

DETERMINACION DE BETAÍNA EN REMOLACHA AZUCARERA

(« BETA VULGARIS ») ¹

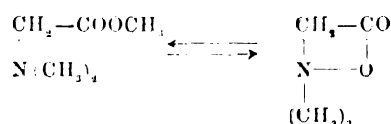
POR ALFONSO ANDRES VIDAL ²

I. INTRODUCCION

Aprovechando el material de remolacha azucarera (*Beta vulgaris*), remitido oportunamente al Laboratorio de Química Agrícola por la Chacra Experimental de Yráizoz (provincia de Buenos Aires), para la determinación del porcentaje de sacarosa, se estimó interesante dosar el contenido de betaína, base que se encuentra muy difundida en todas las especies de Quenopodiáceas.

Las betaínas o trimetilglicinas pueden definirse como aminoácidos en los cuales el átomo de nitrógeno está completamente metilado. Los α , β y γ aminoácidos pueden formar betaínas α , β y γ .

La betaína más simple es la de la glicina, la cual se forma a partir del éster metílico del ácido dimetil-amino-acético.



Ac. dimetil-amino-acético. Betaína

¹ Trabajo realizado en la Cátedra de Química agrícola (Fitoquímica) de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Plata. Recibido para su publicación el 17 de diciembre de 1959.

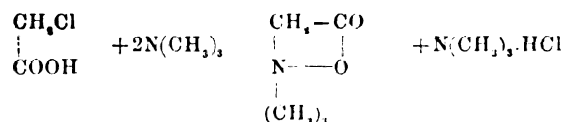
² Ingeniero Agrónomo. Profesor adjunto de Química Agrícola (Fitoquímica) en la citada Facultad. El autor agradece al profesor titular doctor e ingeniero agrónomo Carlos M. J. Albizzati las sugerencias formuladas, como asimismo al director de la Chacra Experimental de Yráizoz ingeniero agrónomo Pedro Isouribere el haberle facilitado el material de trabajo.

Esta base se encuentra en las remolachas azucareras, pasando a las melazas durante el proceso de elaboración del azúcar; su porcentaje oscila entre 2,5 % a 1 %, según se trate de raíces jóvenes o viejas respectivamente; también se encuentra en algunos géneros de Amarantáceas, en el *Lycium barbarum*, en semillas de algodón (*Gossypium herbaceum*), girasol (*Helianthus annuus*), avena (*Avena*), en tubérculos de topinambur (*Helianthus tuberosus*), cañas de bambú (*Bambusa*), hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) y en la malta y gérmenes de trigo (*Triticum*).

Según Barger (1), en las plantas son productos finales del metabolismo del nitrógeno, no actuando en los procesos vitales, encontrándose con extraordinaria frecuencia junto a la colina.

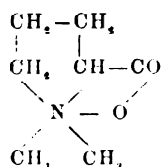
En el reino animal también ha sido comprobada su existencia (almejas, extracto de cangrejo de mar, etc.).

También puede lograrse su obtención artificial por metilación de la glicocola o a partir del ácido cloroacético y la trimetilamina.

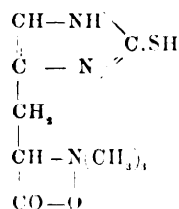


La betaína es extraordinariamente soluble en el agua, de reacción neutra y anhidra, funde a unos 293° C.

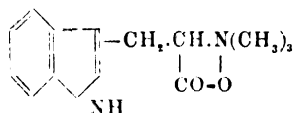
Hay numerosas betaínas, tales como: la estaquidrina, betaína de la prolina, presente en las hojas del naranjo y heno de alfalfa, que responde a la siguiente composición química:



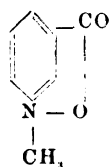
La ergotioneína, según Barger y Ewins (2), betaína de la tiolhistidina.



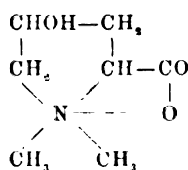
La hipaforina, betaína del triptofano, localizada en las semillas de la *Erythrina hypaphorus*, árbol de sombra que crece a menudo en las plantaciones de café del Brasil.



