíz fué demostrada por Washburn y Tollens (9) (7) quienes obtuvieron una cantidad de esta sustancia cristalizada del maíz común, equivalente a 0,08% y del grano de maíz dulce 0,52 %.

Según Winton (7) estos datos no representan la totalidad de la sacarosa realmente presente en el grano.

Por métodos exactos de análisis otros autores encontraron en el maíz dulce 2,26% de sacarosa y 1,47% de azúcar invertido o sea en total 3,73%, pero en el grano de maíz común el total de azúcar es comúnmente próximo al 1%.

En la estación experimental de Massachusetts fueron examinadas 27 muestras de maíz dulce siguiendo métodos de Washburn y Tollens habiendo obtenido los siguientes resultados: sacarosa, 0,78 a 5,6 %, promedio 3,51 %; azúcar invertido, de 0,69 a 2,93 %, promedio 1,76 % y azúcar total 2,87 a 8,53 %, promedio 5,27 %.

Stone (10) (7) halló las siguientes cantidades en el maíz común: sacarosa 0,24 %; ausencia de azúcar invertido; dextrina 0,28 %; pentosanos 4,99 % y "fibra" 1,93 %.

Sus datos de pentosanos son más bajos que los previamente dados (11) (7) para el salvado, que es el asiento principal de estos hi-

dratos de carbono. Tollens y Flint (12) (7) encontraron más tarde 38 % en este material.

Porst (13) (7) determinó pentosanos y metilpentosanos en las diferentes partes del maíz Kernel. El maíz usado estaba constituido por endosperma 85,7 %; germen 7,5 %; envoltura 6,8 %. Los porcentajes de metilpentosanos en estas distintas porciones (calculadas sobre sustancia seca) fueron: endosperma 1,45 % y 0,74 %; germen 0,63 y 0,02 %; envoltura 3,31 y 0,41 % respectivamente.

En los productos y subproductos del maíz encontró los siguientes porcentajes de pentosanos y metilpentosanos

	Pentosanos	Metilpentosanos
Harina del germen	11,43	0,57
Torta aceitosa	23,00	0,85
Harina del gluten	4,06	0,50
Afrecho	30,96	2,79
Grano soluble	1,74	0,46
"Gluten feed"	18,58	1,21
Almidón verde	0,98	1,40
Almidón alimenticio	0,48	1,21
Jarabe de maíz	0,78	0,90
Azúcar anhidra	0,72	1,18
"Bread sugar"	0,66	0,98
"Hydrol"	0,86	1,79

Como resultado de sus trabajos Kedzie (14) y Collier (15) presentaron el siguiente cuadro:

	Muestras	Azúcares %	Gomas %	Almidón %
<b>DENT</b>				
Wedzie	8	3,59-2,31	5,38-2,18	62,94-58,05
Collier	3	2,75-1,95	2,80-1,73	70,81-64,07
<b>FLINT</b>				
Wedzie	4	3,78-2,4	6,16-1,21	63,50-57,47
Collier	17	2,87-1,74	3,18-1,37	69,65-62,26
<b>DULCE</b>				
Collier	7	6,77-4,8	22,65-14,5	46,08-39,46

Es interesante observar la diferencia respecto a su contenido en carbohidratos que presentan los maíces comunes (Dent y Flint) y los maíces dulces.



INFLUENCIA DE DIVERSOS FACTORES EN EL CONTENIDO DE AZUCARES

(Humedad-Luz-Estaciones)

Straugh y Church (7) realizaron durante 4 años, sucesivas determinaciones del contenido de azúcares y agua en maíces dulces obteniendo los siguientes datos

	A G U A				AZUCARES TOTALES			
	1905	1906	1907	1908	1905	1906	1907	1908
<b>CROSBY</b>								
Florida	----	67,11	72,11	68,79	----	5,01	5,57	4,99
South Carolina	65,84	76,77	74,27	76,72	2,72	4,73	7,25	5,16
Maryland	-----	-----	76,79	75,14	----	5,01	5,40	----
Conneticut	73,01	65,26	71,19	70,12	7,73	4,23	4,83	4,66
Maine	79,30	47,85	-----	72,72	6,50	5,66	----	4,66
<b>Stowell's Evergreen</b>								
South Carolina	75,54	70,27	37,08	75,50	6,68	4,99	4,95	4,41
Maryland	78,13	72,34	80,59	77,92	5,73	3,77	4,83	5,20
New Jersey	69,28	-----	-----	-----	4,66	----	----	-----
Conneticut	74,62	72,28	78,20	70,91	5,36	3,92	3,59	2,92

En general se observa que los promedios de azúcar contenido en el maíz son más altos en el Sud que en el Norte, aunque resultan de inferior calidad, pues el maíz del Norte es más tierno y más comestible por un período más largo.

Wiley (7) por la observación del cuadro anterior deduce que la cantidad de lluvias, es el factor más importante entre los que afectan la calidad. Un exceso, así como una deficiencia, pueden ser igualmente perjudiciales.

El contenido en azúcares no parece depender mucho de la temperatura ni de la longitud del día como ocurre en otras plantas, tales

como en la remolacha.

Culpepper y Magoon (16) (7) en sus estudios sobre el maíz, llegaron a la conclusión que el porcentaje de azúcares totales contenidos en el maíz dulce, aumenta a partir de los 15 días de formación de la "barba" y luego disminuye.

Observaron que al principio las cifras correspondientes a los azúcares reductores eran elevadas y las de los no reductores bajas, pero luego se invierte el orden.

Ambos tipos de azúcares y los polisacáridos solubles, aumentan durante el desarrollo, estando estos últimos presentes en el maíz dulce, en una cantidad mucho mayor que en el Field-corn.

Culpepper y Magoon publicaron el cuadro siguiente, como resultado del estudio de la influencia del factor estación en el contenido en carbohidratos de un maíz dulce.

	Plantado en abril 28				Plantado en junio 7				Plantado en julio 28			
	Azúcares		Polisacar.		Azúcares		Polisacar.		Azúcares		Polisacar.	
	Red.	No Red.	Tot.	Sol.	Red.	No Red.	Tot.	Sol.	Red.	No Red.	Tot.	Sol.
5	3,36	1,21	1,62	0,06	3,8	1,16	2,42	0,13	3,30	0,96	1,65	0,06
10	3,91	1,65	1,88	0,15	3,68	1,76	2,40	0,40	3,25	0,87	1,76	0,17
15	2,28	4,56	7,97	3,32	1,84	4,44	7,98	3,32	3,31	1,23	1,79	0,08
20	1,25	3,63	10,79	8,68	1,12	3,86	16,61	8,08	3,45	1,96	2,26	0,78
25	0,66	2,48	23,19	12,63	0,81	2,83	22,17	10,96	2,66	4,27	4,59	1,89
30	0,59	1,47	30,58	15,83	0,70	2,26	29,50	13,92	2,19	4,85	8,14	3,01
35									1,81	4,16	11,42	5,57
40									1,26	3,24	15,92	7,49
50									0,97	2,15	20,37	10,07
60									0,98	1,60	2,27	11,60

## Influencia del almacenamiento

Appleman y Arthur (17) (7) en experiencias sobre el grado de deterioración del maíz dulce después de la cosecha encontraron que la pérdida de azúcar era rápida al principio haciéndose luego más lenta, hasta que quedaban alrededor del 18 % de azúcares totales y 30 % de sacarosa.

