

## Tesis de Posgrado

# Estudio del método de obtención y determinación del ficocoloide de la *Iridea Cordata*

Steinitz, Samuel

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:**

Steinitz, Samuel. (1955). Estudio del método de obtención y determinación del ficocoloide de la *Iridea Cordata*. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0830\\_Steinitz.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0830_Steinitz.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Steinitz, Samuel. "Estudio del método de obtención y determinación del ficocoloide de la *Iridea Cordata*". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1955. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0830\\_Steinitz.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0830_Steinitz.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

para optar al título de Doctor en Química.

Estudio del método de obtención y determinación del ficocoloide de la Iridea cordata.

Se indican en este trabajo los principales métodos de extracción de la carragenina cuyas características, por su origen biológico y propiedades la acercan al ficocoloide que es obtenido por extracción acuosa de la Iridea Cordata y se establece para esta, un método de obtención propio teniendo en cuenta el comportamiento del mismo frente a diferentes factores.

Se establece así que la extracción debe hacerse en solución salina de cloruro de sodio 0,2% para facilitar la misma, pues esta sal disminuye el hinchado del alga y la viscosidad de los extractos, pero no la del producto final, favoreciendo así la filtración.

Después de efectuar extracciones a 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110°C y de estudiar las características de las mismas se aconseja operar a 70°C.

El tiempo ideal de extracción resulta ser 60 minutos contados desde el momento en que el alga es agregada a la solución salina previamente calentada a 70°C.

El producto extraído a 40, 50, 60 y 70°C muestra ser homogéneo por su comportamiento en lo que a viscosidad se refiere así como por su factor de conversión en la titulación con clorhidrato de bencidina y fluorescencia en el ultravioleta; no siéndolo el que es obtenido a más alta temperatura.

Hasta los 90°C la concentración del ficocoloide en la solución salina de extracción es función lineal de la temperatura.

Se observa que las determinaciones físicas basadas en el índice de refracción y desviación del plano de polarización de la luz son inadecuadas para valorar las soluciones de ficocoloide extraído del alga estudiada; pero en cambio más exacta y útil las determinaciones basadas en la viscosidad. Se halla una función de 3er. grado que vincula la concentración del ficocoloide en solución salina de cloruro de sodio al 2% y la viscosidad que es:

$$\eta = 181,22 c_v^3 + 16,049 c_v + 0,93$$

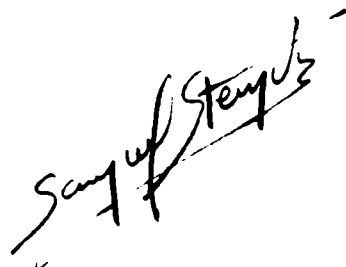
donde  $\eta_{sp}$  es la viscosidad medida en centipoises y  $c_v$  la concentración de ficocoloide expresada en gramos por cien mililitros de solución.

Así mismo se determina el valor:

$$\lim_{c_v \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c_v} = 17,257$$

donde  $\eta_{sp}$  es la viscosidad específica. Este valor, según los estudios realizados por Guth, Gold y Simbra está relacionado de una forma no bien dilucidada aún con el peso molecular del soluto.

Se indica que la valoración con clorhidrato de bencidina tal cual fuera aplicada por Haas y Russell-Wells con éxito a la carragenina, resulta inadecuada para el ficocoloide extraído de la *Iridoa Cordata* y se determina que el pH óptimo de precipitación  $\eta_{sp}$  ese reactivo, para este caso, es 4,4-4,6 pudiendo extenderse hasta 4,2-4,8 sin peligro para la valoración, pero sí para la comodidad del trabajo. Se aconseja en ésta valoración el uso de un buffer acetato de sodio (4 partes en peso)-ácido acético (1 parte en volumen); la sustitución del lavado con solución saturada de sulfato de bencidina por lavado con agua destilada y la filtración por vaso de placa filtrante IGI. Con estas observaciones se elabora un método de determinación estimándose el error del mismo en 2%.