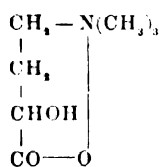
La trigonelina, betaína del ácido nicotínico, muy distribuida en el reino vegetal, constituye uno de los productos finales del metabolismo del ácido nicotínico.



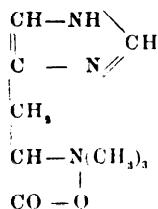
La betonina y turicina, betaínas de la hidroxiprolina, se encuentran en la *Betonica officinalis* y en la *Stachys sylvatica*; pueden ser obtenidas sintéticamente por metilación de la oxiprolina.



La carnitina o novaina, betaína α hidroxí y butírica.



La trimetilhistidina, betaína de la histidina, se encuentra en ciertas especies de hongos comestibles.



Se supone que en la naturaleza existe una betaína para cada uno de los aminoácidos conocidos, pero las mismas serían de poca importancia biológica.

II. REVISTA DE LA BIBLIOGRAFIA

Barrenscheen y Vályi-Nagy (3) observaron un aumento en la cantidad de betaína cuando los extractos de plantas jóvenes de trigo eran provistos de metionina y glicina, suponiendo que este aumento se producía debido a una metilación directa de la glicina a betaína.

Kirkwood y Marion (10) y Brown y Byerrum (6) encontraron que el formiato es uno de los precursores del grupo metílico lábil en varias plantas superiores.

Cronwell y Rennie (7) describen un método para la estimación de betaína en tejidos vegetales, en el cual incorporan un proceso de oxidación para eliminar las sustancias extrañas que están presentes en los tejidos jóvenes y que interfieren en la determinación de la base.

Los mismos autores (8) demostraron que la síntesis de las betaínas puede producirse por metilación de la glicina con sarcosina y dimetilglicina como intermediarios o por metilación de etanolamina a colina con la oxidación subsiguiente de esta última base. En experiencias realizadas sobre hojas de remolacha y de *Atriplex patula* hallaron que la infiltración de soluciones con aldehído de colina y betaína aumentaba significativamente el contenido de betaína de los tejidos. La infiltración realizada sobre hojas expuestas a la luz producía un aumento mayor de betaína que la realizada sobre hojas mantenidas en la oscuridad, mientras que no se formaba betaína en las hojas infiltradas conservadas en una atmósfera de nitrógeno.

Sribney y Kirkwood (14) observaron que la betaína puede servir como fuente de compuestos metilados lábiles en las plantas de cebada.

Friedman et al. (9) describen un método de separación cuantitativa de ciertas bases cuaternarias de amonio usando una columna Dowex 50, con el que comprueban que la carnitina puede ser recuperada en un 90 %, la betaína en un 98 %, el óxido de trime-

tilamina en un 100 % y la creatinina en un 90 %. Con la técnica simple del papel cromatográfico identificaron a estos compuestos.

Bregoff y Delwiche (5) comprobaron que cuando las hojas de *Beta vulgaris* eran infiltradas con soluciones de acetato-2-C₁₄, glicina-2-C₁₄, formiato o bicarbonato, se desarrollaba una apreciable actividad en la betaína y colina, proveniente de la α -lábil glicina o del formiato. El bicarbonato fue incorporado en menor proporción y el del α -carbón del acetato, aunque era asimilado, no fue incorporado a la colina y betaína.

Simenauer (12) confirmó los resultados obtenidos por otros investigadores sobre el tenor de betaína en la remolacha azucarera, comprobando que dicho tenor aumenta en el curso del desarrollo de la planta y que las raíces son más ricas que las hojas al principio de la vegetación (plántula de 4 hojas), raíz 7 mgr/gr, hojas 3,7 mgr/gr, mientras que cuando la planta se desarrolla, las raíces tienen 2,2 mgr/gr y las hojas 6,2 mgr/gr. Asimismo comprobó que al principio la parte superficial de la raíz estaba desprovista de betaína, lo que demostraría que se realiza una migración de esta base de la parte interna hacia la superficie.

