

Trabajos del Laboratorio de Histología y Anatomía
patológica de la Facultad de Medicina de Barcelona.
Profesor Dr. Ferrer y Cagigal

MODIFICACIÓN AL MÉTODO DE LA «CAGIGALINA» EN LA COLORACIÓN ESPECÍFICA DE LAS GRASAS

por

V. LORDA ANDERA

Interno del Laboratorio.

En 7 de mayo de 1924 era presentada a la «Societat de Biologia de Barcelona», por mi querido maestro el Dr. FERRER Y CAGIGAL, una comunicación sobre un nuevo método para la coloración específica de las grasas. Fué el resultado de una serie de búsquedas, en las que la sutil observación del maestro al fijarse en los hechos de la vida corriente dió los resultados apetecidos.

El método del Dr. FERRER Y CAGIGAL (a cuya solución colorante dimos en el Laboratorio el nombre de «Cagigalina»), es una más extensa aplicación de la que hacen en los pueblos andaluces para la coloración de mantecas y en otros para la de embutidos (chorizos riojanos, sobrasada mallorquina, etc.). De su selectividad da pruebas el hecho de que en los compuestos culinarios las grasas son las únicas sustancias que están coloreadas en rojo.

La «Cagigalina» es una solución en alcohol de 90° del principio colorante que encierra el pimentón.

Se designa en España con el nombre de pimentón (paprilea, en algunos países de Europa) el fruto rojo, maduro, desecado y pulverizado del pimiento rojo (*capsicum annum*, *C. longuum*, de la familia de las Solanáceas), llamado por los franceses pimiento de los jardines, y en América ají; se cultiva en España, Sudamérica, Hungría y Sur de África. El pimentón se adquiere preparado ya en el comercio.

Para la mejor obtención de la solución colorante, preciso es que el pimentón no esté falsificado; para ello lo mejor sería prepararlo particularmente, pero ante tal inconveniente, lo mejor será probar la autenticidad del mismo. Son muchas las sustancias que pueden encontrarse en el pimentón adulterado, pero la más frecuentemente empleada para su falsificación es el aceite; puede reconocerse la adición de aceite de una manera sencilla: envolviendo el pimentón en papel absorbente, manchándose el papel de grasa si en el pimentón hay aceite; en cambio, el pimentón puro mancha el papel de rojo al cabo de algún tiempo. Puede también reconocerse examinando el pimentón al microscopio. Si está adulterado,

permite observar gotitas de aceite fuera de las células, mientras que en el puro existen dentro de las células unas granulaciones rojas, encontrándose pocas de ellas fuera de las células; estas granulaciones son más pequeñas que las gotitas de aceite. También se emplean para su falsificación otras sustancias: Salvado, harina, ocre, minio, polvo de sándalo, de leño, barrita y materias colorantes (1); también se han encontrado cáscaras de nuez, huesos de aceituna molidos, etc.

El aumento de la cantidad de las cenizas servirá para el reconocimiento de adulteraciones minerales, y el aumento de la cantidad de celulosa, indica la adición de cáscaras de nuez y huesos de aceituna.

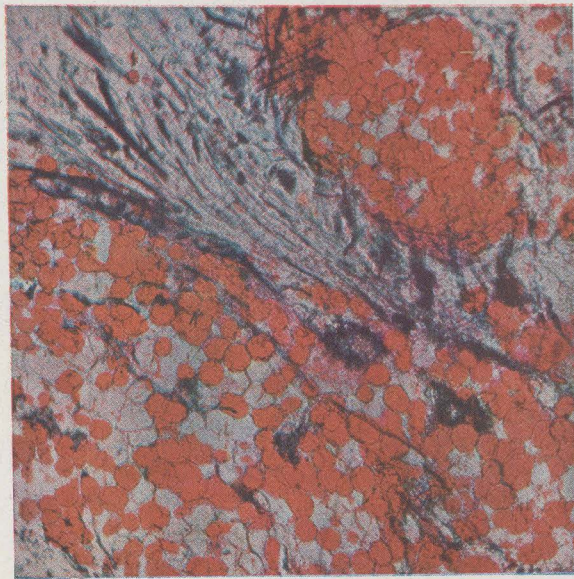
Según G. DE LA PUERTA, el pimentón molido puro (el preparado sólo con el pericarpio del fruto) contiene de 10,3 a 10,5 por % de materia grasa y de materia colorante, y la cantidad de estas sustancias se reconoce extrayéndolas con éter o con sulfuro de carbono; si aumenta la cantidad de materias extractivas, indica la adición de aceite, aunque este aumento ha de ser mayor del 2 %, porque si, junto con el pericarpio, han sido molidas las semillas (que contienen hasta el 12 % de materia grasa) puede contener más del 10,5 % sin estar adicionado de aceite. Hay que tener en cuenta, sin embargo, que el pimiento picante contiene mayor cantidad de materia extractiva que el pimiento dulce y que a veces el extracto etéreo puede llegar hasta el 15 ó 16 % en el pimiento picante legítimo. Por otra parte, comparando con el pimentón legítimo puede observarse si existen materias extrañas.

