

## Tesis de Posgrado

# Determinación del contenido de Laminarina en algas argentinas

Einsenthal, Teresa Julia

1955

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:**

Einsenthal, Teresa Julia. (1955). Determinación del contenido de Laminarina en algas argentinas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0822\\_Einsenthal.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0822_Einsenthal.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Einsenthal, Teresa Julia. "Determinación del contenido de Laminarina en algas argentinas". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1955.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0822\\_Einsenthal.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0822_Einsenthal.pdf)

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales

Escuela de Química

-.-

TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTORA EN QUIMICA

p o r

TERESA JULIA EISENTHAL

TESIS: 822

822

Tesis: Determinación de laminarina en algas argentinas  
por Teresa J. Eisenthal

En el presente trabajo se ha puesto a punto el método de dosaje de la laminarina, basado en el descripto por Camesca y Ross.

Este ficocoloide, cuya fórmula empírica es  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , es un polímero de la glucosa compuesto enteramente por unidades de  $\beta$ -D glucopiranosas ligadas a través de las posiciones 1-3, habiéndose realizado una serie de ensayos tanto para demostrar su constitución, como así también el número de unidades glucosas que lo componen.

El método utilizado consiste esencialmente en la hidrólisis de los polisacáridos contenidos en el alga, fermentación de la glucosa con levadura y dosaje de los azúcares no fermentables; por diferencia se establece el contenido en glucosa y de aquí el de laminarina, utilizándose para el dosaje de azúcares la técnica de Schaffer-Somogyi.-

Dada sus propiedades adhesivas, así como la posibilidad de utilizarlo como materia prima para fabricar glucosa por hidrólisis ácida y además por sus propiedades medicinales, es necesario conocer la época en que el contenido de laminarina en las algas alcanza su máximo para su mejor aprovechamiento.

Con tal motivo, se han hecho estudios sobre la variación del contenido anual de la misma en distintas algas.

En el presente trabajo dicho estudio se realizó en el *Macrocystis pyrifera* (planta entera) utilizando muestras mensuales correspondientes al período de un año.

Los resultados obtenidos demuestran que contrariamente a lo descripto en la literatura sobre el contenido de este hidrato de carbono de reserva en las Laminarias, el *Macrocystis pyrifera* sólo contiene una pequeña proporción y la variación anual no parece estar sujeta a las condiciones climáticas.

Para confirmarlo será necesario repetir las determinaciones sobre muestras de algas convenientemente estabilizadas para evitar la influencia de la posible acción enzimática.

*[Handwritten signature]*

*[Handwritten signature]*

Rev. de Turm. 822

Agradezco al Doctor Horacio Fortunato el valioso asesoramiento y guía que me ha dispensado en la realización del presente trabajo.

Igualmente debo agradecer al Director del Instituto Tecnológico Argentino, que me ha facilitado el material necesario, así como la utilización de sus laboratorios donde me fue posible ejecutar mi tesis.-

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Teresa Julia Eissenthal', written in a cursive style.

Teresa Julia Eissenthal

Buenos Aires, mayo 5 de 1955.-

DETERMINACION DEL CONTENIDO DE LAMINARINA

EN ALGAS ARGENTINAS

1 9 5 5

## I n t r o d u c c i ó n

Las algas son plantas que habitan las aguas dulces y marinas clasificándose botánicamente en: algas verdes, pardas, rojas, caraceas, conjugadas, xantoficeas, silíceas y flageladas. Según el pigmento predominante se clasifican en: pardas, rojas, verdes y verde azuladas, siendo los más importantes, la clorofila, la xantofila y el caroteno. Las algas pardas contienen un pigmento pardo, la ficoxantina, llamado también fucoxantina y ficofeina, afin a los caratenoides.

Las algas rojas contienen un pigmento encarnado, la ficoeritrina. Se mezcla además a este pigmento y a la clorofila un pigmento azul, la ficocianina, de modo que la coloración resultante varía en estas algas desde el rojo vivo al azulado o verde, especialmente en los individuos sometidos a la acción del sol. La ficoeritrina es un pigmento nitrogenado, soluble en el agua dulce con fluorescencia anaranjada (1).

Las algas pardas, pueden dividirse en dos clases características:

a) la litoral o algas de las rocas, que crecen entre las mareas altas y bajas;

b) las algas sublitorales que crecen en las rocas debajo de la marea baja en una profundidad de unas 12 brazas.

Las algas pardas sufren marcadas variaciones estacionales en su composición química, habiéndose también investigado la influencia de otros factores, tales como la etapa de desenvolvimiento de la planta, lugar de crecimiento, la profundidad en que se encuentra (2).-

Estudios efectuados de la variación de la composición química a profundidad constante, según la estación del año, de las hojas, tallos y planta entera, se deduce que, en general, la variación más marcada ocurre principalmente en las hojas, donde la mayor parte, sino toda la fotosíntesis, tiene lugar; mientras los tallos muestran una ligera variación. Esto es lógico si se considera que las hojas son una formación anual, mientras que los tallos son perennes. En la primavera cuando las nuevas hojas se han formado su composición es similar a la de los tallos, por ejemplo: alto contenido en agua, materia mineral y ácido algínico; bajo en manitol y contenido muy pequeño o no hay laminarina (antes que la fotosíntesis comience). Cuando las viejas hojas caen y continúa el proceso de fotosíntesis, el manitol y la laminarina acumulada en las hojas, son utilizadas para el crecimiento, esporogénesis y como material de reserva para el invierno.

Debido a estas variaciones es que es muy necesario un estudio del alga durante todo el transcurso del año para poder cosecharlas en el momento de mayor contenido del producto para su aprovechamiento.

En cuanto a la recolección de las algas hay que efectuarla con cuidado a fin de evitar la extinción de las especies.

Las precauciones que deben tomarse se refieren al corte, que debe limitarse a la separación de las porciones extremas de las láminas un poco por encima de donde se halla la zona de generación de las nuevas frondas.

Cuando ello no es posible, como ocurre con el *Macrocystis Pyrifera*, se procura no desasir la base de la planta que

que exige decenas de años para formarse (3).

Dada su riqueza en sales como el cloruro de potasio, la soda, el iodo, las algas son explotadas comercialmente, ocupando un lugar importante entre los productos obtenidos de las mismas, los ficocoloides: algina, agar, carragenina, funorina, laminarina, fucoidina y un polialcohol, el mentol.

Los ficocoloides son polisacáridos derivados de algas marinas pardas y rojas, pudiendo formar sistema coloidales cuando se dispersan en agua.

En un principio, estos productos recibieron distintos nombres "Gelatina vegetable", "colapez vegetable", "cola de algas", pero habiéndose comprobado luego, de que no se trataba de compuestos nitrogenados como se creyó, se han popularizado más los nombres de "gomas de algas marinas" o "mucílagos", ya que como las gomas y los mucílagos son obtenidos de las plantas y son también polisacáridos. Sin embargo, existen algunas diferencias importantes entre las gomas y mucílagos de origen terrestre y los polisacáridos de algas, aunque se asemejan superficialmente. La goma y los mucílagos son poliurónidos conteniendo más de un tipo de unidad monosacárida, mientras que los coloides de las algas marinas contienen un solo tipo de unidad monosacárida y con excepción del ácido alginico no son poliurónidos. Aunque el ácido alginico se asemeja a las gomas, ya que es un poliurónido, se diferencia de éstos pues está constituido exclusivamente por unidades de ácido manurónico.