La disminución de azúcar es atribuida a un aumento de almidón. La pérdida de anhídrido carbónico por la respiración durante 24 horas (a 30° ) corresponde a una pérdida de solo 1452,8 grs. por tonelada o sea el 0,14 %.

Appleman (18) (7) encontró que la actividad de la catalasa del jugo de maíz dulce, así como en la papa, es un índice del grado de respiración, el cual es alto cuando el maíz es recientemente recogido.

## P A R T E    E X P E R I M E N T A L

Para la determinación de los azúcares presentes en los granos de maíz de los distintos tipos analizados se utilizó la técnica recomendada por la A.O.A. C. (19) sobre porciones de 10 g.

Una vez obtenida la solución se realizó la investigación cualitativa y cuantitativa de los azúcares contenidos en la misma.

Para la investigación cualitativa se aplicó la marcha de investigación de glúcidos del Dr. Emilio Calderón (20). Existen otras marchas como las de W.E. Miltzer (21) y la de Wattiez y Sternon (22).

Para la investigación cuantitativa se empleó el método Fehling-Cause Bonnans (modificación de la Oficina Química Nacional).

Primeramente se determinaron azúcares reductores, luego los azúcares totales, para lo cual se invirtió previamente con ácido clorhídrico utilizando la técnica dada por Villavecchia (23).

### TECNICA DE LA A.O.A.C.

#### Preparación de la muestra

Holer la muestra y pasar esta por un cedazo. Si la muestra se presenta en terrones reducirla al tamaño más fino posible.

#### Eliminación de la humedad

Se efectúa por calentamiento durante una hora a 130° C hasta constancia de peso.

#### Preparación de la solución para la investigación de los azúcares presentes:

Tomar 10 g. de material en un matraz aforado de 250 ml. Si la

sustancia tiene reacción ácida, agregar 1 a 3 g. de carbonato de calcio para neutralizar la acidez.

Agregar 125 ml. de alcohol al 50 %, mezclar bien y hervir sobre un baño maría por una hora, usando un pequeño refrigerante en el cuello del matraz, donde se condensa el vapor.

Dejar enfriar la mezcla y mantenerla en reposo durante unas horas, preferiblemente durante la noche.

Llevar a volumen con alcohol neutro del 95%, mezclar bien y dejar decantar.

Pipetear 200 ml. de la solución en el interior de un vaso de precipitados y evaporar sobre un baño maría hasta un volumen de 20-30 ml. (No evaporar a sequedad).

Trasladar a un matraz aforado de 100 ml. y lavar el vaso con agua añadiendo el agua de lavado al contenido del matraz. Se agrega luego solución saturada neutra de acetato de plomo (aproximadamente 2 ml.) que produce un precipitado floculento, se agita bien y se deja en reposo durante 15 minutos.

Diluir hasta la marca con agua, mezclar bien y filtrar mediante un filtro seco.

Al filtrado se agrega suficiente cantidad de carbonato de sodio anhidro u oxalato de potasio para precipitar el plomo añadido en exceso. Luego se filtra mediante un papel de filtro seco y se ensaya el filtrado con un poco de carbonato de sodio anhidro u oxalato de potasio para asegurarse de que todo el plomo ha sido eliminado.

Sobre esta solución se realizaron las determinaciones cuali y cuantitativas de los azúcares presentes.

## INVESTIGACION CUALITATIVA DE AZUCARES EN LOS GRANOS DE MAIZ

Para la investigación de azúcares contenidos en el grano de maíz aplicamos a la solución de los mismos, obtenida según técnica de la A.O.A.C. la marcha de investigación de glúcidos de los autores ya citados (20) (21) (22) obteniéndose solamente resultado + en las reacciones en que se investigó la presencia de glucosa y sacarosa.

## VALORACION DE LOS AZUCARES CONTENIDOS EN LOS GRANOS

Se efectuó mediante el método de Fehling-Cause Bonnans (Modificación Oficina Química Nacional).

En un vaso Erlenmeyer de 250 ml. se colocan 15 ml. de reactivo de Fehling-Cause Bonnans) y 50 ml. de agua destilada, se calienta y cuando la solución comienza a hervir, se vierte por medio de una bureta, gota a gota, la solución de azúcares, cuidando no interrumpir la ebullición.

Cuando el reactivo toma una coloración verdosa, se agregan 3 gotas de azul de metileno (So. 1 %) como indicador y se continúa agregando la solución a titular hasta desaparición del color azul.

Previamente a esta determinación se comprobó el título del reactivo de Fehling-Cause Bonnans con una solución valorada de azúcar invertido al 5 por mil, usando el mismo indicador y trabajando en las mismas condiciones en que se efectuaron los ensayos.

## PREPARACION DE LOS REACTIVOS

### Fehling-Cause Bonnans

Disolver separadamente en agua destilada:

Sulfato de cobre ( $SO_4Cu. 5H_2O$ )	23,65 g.
Sal de Seignette	133,37 g.
Hidróxido de sodio	116,66 g.
Ferrocianuro de potasio	16,66 g.

A la solución de sal de Seignette se agrega primero el hidróxido de sodio, luego el sulfato de cobre y finalmente el ferrocianuro de potasio. Se completa con agua destilada hasta 1 litro.

#### Solución de azúcar invertido al 5 por mil

Pesar 2,37 g. de sacarosa pura y secar a  $70^{\circ} C$  y disolverla en 37,5 ml. de agua destilada. Agregar 5 ml. de ácido clorhídrico (2,5 ml. de  $ClH$  de  $d_4$  1,19 g/c.c. más 2,5 ml. de agua destilada).

Colocar un termómetro en la solución e introducirla en un baño llevado a  $70^{\circ} C$ . Cuando el termómetro marca  $67^{\circ} C$ , contar 5 minutos (La temperatura subirá hasta  $69,5^{\circ} C$ ). Colocar en agua a  $20^{\circ} C$  durante media hora, neutralizar con hidróxido de sodio al 20 % hasta reacción ligeramente ácida (al tornasol). Agregar 10 g. de fenol y pasar a un balón aforado de 500 ml. completando a volumen con el líquido de lavado. La solución observada a  $20^{\circ} C$  en el polarímetro, usando tubo de 20 cm., debe desviar entre  $0^{\circ}, 19$  y  $0^{\circ}, 20$

#### Solución de azul de metileno

Azul de metileno .....	1 g
Agua c.s .....	100 ml.

#### INVERSIÓN DE LA SACAROSA

Para la inversión de la sacarosa aplicamos la técnica indica-

da por Villavecchia (23).

### Técnica

En un matraz aforado de 100 ml. se coloca la solución de sacarosa a invertir, se agrega luego 5 ml. de ácido clorhídrico de  $d: 1,19 \text{ g/c.c.}$ , se agita, se introduce un termómetro en el líquido y se coloca el matraz en un baño maría calentado a  $70^\circ \text{ C}$ . Cuando la temperatura de la solución a subido a  $67-70^\circ \text{ C}$  se mantiene a esa temperatura durante 5 minutos agitando frecuentemente, (en total 10 minutos). Transcurrido el tiempo prescripto se enfría el matraz bajo un chorro de agua y se neutraliza casi completamente la acidez con hidróxido de potasio. Llevar a volumen con agua destilada.