NACIONAL DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Estudio del Método de obtención y determinación del ficocoloide  
de la  
Iridca Cordata-

Trabajo de tesis presentado por:  
Samuel Steinitz  
para optar al título de: Doctor en Química

- 1 9 5 5 -

TESIS: 830

3000 520

Al recuerdo de mi madre

A mi hermana, a quien debo tódo cuanto soy

A mi cuñado, cariñosamente.

•

Quiero dejar asentado mi agradecimiento al Doctor Pedro Cattáneo por haber patrocinado éste trabajo.

Al Doctor Andrés D. Fortunato le expreso mi más sincero reconocimiento por los valiosos consejos que en tantas oportunidades tuve ocasión de recibir y con cuyo concurso pude abordar exitosamente la tarea que me había impuesto.

Asimismo agradezco a las autoridades y personal del Instituto Tecnológico del Ministerio de Industrias donde fué efectuado este estudio, el apoyo recibido.-

### -Motivo del trabajo-

Siendo ciertas algas rojas una fuente de productos de importancia industrial de valor comercial creciente y, por ende, de incidencia marcada en la economía de una nación, es natural que se trate de ampliar el número de organismos capaces de dar sustancias activas que en alguna forma puedan aliviar la tensión que la falta de los mismos acarrea.

También es explicable el hecho de que hayan sido estudiados con más detenimientos los individuos pertenecientes a la misma familia, con la esperanza de que la analogía biológica se tradujera en una semejanza en la composición química. Este método de estudio ha dado excelentes resultados y entre sus frutos puede mencionarse la carragenina, ya definitivamente adentrada en el campo industrial y de vastísima aplicación; la iridoficina extraída de la *Iridea laminaroides* por Hassid, no bien estudiada aún, pero que deja entrever interesantes propiedades tal como la de tener más capacidad para suspender la coeca en leche que la carragenina misma.

La *Iridea cordata* es un alga de profundidad que pertenece a la familia de las Rhodophyceas y se encuentra en abundancia en el sur argentino, donde las olas del mar la arrojan sobre las costas. Su estudio con vistas a la aplicación industrial es una consecuencia, después de lo expuesto, de su ubicación dentro de la familia de las algas rojas.

El trabajo que sigue a continuación está encaminado a determinar las condiciones óptimas de obtención del ficocoloide extraíble, y a hallar un medio expeditivo de dosaje del mismo, con la esperanza de que su aplicación resulta de alguna utilidad.

Capítulo I-Método de Extracción

Introducción . . . . .	1
a) <u>Métodos de extracción directa de la carragenina</u> . . .	
1) Método de Haas y Hill . . . . .	2
2) Método de Young y Rice . . . . .	3
3) Método de Rose . . . . .	3
b) <u>Método de extracción con precipitación de la carragenina</u>	
1) Método de Butler . . . . .	5
2) Método de Pfister . . . . .	6
3) Método de Rice . . . . .	6
4) Método de Mori y Antiya . . . . .	7
c) <u>Método de extracción industrial de la carragenina (Irish Moss) emplea do por la Krim Ko Corporation de Chicago</u> . . . . .	8
d) <u>Método por Massid para extraer Iridoficina de la Iridea Laminaroides</u>	9
e) <u>Método de Luzzati para extraer el ficocoloide de la Iridea Cordata</u>	11

Capítulo II Método de extracción del ficocoloide de la Iridea Cordata.