Las primeras plantas marinas, conocidas como algas pardas y rojas, de las cuales se obtenían los coloides, no están directamente relacionadas con las actuales plantas terrestres

de las cuales se obtenían las gomas y mucílagos. Hay numerosas diferencias entre las algas marinas y las plantas terrestres en su constitución química y en sus productos de asimilación. Por ejemplo, se ha establecido en los últimos años que la clorofila "b" no está presente en las algas pardas y rojas que tienen en cambio clorofila "c" y "d" respectivamente. También es distinto en unas y otras la clase de alimento de reserva.

Los conocimientos acerca de la naturaleza de los ficocoloides son todavía incompletos, por lo tanto, cualquier intento de clasificación de los mismos es todavía prematuro. Sin embargo, se pueden dividir en dos grupos generales: los poliuronidos solubles en álcalis, del tipo de la algina y los solubles en agua, representados por el agar y la carragenina que son sulfatos etéreos de variado grado de complejidad (4).

Descripción y Características de la  
laminarina

La laminarina, un polímero de la glucosa compuesto enteramente por unidades  $\beta$ -D-glucopiranosas, ligadas a través de las posiciones 1-3, fué descrita por Schmiedeberg (1885), quién la aisló de la Laminariaceae.

Fuó estudiada por Krefting y Torup (1909), Kylin (1913), Gruzewska (1923), Colin y Richard (1929), Lunde (1937), Nisizawa (1940), Le Gloahec y Herter (1940) y Barry (1938, 1942), habiendo sido revisados sus trabajos por Hassid (1944).

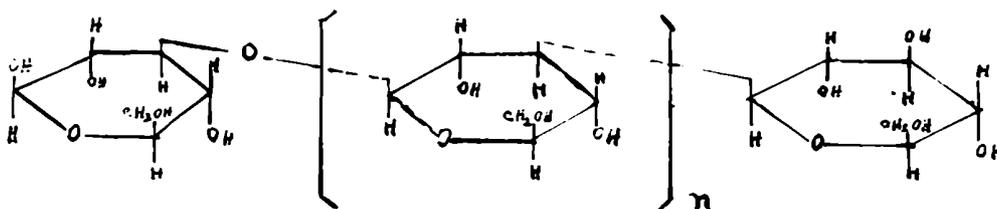
Barry demostró que la laminarina está constituida por unidades de glucosa y luego de una metilación e hidrólisis se obtenía 2:4:6 trimetilglucopiranososa. Concluye que la laminarina consiste en una cadena de glucopiranosas en unión de los carbonos 1-3 que asumen la forma de espiral y un último grupo de ensayos en los que se usó ácido periódico, indicaron la existencia de una cadena de 16 unidades de glucosa (Barry 1942). En 1950, Connell, Hirst y Percival encontraron en la Laminaria Cloustoni una cadena de 20 unidades de glucosa (5).

Era evidente la existencia en la laminarina de un tipo de unión completamente diferente del de los otros polisacáridos (por ejemplo, el almidón de las plantas terrestres es  $\alpha$ -D glucopiranososa con uniones 1:4) (6).-

Ha sido posible demostrar la existencia de un disacárido entre los productos de su hidrólisis cuando ésta es catalizada por enzimas o ácidos. Ese disacárido fué primero aislado en la forma de un jarabe, o un polvo blanco amorfo por fraccionamiento de los productos de hidrólisis. Se ha propuesto el

nombre de laminaribiosa a este azúcar (laminariosa era el nombre dado por Kylin a una sustancia de fórmula  $(C_{61}O_{10}O_5)_2 \cdot H_2O$ , la cual, según él, existía en los extractos acuosos de la laminarina. Sin embargo, dicho disacárido no se ha podido aislar).

La laminaribiosa es rápidamente convertida en glucosa por acción de la emulsina, pudiendo ser formulada como un glucosa-3- $\beta$ -glucósido. Con la aislación de este nuevo disacárido de glucosa y el reconocimiento de esas uniones glucosídicas, es posible confirmar la estructura sugerida para la laminarina:



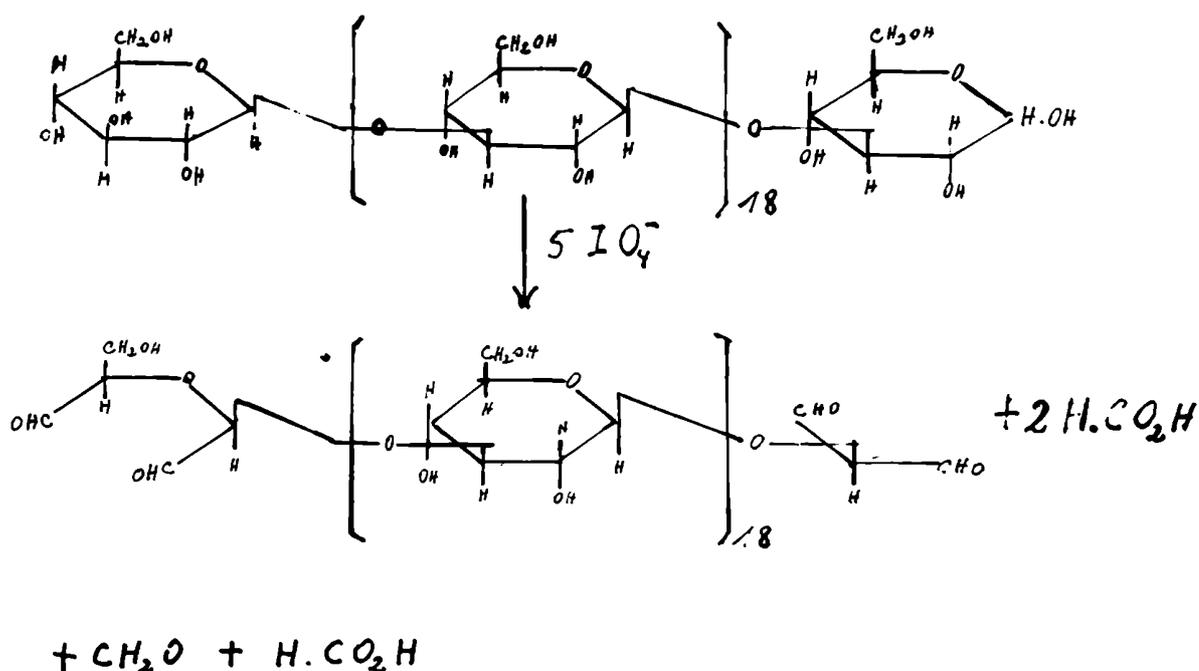
En esta fórmula la laminarina aparece constituida por una cadena de moléculas de  $\beta$ -glucosa ligadas entre sí desde el carbono reducido de una hexosa con el átomo de carbono 3 de la siguiente molécula de hexosa.

Zechmeister y Toth encontraron en la membrana un polisacárido de glucosa con una unión similar a la que se encuentra en la laminarina. Fue posible por hidrólisis parcial de esa sustancia por inmersión en HCl frío, aislar la osazona del disacárido. Las propiedades de esa osazona son similares a las descritas para la laminaribisazona (7).

La existencia de la ligadura 1:3 ha sido demostrada por ensayos de laminarina con  $HIO_4$ . La destrucción del  $HIO_4$  en este caso es despreciable en comparación con el que tiene lugar

con almidón o celulosa, pero hay una pequeña pero definida reducción del  $\text{HIO}_4$ , la cual ha demostrado ser debida a la oxidación del terminal no aldehídico de las unidades de glucosa. La oxidación de la laminarina con  $\text{HIO}_4$  0,25 M es completa en 4-5 días, con aparición de la forma dialdehídica; la acción prolongada causa la posterior oxidación de grupos  $\text{CO}_2\text{H}$ .- (8)

La acción del  $\text{IO}_4^-$  se puede expresar así, para la Laminaria Cloustoni. (9)



El almidón y la celulosa muestran un comportamiento similar; dejándola 5 días con  $\text{HIO}_4$  0,25 M los productos resultantes tenían neutralización equivalente de alrededor de 145, indicando que alrededor del 66% de los grupos CHO introducidos por el reactivo han sido luego oxidados a  $\text{CO}_2\text{H}$ .-

La oxidación del grupo - CHO de la laminarina con  $\text{Br}_2$  da ácido laminarínico, el cual ha sido sometido a ensayos

directos, por neutralización o por transformación en la sal de Ag y determinación de Ag. Los dos métodos indican que una unidad terminal no aldehídica está presente por cada 15 de las otras unidades.