CUADRO N° 1DETERMINACION DE AZUCARES EN GRANOS DE MAIZ

N°	MUESTRA	AZUCARES REDUCTORES ANTES DE INVERTIR (°)	AZUCARES REDUCTORES DESPUES DE INVERTIR
	<u>Maíces azucarados</u>		
1	N° AxC 443106 x 443107	1,38	4,88
2	N° AxC 453139 x 453140	2,11	7,2
3	N° 45119 A (2)	2,4	7,6
	<u>Maíces "superazucarados"</u>		
4	N° 4403052	1,86	6,06
5	N° 4403057	2,23	8,08
6	N° 452057 x 5 21x11-45	0,83	5,3
7	N° 453136 A (1)	3,44	11,0
8	N° 453163 (4) x XII 27-45	1,71	6,54
9	N° 453166 (7) x 453166 (9) XII 5-45	3,52	9,3
0	N° 453154 (6) + (9)	2,54	9,0
1	N° 453134 (A) (1)	Vestigios	5,26
2	N° 4503001 (7)	1,0	5,8
3	N° 453114 A (1) + A (2)	1,66	6,3
4	N° 453157 A (1) + 6	2,69	7,0
5	N° 453107 A (1)	1,18	5,27
6	N° 453115 A (1) A (2)	0,96	6,02
7	N° 453138 A (1) x)	3,32	6,86
8	N° 453115 A (3)	1,8	7,3
	<u>Maíces colorados comunes</u>		
	Colorado Klein (promedio de 3 determinaciones)	Vestigios	1,22

(°) Los resultados están expresados como azúcar invertido.

Las diferencias observadas entre nuestros datos - respecto de los maíces superazucarados - y los obtenidos en el Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, en años anteriores, pueden deberse a múltiples causas, entre las cuales se pueden citar: momento de cosecha, humedad y temperatura del año en que se cosecharon, ataque por hongos, etc.

Debe tenerse en cuenta que el cultivo del maíz superazucarado tiene el problema intrínseco del ataque por hongos, favorecido por su alto contenido en azúcares.

Otra causa de las diferencias observadas puede residir en el empleo de diferentes métodos de valoración, (método de Shoerl, iedométrico, y método de Fehling-Cause Bonnans, respectivamente.

## DETERMINACION DE AZUCARES EN VARLOS DE MAIZ

Algunas dosificaciones aisladas realizadas en varlos de maíces superazucarados acusaron cifras próximas a 2,2 % de azúcares totales. Convendría ampliar este estudio efectuando valoraciones en los maíces dulces y otros.

## DETERMINACION DE AZUCARES EN EL JUGO DE TALLO DE MAIZ

Curva del contenido de azúcares en el jugo de tallos de maíz durante su desarrollo.

Con anterioridad a la iniciación de nuestro trabajo, el Dr. V. Morera había realizado valoraciones de azúcares en tallos de maíces comunes y azucarados - cultivados en Magdalena y San Isidro- obteniendo cifras relativamente elevadas, que en algunos casos alcanzaban a 8,8 y 9 % (calculados sobre el jugo recién extraído de maíces maduros).

En vista de los resultados citados, se creyó conveniente ampliar este estudio siguiendo el desarrollo de diversos maíces durante su crecimiento, mediante determinaciones periódicas de los azúcares, contenidos en el jugo extraído del tallo.

Las determinaciones fueron realizadas con intervalos aproximadamente a diez días utilizando jugos de diferentes tipos de maíz, extraídos por presión.

Para la extracción de los jugos, debió emplearse primeramente una morsa existente en el taller mecánico del Instituto Fitotécnico de Santa Catalina. Luego se utilizó un trapiche perteneciente al Dr. V. Morera que nos fué cedido para la realización de esta faz de nuestro trabajo.

Dicho trapiche consta de dos cilindros giratorios de hierro acanalados (que pueden ser movidos a mano o mecánicamente) el cual nos

permitió la extracción de mayores cantidades de jugo. Algunos de los jugos obtenidos, poseen un intenso sabor dulce.

Esta parte del trabajo se realizó siempre por la mañana, inmediatamente después de ser cortadas las cañas de maíz, trasladando los jugos en frascos de vidrio, procediéndose de inmediato a efectuar los análisis.

Para la determinación de azúcares se siguió la siguiente técnica:

#### Técnica:

En una probeta graduada de 50 ml. provista de tapa de vidrio esmerilada, se colocan 25 ml. de jugo. Se añaden 2,5 ml. de acetato básico de plomo y se agita enérgicamente. Se deja descansar unos minutos y luego se lleva a volumen (50 ml.) con agua destilada. La formación de espuma característica de la precipitación de proteínas, puede molestar al llevar a volumen. Es conveniente en este caso el empleo de un atomizador con eter que produce la desaparición de la espuma. Se filtra en filtro seco y se elimina el exceso de plomo en el filtrado con carbonato de sodio anhidro. Se filtra nuevamente por filtro seco y en el líquido obtenido se realiza la determinación de azúcares reductores.

Con una parte del mismo, previa inversión con ácido clorhídrico se realiza la determinación de azúcares totales, siguiéndose en ambos casos, el método de Fehling-Cause Bonnans (modificación de la Oficina Química Nacional).-

CUADRO N° 2CONTENIDOS DE AZUCARES EN TALLOS DE DIVERSOS MAICES

FECHA	MUESTRA	AZUCARES REDUCTORES ANTES DE INVERTIR (')		AZUCARES REDUCTORES DESPUES DE INVERTIR (')	
		g. en 100 ml.		g. en 100 ml.	
<u>Maíces sin fecundar</u>					
13/Nov/46	N° 460639 (A)	1,5		2,08	
13/Nov/46	N° 460641 (B)		1,89		2,92
13/Nov/46	N° 460642 (C)		1,3		1,88
23/Nov/46	N° 460639 (A)	1,44		2,65	
23/Nov/46	N° 460641 (B)		4,3		8,82
23/Nov/46	N° 460642 (C)		1,48		5,9
3/Dic/46	N° 460639 (A) (*)	1,42		9,87	
3/Dic/46	N° 460640 (B)		1,41		11,50
3/Dic/46	N° 460642 (C)		1,33		4,0
12/Dic/46	N° 460639 (A)	1,18		7,6	
12/Dic/46	N° 460640 (B)		0,54		11,8
12/Dic/46	N° 460642 (C)		0,58		9,6
23/Dic/46	N° 460639 (A)	1,28		8,1	
23/Dic/46	N° 460641 (B)		0,61		5,62
23/Dic/46	N° 460642 (C)		1,01		11,25
<u>Maíces fecundados</u>					
12/Dic/46	N° 460641 (D)	3,08		5,68	
12/Dic/46	N° 460642 (E)		0,46		1,66
23/Dic/46	N° 460641 (D)	2,98		6,3	
23/Dic/46	N° 460642 (E)		1,9		6,9
7/En./47	N° 460641 (D)	1,5		11,56	
7/En./47	N° 460642 (E)		2,61		9,81
14/En./47	N° 460641 (D)	1,5		10,8	
14/En./47	N° 460642 (E)		3,37		6,8