Introducción . . . . .	13
<u>Parte experimental.</u>	
a) Materia Prima . . . . .	14
b) Influencia de las sales sobre la viscosidad de los extractos . . . .	15
c) Influencia de la temperatura de extracción sobre la concentración - del extracto . . . . .	16
d) Influencia de la temperatura de extracción sobre la viscosidad del extracto . . . . .	21
e) Influencia de la temperatura de extracción sobre el factor de con- versión en la valoración con bencidina . . . . .	22
f) Otra observación sobre los extractos obtenidos a diferentes tempe- raturas . . . . .	22
g) Influencia del tiempo de extracción . . . . .	23
h) Conclusiones . . . . .	23



1) Método . . . . .	24
<b>Capítulo III <u>Método de dosaje del ficocoloide</u></b>	
a) <u>Métodos físicos</u> . . . . .	25
1) Parte experimental . . . . .	27
2) Conclusión . . . . .	29
b) <u>Métodos químicos (Introducción)</u> . . . . .	30
1) Valoración con bencidina de la carragenina	
Antecedentes . . . . .	30
Precipitación con bencidina . . . . .	31
Valoración de los precipitados de carragenina . . . . .	32
Método de determinación $\lambda$ . . . . .	33
Carragenina en presencia de otras sustancias . . . . .	34
Determinación en presencia de sulfatos libres . . . . .	35
2) Parte experimental . . . . .	36
Método . . . . .	41
Factor de equivalencia . . . . .	43
c) <u>Apéndice</u>	
1) Precipitación por reactivos químicos . . . . .	44
2) Coagulación por formación de tricómplejos . . . . .	44
3) Determinaciones colorimétricas . . . . .	45
4) Floculación por formación de tricómplejos . . . . .	45
5) Precipitación con safranina . . . . .	46
d) <u>Conclusiones</u> . . . . .	46
<b>Capítulo IV-<u>Conclusiones</u></b> . . . . .	49
<b>Bibliografía</b> . . . . .	51

## CAPITULO I

Métodos de extracción.Introducción:

Se enumeran en este capítulo los principales métodos de extracción de carragenina del *Chondrus Crispus* (Irish Moss) hallados en la literatura, por ser aplicable en sus lineamientos al alga que nos ocupa, la *Iridaea Cordata*, para lo cual la única literatura encontrada fueron dos trabajos de tesis, uno de Luzzati (6) y otro de Barón (5) que utilizan un mismo método de extracción el que se señalará en su oportunidad.

En todas las técnicas consultadas se comienza por extraer con agua durante un tiempo y a una temperatura variable con cada autor para luego seguir, ya sea evaporando a sequedad, haciendo uso la mayor parte de ellos de baño de agua hirviendo, con la probable despolimerización parcial y la permanencia de las sustancias conjuntamente extraídas con el ficocoloide, tales como sales, etc.; ó también concentrando hasta un pequeño volumen para terminar finalmente en una insolubilización del ficocoloide por agregado de un marcado exceso de alcohol etílico (13) ó isopropílico (14).

Como la primera parte es la misma para todos los procedimientos es posible obtener distintos extractos con solo variar la temperatura así:

a 40-50°C se obtiene el extracto frío. (C.F.)

a 80-100°C se obtiene el extracto caliente (H.E.)

a 100-125°C se obtienen el extracto a presión.

calentando directamente en baño de agua hirviendo se obtiene un extracto que se ha dado en denominar extracto standard (E.S.)

Esta denominación de extracto standard fué usada por Luzzati (6) y Barón (5) para designar el producto obtenido calentando en baño de agua hirviendo sin vigilar la temperatura.

Seguidamente se enumeran los métodos hallados en la literatura agrupándolos como lo hiciera Barón (5) en métodos de extracción directa, en los que el extracto es llevado a sequedad y métodos de extracción<sup>con</sup> precipitación, donde se separa el ficocoloide por precipitación con alcoholes.

a) Métodos de extracción directa.

1) Método de Haas y Hill (15): es el primero que se registra en detalle en la literatura. El alga cosechada y despojada de cuerpos extraños grandes se lavó dos veces, rápidamente, con agua destilada para eliminar el polvo adherido y las sales provenientes del agua de mar. Es necesario proceder con gran rapidez porque las "hojas" comienzan enseguida a hincharse y a perder coloide por disolución. El alga lavada se escurrió por compresión, dejando secar sobre papel al aire y a la temperatura ambiente primero y en estufa, después.