La hidrólisis del ácido laminarínico con HCl al 5% da glucosa (identificada como glucosazona) y  $(HO)_2CH.CO_2H$  (demostrado por la reacción de Adamkiewicz-Hopkins-Cole); la oxidación del hidrolizado con Br da  $(CO_2H)_3$ ;  $(CHO)_2$  fué también identificado por la fenilosazona. Tales resultados no se obtenían si la laminarina no se oxidaba en la forma indicada.

Una oxidación preliminar de laminarina con Br antes de la oxidación con  $HIO_4$  no ha demostrado la existencia de mayor cantidad de grupos  $CO_2H$ . (8).-

Se ha demostrado que en la hidrólisis de la laminarina metilada, se produce solamente una trimetilglucosa (en una ocasión, después de largo reposo en el aire, ese jarabe cristalizó en considerable cantidad formando prismas rectangulares menos coloreados, teniendo P.F.:  $161-162^\circ C$ ). La trimetilglucosa resultante de la hidrólisis se ha comprobado que es 2:4:6 trimetilglucopiranososa (7).

Acetilando la laminarina con  $N_2O_5$  y  $Ac_2O$  o en suspensión de  $AcOH$  (Conteniendo Cl) con  $Ac_2O$  y  $SO_2$  se obtiene un triacetato de  $[\alpha]_D^{18} - 51,7^\circ$  (en  $CHCl_3$ ) que se convierte por ebullición durante 11 horas con HCl 5% en MeOH, en el  $\alpha$ -Me glucosido, m.  $165^\circ$  (con alcohol absoluto). La metilación de 3 gr del triacetato en 100 cc de  $Me_2CO$  frío con 100 cc de  $Me_2SO_4$  y 160 cc de KOH al 45% y 6 remetilaciones, se produce 94% de trimetillaminarina de  $[\alpha]_D^{18} - 4,39^\circ$  (en  $CHCl_3$ ) por simultánea desacetilación y

metilación. La hidrólisis de la trimetilaminarina en HCl 2% dá MeOH por suave reflujo durante 29 horas da 2:4:6 trimetilglucopiranososa  $m$  113-118°,  $[\alpha]_D^{12}$  99,3°  $\longrightarrow$  74,2% (valor del equilibrio) (en agua) (10).

Se ha demostrado, posteriormente, que en la hidrólisis del metil derivado de la laminarina se obtiene un 5% de tetrametilglucopiranososa, 8% de una mezcla de 2:6 y 4:6 dimetilglucosa y principalmente 2:4:6 trimetilglucosa, el cual por hidrólisis da 8% de dimetilglucosa. La producción de tetrametilglucopiranososa corresponde a la existencia de una cadena de 20 unidades de glucosa en lugar de 16 unidades como se dedujo en un principio (Barry, 1942, 578). (9).-

Se ha encontrado que la laminarina existe bajo dos modificaciones:

1) una insoluble en agua y que por lo tanto se separan las soluciones acuosas y

2) una forma soluble en agua pero precipitada por alcohol a 85% de concentración. La posibilidad de la existencia de una forma soluble en alcohol 85% no está excluida. La forma insoluble en agua está presente en 55-65% del total de laminarina en *Laminaria cloustoni*, 17% en la *Laminaria Saccharina* y está ausente en condiciones normales en la *Laminaria Digitata* y la *Fucaceae* (5).

Propiedades Físicas y Químicas  
de la Laminarina

Es un coloide inestable, sometido lentamente a una constante transformación. Es un sol típico compuesto de gránulos de distintas dimensiones, de los cuales sólo los más pequeños muestran movimiento Browniano. Su solución acuosa se descompone espontáneamente, aparentemente a través de una polimerización o condensación, para la cual el oxígeno parece ser indispensable.

Puede pasar a través de una membrana de colodio (11).

Polvo blanco como el almidón constituido por gránulos fuertemente refringentes de estructura radial indistinta y cuyo diámetro es de 4-5  $\mu$  (12).

Es inodoro, insípido. Punto de fusión determinado en un bloque es de 232-233°C. Es levógiro; su poder rotatorio varía según la especie de alga de la cual se ha obtenido y para una misma especie según el método de preparación.

Ejemplos:

Laminaria Cloustoni: - 7,- a - 14  
Laminaria Digitata: - 8,6 a - 27,4  
Laminaria Saccharina: - 13,2 a - 22,3  
Laminaria Flexicaulis: - 17,2 (13)

Las viscosidades de varios derivados de la laminarina fueron determinadas en m-cresol a 20°C con un viscosímetro de Ostwald; los resultados obtenidos fueron los siguientes:

////////

Derivado	C	Tiempos prome- dios de escu- rrimiento(seg.)				$\zeta$ esp.	$\zeta$ esp/o
		Solución Solvente					
Acetil Laminarina	0,0693	581	459	0,266	3,84		
Metil " (b)	0,0973	635	497	0,274	2,80		
Metil " (d)	0,0982	654	497	0,316	3,22		
Metil " (e)	0,0980	649	497	0,306	3,12		

La concentración en g.mol está representado por c.

Las fracciones de laminarina metilada parecen estar substancialmente indicadas. Utilizando la ecuación de Staudinger:

$\zeta$  esp. =  $K_M \cdot M \cdot c$  y siendo  $K_M = 5,3 \times 10^{-4}$  para el acetato y  $12 \times 10^{-4}$  para la laminarina metilada, los aparentes valores del peso molecular son 6.100 y 2.600 respectivamente; pero los verdaderos valores de las constantes no se conocen, y por lo tanto estos valores sólo pueden tomarse como una indicación del orden de la magnitud del peso molecular.

Se trató de determinar el peso molecular de la laminarina por medio del micrómetro de Barger (1904, 286) aplicándolo a la laminarina metilada. El goteo de una solución de 1,05 % de ese derivado en clorformo, se comparó, en tubos capilares, con soluciones de octa-acetato de sacarosa ( $2-5 \times 10^{-3} M$ ), siendo utilizadas lecturas pasajeras microscópicas al 0,02 mm. La condición isopiética se encontró estar situada entre  $3 \times 10^{-3}$  y  $4 \times 10^{-3} M$  de la solución de octa-acetato de sacarosa, por lo cual el peso molecular de la metilaminarina parece estar situada entre 3.500 y

2.600, correspondiente a una cadena de 13-17 unidades de  $C_9H_{16}O_5$ .-

Una determinación de presión osmótica para establecer el peso molecular de metilaminarina efectuada por el profesor H.W.Melville, F.R.S., por Mr. G. Forsyth, B.Sc., indican que dicho valor estaba comprendido entre 3.500 y 5.000.-

Este resultado sólo puede ser considerado como provisorio, por las indicaciones de difusibilidad a través de la membrana (9).-

En cuanto a su solubilidad, se ha establecido que a 0°C ésta es prácticamente insoluble en agua, a 10°C es soluble en la proporción de 1:5.000; a 20°C de 1:2.000, aumentando la solubilidad rápidamente hasta 40°C. (12).-

Se ha determinado que el producto anhidro absorbe 16,5% de agua en tres días sin cambiar de apariencia. 21 gr es soluble en 100 gr de agua a 15°C; 16,5 gr es soluble en 100 g de alcohol etílico 60%; insoluble en alcohol etílico 85% aun en ebullición. El derivado de bario es soluble en agua y precipitado con etanol, no se descompone por el  $CO_2$ .-

La laminarina se torna marrón cuando se la calienta a 200°C. (14).