* * *

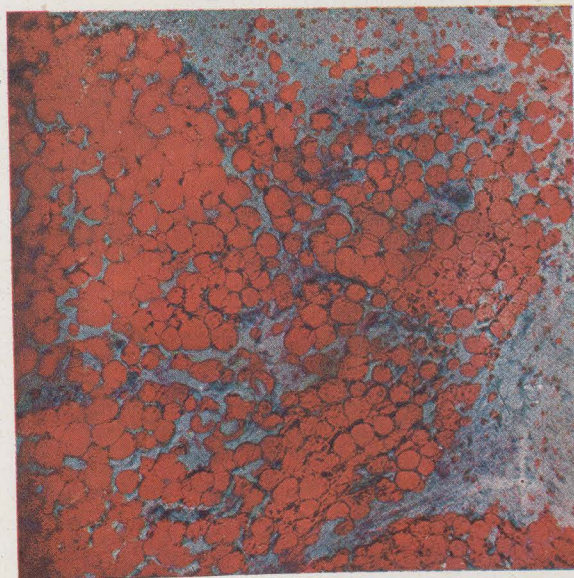
(1) Cosa digna de ser tenida en cuenta, porque en esas condiciones la «Cagigalina» colorearía otras texturas además de la grasa. El colorante que más frecuentemente se encuentra en el pimentón adulterado de esa forma, es la eosina.

MODIFICACIÓN AL MÉTODO DE LA "CAGIGALINA"
EN LA COLORACIÓN ESPECÍFICA DE LAS GRASAS

V. LORDA ANDERA



I. — Tejido adiposo subcutáneo. Coloración por la «Cagigalina»



II. — Tejido adiposo subcutáneo. Coloración por la modificación
del Autor a la «Cagigalina»

ARS MEDICA

Septiembre
1929

Para la obtención de la «Cagigalina», que se ha de emplear como reactivo colorante, el mejor resultado se obtiene por maceración del pimentón; generalmente empleamos el macerado alcohólico con alcohol de 90° de pimentón a saturación.

El principio colorante del pimentón no ha sido todavía bien estudiado; únicamente se sabe que acompaña a la substancia que se extrae del pimentón al tratar por el éter las soluciones alcohólicas y evaporación de la solución etérea, resultando una substancia oleosa, pardorrojiza y muy irritante.

Esta substancia fué estudiada en 1816 por BUCHOLZ y BRACONOT, creyendo fuera el principio activo de los pimientos; sin embargo, el producto obtenido no es una especie química, sino una mezcla de grasa unida íntimamente al colorante y el principio picante; a dicha mezcla le dieron el nombre de *capsicina* los referidos autores, y BUCHLEIN, el de *capsicol*. Estos tres componentes de la capsicina se han podido separar.

En efecto, DRAGENDORFF y también THRESH y FELLETTAR, han obtenido de la capsicina una substancia que se evapora sin descomponerse a los 115,5°, siendo su punto de fusión a los 59° cristalizable, incolora, soluble en las lejías alcalinas, denominándola *capsaicina*. Tanto la capsicina como la capsaicina producen escozor e inflamación si se colocan sobre la piel. Parecer ser, la capsaicina, el principio activo de los pimientos.

Para unos, es la capsaicina un alcaloide volátil, de olor a conina, que da sales cristalizables con el ácido clorhídrico y con el ácido nítrico; parece presentarse el clorhidrato en masas cristalinas, cuya solución precipita por los reactivos generales de los alcaloides, no dando el reactivo de FROEHE ninguna reacción. Al decir de Th. PABST, la substancia alcaloídica, que puede presentarse en los frutos del *Capsicum annum*, no debé ser tenido como componente normal de los mismos, sino que debe ser considerado como un producto de descomposición por la acción de agentes químicos o por almacenamiento de los frutos. Otros creen que es una esencia. Para G DE LA PUERTA, no sería ni lo uno ni lo otro, sino que el principio activo sería una substancia de carácter marcadamente ácido, a la que llama ácido cápsico.