(A): maíz "superazucarado"; (B): maíz azucarado; (C): maíz colorado común

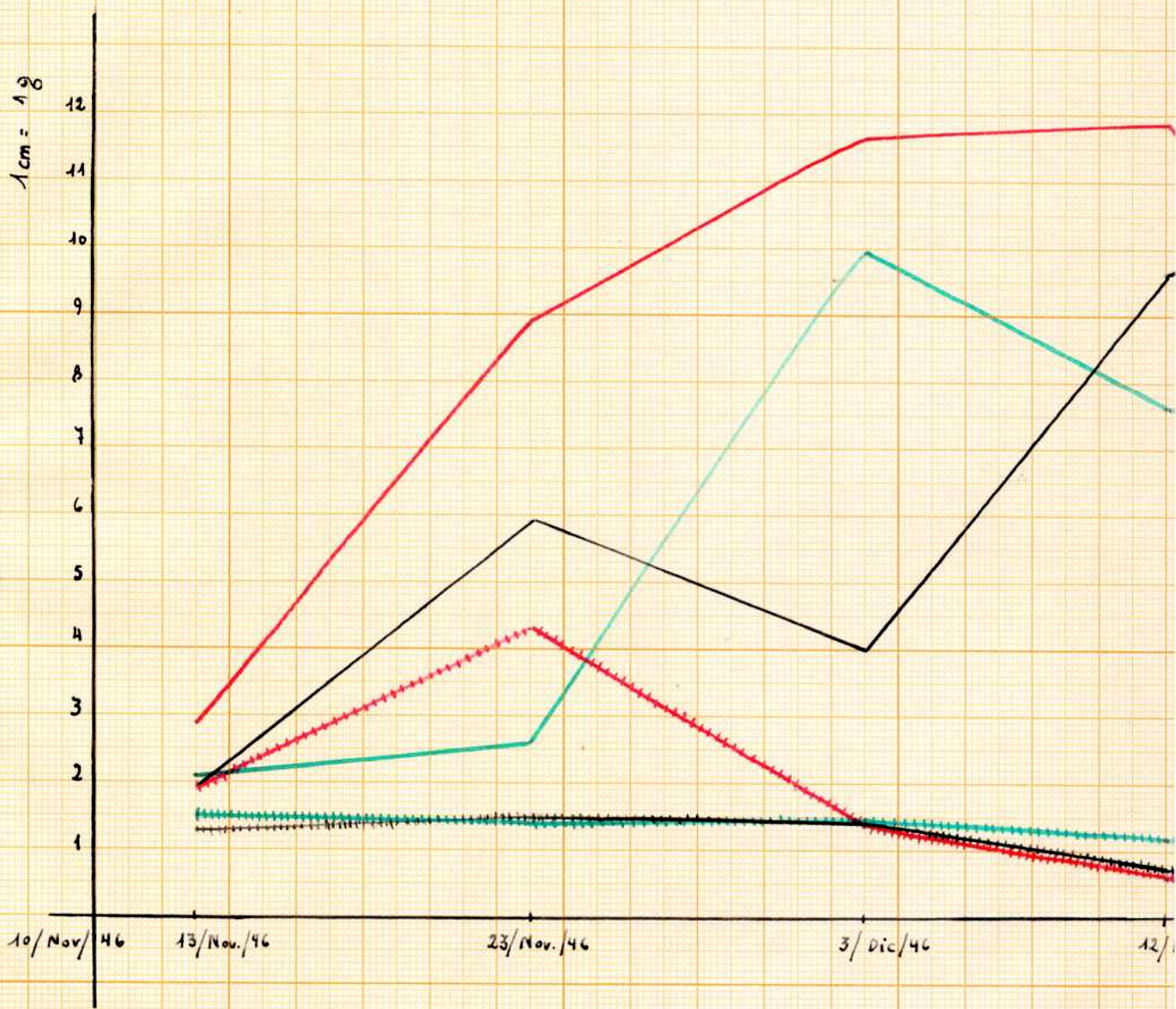
(D): maíz azucarado; (E): maíz colorado común

(') Los resultados están expresados como azúcar invertido

(\*) A partir de este momento se autofecundó

# Variaciones del contenido en azúcares en el jugo de tallo

no fecundados durante su desarrollo

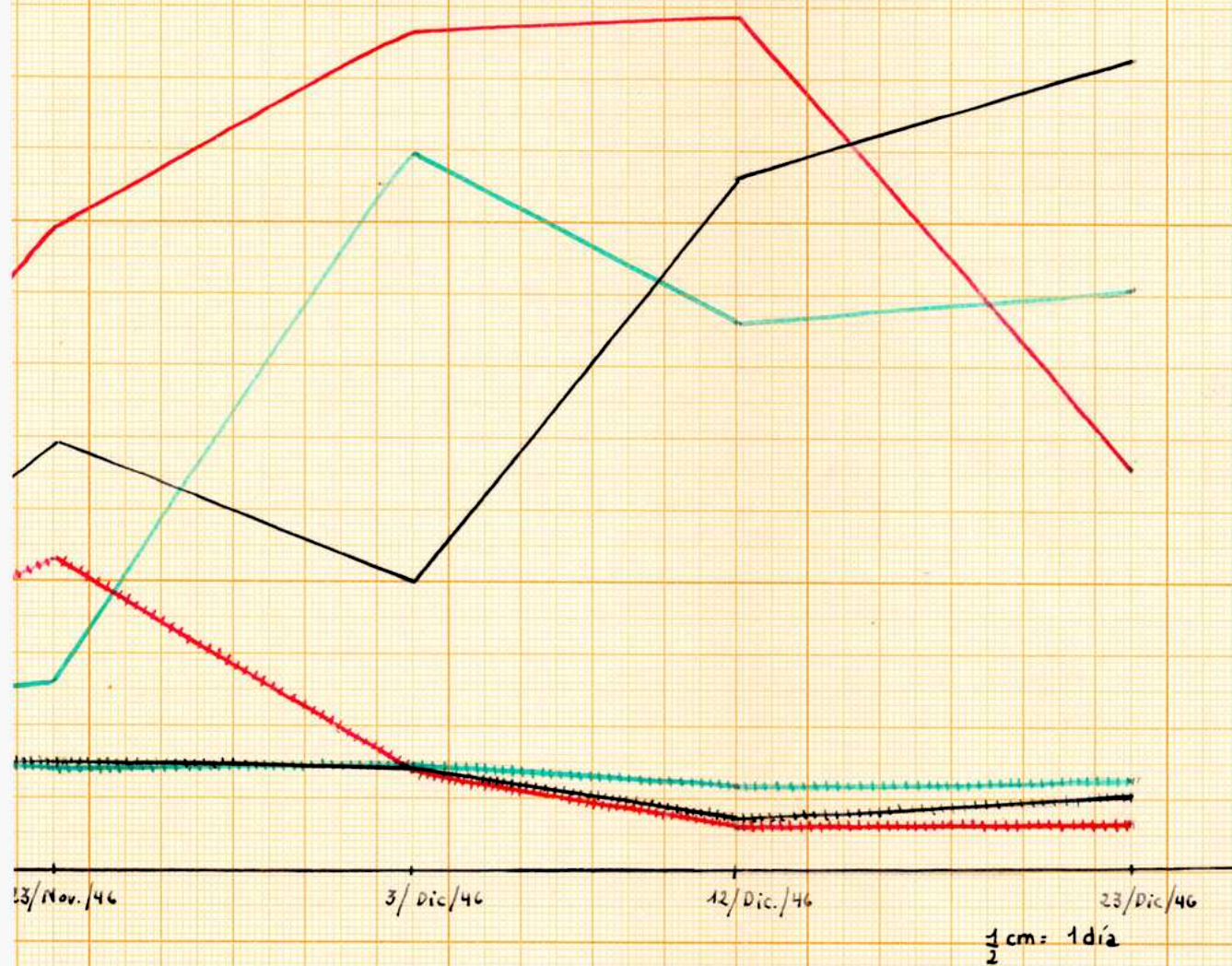


abscisa : días  
ordenada : g / 100 ml

- Nº 460642 } +-----+ Azúcares reductores antes de inversión  
maíz colorado común } ————— Azúcares reductores después de inversión
- Nº 460641 } +-----+ Azúcares reductores antes de inversión  
maíz azucarado } ————— Azúcares reductores después de inversión
- Nº 460639 } +-----+ Azúcares reductores antes de inversión  
maíz superazucarado } ————— Azúcares reductores después de inversión