La solución acuosa de laminarina reduce la solución de Fehling, pero no la de Barfoed (7). Tampoco da las reacciones de Tollens y de Biel y Seliwanoff (12). No se colorea con el colorante de Gram.

No coagula con el acetato básico de plomo (13).

Se obtiene el acetyl derivado (44% de acetato), tratando una solución de 0,75 gr de laminarina en 10 cc de  $C_5H_5N$

con 3 cc de  $As_2O_3$  y dejándolo 48 horas a la temperatura ambiente se obtiene, 1,26 gr del producto final.

Tratando una solución de 2 gr de laminarina conteniendo 10% de agua, en 20 cc. de  $C_5H_5N$ , con 6 cc. de  $BzCl$  y dejándolo 12 días se obtiene 2,66 gr del monobenzoato.

La metilación de 21 gr de laminarina en 30% de  $NaOH$  con  $SO_4Me_2$  dió 43,6 gr de un metil derivado conteniendo 4,5% de  $MeO$ .

La oxidación de la laminarina con hipiodito alcalino indica la reducción de un grupo por cada 40-7 unidades de glucosa; la oxidación con  $Br_2$  en agua indica un grupo  $CO_2H$  para 48 unidades de glucosa. La estimación del poder reductor de la laminarina por estos métodos, parece indicar que una proporción de grupos de potencial aldehídico son modificados del mismo modo (9).

Se asigna a la laminarina considerables posibilidades de aplicación industrial. Es un producto que tiene cualidades muy adhesivas; puede emplearse como material de encolado para el pegado de la madera.

Por su fácil hidrólisis ácida, pasando a glucosa sin formación de dextrina, se puede usar como materia prima para la fabricación de aquel producto (15), que en el presente se prepara con almidón de maíz, el cual se hidroliza un poco más rápidamente que la laminarina para dar glucosa cuantitativamente (2).

Los trabajos realizados por Blaine (16) han demostrado que la laminarina se puede usar como sustituto del talco y que es una base excelente para la penicilina y las sulfamidas en polvo, ayudando a una más rápida y mejor cicatrización de las heridas. Se la puede utilizar sola, sin que pueda resultar perjudicial.

así, por ejemplo, úlceras muy tenaces se han curado debajo de una capa de laminarina.

Las posibilidades de usar soluciones de laminarina como un sustituto del plasma sanguíneo, es un asunto que se está investigando (2).

Juntamente con el ácido algínico, manitol, fucoidina y celulosa, que constituyen las Laminarias, hace que éstas sean utilizadas como suministro de alimento ya que dichos constituyentes al absorber agua, forman una masa gelatinosa que actúa favorablemente en el revestimiento intestinal, produciendo una piel saludable y una mejor lubricación.

El valor nutritivo de la Laminaria, una de las algas más generales, fué ensayado sobre dos cerdos, observándose un aumento en el peso de cada uno de 235 libras. El coeficiente de digestibilidad del alga trabajada se aproxima entre 67 y 75. El total de materiales digestivos nutrientes de la harina, conteniendo un 10% de humedad, son calculados en 50 en comparación con 20 en las patatas (17).

Dado las diversas posibilidades de aplicación industrial de la laminarina, se ha estudiado el contenido de la misma en distintas algas pardas, así como también las variaciones de la misma, tanto estacional, diurnas y de profundidad.

De acuerdo con los trabajos de Kylin (18) los tenores por 100 partes de planta fresca son los siguientes:

Fucus serratus .....	2,24
Fucus visiculosus .....	0,51
Laminaria cloustoni .....	0,45
Laminaria Digitata .....	0,82
Laminaria Saccharina .....	1,16

También podemos observar los contenidos comparativos

obtenidos por Black en distintas especies examinadas (5).

Especies	Lugar en que se encuentran:	Fecha de colección:	Laminarina gr %:
L. Cloustoni	Cullipool	Nov/Dic.1945	28,6
L.Cloustoni	"	21.10.48	29,2
L. Digitata	Loch Melfort	22.10.45	23,8
L. Saccharina	" "	5. 9.45	26,5
Ascophyllum nodosum	Cullipool	8. 6.45	4,3
Fucus serratus	Port Appin	24. 8.45	9,4
Fucus spiralis	" "	21. 9.46	6,9
Polvetia canaliculata	Atlantic Bridge	Marzo 1949	2,5

K.Nisiwawa (19) estudió comparativamente las variaciones estacionales de la laminarina y el manitol en la Eisenia Bicyclis, llegando a la conclusión que la cantidad de laminarina aumenta en ese país desde febrero a junio y luego rápidamente al final de julio llegando al máximo a la mitad de agosto. Hay luego un pronunciado decrecimiento en octubre y un ulterior gradual decrecimiento durante el invierno.

Los contenidos máximos y mínimos son de 3,4 y 0,1 % respectivamente. Se concluye que la laminarina es usada por el alga en la fructificación en el fin del otoño. La cantidad de manitol varía inversamente a la cantidad de laminarina, y a través de todo el año está siempre aumentada. La cantidad de laminarina y manitol aumentan con el crecimiento del alga y se concluye que ambas substancias son utilizadas para el crecimiento.

(2) Cameson, Ross y Percival estudiaron las variaciones estacionales del contenido de laminarina en algas de las costas de Escocia, llegando a los siguientes resultados:

Laminaria Cloustoni: prácticamente ausente desde enero a abril, llegándose a un máximo de 28,6 % en noviembre de 1945.

Laminaria Digitata, también prácticamente ausente desde enero a abril, siendo los máximos: 23,8% en octubre de 1945; 24,8% en julio de 1946; 23,9% en octubre de 1946. En julio de 1945 se encontró un máximo de 24,7%, mientras que desde noviembre de 1945 hasta mayo de 1946 inclusive, la laminarina estuvo ausente. Se encontró que el contenido de laminarina en estas muestras había sido afectada por condiciones locales y de tiempo.

Laminaria Saccharina: completamente ausente desde enero a marzo y los máximos obtenidos fueron de 26,5% en septiembre de 1945 y 26,7% en agosto de 1946.

También fueron estudiadas las variaciones diurnas de ambos productos que son considerados como materiales de reserva y no productos directos de fotosíntesis. Hay marcada fluctuación en el contenido de ambas. Los estudios hechos sobre la Eisenia bicyclis concluyeron que los dos hidratos de carbono tienden a aumentar hacia la tarde, pero es pequeña la diferencia entre el medio día y la noche.

Cuando la planta está en la oscuridad, hay considerable disminución de ambas (20).

En cuanto a las variaciones según la profundidad en que se encuentra el alga, se ha observado que la laminarina disminuye después de pasado un máximo de 3-6 metros, estando ausente en profundidades inferiores a 16 metros (21).

### Métodos de Extracción de la Laminarina

Gloaghe y Herter (15) la obtienen colocando las frondas de las Laminarias en  $\text{CHI}$  al 5% manteniéndolas así durante 24 a 48 horas; la laminarina precipita separándose del líquido ácido por filtración y se purifica disolviéndola en agua caliente y dejándola reposar a baja temperatura separándose luego en forma de escamas.