Según FLÜCKIGER, la capsaicina se representa por C9 H14 O2; según MICKO, por C18 H27 NO3, y según GUARESCHI y también THORPE, por C18 H28 NO3.

De la capsaicina es difícil separar el *principio colorante*, íntimamente unido a la grasa; G. DE LA PUERTA ha podido separarlo de la solución etérea por medio del carbón animal; después de filtrar y evaporar espontáneamente el líquido deja el 8 % de grasa blanda, resultando un 2,5 % de materia colorante. El residuo del tratamiento con éter o con sulfuro de carbono, es un polvo de color rojo, inodoro y de aspecto de serrín, de peso 88 %, entrando en su composición celulosa, pectosa y materias proteicas, pectina, fécula, azúcar, materias minerales y humedad. Según el mismo autor, no todos los pimientos contienen la misma cantidad de materia colorante. A

continuación copiamos el resultado de su análisis en el pimiento molido de Murcia:

Agua y substancia volátil	8,5
Materias minerales (cenizas)	6,3
Grasa sólida	8,0
Materia colorante roja	2,5
Acido cápsico (principio picante).	0,3
Pectina	28,0
Pectosa y otras materias albuminoideas	9,6
Azúcar (fructuosa)	6,0
Fécula	5,0
Celulosa	22,4
Principio oloroso	indeterminado
Pérdida	3,4
	100,0

Copiamos este cuadro por ser el más completo que hemos encontrado y por referirse especialmente al pimiento rojo molido español; los otros análisis que hemos podido encontrar adolecen para nosotros de dos inconvenientes: uno, que se refieren algunos a otras especies del género *Capsicum*, principalmente de fruto pequeño (*C. minimum*, *C. fastigiatum*, *C. frutescens*), como la llamada pimienta de Cayena, que puede considerarse como una variedad del pimentón (los frutos secos enteros de la variedad de Cayena son llamados en Inglaterra y otros países, *chilies*, y en Portugal, *pimentao*). Otro inconveniente que ha subsanado el referido autor es el de separar las tres substancias que componen el extracto alcohólico, cosa que en otros análisis que hemos visto no se hace (1).

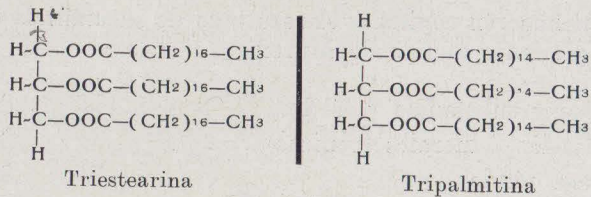
* * *

El mismo autor ha encontrado mayor cantidad de materia colorante, de grasa y de principio picante en el pimentón de Rioja y especialmente en el de la Vera de Plasencia; en éstos llega al 15,4 por 100 el extracto etéreo.

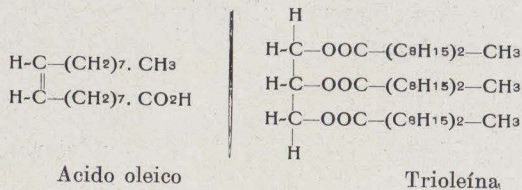
Nuestra modificación al método del Dr. FERRER Y CAGIGAL consiste en el empleo de un coadyuvante a la coloración. El coadyuvante empleado es el yodo, por la propiedad que tiene de combinarse con las grasas correspondientes a los ácidos grasos de la serie no saturada (con enlaces dobles; serie acrílica u oleica) y, por lo tanto, con valencias por saturar, en las que por un, a modo de desdoblamiento, se verifica su saturación. Por cada enlace doble se fijan dos átomos de yodo.

En la célula adiposa del hombre existen dos grasas sólidas. Son ellas la triesterina y la tripalmitina de fórmula cuyos correspondientes ácidos están saturados.

(1) Como los practicados por RICHARDSON (U. S. Depat. of Agric., Div. of Chem. Bull. 13, 1887); por Manuel SAENZ DÍEZ, el de KOENING, etc.



y una grasa líquida, con su ácido graso correspondiente por saturar, la trioleína



Es, pues, el ácido oleico (y, por lo tanto, la trioleína), el que saturaría sus valencias dobles con el yodo.