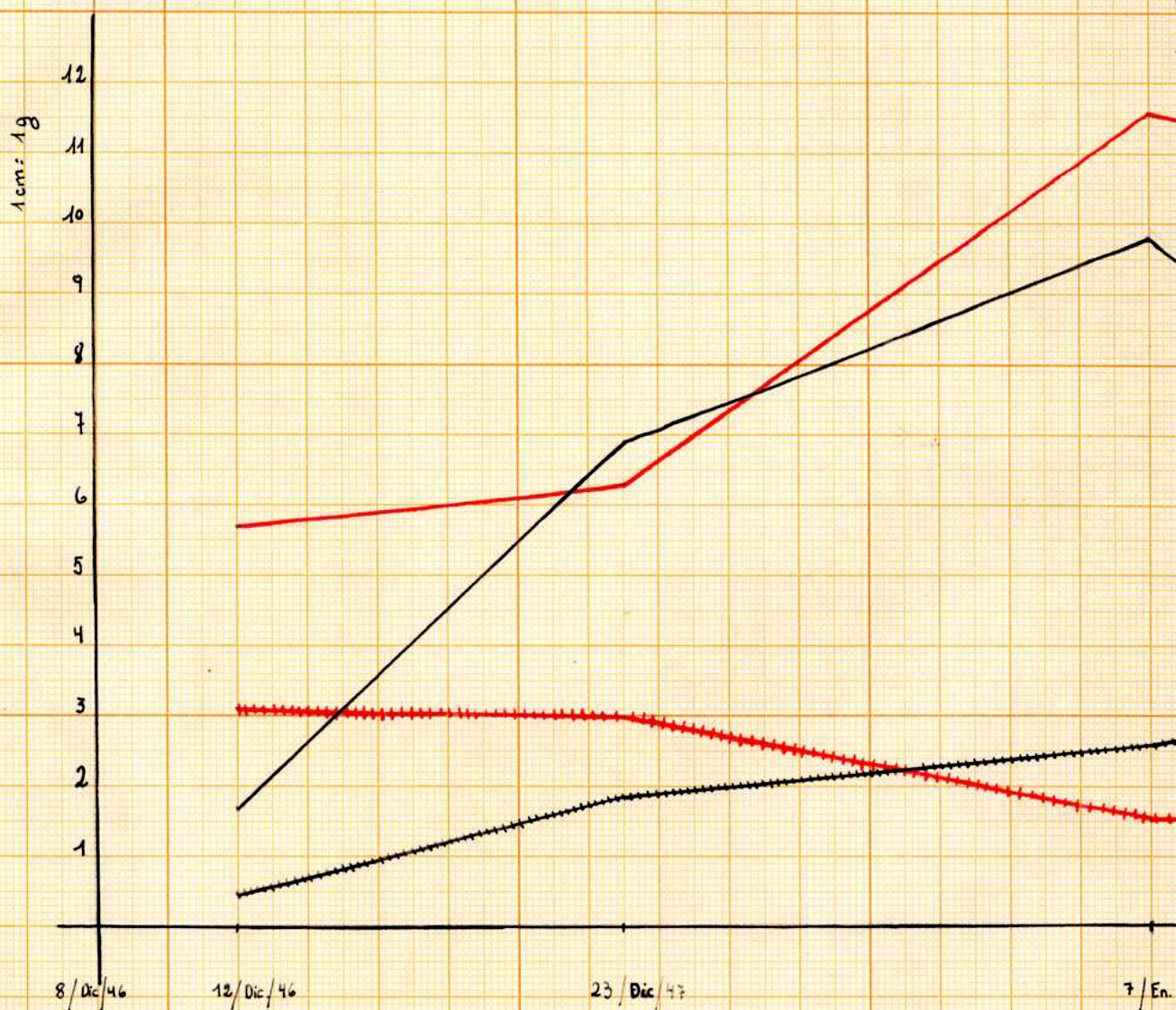
tenido en azúcares en el jugo de tallos de maíces

lados durante su desarrollo



460642 } + + + + + Azúcares reductores antes de inversión  
 común } ————— Azúcares reductores después de inversión  
 460641 } + + + + + Azúcares reductores antes de inversión  
 azucarado } ————— Azúcares reductores después de inversión  
 460639 } + + + + + Azúcares reductores antes de inversión  
 superazucarado } ————— Azúcares reductores después de inversión

# Variaciones del contenido en azúcares en el jugo de tallos de fecundados durante su desarrollo



abscisa : días

ordenada: g/100 ml

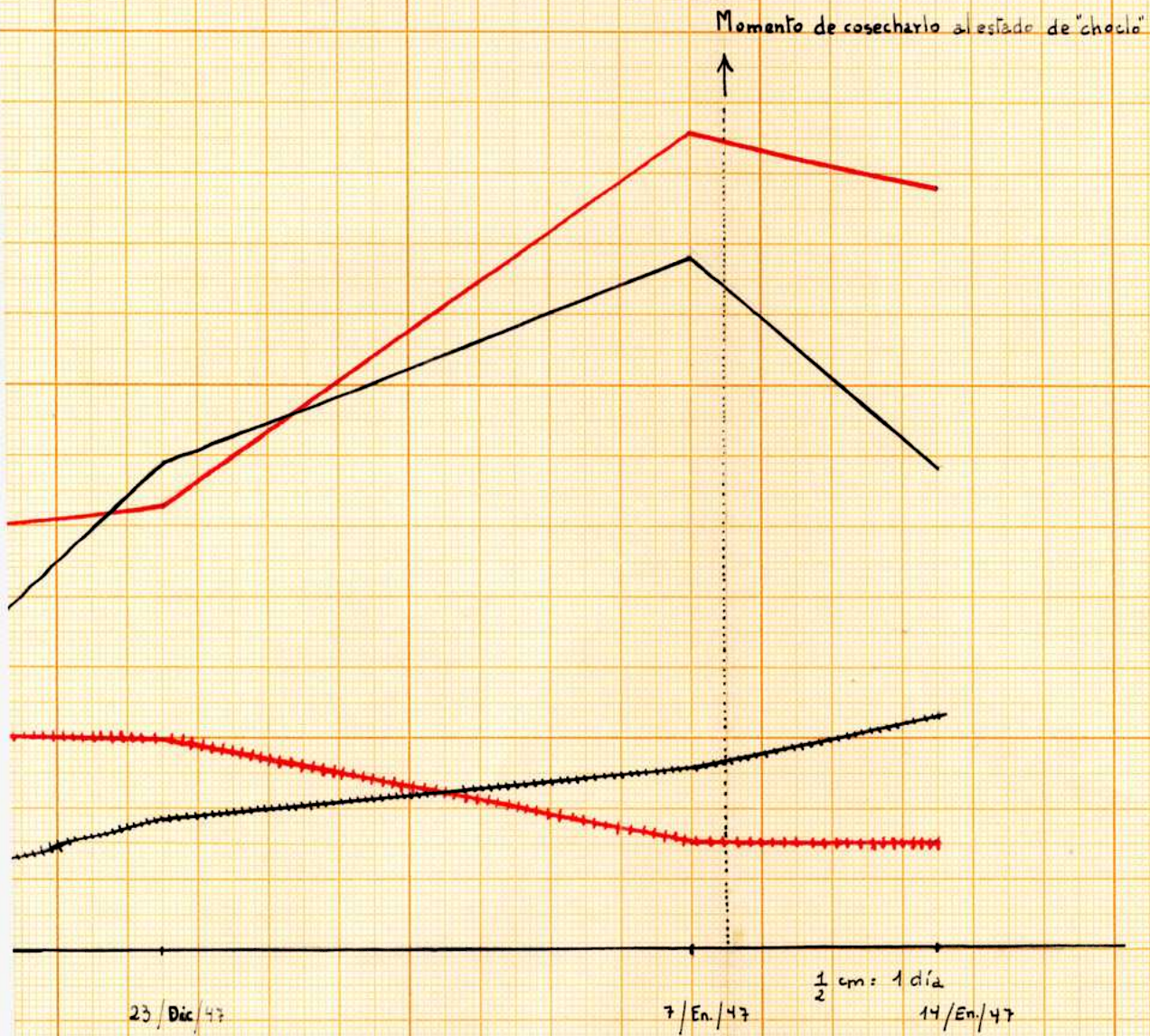
Nº 460641 } Azúcares reductores antes de inversión  
maíz azucarado } Azúcares reductores después de inversión