El material así obtenido se molió a polvo fino y se sometió a cada uno de los siguientes métodos.

i) Extracción con agua fría: Se echó alga molida en agua destilada fría, en cantidad suficiente como para obtener una solución al 1%, agitando constantemente y agregando luego un poco de tolueno. Se dejó en reposo durante 12 horas agitando ocasionalmente. El líquido sobrenadante fué filtrado y evaporado, agregándose más agua destilada al residuo que se sometió al mismo proceso una vez más. Con el objeto de comparar el resultado de las sucesivas extracciones cada porción fué evaporada por separado hasta sequedad en un recipiente playo de cobre estañado.

Una extracción exhaustiva durante 36 días sobre 40 g. de alga molida con agua fría dió solamente 18,85g. de coloide, que se obtiene en tiras.

ii) Extracción con agua caliente: el alga molida se echó en un vaso con agua destilada caliente colocada sobre un baño de agua hirviendo y se agitó para evitar la formación de grumos (siempre en la proporción necesaria), para obtener una solución al 1%. Luego de calentar durante media hora se filtró el contenido del vaso con presión, a través de un filtro de tela y luego por papel colocado en Buchner. El residuo fué luego extraído varias veces de esta manera y los filtrados reunidos se vertieron en un recipiente playo de cobre estañado calentándose en baño de agua hirviendo.

Una vez seco se quitó la carragenina en forma de tiras. Por este método puede obtenerse un 70-75% de extracto hidrosoluble.

Tanto el C.E. (extracto frío) como el H.E. (extracto caliente) se presentan

en forma de hojuelas semejantes a la gelatina, transparentes, de un amarillo pálido, quebradizas cuando están muy secas y que parecen conservarse bien - por tiempo indeterminado.

2) Método de Young y Rice (16). El método es en líneas generales igual que el anterior con la variante de que el producto de la precipitación con alcohol etílico fué redisolto y dializado 6 días en un dializador de Sørensen con control de vacío. Luego se concentró la solución "casi hasta sequedad" al vacío y a 30-40°C secándose luego a 60°C en desecadora a pistola con anhídrido fosfórico. Es evidente que el proceso de diálisis permite eliminar sales provenientes del agua de mar.

3) Método de Rose RC (12). Más que poner a punto un método hizo un estudio de los procedimientos existentes, poniendo especial atención en la influencia de la temperatura, la presión y la presencia de sales en la extracción de la carragenina.

El material fué preparado de la siguiente manera: el alga cosechada se blanqueó al sol molió hasta pasar por un tamiz de 2 mm. y lavó con agua a 20°C.

1) Influencia de la temperatura y la presión: Se hizo un ensayo preliminar extrayendo 10 g. de carrageon,  $\frac{1}{2}$  hora, 1 hora y 2 horas a 100°C obteniéndose - concentraciones de 0,258 0,266 y 0,271% (igualando los pesos de las mezclas). Como consecuencia de estos resultados se tomó 1 hora como tiempo de extracción y se trató el *Chondrus Crispus* con agua en la proporción de 100g. de agua por cada gramo de sustancia original. Se pesaron luego los filtrados determinando la cantidad de material extraído en base a la concentración y peso de cada extracto (se usó la reacción de precipitación clorhidrato de bencidina).

Las extracciones se hicieron luego a temperaturas crecientes; empleando una simple olla a presión con dispositivo de agitación magnética para trabajar a temperatura superior a 100°C.

Rose reúne los resultados en el siguiente cuadro.