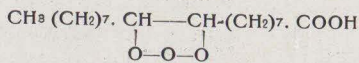
Mucho se ha discutido sobre la situación del doble enlace en la molécula de ácido oleico.

En un principio creyóse que el doble enlace estaba situado en el extremo de la cadena próximo al carboxilo en situación x-B. Pero en 1894, BARUCH obtuvo el ácido estearóico al separar ácido bromhídrico del bibromuro del ácido oleico; el ácido estearóico tiene un triple enlace en el centro de la molécula.

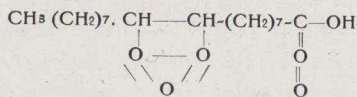
Los productos de oxidación (con permanganato potásico) del ácido oleico dan en parte, también, ácidos con nueve átomos de carbono (ácido pelargónico y ácido acelaico); esto hace suponer que la rotura de la molécula de ácido oleico debe ocurrir en medio de la cadena, y éste seguramente será el lugar ocupado por el doble enlace.

Pero la más clara demostración de la constitución de la molécula de ácido oleico ha sido dada por H. MOLINARI y SONCINI (1905 y 1906) y también por C. HARRIES (1906), con el estudio del ozonuro del ácido oleico y sus productos de descomposición.

Se adiciona cuantitativamente el ozono sobre el doble enlace y haciendo obrar aire ozonizado como lo hizo MOLINARI. Se obtiene el ozonuro simple:



HARRIES hizo actuar oxígeno ozonizado, obteniendo un peróxido de ozonuro:



Al descomponer estos ozonuros (del ácido oleico o elaídico) con álcalis diluidos o con agua, en caliente, fórmanse ácidos (nonílico, acelaico, etc.), o aldehídos (nonílico y semiacelaico), todos ellos con nueve

átomos de carbono, lo que es prueba de que la ruptura de la molécula ha tenido lugar en el centro, y éste es, por lo tanto, el sitio ocupado por la doble unión.

Así, pues, es en la porción central de la molécula de ácido oleico en donde se verifica el desdoblamiento de las valencias dobles para ser saturadas por el yodo.

Con nuestra modificación, el método de la «Cagigalina» se obtiene una más intensa coloración, dependiendo la intensidad de la misma de la proporción en que se halle, en la grasa celular, la trioleína. En efecto, hemos podido observar en la grasa del adulto una mayor intensidad de la coloración que en el niño, debido al mayor predominio, en aquel, de las grasas líquidas (trioleína), existiendo mayor cantidad de grasas sólidas en el niño, como puede verse en el siguiente cuadro:

	En el niño		En el adulto
Trioleína . . .	67,7	por 100 . . .	89,8
Triestearina . . .	3,3	. . .	2,0
Tripalmitina . . .	28,9	. . .	8,1

(CALLEJA FERRER).

EL MODUS FACIENDI ES COMO SIGUE:

Método de la «Cagigalina»

- 1.º Fijación en formol al 10 %.
- 2.º Cortes por congelación.
- 3.º Coloración nuclear (Hematoxilina DEL RÍO etc.).
- 4.º Inmersión de los cortes en «Cagigalina».
- 5.º Lavado en agua o en alcohol atenuado.
- 6.º Montaje en glicerina o en licor de APATHY.

Método modificado

- 1.º Fijación en formol al 10 %.
- 2.º Cortes por congelación.
- 3.º Coloración nuclear.
- 4.º Inmersión de los cortes en solución alcohólica de yodo muy diluída.
- 5.º Inmersión en «Cagigalina» a la que se habrá echado unas gotas de solución alcohólica de yodo (en un pocillo de 20 c.c. se echan 10 a 15 gotas).
- 6.º Lavado en agua o en alcohol atenuado.
- 7.º Montaje en glicerina o en licor de APATHY.

Por este proceder de la «Cagigalina» se colorean perfecta y selectivamente la inclusión adiposa celular, bien producto normal o de degeneración. También colorea los lipoides, jabones, etc.

Para la coloración de la mielina necesitan los cortes de una más prolongada permanencia en «Cagigalina», obteniendo un color rojo claro la mielina normal, y rojo más intenso la mielina degenerada.

BIBLIOGRAFIA (1)

A. FERRER Y CAGIGAL.—Un nuevo colorante de las grasas («Societat de Biologia de Barcelona», Tomo II. 1924), y en «Revista Médica de Barcelona», 1927.