Nº 460642 } Azúcares reductores antes de inversión  
maíz colorado común } Azúcares reductores después de inversión



tenido en azúcares en el jugo de tallos de maíces

dos durante su desarrollo



Nº 460641 } Azúcares reductores antes de inversión  
 maíz azucarado } Azúcares reductores después de inversión

Nº 460642 } Azúcares reductores antes de inversión  
 colorado común } Azúcares reductores después de inversión

Sobre algunas muestras de jugo extraído de tallos, se realizaron observaciones polarimétricas empleando para el cálculo la conocida fórmula de Clerget, que permite la determinación de la cantidad de "sacarosa" presente.

En el cuadro siguiente figuran los porcentajes hallados, paralelamente a los obtenidos por el método químico. En este último caso se expresa como "sacarosa" el resultado de multiplicar por 0,949 la diferencia entre los porcentajes de los azúcares reductores después de inversión y los porcentajes de los azúcares reductores antes de la misma (dado que estos se han expresado como azúcar invertido).

CUADRO N° 3

FECHA	MUESTRA	METODO QUIMICO				METODO POLARIMETRICO
		A	B	C:B-A	D:C x 0,949	E
		Azúcares Reductores % antes de inversión	Azúcares Reductores después de inversión	----- %	"Sacarosa" %	"Sacarosa" % Según fórmula de Clerget
	<u>Maíces no fecundados</u>					
12/Dic/46	N° 460641	0,54	11,8	11,26	10,68	4,91
12/Dic/46	N° 460642	0,58	9,6	9,02	8,56	8,93
23/Dic/46	N° 460641	0,61	5,62	5,01	4,75	4,99
23/Dic/46	N° 460642	1,01	11,25	10,24	9,72	10,94
	<u>Maíces fecundados</u>					
12/Dic/46	N° 460641	3,08	5,68	2,60	2,47	3,45
12/Dic/46	N° 460642	0,46	1,66	1,20	1,13	4,91
23/Dic/46	N° 460641	2,98	6,3	3,32	3,15	9,42
23/Dic/46	N° 460642	1,9	6,9	5,0	4,74	10,4
7/En./47	N° 460641	1,5	11,56	10,06	9,55	9,63
7/En./47	N° 460642	2,61	9,81	7,2	6,83	5,85
14/En./47	N° 460641	1,5	10,8	9,3	8,8	11,72
14/En./47	N° 460642	3,37	6,8	3,43	3,25	3,58

## ENSAYOS CON INVERTASA

Casi al finalizar nuestro estudio (febrero 1947) coincidiendo con la terminación de la recolección anual de las muestras de maíces cul-tivados en Santa Catalina, con destino al presente trabajo, y al tabu--lar los resultados obtenidos en las valoraciones parciales de los glú--cidos contenidos en los tallos, se observaron diferencias entre los da--tos de valoraciones polarimétricas y químicas.

Estas diferencias pueden deberse a sustancias diferentes de sacarosa hidrolizables por el ácido clorhídrico o a cuerpos que pudie--ran actuar sobre la luz polarizada en condiciones determinadas.

Como una contribución a la tarea de dilucidar la causa de las diferencias observadas, pensamos en utilizar como agente hidrolizante la acción de una enzima (invertasa) en lugar de ácido clorhídrico).

Dada la imposibilidad material - por falta de tiempo - para preparar una enzima pura y activa a partir de la levadura o de adquirir una en el extranjero, (pues solo disponíamos para estos análisis fina--les de dos muestras de jugos de tallos de maíces tardíos) decidimos e--fectuar un ensayo de simple orientación utilizando una muestra de inver--tasa en polvo, preparada casi un año antes por el Dr. Ciro Rietti del Instituto de Fisiología de la Facultad de Ciencias Médicas de Buenos Ai--res. La cantidad disponible de esta enzima era muy escasa y alcanzó tan solo para efectuar los ensayos previos de contralor con sacarosa pura y para las dos muestras disponibles.

Las muestras de jugo de tallos de maíz dulce así examinadas, corresponden a los números 3193 y 3194 del Instituto Fitotécnico de San--ta Catalina.

### Experiencias

El poder de inversión de la enzima fué ensayada previamente

a 40° C durante dos horas sobre una solución de sacarosa de concentración conocida.

La determinación química subsiguiente demostró que se había producido la inversión total. La enzima fué entonces agregada directamente a los 2 jugos de caña manteniéndolos a la misma temperatura y durante el mismo tiempo que a la solución de sacarosa. Luego procediose a la defecación del jugo con acetato básico de plomo (que en caso de ser añadido antes de la inversión pudiera inactivar la enzima) eliminándose este último con carbonato de sodio. La técnica general debió modificarse también en este caso debido a que el carbonato de sodio destruye la enzima (24).

Simultaneamente se procedió a la inversión de otras porciones de los mismos jugos mediante el ácido clorhídrico, siguiendo la técnica general empleada en los análisis anteriores.

Luego se realizó en ambas soluciones la determinación de azúcares obteniéndose el siguiente cuadro:

MUESTRA	AZUCARES REDUCTORES antes de invertir %	AZUCARES REDUCTORES después de invertir	
		HIDROLIZADO CON INVERTASA	HIDROLIZADO CON ACIDO CLORHIDRICO
Nº 3193	1,14	3,39	6,
Nº 3194	1,47	2,78	3,25

La concentración de sacarosa realizada por método químico resultó menor para el caso de inversión con invertasa por lo cual cabría considerar, a juzgar por estos dos casos aislados, que bajo la denominación de azúcares totales como se indica por lo común, no se comprende solamente sacarosa más los azúcares reductores, ya presentes en el jugo, sino que durante la inversión con ácido clorhídrico parecen formarse otras sustancias reductoras pese a que esta se efectúa en condiciones es-

tablecidas de tiempo y temperatura.

