

DETERMINACION CUANTITATIVA DE PRINCIPIOS ANTIOXIDANTES EN EL ACEITE DE CERA DE LA CAÑA DE AZUCAR

O. Reinosa Espinosa y R. Ramos Lazcano.*

Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Avenida 25 y 158, Apartado Postal 6990,

*Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Avenida 31 y 190, Apartado Postal 6072, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 3 de septiembre de 1995.

RESUMEN. Se desarrolló una metodología para determinar la cantidad total de antioxidantes en el aceite de la cera de caña, utilizando la reacción en cadena modelo de la oxidación iniciada del cumeno (isopropilbenceno). Se precisó que la concentración promedio de antioxidantes en este aceite es del $(0,28 \pm 0,04)\%$, referido al butilhidroxitolueno. Este nivel de antioxidantes está entre los más altos que presentan la mayoría de los aceites vegetales, cuyas concentraciones habitualmente oscilan entre 0,02 y 0,2 %, lo cual ofrece la posibilidad de considerar esta materia prima como una fuente valiosa de estos componentes.

ABSTRACT. A methodology to determine the total quantity of antioxidants in the oil of the sugar cane wax, utilizing the chain reaction, as a model, of the initiated oxidation of the cumene (isopropilbencene) was developed. It was determined that the concentration average of antioxidants is in the range of $(0,28 \pm 0,04) \%$. This level of antioxidants in the oil of cane wax, is higher than the contents of the majority of other vegetable oils, whose concentrations oscillate between 0,02 and 0,2 %. That offers the possibility of considering this raw material as a valuable source of these components.

INTRODUCCION

La cachaza es uno de los subproductos de la producción de azúcar de caña, que se obtiene en mayores cantidades (aproximadamente 0,3 t, 77 % de humedad por t de azúcar) durante ese proceso. Por su volumen y naturaleza química es una verdadera materia prima para la obtención de productos y materiales de incalculable valor, tanto económico como social.¹ Tratada con un solvente orgánico, permite extraer una fracción de cera cruda (aproximadamente 1 % base húmeda), que al ser sometida a un proceso de refinación genera una fracción de aceite vegetal (40% de la cera cruda), con un alto contenido de diferentes componentes.^{2,3}

Es bien conocido desde hace bastantes años, que los aceites y las grasas naturales, por contener cantidades mínimas de sustancias capaces de inhibir poderosamente la oxidación (antioxidantes) son mucho más resistentes a la alteración oxidativa que sus triglicéridos puros.⁴ En los últimos años, se ha suscitado un alto interés por el consumo de antioxidantes naturales tanto en la alimentación, como en la medicina preventiva. Se han evaluado las propiedades antioxidantes de muchas plantas, comprobándose que el romero y la salvia proveen los extractos de antioxidantes más efectivos.⁵

Los antioxidantes naturales han sido encontrados en diferentes plantas y vegetales: soya,⁶ cáscara de naranja,⁷ semilla de sésamo,⁸ olivas,⁹ vainas de algarrobo,¹⁰ hojas de té verde,¹¹ y se acumulan en grandes cantidades en el vino tinto.¹² El tejido de las plantas es el sistema más importante para la síntesis de tocoferol, ácido ascórbico y carotenoides, además estos tejidos sintetizan una gran cantidad de distintos fenoles. Se ha reportado la acción biológica de muchos extractos de origen vegetal.¹³ En el caso de la cera de caña, se han publicado algunos trabajos donde se informa la actividad antiinflamatoria de extractos de esta materia prima.^{14,15} En un trabajo posterior, se identificó una gran variedad de triter-

penoides en el aceite de la cera de caña,¹⁶ posibles responsables de esta acción biológica.

Para la estimación cuantitativa de los principios antioxidantes han sido utilizados diversos métodos analíticos: espectrofotométricos,¹⁷ cromatográficos,¹⁸ quimiluminiscentes.¹⁹ Estos métodos permiten la determinación de los antioxidantes según los grupos funcionales que condicionan la naturaleza química de los compuestos en cuestión. En este trabajo, se emplea una nueva metodología, basada en una reacción en cadena modelo, de oxidación iniciada de un hidrocarburo,²⁰ mediante la cual se hace una determinación de la capacidad antioxidante total del extracto analizado del aceite de cera de caña.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de aceite utilizadas procedieron de la plantas de refinación de cera de caña, ubicada en el central "Jesús Menéndez", Municipio Chaparra, con los índices de calidad siguientes:

Acidez: 49,9 mg KOH/g de aceite

Saponificación: 154,0mg KOH/g de aceite

Peróxido: 3,0meq /kg de aceite

Color: verde oscuro

Como modelo de oxidación, se utilizó cumeno (isopropilbenceno, Merck) y como iniciador eficiente de obtención de radicales el azo-isobutiro-nitrilo (AIBN) recrystalizado en acetona.