Los mismos autores (1940) efectuaron la aislación en gran escala, tratando el alga con un metal alcalino terreo tal como  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  o  $\text{Cl}_2\text{Ba}$ , separaban la solución y precipitaban la laminarina por medio de subacetato de plomo e  $\text{NaOH}$  (5').

Krefting (12) trataba la *Laminaria digitata* con un exceso de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , filtraba y luego precipitaba con  $\text{AcOH}$ . Torup lo purificaba por tratamiento con acetato de  $\text{Pb}$  y repetía disoluciones en agua a  $40-50^\circ\text{C}$  y precipitación por enfriamiento, obteniendo al cabo de 10-12 precipitaciones, un polvo blanco como el almidón con un contenido de 0,3% de cenizas.

Kylin (13) partía de 100 gr de Laminarias desecadas y reducidas a trozos pequeños que dejaba en maceración a baño maría en un litro de agua. Luego de una hora de tratamiento lo dejaba estar durante 24 horas, al cabo de las cuales decantaba el líquido y volvía a repetir la extracción. Los líquidos reunidos eran tratados con acetato de  $\text{Pb}$ , filtrados y se coagulaba la laminarina con  $\text{NH}_3$ ; se lavaba el precipitado y se descomponía con  $\text{SH}_2$ ; se filtraba, neutralizaba con  $\text{NaOH}$  y concentraba a baño maría, coagulándose finalmente con 4 a 6 veces su volumen de alcohol. Dispersaba el precipitado en agua y coagulaba 2 o 3 veces hasta ob-

tener una substancia blanca pobre en cenizas (0,1%).-

Otros experimentadores (9) ensayaron la aislación de la laminarina a partir de la *Laminaria Cloustoni*, para lo cual la cortaban en pequeños trozos y cubrían con HCl al 1% (1.1) durante dos días. La mezcla conteniendo la fina suspensión del polisacárido, era agitada y luego filtrada en filtración rápida y el residuo era reextractado con ácido fresco. De los líquidos filtrados, la laminarina se iba depositando durante varios días al cabo de los cuales el líquido sobrenadante se sifoneaba y el producto depositado era disuelto en agua caliente (80°C) y filtrado para remover las partículas de algas. El producto separado por enfriamiento era colectado y filtrado, redepositado del agua caliente y lavado con etanol y eter y secado en un desecador, obteniéndose así el polvo blanco y fino.

Se acelera la precipitación por la presencia de ácidos y oxígeno mientras que los álcalis la retardan. La fuerza de agregación tiene lugar cuando la solución acuosa se somete al tratamiento con alcohol (4).

Black (5) y otros estudiaron la producción de laminarina en gran escala a partir de distintas especies de algas. Todos los métodos se basan en el tratamiento de algas frescas o bien secas y molidas, con ácido mineral diluido, HCl o  $\text{SO}_4\text{H}_2$  a pH 2,4 y aislación de la laminarina del extracto ácido. Con *Laminaria Cloustoni* y también en menor extensión con *Laminaria Saccharina* y *Laminaria Digitata*, la laminarina es depositada del extracto ácido diluido en el fondo, pero con otras especies de algas pardas examinadas, es mucho más soluble y sólo puede ser precipitada por la adición de alcohol o acetona.

condiciones óptimas han sido trabajadas para la extracción de la laminarina de *Laminaria Cloustoni* y consiste en la agitación durante 30 minutos en frío de una parte (en peso) del alga seca y molida (que pasa por 64 mallas) con diez partes (en volumen) de ácido (HCl o  $\text{SO}_4\text{H}_2$ ) a pH 2,4; o bien con algas frescas, finamente divididas, agitándolas durante 60 minutos a 70°C. Este tratamiento remueve alrededor del 90% de la laminarina, manitol y materia mineral. En esta forma se separa 55 a 65% del total de laminarina en forma casi pura (laminarina 84-93%, cenizas 1%), mientras que la forma soluble en agua es impura y se precipita con alcohol. La purificación de ésta se efectúa con una resina intercambiadora de cationes.

En la *Laminaria Saccharina* la extracción ácida diluida remueve 84% de materia mineral, 95% de manitol y 90% de la laminarina; 17% de ésta se separa de la solución ácida después de tres días de reposo y 68% es precipitada con alcohol (85% de concentración).

Con *Laminaria Digitata*, el alcohol a 85% precipita 70% del total de laminarina.

Black ha estudiado cuáles son las condiciones óptimas para la extracción de laminarina. Así, por ejemplo, muestra la influencia del pH en experiencias realizadas con muestras de *Laminaria Cloustoni* el siguiente cuadro:

(ver hoja 20)

////

Exp. No	Líquido extractor	pH de mescla.	Peso de residuo de alga como % de hoja	Análisis del residuo de alga				Peso de laminarina precipitada como % del total de laminarina.
				Ceniz. %	Ceniza como % del total de ceniza	Laminarina %	Laminarina como % del total de la laminarina.	
1	H <sub>2</sub> O (1000 ml) a 70° por 4 horas	—	39,8	14,7	39,0	5,0	6,9	57,2
2	HCl 0,01 N (1000 ml) frío 24 horas	4,9	39,9	13,4	35,6	6,1	8,5	61,3
3	Cl <sub>2</sub> Ca 1% (500 ml) frío 24 horas	5,4	41,5	17,4	48,1	5,6	8,1	59,1
4	HCl 0,05 N (1000 ml) frío 24 horas	2,4	35,5	4,4	10,5	4,8	6,0	56,8
5	HCl 0,10 N (1000 ml) frío 24 horas	—	34,2	2,7	6,1	6,4	7,0	57,4
6	SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> 0,10 N (1000 ml) frío 24 horas	1,7	34,9	3,1	7,1	3,2	3,9	63,9
7	HCl 0,27 N (1000 ml) frío 24 horas	—	33,5	2,3	5,0	4,2	4,9	61,7

Los resultados muestran que, dentro del error experimental, la cantidad de laminarina extraída es independiente del pH, pero se encontró que a alto pH, había dificultades en la filtración. Teniendo en cuenta la posibilidad de la acción hidrolítica del ácido diluido sobre la laminarina y su posible efecto degradante sobre el ácido algínico, el pH 2,4 fué elegido como óptimo, siendo el pH más alto permitido para una fácil filtración.

Otra condición estudiada fué la razón de ácido a alga encontrándose que la óptima era de 10 partes de ácido acuoso a 1 parte de alga.

Una razón inferior reduce la cantidad extraída y resulta una precipitación incompleta debido a la alta viscosidad de la solución. Si la razón es mayor que 10 a 1, la cantidad de laminarina depositada era considerablemente inferior.

En cuanto al tiempo de extracción, se vió por el cuadro anterior, que éste se mantenía en 24 horas en todas las experiencias; pero este tiempo se puede disminuir considerablemente si las hojas son agitadas previamente en frío durante 30 minutos con HCl a pH 2,4.- Pero aun se puede reducir a casi 2 horas o menos si la laminarina no se precipita en presencia del alga, siendo luego innecesario calentar la mezcla a 70°C antes de centrifugar o filtrar la hierba residual.

El efecto del tiempo de extracción se puede ver en el siguiente cuadro, así como también el grado de agitación:

Grado de agitación r.p.m.	Tiempo de extracción min.	Peso de laminarina cruda como % del total de laminarina.
200	5	39,6
500	30	43,0
500	20	43,6
500	10	45,0
500	5	43,0
1000	2	40,9
2000	1	39,3

Es de gran importancia también para la extracción de laminarina el grado de finura del material molido, así, por ejemplo:

<u>Tamaño del alga</u>	<u>Cenizas %</u>	<u>Laminarina %</u>
Pasa 16 mallas:		
Retenido 30 mallas .....	17,8	27,5
Pasa 30 mallas:		
Retenido 60 mallas .....	19,0	30,9
Pasa 60 mallas .....	27,4	24,3

La extracción por otra parte también depende de la temperatura así en extracción ácida en frío es esencial un grado de finura elevado del material (que todo pase por 60 mallas), para que la mayor parte de laminarina se extraiga en una hora o menos. Con alga groseramente molida en 30 minutos a 70°C se extrae el 85% del total de laminarina.