Birsma y Waterman (4) comprobaron que los jugos obtenidos por el proceso de difusión fría (40° C con 0,3 % de SO₂) contenían menos cantidad de proteína que los jugos obtenidos por difusión caliente (70-80° C sin SO₂), mientras que el tenor de betaína y aminoácidos era el mismo.

Sommer y Zuckerind (13) observaron que el contenido de betaína en las remolachas maduras de diferentes variedades oscilaba entre aproximadamente 0,07 a 0,30 % y que la concentración era alta en la corona y en la extremidad y baja en el resto de la raíz.

III. MATERIAL UTILIZADO

Nº de la muestra	Variedad
1.....	Khun Y
2.....	Adelfa 17
3.....	A. M. 4
4.....	U. S. 33
5.....	U. S. 215 x 216
6.....	Synthetic Check
7.....	Wilhelm Rimpau tipo « E »
8.....	Saatgucht Dippe x Saatgucht Herford tipo « X »

- 9..... FR. STR. Schoningen tipo « E »
- 10..... FR. STR. Schoningen tipo « GK »
- 11..... Rabbethge y Kiesecke
- 12..... Zwanesse III Uruguay
- 13..... Van der Have pedigree E. Uruguay
- 14..... Kleinwanzleben « Polybeta »
- 15..... Kleinwanzleben « E »
- 16..... U. S. 15 S. L. 7-15
- 17..... U. S. 35 2-S. L. 024
- 18..... U. S. 56 2-S. L. 859
- 19..... U. S. 75-S. L.-C. 175
- 20..... U. S. 22/3-S. L. 96
- 21..... U. S. 401
- 22..... Maribó Polyploide
- 23..... Van der Have
- 24..... Kleinwanzleben Polybeta
- 25..... Kleinwanzlebener « E » D. A.
- 26..... Kleinwanzlebener « N » D. A.
- 27..... Kleinwanzlebener « Y » D. A.
- 28..... Kleinwanzleben « E » (Ch. E. Y.)
- 29..... Maryland

El material utilizado procede de la Chacra Experimental de Yraíz dependiente de la Dirección de Agricultura del Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires, correspondiente todo a la cosecha 1959.

IV. METODOS DE EXPERIMENTACION

Las determinaciones analíticas fueron realizadas sobre muestras de cada una de las variedades de remolacha azucarera indicadas anteriormente, determinándose su humedad en estufa de aire a 100° C hasta peso constante. Para la determinación de la betaína y colina se siguió el método simple aconsejado por Reifer (11) utilizando como precipitante el periodato de potasio.

La determinación de sacarosa, cuyos datos analíticos también se consignan a título informativo, fue efectuada por el método polarimétrico sobre el extracto alcohólico obtenido por el procedimiento indicado por Villavecchia (15).