El análisis requirió de una instalación gasométrica que permite medir el consumo de oxígeno de la reacción de oxidación iniciada del cumeno a presión constante.²⁰ La reacción se llevó a cabo a 60 °C y la cantidad de oxígeno absorbido fue medida en la instalación a 35 °C en la ab uretad e medición, por lo cual, el valor de una división de esta correspondió a 16,8 mm³ de oxígeno absorbido. En estas condiciones, en 5 mL de cumeno, se adiciona una alícuota de la solución de aceite que contiene de 0-50 mg de aceite/mL, lo cual

provoca un período de inducción, en dependencia de la cantidad de antioxidantes presente en el aceite.

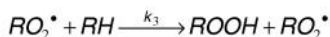
RESULTADOS Y DISCUSION

El método de determinación de la concentración de antioxidantes está basado en una reacción de oxidación iniciada por un hidrocarburo muy sensible a pequeñas adiciones de inhibidores. En ausencia de éstos, la oxidación del hidrocarburo [RH] transcurre según el esquema siguiente:

I. Iniciación de cadenas

Velocidad de iniciación W_i (formación de radicales peróxidos $RO_2^\bullet$)

II Propagación de cadenas



III Terminación de cadenas



En el estado estacionario según los centros activos (radicales peróxidos) se cumple la igualdad siguiente:

$$W_i = k_6 [RO_2^\bullet]^2 \quad (1)$$

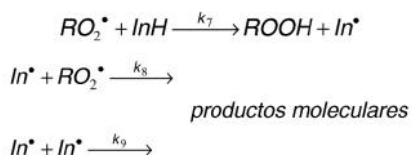
La velocidad de la reacción de oxidación del hidrocarburo:

$$\frac{d[RH]}{dt} = -\frac{dQ_2}{dt} = k_5 [RH] [RO_2^\bullet] \quad (2)$$

Introduciendo el valor de $[RO_2^\bullet]$ de (1) en (2) se obtiene:

$$-\frac{dQ_2}{dt} = k_5 [RH] \sqrt{W_i / k_6}$$

Si en el sistema se introduce un inhibidor [InH], entonces la terminación cuadrática es sustituida por la lineal:



La etapa limitante la constituye la primera reacción y por esto:

$$W_i = f n k_7 [RO_2^\bullet] [InH] \quad (4)$$

donde:

f coeficiente de inhibición, que puede tener valores entre 1 y 2 en dependencia de la relación de las velocidades de las últimas reacciones.
 n número de grupos inhibidores equivalentes en la molécula del inhibidor.

Introduciendo el valor de $[RO_2^\bullet]$ de (4) en (2) se obtiene:

$$-\frac{dQ_2}{dt} = W_i \frac{k_5 [RH]}{f n k_7 [InH]} \quad (5)$$

La velocidad de consumo del inhibidor,

$$-\frac{d[InH]}{dt} = k_7 [InH] [RO_2^\bullet]$$

utilizando (4)

$$-\frac{d[InH]}{dt} = -\frac{W_i}{f n} \quad (6)$$

Integrando la ecuación (6) en las condiciones iniciales de $t=0, [InH]=[InH]_0$ se obtiene que:

$$\tau = \frac{f n [InH]_0 - [InH]}{W_i} \quad (7)$$

cuando $\tau = t$ (tiempo de consumo total del inhibidor), InH es igual a cero y por consiguiente:

$$\tau = \frac{f n [InH]}{W_i} \quad (8)$$

El período de inducción, τ se determina de la curva cinética del consumo de oxígeno en el punto de intersección de dos líneas rectas. La primera recta corresponde a la máxima velocidad de reacción después del consumo total de inhibidor. La segunda recta es la tangente a la curva con una pendiente dos veces menor que la primera.

La constante de velocidad de la descomposición del AIBN en clorobenceno se calcula por la expresión (9):

$$K_d = 1,58 \cdot 10^{15} \cdot e^{-30800/RT} \text{ s}^{-1} \quad (9)$$

Como promedio cada molécula durante su descomposición origina 1,2 radicales y por consiguiente, la velocidad de iniciación viene dada por:

$$W_{i0} = 1,2 K_d [AIBN] \text{ M s}^{-1} \quad (10)$$

El cálculo de la concentración de antioxidantes en las muestras de aceite de cera de caña ensayadas, se llevó a cabo utilizando el valor calculado por (8), donde:

$$WM = 6,8 \cdot 10^{-8} \text{ s}^{-1} \text{ fn} = 2 \quad (10)$$

τ se determina experimentalmente. Por ejemplo, para un τ de 24 min:

$$[InH] = \frac{\tau W_i}{2} = 0,49 \cdot 10^{-4} \text{ (moles de inhibidor / litro de cumeno)}$$