D. FERRER Y C. DEL CASTILLO.—El empleo de la «cagigalina» en la coloración específica de las grasas («ARS MEDICA», 1928).

GIRARD A. L. et DUGAT.—Les produits alimentaires.

GIRARD A. L.—Les corps gras. Les bougies et savons.

G. DE LA PUERTA.—Análisis del pimiento molido de Murcia. (Real Academia de Ciencias exactas, físicas y naturales de Madrid). Tomo III. 1904.

THORPE.—Enciclopedia Química-industrial.

SCHMIDT E.—Tratado de química farmacéutica.

CALLEJA FERRER.—Histología e histoquímica.

J. GUARESCHI.—Enciclopedia Chimica.

MOÏNARI.—Química orgánica.

M. GIRARD.—Analyse des matières alimentaires. París, 1904.

H. ERDMANN.—Traité de chimie minerale.

BERTHELOT et JUNGFBUSCH.—Traité de Chimie Organique.

RESUME

Le Prof. FERRER ET CAGIGAL a présenté le 7 Mai 1924 à la «Societat de Biologia de Barcelona» une communication sur une nouvelle méthode pour la coloration spécifiques des graisses. La solution colorante (que nous appelons au Laboratoire «Cagigalina») s'obtient par la dissolution en alcool de 90° du principe colorant que renferme le gros poivre (celui-ci contient un 2,5 % de colorant).

(1) Anotáramos como cita bibliográfica la de As. HADJIOLOFF del «Institut d'Histologie de la Faculté de Médecine de Lyon» de no ser posterior en 5 años (Bulletin de l'Institut d'Histologie de la Faculté de Médecine de Lyon. Abril de 1929), a la del Dr. FERRER Y CAGIGAL, y haberse, además, enviado a dicho Instituto una copia de la tan interesante comunicación y muy digna de ser tenida en cuenta. Además, la publicación de As. HADJIOLOFF es defectuosa por no dar completa idea de qué clase de pimiento se obtiene el colorante; pues el género Capsicum comprende muchas especies y precisamente le ha de tener mucho cuidado en la elección de la especie para la mejor obtención de la solución colorante.

En Espagne on donne l'énom de pimenton (gros poivre) au fruit rouge, mûr, desséché et pulvérisé du piment rouge (capsicum aurum, C. longum de la famille des solanées). Les Français l'appellent piment des jardins et en Amérique «ajik» on le cultive en Espagne, en Amérique du Sud, en Hongrie et en Afrique du Sud. On ne doit pas confondre le gros poivre que nous employons avec celui qu'on obtient d'autres espèces de fruit plus petit (capsicum minimum, C. Jastigatum, C. frutescens) de même que celui qu'on appelle poivre de Cayenne.

Notre modification à la méthode du Prof. FERRER ET CAGIGAL consiste à l'emploi de l'iode qui a la propriété de saturer les graisses qui correspondent aux acides de la série non saturée ou série oléique. Pour obtenir la coloration nous passons les coupes à travers un godet avec 20 cm³. d'eau et 5 à 7 gouttes de solution alcoolique d'iode; ensuite on submerge cela en quantité égale de «Cagigalina» à laquelle on aura ajouté de 10 à 15 gouttes de solution alcoolique d'iode.

SUMMARY

On the 7th of May 1924, Professor FERRER Y CAGIGAL read a paper at the «Societat de Biologia de Barcelona», about a new method for the specific colouring of fats. The colouring solution (which we call «Cagigalina» at the laboratory), is obtained by dissolving in alcohol 90 % of the colouring principle which contains the paprikathis contains T.L. of colouring.

We call «pimenton» in Spain (papsilea in Central Europe) the red, ripe dissected and powdered fruit of the red chilly (capsicum aurum, C. longum of the solanaceas family), called «garden chilly» by the Frenchmen and «aji» in America; it is grown in Spain, South America, Hungary, and South Africa.

The paprika employed by us should not be mistaken for the one obtained from other kinds of smaller fruit (capsicum minimum, C. Jastigatum, C. frutescens) such as the so called cayenne pepper.

Our modification to Professor FERRER Y CAGIGAL's method consists in employing iodine on account of its property of saturating fats corresponding to acids of the non-saturated series or olein series. For the colouring we pass sections through a recipient containing 20 c.c. of water with from 5 to 7 drops of alcoholic iodine solution; and afterwards they are immersed into an equal volume of «Cagigalina» to which from 10 to 15 drops of alcoholic iodine solution have been added.