El calentamiento, aun con ácidos diluidos, no es recomendable, debido a la posibilidad de degradación del alginato en el alga residual. Sin embargo, el tratamiento de una hora a 70°C con HCl a pH 2,4 se encontró no tener efecto hidrolítico sobre la laminarina presente, pero el efecto sobre el alginato no ha sido investigado.

### Hidrólisis de la Laminarina

En cuanto a los métodos de hidrólisis de la laminarina, Colin y Ricard (7) demostraron que ésta es efectuada por el jugo del caracol *Helix pomatia* o *Helix aspersa*, tomado del buche y del estómago, procediendo ésta en forma rápida a temperatura ordinaria, obteniéndose así la conversión del polisacárido en glucosa. En el curso de dicha hidrólisis, ha sido posible demostrar la existencia en el líquido, de laminaribiosa, por su aislamiento en la forma de osazona. Es probable, sin embargo, que el jugo de caracol contenga otras enzimas, una disacaridasa, laminaribiasa, la cual catalice el desdoblamiento de laminaribiosa en glucosa.

También el ácido oxálico normal tiene efecto hidrolítico, pero la reacción es sólo 2/3 completa, luego se neutraliza y se destruye la glucosa con levadura de fermentación.

También ésta era efectuada con HCl concentrado pudiendo seguirse el curso de la hidrólisis con el polarímetro.

Se ha encontrado que la planta fresca tiene una enzima capaz de hidrolizar la laminarina (12).

Recientemente se demostró que la  $\beta$ -amilasa del trigo hidroliza la laminarina, dando glucosa (70%) y un disacárido (22) efectuándose dicha acción en forma lenta, ya que mientras un extracto de la enzima hidroliza el almidón en pocas horas, toma varios días para la laminarina. Se creyó que también la maltasa tenía ese efecto, pero luego se comprobó que ésta era inactiva y que probablemente su acción se debería a la acción de un factor

"laminarinacea" antes que a la pequeña cantidad de  $\alpha$ -amilasa que contendría el extracto (23).

Similar "laminarinacea" fué encontrado en el extracto de avena, cebada, papa y bulbo de jacinto.

Recientemente Peat, Thomas y Whelan encontraron una Z-enzima de la baba de soya, cuya aparente función es completar la acción de la  $\beta$ -amilasa, en la fracción amilasa del almidón. Se determinó que la  $\beta$ -amilasa de la soya, que contiene la Z-enzima hidroliza la laminarina a 72,3 % de glucosa (142 horas) que está de acuerdo con el valor de 70% para la laminarinacea del trigo son idénticas.

Torup estableció que la laminarina no es atacada por la ptialina ni por la diastasa del pancreas, o de la malta. Se demostró que también eran inactivas la takadiastasa, y la emulsina (6).-

La hidrólisis bajo la acción de la amilasa y la invertasa parece ser aditiva como si cada una actuara en diferentes fases sobre el mol de laminarina. El resultado es igualmente glucosa.

Conwell-Rous y Percibal encontraron que la laminarina del L.Cloustoni en solución al 1% fué completamente hidrolizada con  $\text{SO}_4\text{H}_2$  N a  $100^\circ$  en  $4\frac{1}{2}$  horas. Hidrólisis a  $95^\circ$  en HCl 0,85 N fué completa en  $2\frac{1}{2}$  horas dando 96% de glucosa (polarimétricamente). La laminarina soluble de L.Digitata fué completamente hidrolizada con  $\text{SO}_4\text{H}_2$  N a  $95^\circ$ ; luego de  $4\frac{1}{2}$  horas dió 95,3% de glucosa (6).-

Método de Dosaje de la Laminarina (24)

El método utilizado por Cameson, Ross y Percival, consiste esencialmente en la hidrólisis de los polisacáridos contenidos en el alga, fermentación de la glucosa con levaduras y dosaje de los azúcares no fermentables. Por diferencia se establece el contenido en glucosa y de aquí el de laminarina.

La técnica para dosaje de azúcares utilizada es la de Schaffer-Somogyi.

Reactivos utilizados

Reactivo de Shaffer-Somogyi: por litro de reactivo contiene: 25 gr de carbonato de sodio anhidro, 20 gr de bicarbonato de sodio, 25 gr de sal de Rochelle, 7,5 gr de sulfato de cobre hidratado, 1 gr de ioduro de potasio y 0,8917 gr de yodato de potasio.

Levadura de panadería: 25 gr de levadura de panadería son lavados con agua destilada (2x40 cc) y centrifugados luego de cada lavado. Se agregan 100 cc. de agua destilada a la levadura lavada, 10 cc. de suspensión de levaduras se filtra a través de vidrio poroso, embudo de Hirsh porosidad G<sub>4</sub> hasta remover todo el agua y tener una capa de levaduras que se utilizará en la fermentación.

Método

1 gramo de alga molida, muy bien pesada, de contenido de agua conocido, es calentada a reflujo por 8 horas en baño maría, con sulfúrico N, 40 cc. Se enfría y filtra por papel fino; se toman 10 cc. con pipeta y se llevan a balón aforado de 250 cc. Se agrega agua (20 - 30 cc) y se neutraliza con hidróxido de so-

(20)

dio N/10, usando rojo de fenol (viraje amarillo al rojo entre pH 6,8 y 8,0) y luego se enrasa.

La capa de levadura obtenida se lleva a Erlenmayer de 100 cc. y se agrega 6 cc. de solución a analizar (con no más de 2,5 mgr de glucosa/5 cc.), con agitación suave. Se incuba a reflujo a 38° por 10 minutos con agitación ocasional.

Luego de enfriamiento, se filtra por embudo G<sub>4</sub> y 5 cc. del filtrato son transferidos a tubo hervidor 1) y 5 cc. del reactivo "S y S" 50 son agregados y mezclados.

2) 5 cc de la solución original y 5 cc del reactivo son mezclados en otro tubo.

3) 5 cc del reactivo "50" son agregados a 5 cc de agua destilada para estimación en blanco.

4) un cuarto tubo es preparado para determinación en blanco sobre las levaduras con 5 cc del filtrado de la suspensión de levaduras (6 cc de agua destilada con las células de levaduras de 10 cc de suspensión al 25% incubadas como se indicó) y 5 cc del reactivo "50".

Los cuatro tubos son cerrados con tapones de vidrio flojos y son luego calentados a ebullición vigorosa en baño maria por 15 minutos exactos. Luego de enfriar a 30°C con agua fría 3 minutos, se agrega yoduro de potasio y oxalato de potasio en solución (2,5%, 2 cc. de cada uno), seguidos por 5 cc. de SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> normal.

Los tubos son luego sacudidos para disolver el óxido cuproso y el yodo.

Luego de 5 a 10 minutos el yodo liberado es titulado con hiposulfito de sodio (0,005 N) standardizado a través de yo-

dato de potasio, usando almidón 1% como indicador hasta viraje del azul, agregado casi al final de la titulación.

Para hacer el cálculo del contenido de laminarina en el alga se procede así; siendo:

x - peso de la muestra

y - % de humedad (determinado sobre 5 gr de muestra)

z - ml de  $S_2O_3Na_2$  0,005 N que corresponden a 1 mgr de glucosa.