V. DATOS

Numero de la muestra	Varietad	Peso bruto kg	Peso medio kg	Humedad %	% sacarosa s/remolacha- Polarimetro	Colina mg %	Colina y Be- taina mg %	Betaina mg %
1	Kuhu Y.....	4,300	1,433	78,30	15,00	16,3	198,1	181,8
2	Adelfa 17.....	3,300	1,100	76,82	16,90	15,6	326,3	310,7
3	A. M. 4.....	3,700	1,233	76,24	18,10	17,2	299,2	282,0
4	U. S. 33.....	2,800	0,933	82,22	17,85	29,7	490,1	460,4
5	U. S. 215 x 216.....	2,400	0,800	76,79	13,15	12,8	748,6	735,8
6	Synthetic Check.....	3,000	1,000	78,20	15,60	8,0	456,2	448,2
7	Wilhelm Rimpau tipo « E ».....	2,600	0,866	78,75	16,90	18,2	554,1	545,9
8	Saatgucht Dippe x Saatgucht Herford tipo « N ».....	3,600	1,200	77,03	15,10	12,7	849,4	836,7
9	FR. STR. Schoningen tipo « E ».....	3,000	1,000	78,24	15,40	15,8	246,6	230,8
10	FR. STR. Schoningen tipo « GK ».....	2,300	0,766	78,76	16,90	15,9	134,7	128,8
11	Rabbethge y Kiesecke.....	2,900	0,966	77,54	17,85	15,2	291,1	275,9
12	Zwanesse III Uruguay.....	2,650	0,833	78,34	17,25	28,3	368,6	340,3
13	Van der Have pedigree E. Uruguay..	2,700	0,900	79,41	15,00	11,0	576,1	565,1
14	Kleinwanzleben « Polybeta ».....	2,600	0,866	77,77	17,65	22,1	607,1	585,0
15	Kleinwanzleben « E ».....	4,200	1,400	70,55	16,90	8,2	264,2	256,0
16	U. S. 15-S. L. 7-15.....	3,800	1,266	75,73	18,75	6,8	362,5	355,7
17	U. S. 35 2-S. L. 024.....	3,500	1,166	80,01	17,10	15,0	627,4	612,4
18	U. S. 56 2-S. L. 859.....	2,500	0,833	79,84	16,90	7,4	792,9	785,5
19	U. S. 75/S. L.-C. 175.....	2,400	0,800	81,05	15,75	16,0	304,8	288,8
20	U. S. 22/3-S. L. 96.....	2,200	0,733	79,31	18,75	18,1	454,5	436,4
21	U. S. 401.....	2,300	0,766	75,74	18,75	18,0	768,8	750,8
22	Maribó Polyploide.....	2,400	0,800	79,75	17,25	14,5	126,2	111,7
23	Van der Have.....	2,500	0,833	77,60	15,00	9,1	716,6	707,5
24	Kleinwanzleben Polybeta.....	2,600	0,866	75,28	18,75	17,4	455,0	437,6
25	Kleinwanzlebener « E » D. A.....	3,100	1,033	76,67	16,90	13,3	232,4	219,1
26	Kleinwanzlebener « N » D. A.....	2,700	0,900	78,18	15,40	18,5	898,7	880,2
27	Kleinwanzlebener « Y » D. A.....	2,300	0,766	78,18	16,50	21,2	401,6	380,4
28	Kleinwanzleben « E » (Ch. E. Y.).....	3,400	1,133	77,85	16,90	7,5	268,3	260,8
29	Maryland.....	3,900	1,300	78,89	16,90	20,1	806,2	786,1

VI. SUMARIO

Sobre veintinueve muestras de remolacha azucarera (*Beta vulgaris*), provenientes de la Chacra Experimental de Yráizoz (Prox. a Miramar), dependiente de la Dirección de Agricultura del Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires, remitidas para la determinación de sacarosa, se realizaron determinaciones de betaína y colina.

Las muestras analizadas corresponden a las siguientes variedades: Kuhn Y, Adelfa 17, A.M. 4, U.S. 33, U.S. 215×216, Synthetic Check, Wilhelm Rimpau tipo "E", Saatgucht Dippe×Saatgucht Herford tipo "N", FR. STR. Schoningen tipo "E", FR. STR. Schoningen tipo "GK", Rabbethge y Kiesecke, Zwanesse III Uruguay, Van der Have pedigree E. Uruguay, Kleinwanzleben "Polybeta", Kleinwanzleben "E", U.S. 35/2-S.L. 024, U.S. 56/2-S.L. 859, U.S. 75-S.L.-C.175, U.S. 15-S.L. 7-15, U.S. 22/3-S.L. 96, U.S. 401, Maribó Polyploide, Van der Have, Kleinwanzleben Polybeta, Kleinwanzlebener "E" D.A., Kleinwanzlebener "N" D.A., Kleinwanzlebener "Y" D.A., Kleinwanzleben "E" (Ch. E. Y.), Maryland, provenientes todas ellas de la cosecha 1959. En todas las muestras analizadas se han encontrado cantidades dosables de las bases colina y betaína, siendo por otra parte en general bien provistas de sacarosa.