Esta concentración de antioxidantes correspondió a una muestra de 16,3 mg de aceite en 5 mL de cumeno, para 1 kg de aceite la concentración sería de $1,5 \cdot 10^{-2}$ mol/kg. Al tomar como referencia el antioxidante butilhidroxitolueno (BHT), se obtiene que 1 mol/kg de este es igual a 220 g/kg. En este caso, la concentración de $1,5 \cdot 10^{-2}$ mol/kg equivale a 3,3 g/kg o sea 0,33%.

La figura 1 muestra las curvas cinéticas del consumo de oxígeno durante la oxidación iniciada del cumeno en presencia de aceite de cera de caña en cantidades que fluctuaron entre 0-50 mg. Se puede apreciar la cinética de oxidación del cumeno en ausencia de inhibidores y la cinética de oxidación en presencia de diferentes concentraciones del aceite.

En la tabla I se muestran los valores de concentración de aceite y el contenido de antioxidante en el aceite expresado como BHT. El valor promedio calculado equivale a $(0,28 \pm 0,04) \%$.

La correlación entre el período de inducción t obtenido y las diferentes cantidades de aceite, se muestra en la figura 2. Esto confirma la validez de la metodología utilizada para la determinación cuantitativa del contenido de antioxidantes en

aceites u otras fuentes de estos compuestos, ya que se puede apreciar el potencial verdadero del conjunto de inhibidores presentes, que están relacionados entre sí al interactuar, lo que ocasiona fenómenos de sinergismo y antago-

nismo y refleja la verdadera capacidad de la mezcla, a diferencia de otros métodos que identifican grupos de compuestos de acuerdo con su naturaleza química y no con su propiedad fundamental.

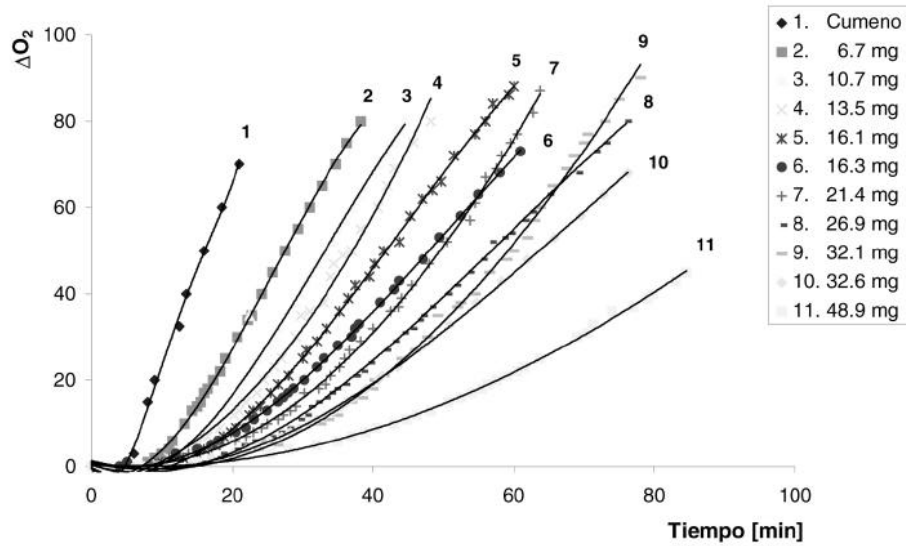


Fig. 1. Cinética de consumo de oxígeno en la oxidación del cumeno en presencia de diferentes cantidades (mg) de aceite de cera de caña. Temperatura 60 °C.

TABLA I
Determinación del período de inducción y de la cantidad de antioxidantes en el aceite de cera de caña

Aceite (mg)	Período de inducción (min)	[Antioxidante] [lnH] · 10 ⁵ (mol/L)	BHT / Aceite		BHT en aceite (%)
			(mol/k g)	(g/k g)	
6,7	8,5	1,73	0,0129	2,85	0,28
10,7	15,5	3,16	0,0148	3,25	0,33
13,5	19,5	3,98	0,0147	3,24	0,32
16,1	21,5	4,39	0,0137	3,01	0,30
16,3	23,5	4,9	0,0147	3,24	0,32
21,4	28,5	5,81	0,0136	2,99	0,30
26,9	30,5	6,22	0,0116	2,54	0,25
32,1	36,5	7,45	0,0116	2,55	0,26
32,6	33,5	6,83	0,0105	2,31	0,23
48,9	49,0	10,00	0,0102	2,25	0,22