Las determinaciones polarimétricas resultaron confusas en ambos casos, pues no pudo leerse con claridad en el polarímetro, en los tubos conteniendo el líquido resultante de la hidrólisis con invertasa, a pesar de que las soluciones aparecieron lípidas y transparentes a simple vista.

Complica la interpretación de estas diferencias, el hecho de que en el cuadro N° 3 los valores químicos y polarimétricos son contradictorios.

La terminación de la cosecha de maíz que obliga a esperar durante un año para la obtención de nuevas muestras impidió como hemos dicho antes, la repetición de estos ensayos que convendría realizar posteriormente con invertasa recientemente preparada de la levadura o con enzimas de marcas conocidas y de actividad garantizada.

Summer y Howell (25) publicaron los siguientes valores de invertasa para una serie de productos: levadura de Fleischmann 994; levadura de la Nectar Brewing Co. 830; Invertasa Difco 18300; Taka Diastasa 48.

Como una contribución a la futura ampliación de este estudio, indicamos a continuación algunos de los métodos propuestos por diversos autores para la obtención de invertasa (26) (27) (24) (28) entre ellos uno indicado en el libro de Tauber (26) publicado en 1943. Se incluyen también referencias sobre la composición química de la invertasa, inhibidores, pH y temperaturas óptimas, así como métodos para la medida de su actividad.

## MÉTODOS DE PREPARACION

### Técnica de Grassmann y Peters (26):

Se tratan dos kilogramos de levadura con acetato de etilo durante 1 hora a 40° C. El jugo obtenido se separa por centrifugación. El residuo sólido conteniendo un 70 % de la invertasa es lavado dos veces con éter y secado a temperatura ambiente. El rendimiento es de 315 g. Para obtener la invertasa en forma soluble, la preparación insoluble debe ser tratada con enzimas proteolíticas o ciertas enzimas amilolíticas. Una muestra de 9,84 g. de la preparación seca, cuando es tratada con 150 mg. de papaina activada deja 83 % de la invertasa en forma soluble. Enzimas de hongos, como las que provienen del *Aspergillus Oryzae* o de la Diastasa de Malta, tienen un efecto similar. La amilasa animal, sin embargo, no libera la invertasa.

### Método Osborne (27):

500 g. de levadura prensada son disgregados con 500 ml. de alcohol 95° y dejados a temperatura ambiente de 16 a 24 horas. El alcohol es separado por succión. Se agregan 500 ml de agua conteniendo 1 % de cloroformo y se deja estar la masa a 30-36° C por seis días con agitación ocasional. El extracto es luego filtrado a través de algunas hojas dobladas de papel de filtro y al filtrado se agregan 600-700 ml de alcohol 95°.

El precipitado es filtrado, lavado con alcohol absoluto y secado al vacío sobre ácido sulfúrico.

Para purificar la enzima, 20 g. de este material seco, se disgregan en un mortero con agua, hasta obtener una suspensión uniforme. Luego se trasvasa a un recipiente que contenga 500 ml. de agua y se deja estar de 6 a 8 horas con agitación frecuente. El residuo es filtrado

# FOENHA

y lavado varias veces con agua caliente. El filtrado y las aguas de lavado son tratadas con amoníaco para separar el magnesio y el ácido fosfórico. Se filtra y el filtrado, al cual se le ha agregado una pequeña cantidad de cloroformo se dializa en agua destilada por 8 días. El contenido del dializador es luego evaporado al vacío, a 25-30° C hasta reducirlo a un pequeño volumen y tratado con alcohol absoluto y eter. Se obtiene un escamoso precipitado marrón, el cual es filtrado, lavado con alcohol absoluto y secado al vacío con ácido sulfúrico.

## Otros métodos:

- 1) Una solución muy activa de invertasa (24) puede ser preparada dejando 25 g. de levadura en presencia de 150 ml. de agua. La actividad de la invertasa del líquido alcanza su máximo cuando la reacción ha llegado a ácida al tornasol y neutra al metilorange. Se filtra a través de tierra de infusorios hasta que quede clara. Esta solución tratada con toluol conservará su actividad durante un largo tiempo. Este extracto puede invertir 20 veces su volumen de una solución de azúcar de caña al 5 % a 50° C en una hora.
- 2) Una preparación activa de invertasa (28) puede ser hecha moliendo 100 g. de levadura con arena. La masa es luego agitada con 200 ml. de agua conteniendo 1 % de cloroformo durante 3 o 6 horas y luego filtrado o centrifugado. El extracto no necesita estar completamente claro. Se añaden con agitación continua de 15 a 20 g. de caolín para absorber las proteínas, por cada 100 ml de extracto. La reacción debe mantenerse ácida. Luego se filtra la solución de enzima, volviendo a filtrar la primera porción del filtrado. La solución puede ser luego dializada en presencia de cloroformo. El



líquido dializado es enseguida volcado a 3 veces su volumen de alcohol 95°. El precipitado es filtrado, lavado con alcohol y secado al vacío sobre ácido sulfúrico.

- 3) Un método para la preparación de invertasa consiste en tomar dos kilogramos de levadura, permitir que se autolice por doce días y luego añadir una solución concentrada de acetato de plomo al autolizado (29). La mezcla es luego tratada con caolín y se filtra por succión. El filtrado es saturado con ácido sulfhídrico para precipitar el plomo. Se filtra. El filtrado es tratado una vez con una pequeña cantidad de carbón animal y tres veces con cantidades crecientes de caolín y filtrado después de cada tratamiento. Finalmente el filtrado es tratado con alcohol.

Usualmente se obtienen por este método 7,7 g. de un polvo puro de color blanco.

- 4) También puede prepararse invertasa a partir de levadura prensada a la cual se permite autolizarse durante 14 días en presencia de toluol. El líquido resultante es filtrado varias veces por medio de un papel de filtro plegado.

Alrededor de 300 ml. de jugo, que contienen un cuarto o quinto del total de invertasa de la levadura son obtenidos a partir de un kilogramo de levadura fresca. A cada 100 ml. de jugo se agregan 3 ml. de ácido acético 4 normal y 1,6 litros de alcohol de 95° y se sacude enérgicamente. El precipitado resultante es filtrado, lavado con alcohol absoluto y éter y secado al vacío. (24).

### Composición química de la enzima (24)

La invertasa con alto grado de actividad libre de cenizas tiene aproximadamente la siguiente composición:

Hidrógeno	6,59-6,88
Nitrógeno	11,3-12,5
Carbono	49,70- 50,32
Cistina (')	2,0
Histidina	2-6
Triptofano	5,5

(') Calculado a partir del contenido de azufre.

El último valor es más alto que el correspondiente a las proteínas nativas. Las preparaciones puras tienen pocas cenizas y están prácticamente libres de fósforo. La enzima purificada presenta aún propiedades coloidales y su punto isoelectrico está en pH 5. Las sustancias acompañantes denominadas "yeast gum" etc. protegen la enzima de la destrucción e influyen sobre la actividad físico-química de la misma.

La molécula de la invertasa probablemente consiste de un grupo químico funcionalmente activo y de un soporte coloidal (24).