De estas dos bases determinadas, fuentes de grupos metílicos lábiles, la betaína se encuentra en mayor proporción que la colina.

Puede manifestarse que el contenido de betaína y colina en las muestras analizadas no guarda relación con el contenido de sacarosa.

Conclusiones. — 1° Las raíces de remolacha azucarera (*Beta vulgaris*), contienen cantidades dosables de betaína y colina.

2° De estas dos bases la betaína se encuentra en mucho mayor cantidad que la colina.

3° No hay relación entre el contenido de betaína y colina y el de sacarosa.

4° En general todas las muestras analizadas presentan un buen porcentaje de sacarosa.

Conclusions. — 1° The sugar beet roots have a valuable amount of the betaine and choline.

2° Of these two bases the betaine is present in higher amount than the choline.

3° There is no relation between the amount of betaine and choline and the saccharose.

4° In general, the samples tested, present a good porcentage of saccharose.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

1. BARGER, G., 1914. *The simpler natural bases*. Longmans, Green and Company. Londres.
2. BARGER, G. AND A. EWINS, 1911. *The constitution of ergothioneine: a betaine related to histidine*. — J. Chem. Soc. 99: 2336.
3. BARRENSCHEEN, H. K. AND T. VÁLYI-NAGY, 1942. *Methylation by plant and animal tissues. I. Methionine as a methylation agent in the synthesis of creatine and betaine by etiolated wheat germs*. — Z. Physiol. Chem. 277: 97-113.
4. BIRSMA, R. N. AND H. I. WATERMAN, 1956. *Nitrogen balance in the diffusion of sugar beets at low temperature with sulfur dioxide, and at high temperature*. — J. Sci. Food Agr. 7: 28-31.
5. BREGOFF, HERTA M. AND C. C. DELWICHE (U. California, Berkeley), 1955. *The formation of choline and betaine in leaf disks of « Beta vulgaris » L.* — Jour. Biol. Chem. 217 (2): 819-828.
6. BROWN, S. A. AND RICHARD U. BYERRUM, 1952. *The origin of the methyl carbon of nicotine formed by « Nicotiana rustica »*. — J. Am. Chem. Soc. 74: 1523.
7. CRONWELL, B. T. AND S. D. RENNIE (Dep. of Botany University College Hull.), 1953. *The biosynthesis and metabolism of betaines in plants. I. The estimation and distribution of glycinebetaine (betaine) in « Beta vulgaris » L. and other plants*. — Biochem. Jour. 55 (1): 189-192.
8. — (Univ. Hull. Engl.), 1954. *Biosynthesis and metabolism of betaines in plants. II. Biosynthesis of glycinebetaine (betaine) in higher plants*. — Biochem. Jour. 58: 318-322.
9. FRIEDMAN, S., J. E. MC FARLANE, P. K. BHATTACHARYYA AND G. FRAENKEL (U. Illinois, Urbana), 1955. *Quantitative separation and identification of quaternary ammonium bases*. — Arch. Biochem. and Biophys. 59 (2): 484-490.
10. KIRKWOOD, S. AND LEO MARION, 1951. *The biogenesis of alkaloids. II. The origin of the methyl groups of hordenine and choline*. — Canad. J. Chem. 29: 30-36.
11. REIFER, I., 1941. *The micro determination of betaine and choline*. — New Zealand J. Sci. Tech. 22 (2B): 111-116.
12. SIMENAUER, M. A., 1956. *Metabolisme de la bétaine dans le glomérule de Betterave*. — Comp. Rendus. 243: 213-215.
13. SOMMER, E. AND Z. ZUCKERIND, 1957. *Betaine in the beet and in sugar house products*. Z. Zuckerind. 7: 330-331.
14. SRIBNSKY, M. AND S. KIRKWOOD (Mc Master Univ. Hamilton), 1954. *The role of betaine in plant methylations*. — Can. J. Chem. 32: 918-20.
15. VILLAYECCHIA, V., 1944. *Tratado de química analítica aplicada*. Barcelona, 2: 138.