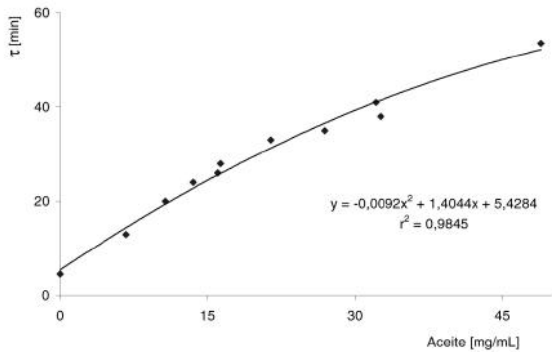


Fig. 2. Dependencia entre el período de inducción y la cantidad de aceite de cera adicionado como inhibidor en la reacción de oxidación del cumeno.

En la tabla II, se muestra el contenido de antioxidantes naturales que poseen los aceites vegetales más conocidos.

CONCLUSIONES

El aceite de cera de caña analizado es una fuente de antioxidantes naturales, ya que el contenido que de ellos posee, resulta varias veces superior al que presenta la mayoría de los aceites vegetales más conocidos.

Su relativamente alto contenido de antioxidantes naturales debe tenerse en cuenta no sólo por la protección antioxidante que le proporciona a este aceite, sino por el papel que estas sustancias naturales juegan en diferentes procesos biológicos.

TABLA II
Contenido de antioxidantes naturales
en diferentes aceites y grasas

Lípido	(%)
Aceite de germen de trigo	0,18 - 0,25
Aceite de algodón bruto	0,11
Aceite de linaza	0,11
Aceite de salvado de arroz	0,101
Aceite de soya refinado	0,094 - 0,099
Aceite de maíz refinado	0,09
Aceite de algodón refinado	0,087 - 0,095
Aceite de girasol	0,07
Aceite de palma	0,056
Aceite de maní	0,036 - 0,052
Aceite de oliva	0,033 - 0,030
Aceite de hígado de bacalao	0,026
Aceite de sésamo	0,018
Aceite de coco	0,008 3
Manteca de cerdo	0,000 5 - 0,000 29
Aceite de cera de caña	0,28 ± 0,04

BIBLIOGRAFIA

1. Balch R. T., Wax and Fatty Byproducts from Sugarcane. Technological Reports Series No 3. Sugar Foundation Inc. New York. October, 1947.
2. Molerio J. y Ramos R. **Revista CENIC Ciencias Físicas**, **11**, 103, 1980.
3. Molerio J. y Ramos R. **Revista CENIC Ciencias Físicas**, **11**, 109, 1980.
4. Bailey A.E. Aceites y grasas industriales. Editorial Reverté S. A., España, 26-29, 1961.
5. Loliger J. The use of antioxidants in foods. In Free Radicals and Food Additives, Auroma O.I. and Halliwell B., (Ed.) Taylor and Francis. London, 121, 1991.
6. Pratt D.E. and Birac P.M. **J. Food Sc.**, **44**, 1720, 1979.
7. Harel S. and Kanner J. **Int. Fruit Juice Union Pro.**, **18**, 188, 1984.
8. Budowski P. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **41**, 260, 1964.
9. Sheabar F.Z. and Neaman I. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **65**, 990, 1988.
10. Farr D. R., Magnolato D. and Lolinger J. U.S. Pat. 4741915, 1988.
11. Zhao B., Li X., He R. G., Cheng S. J. and Wenjuran X. **Cell Biochem.**, **14**, 175, 1989.
12. Kanner J., Frankel E., Granit R., German B. and Kinsella J.E. **J. Agric. Food Chem.**, **42**, 64, 1994.
13. Dugan L.R. In Autooxidation in foods and biological systems, Simic M.G. and Karel M. (Ed.), Plenum Press, New York, 261, 1980.
14. Rosenkranz H., Milhordt A.T., Farber M. and Milman A. E. **Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.**, **76**, 408-440, 1951.
15. Kaiser E. and Wulzen R. **Arch. Biochem. Biophys.**, **31**, 327, 1951.
16. Osske G. und Schreiber K. **Tetrahedron**, **21**, 6, 1965.
17. Tamura H. and Yamagami A. **J. Agric. Food Chem.**, **42**, 1612, 1994.
18. Wang H. and Murphy P.A. **J. Agric. Food Chem.**, **42**, 1666, 1994.
19. Kozlova Z.G., Tsepalov B.F., Gladishev G.P. **Kinetika y Kataliz**, **Tom XXV**, 229, 1984.
20. Tsepalov B.F., Reinoso O., Markin V.S. **Revista CENIC, Ciencias Químicas**, **19**, 103 1988.