A - volumen de dilución del cual se toma 5 cc para el dosaje, que en este caso es igual a 250 cc.

a) Titulación de  $S_2O_3Na_2$  0,005 N antes tratamiento con levadura.

b) " " " " luego " "

c) " " " " en blanco con  $H_2O$  destilada

d) " " " " " " " levadura.

d) - b) = Diferencia en titulación debido a otros azúcares que no son la glucosa.

e) - a) = Diferencia en titulación debido a los reductores totales que están presentes en la solución a analizar.

(e - e) - (d - b) = m : Diferencia en titulación debido a dextro glucosa.-

El cálculo final se obtiene con la siguiente fórmula:

$$\frac{m}{z} \times \frac{1}{1000} \times \frac{162}{180} \times \frac{A}{5} \times \frac{40}{10} \times \frac{100}{x} \times \frac{100}{(100-g)} = \text{Laminarina gr \%}$$

donde:  $\frac{m}{z}$  da los mgr de glucosa presentes en la solución, que se multiplican por  $\frac{1}{1000}$  para expresarlos en gramos.-  $\frac{162}{180}$  es la relación de anhidroglucosa (PM=162) a glucosa (PM=180) necesaria, porque se dosa glucosa y la laminarina está formada por n moléculas de anhidroglucosa.-  $\frac{A}{5}$  es el factor para calcular la cantidad de glucosa en los A mililitros.-

Si se multiplica por  $\frac{40}{10}$  porque de los 40 ml originales se han tomado 10 ml y llevados a A.-  $\frac{100}{x}$  es el cociente para expresar los resultados sobre 100 gramos de alta y  $\frac{100}{(100-y)}$  es la relación para expresar los resultados sobre sustancia seca.

### Método utilizado en el presente

#### trabajo

1°) preparación de la muestra: Las muestras de algas utilizadas en el trabajo provienen de la Estación Algológica que el Ministerio de Industrias (Instituto Tecnológico), posee en Puerto Deseado.

Las muestras son cosechadas mensualmente de zonas cercanas a la costa del puerto mencionado y secadas al aire, luego de lo cual se envían por avión a Buenos Aires.

En el laboratorio se secan a baja temperatura (40-50°C) para poder efectuar una molienda en molino de discos. Se vuelve a secar a la misma temperatura y se termina en un molino a bolas de porcelana, hasta fina consistencia.

En el caso del *Macrocyctis pyrifera*, que está compuesto de tres partes bien diferenciadas, talos, flotadores y hojas, se tiene especial cuidado de que la muestra sea representativa de la planta entera, ya que es distinta la composición de cada una de las partes.

Es esencial una molienda que asegure el pasaje del material por malla 60 para poder obtener muestras representativas.

2°) Modificaciones del método: Se han introducido en este método algunas modificaciones adaptadas a las condiciones de trabajo.

Así, dado la pequeña cantidad de laminaria existente

(25)

en las muestras de alga analizadas, se tomó 2 gramos de éstas en lugar de un gramo.

Se comprobó que la hidrólisis de 8 horas en baño maría puede ser disminuída a 3 horas a fuego directo sobre tela metálica, sin que ello afectara los resultados finales.

En el proceso de fermentación con levaduras se sustituyó la papilla de éstas por una suspensión, de la que se tomaba una cantidad fija. Esta sustitución se hizo considerando que la cantidad de agua que quedaba incluida en la papilla de levaduras no era siempre la misma, con lo cual se introducían errores variables de dilución. Mientras que con una cantidad fija de suspensión de levaduras, la dilución introducida es siempre la misma; la prueba de ésto se tuvo por la constancia de los resultados en los ensayos realizados, constancia que no llegaba a obtenerse con el método de la papilla.

Concretando, el método que se llevó a cabo para la determinación de laminarina en algas fué el siguiente:

La preparación de la suspensión de levaduras se realizó pesando 12,5 gr de levaduras de panadería que fueron lavadas con agua destilada (2x20 cc) y centrifugadas luego de cada lavado, durante 30 minutos cada vez. A la levadura lavada se agregan 50 cc. de agua destilada.

Se pesan exactamente 2 gr de alga finamente molidas (con contenido de agua conocido, determinado sobre 5 gr de alga, para lo cual se secaron en estufa a 100°C durante 6 horas), que se calientan a reflujo con 40 cc de  $\text{SO}_4\text{H}_2 \text{ N}$  a fuego directo sobre tela metálica durante 3 horas, siendo conveniente la introducción de algunas perlas de vidrio en el Erlenmayer.-

Se deja enfriar y se filtra a través de papel de filtración rápida. (para todas las operaciones se ha utilizado material perfectamente calibrado). Se toman 20 cc. del filtrado que se introducen en un matraz aforado de 100 cc; se agregan 20-30 cc de agua destilada y se neutralizan con NaOH N usando 2 a 3 gotas de rojo de fenol como indicador hasta viraje del color amarillo al rojo y se enrasa hasta 100 cc con agua destilada.

En caso de que la solución se dejara para el día siguiente, es conveniente agregar antes de efectuar el enrase, 2 gotas de ácido fénico, para su conservación.

10 cc de esta solución y 10 cc de la suspensión de levaduras son colocados en un tubo de ensayos y se incuban a 38°C durante 10 minutos con agitación ocasional. Al mismo tiempo se somete a igual proceso a otro tubo de ensayos conteniendo 10 cc de agua destilada y 10 cc de suspensión de levaduras. Se enfrían ambos tubos hasta temperatura ambiente y se centrifugan durante 30 minutos a 3000 revoluciones por minuto.

Se toman 4 tubos hervidores de pyrex en los que se colocan:

Tubo 1): 5 cc del centrifugado de suspensión de levadura y solución a ensayar más 5 cc de reactivo "S y S".

Tubo 2): 5 cc de la solución a ensayar diluida al 1/2 (5 cc de solución original más 5 cc de agua destilada) más 5 cc del reactivo "S y S".

Tubo 3): 5 cc de agua destilada más 5 cc de reactivo "S y S".

Tubo 4): 5 cc del centrifugado de suspensión de levaduras y agua destilada más 5 cc de reactivo "S y S".

Los cuatro tubos tapados con tapones de goma provistos

de una trampa de aire, constituida por un tubo de goma cerrado en un extremo y con un corte oblicuo para la salida de gases, son colocados en un baño de agua hirviente durante 15 minutos. Luego se enfrían durante 3 minutos.

A cada tubo se le agrega: 5 cc de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  N más 2 cc de oxalato de sodio al 2,5%: se agita suavemente y luego se agregan 2 cc de IK al 2,5%. Se tapan con tapones de goma y se agita vigorosamente, dejándolos 5 a 10 minutos antes de titularlos con solución valorada de  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$  0,005 N, usando como indicador una solución de almidón al 1% agregada casi al final de la titulación.

En estas condiciones el cálculo final del contenido de laminarina se hace mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{m}{z} \times \frac{1}{1000} \times \frac{182}{180} \times \frac{100}{5} \times \frac{40}{20} \times \frac{100}{x} \times \frac{100}{(100-y)} \times 2$$

Este nuevo factor 2 se debe a la dilución al medio que se ha efectuado con el líquido a ensayar.