### Medición de actividad enzimática:

La acción de la invertasa puede medirse cuali y cuantitativamente por medio del polarímetro o por reducción del Licor de Fehling.

### Método polarimétrico: (30)

La actividad de la invertasa puede medirse por el siguiente método: 500 ml. de una solución al 10 % de sacarosa y 125 ml. de una solución proveniente del prensado de levadura fresca ( o cualquier otro líquido conteniendo enzimas) son incubados a 300° C. Inmediatamente antes de la incubación y a intervalos de 30 minutos durante la misma,

se separan 50 ml. de la mezcla sobre los cuales se agregan 5 ml. de carbonato de sodio N/5. El carbonato de sodio destruye la invertasa impidiendo que prosiga la mutarrotación. Después de dejar transcurrir de 70 a 120 minutos el poder rotatorio de estas muestras es determinado en un polarímetro.

Con una preparación de invertasa activa la rotación cambiará de 24,50 a 1,49 en 130 minutos.

El método puede mejorarse añadiéndole fosfato disódico a la solución de sacarosa al 10 % (de este modo las condiciones para la enzima serán óptimas). A cada 50 ml. de la mezcla se le añaden 0,5 a 1 g. de acetato básico de plomo más 5 ml. de carbonato de sodio N/5. Las proteínas que son precipitadas por el acetato de plomo pueden ser eliminadas por filtración antes de hacer las lecturas.

La relación de inversión es del orden unimolecular

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{R_1 - R_2}{R_2 - R_3}$$

en la cual  $R_1$  es la rotación al comienzo de la incubación,  $R_3$  cuando se ha completado la inversión,  $R_2$  la rotación en el tiempo  $t$  y  $K$  el coeficiente de velocidad.

#### Métodos colorimétricos:

Son los más recientes y de más rápida y fácil aplicación (31).

#### Óptimas condiciones para la acción de la invertasa:

La zona óptima para la acción de la invertasa de levadura está entre pH 3,5 y 5,5 con el máximo de actividad a pH 4,5 (32) (33).

La invertasa de la miel tiene su óptimo a un pH entre 5,5 y 6,3.

El óptimo para la invertasa industrial descansa entre pH 5 y

7. El óptimo de reacción para la invertasa bacteriana (*Neumococcica*) es pH 7.

El óptimo de temperatura para la invertasa es 52° C.

### CONCLUSIONES

- 1º) Se investigó la presencia de sacarosa y de sustancias reductoras en granos secos de maíces comunes, azucarados y superazucarados, habiendo encontrado resultados positivos en todos los casos.
- 2º) Se valoró la cantidad de azúcares presentes en granos de maíces dulces habiendo encontrado cifras comprendidas entre 1,38 y 2,4 % para los azúcares reductores y entre 4,88 y 7,6 % para los totales.
- 3º) Se efectuaron iguales determinaciones en maíces superazucarados, habiendo hallado valores comprendidos entre 0,83 y 3,52 % para los azúcares reductores y entre 5,3 y 11 % para los totales.
- 4º) Se determinó la cantidad de azúcares presentes en granos de maíces colorados comunes (corneos, flint) habiendo encontrado la cifra promedio 1,2 g. %, lo cual está de acuerdo con los datos hallados por varios autores en otros países.
- 5º) Se realizaron determinaciones periódicas de azúcares en tallos de maíces colorados comunes, dulces y superazucarados, desde el comienzo de la aparición de las espigas, hasta después de cosechado el "choclo", habiendo observado que el contenido de dichas sustancias varía siguiendo diversas curvas, cuyas características se indican en el texto y gráficos correspondientes, que acompañan al presente trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Sturtevant A. H. - Beadle G.W. - An introduction to Genetics Philadelphia and London (1940).
- (2) Morera Ventura. Quimurgia. Fuentes insospechadas de riqueza nacional - Industria y Química (Rev. de la Asoc. Quím. Arg.) 6, N° 9 (1945).
- (3) Horovitz S. y Marchioni A. Herencia de la resistencia a la langosta del maíz "amargo". Anales del Instituto Fitotécnico de Santa Catalina 27-52 2 (1940).
- (4) Horovitz S. Resistencia del maíz "amargo" al ataque por la langosta. Revista Argentina de Agronomía. 4 (1) 27-38 (1937).
- (5) Marchioni A.H. Micropruebas de resistencia a la langosta en el maíz "amargo". Anales del Instituto Fitotécnico de Santa Catalina. 159-166 1 (1940).
- (6) Horovitz S. - Marchioni A.H. y Fischer H.O. El factor sux y el aumento del contenido de azúcar en el maíz para choelo. Anales del Instituto Fitotécnico de Santa Catalina. 37-44 2 (1941).
- (7) Winton L.A. - Winton K.B. The Structure and composition of feeds New York (1935)
- (8) J. Soc. Chem. Ind. 6 84 (1887)
- (9) Ann. Chem. 257 156. (1890).
- (10) U.S. Dept. Agr. Off. Exp. Sta. Bul. 34 (1896)
- (11) B. Deut. Chem. Ges. 23 3791 (1890)
- (12) Idem. 25 2916 (1892)
- (13) Eight Int. Cong. Appl. Chem. 13 205 (1912)
- (14) Michigan Bd. Agr. Rep. (1878) y (1879)
- (15) U.S. Dep. Agr. Rep. (1878)
- (16) J. Agr. Res. 22 403
- (17) J. Agr. Res. 17 137 (1919)
- (18) Ann. J. Bot. 5 207 (1918)
- (19) Association of Official Agricultural Chemists (Official and Tentative Methods of Analysis (1940).

## BIBLIOGRAFIA.

- (20) Calderón Emilio - Marcha para la investigación de glúcidos. (Datos no publicados)
- (21) Militzer W.W.- Journal of Chemical Education 6 18 (1941)
- (22) Wattiez et Sternon. Chimie Vegetale. Paris. (1935)
- (23) Villavecchia - "Chimica degli alimenti" Trattato de Chimica Analitica - 1936
- (24) Hakman Selman A. and Davison Wilberst C. Enzymes, Properties, Distribution, Methods and Applications (1927)
- (25) Sumner J.B. and Howell S.F. - J. Biol. Chem. 108 51 (1935)
- (26) Tauber H. Enzymes. New York (1943)
- (27) Osborne W.A. - Beiträge zur Kenntnis der Invertins. Z. Physiol. Chem. 28 399-425 (1899).
- (28) Michaelis L. - Die Adsorptionsaffinitäten des Hefe Invertins. Biochem. Z. 7 488-492 (1907).
- (29) Euler H. and Myglaas Bath of: Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung und Bildung der Enzime 11 Svenska vet Akad Ark Kem. 3 N° 34 12 p/ (1910).
- (30) Hudson C.S. - The inversion of cane sugar by invertase J.Am. Chem. Soc. 30 1160 (1908)
- (31) Tauber H. Enzyme Chemistry. New York (1937)
- (32) Michaelis L. and Davidsohn H. - Die Wirkung der Wasserstoffionen auf das Invertin Biochem. Z. 35 386-412 (1911)
- (33) Sörensen S.P. Enzymstudien. Über die Messung und Bedeutung der Wasserstoffionen Konzentration bei enzymatischen Prozedden. Biochem. Z. 21 131 (1909).

-----  
 -----  
 -----  
 -----  
 -----