Así, por ejemplo, en una muestra en la que el peso de la muestra  $x = 2,0288$  gr

% de humedad	$y = 6,05$ gr %
Factor	$Z = 8,45$ ml
Titulaciones:	{ Tubo 1 = 6,75 ml
	{ Tubo 2 = 6,47 ml
	{ Tubo 3 = 24,62 ml
	{ Tubo 4 = 23,87 ml

$$23,87 - 6,75 = 17,12 \text{ ml}$$

$$24,62 - 6,47 = 18,15 \text{ ml}$$

$$18,15 - 17,12 = 1,03 \text{ ml} = m$$

Luego:

$$\frac{1,03 \times 0,9985}{8,45} \times \frac{1}{1000} \times \frac{162}{180} \times \frac{99,78}{4,96} \times \frac{40}{20} \times \frac{100}{2,0288} \times$$

$$\times \frac{100}{93,95} \times 2 = 0,46 \text{ gr } \%$$

donde 0,9985 es el factor de corrección de la solución 0,005 N de  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$  utilizada; 99,78 es el volumen real del matraz de 100 cc, es decir, el volumen total de la solución a ensayar y 4,96 son los milímetros (5 ml de la fórmula original) de dicha solución sobre los que se efectúa el ensayo.

Se tabulan a continuación los resultados obtenidos sobre el contenido de laminarina en las muestras de *Macrocystis pyrifera* de un año que va desde septiembre de 1953 hasta agosto de 1954.-

(ver cuadro en hoja 33)

////

Fecha	Peso gr	Hume- dad gr %	Titulaciones ml				Diferen- cia de titula- ciones ml	lamina- rina gr %
			Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4		
Septiembre de 1953	1,0572	5,18	15,72	14,52	24,75	24,11	—	—
	2,0018		7,57	8,77	24,38	25,97	—	—
	2,0147		7,62	8,34	24,38	25,97	—	—
Octubre de 1953	2,0284	5,13	6,66	8,88	24,68	25,87	—	—
	2,0262		8,72	8,89	24,68	24,38	0,13	0,07
	2,0578		6,30	6,81	24,58	24,17	—	—
Noviembre de 1953	2,0620	5,96	3,52	3,94	24,68	24,58	—	—
	2,0321		4,70	6,69	24,68	25,87	—	—
	2,0207		3,47	3,98	24,68	24,17	—	—
Diciembre de 1953	2,0257	6,15	10,85	10,80	24,68	25,87	0,86	0,39
	2,0570		9,68	10,22	24,68	25,87	0,27	0,12
	2,0454		10,97	11,37	24,78	25,92	0,46	0,20
Enero de 1954	1,0157	6,05	18,85	19,15	24,75	24,17	0,28	0,24
	2,0622		3,86	3,76	24,62	25,87	0,65	0,37
	2,0288		5,05	5,22	24,62	25,87	0,56	0,26
Febrero de 1954	2,0709	4,05	1,05	0,9	24,68	25,87	0,96	0,45
	2,0056		4,07	3,91	24,78	25,92	1,12	0,498
Marzo de 1954	1,0615	6,75	17,45	17,68	24,75	24,17	0,31	0,28
	2,0506		4,9	5,05	24,60	25,77	0,70	0,315
	2,0196		5,68	5,82	24,60	25,77	0,69	0,308
Abril de 1954	2,0514	6,21	5,17	5,70	24,78	25,92	0,33	0,15
	2,0544		4,56	5,18	24,78	25,87	0,49	0,22
Mayo de 1954	2,0290	6,28	7,84	7,29	24,68	24,02	1,21	0,54
	2,0523		6,76	6,30	24,68	24,02	1,12	0,50
Junio de 1954	2,0293	6,41	6,42	7,06	24,78	25,87	0,44	0,20
Julio de 1954	2,0602	6,15	7,84	8,32	24,68	25,87	0,33	0,15
	2,0524		8,58	8,70	24,78	24,17	0,49	0,22
Agosto de 1954	2,0962	5,47	8,32	9,02	24,68	25,67	0,31	0,13
	2,0008		9,01	9,8	24,68	25,67	0,22	0,10

Por lo tanto, los promedios correspondientes son los siguientes:

Septiembre de 1953	--	gr % de laminarina
Octubre	--	
Noviembre	--	
Diciembre	0,24	id.
Enero de 1954	0,29	id.
Febrero	0,47	id.
Marzo	0,29	id.
Abril	0,19	id.
Mayo	0,52	id.
Junio	0,20	id.
Julio	0,19	id.
Agosto	0,12	id.

## C O N C L U S I O N E S

Siguiendo con las investigaciones sobre composición química de algas marinas de la costa sud del país, se ha estudiado y puesto a punto en el presente trabajo, un método para dosaje de laminarina en algas pardas y se ha determinado el contenido de este polisacárido en muestras mensuales de *Macrocystis Pyrifera* (planta entera) que corresponden al periodo de un año.

Los resultados obtenidos demuestran que contrariamente a lo descripto en la literatura sobre el contenido de este hidrato de carbono de reserva en las Laminarias, el *Macrocystis pyrifera* sólo contiene una pequeña proporción y la variación durante el año no parece sujeta a las condiciones climáticas.

Para confirmarlo será necesario repetir las determinaciones sobre muestras de algas convenientemente establecidas, para evitar la influencia de la posible acción enzimática.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Gola, Negri y Cappelletti - Tratado de Botánica.
- 2) W.A.P.Black - Chemical products  
Abril 1953, pág. 139.
- 3) W.A.P.Black - Youm Soc. - Chem. Ind. LXVII (1948)  
Pag. 165.-
- 4) J.Alexander - Colloid Chemistry  
Volumen VI (1948) pág.629
- 5) W.A.P. Black y W.S.Cornball - Journal of Applied Chemistry  
E.T.Dewar y F.N.Woodward (Nov.1951) pág. 505.
- 6) Journal of the Science of Food and Agriculture  
Vol. 4, N° 1 (enero 1953).
- 7) Vincent C. Barry - The Scientific Proceedings  
of the Royal Dublin Society.  
(Sept.1941) pág.423.
- 8) Vincent C. Barry - Journal of the Chemical So-  
ciety (1942) pág.578.
- 9) J.J.Connell, E.L.Hirst y  
E.G.V.Percival - Journal of the Chemical So-  
ciety. London (1950)  
pág. 3494.
- 10) Vincent C. Barry - Scientific Proceedings of  
the Royal Dublin Society.  
(1939) pág.59.
- 11) Miss Gruzewska - Bulletin de la Société Chimie  
e Biologie. (1923) pág.216.
- 12) A.Krefting - Pharmacie. (1910) pág.151.
- 13) Watiez et Sternori - Elements de Chimie Vegetale.
- 14) H.Colin and P.Ricard - Comptes Rendus. (1929)  
pág. 1449.
- 15) Le Gloahec y Herter - Patente 2.188.192 (1938).
- 16) Blaine - G.Med.Press 226 (1951) pág.61.
- 17) E.J.Scheekey, F.Bróphy,  
T.Dillon y P.O'Muineachain - Economic Proceedings of the  
Royal Dublin Soc. N° 12 (192  
pág.150.
- 18) Kylin - Ztschr - Physiol.Chem.94 (1915)  
pág.371.-

FORA

- 19) R.Nisizawa - Science Reports of the Tokyo.  
Bunrika Daigaku - 5B, pág.4-14  
(1940).
- 20) Kezutosi Nisizawa - Science Reports of the Tokyo.  
Bunrika Daigaku - 3B, pág.289-30  
(1938).
- 21) W.A.P.Black - Journal of the  
Society of Chemical Industry  
(London) 69 (1950) pág.161-5
- 22) Thomas Dillond and proinnsias O'Colla - Nature (1950) pág.67
- 23) Miss Z.Gruzeska - Bulletin de la Société Chimie e  
Biologie (1921) pág.490.
- 24) M.C.Cameson, A.G.Ross y - Journal of the Society of Chemio  
E.G.V.Percival. - Industry (Abril 1948) Vol.67 -  
Nº 4 - pág.160.-

*Faint handwritten signature*

-----

*Handwritten signature*