## Efecto de la temperatura

Temp. °C	Carragenina sol.luego de la 1era.extracción	Extracciones.			
		1a.	2da.	3era.	Total
20	3,1	2,9	2,0	1,1	6,0
40	10,9	9,3	3,6	3,9	16,8
60	24,1	20,9	5,9	1,8	28,6
80	34,6	27,6	6,4	2,6	36,6
100	46,7	38,6	8,4	5,3	50,3
	47,4	37,7	11,3	1,8	50,8
110	54,6	45,2	7,2	2,2	54,6
	54,0	46,8	6,1	1,0	53,9
120	56,0	48,1	6,5	1,4	56,0
125	54,7	-	-	-	-

Donde se ve que trabajando a 100°C se obtuvieron resultados suficientemente buenos para que no tenga mucho sentido extremar las condiciones y extraer a presión.

ii) Efecto de cationes sales y calentamiento en la extracción de la carragenina: Se ha probado (y se indicará más adelante al hablar de las propiedades físicas) que la presencia de cationes afecta la gelificación y por lo tanto la solubilidad de la carragenina. Como el C.E. es principalmente la sal de sodio y potasio según ya se ha visto (17). Rose pensó que sustituyendo el calcio presente por sodio en el alga misma sería posible extraer la carragenina a menor temperatura. Para ello dializó cantidades pesadas de carragenina contra soluciones de cloruro de sodio, cloruro de potasio y cloruro de calcio cambiando frecuentemente las soluciones; dializó luego contra agua destilada a 50°C para eliminar el exceso de sales y extrajo recién entonces en tres períodos de una hora. Las cantidades fueron a 40°C:

Luego de diálisis contra cloruro de sodio: 32%.

luego de diálisis contra cloruro de potasio 10,7

" " " " " " sodio 8,3

mientras que por extracción directa se obtenía un 16,8%.

Aumentando la temperatura a 60°C la cantidad extraída se vuelve independiente de los cationes presentes.

A pesar de todas estas experiencias son de la mayor importancia porque permitieron elaborar un buen método de extracción de iridoficina ya que el empleo de una solución diluída de cloruro de sodio para la extracción facilita mucho las operaciones de filtrado.

#### b) Métodos de extracción con precipitación

En 1871 se otorgó una patente a Bourgade en la que se emplea un precipitante alcohólico. El empleo de éste se debe a la imposibilidad de purificar de otra manera y en forma rápida la carragenina obtenida por extracción directa, ya que la diálisis no es accesible en gran escala y por ser el coloide parcialmente soluble en agua fría no es posible aplicar el método de congelar y descongelar que tan buenos resultados da con agar.

La misión del alcohol es doble: por una parte deshidratante (elimina el agua) y por otra arrastra las impurezas hidrosolubles, quedando la carragenina en condiciones de filtrar y secar.

1º) Método de M.R. Butler. (14) Se lavan 20g. de alga (no indica si se molió previamente el material) con agua destilada hasta ausencia de cloruro (alcanzan 3 o 4 lavados); se suspendió el sólido en 1 litro de agua destilada que se calentó 5-6 horas en baño de agua hirviendo. El líquido viscoso resultante se filtró por Buchner calentado usando papel chardin (fué necesario cambiar el filtro con bastante frecuencia). El filtrado se evaporó con agitación hasta un volumen de 300 ml que se vertieron lentamente y agitando sobre un litro de etanol al 95%, se obtuvo un precipitado fibroso que se escurrió por estopilla de algodón y suspendió en 250 ml de etanol al 85% dejando en reposo una noche. En días sucesivos se transfirió el precipitado a: 1er. día, 200 ml de etanol absoluto; 2do. día, 200 ml de etanol absoluto; 3er. día 150 ml de éter etílico anhidro y el 4to. día 150 ml. de éter

stílico anhidro. Se filtró y dejó secar un día en secador al vacío moliéndolo después hasta un polvo fino. La autora recomienda secar el material al aire y a no más de 80°C durante 6 horas antes de usarlo. No se dan rendimientos.

2°) Método de Pfister (13). La carragenina se extrae con agua caliente y clarifica por filtración con ~~co~~adyuvante; luego se evapora hasta tener una solución al 10% (para ahorrar alcohol) y el líquido concentrado se vierte lentamente sobre alcohol isopropílico del 91% vigorosamente agitado. La proporción de alcohol a usar depende del volumen final de la solución de coloide, siendo conveniente que en la mezcla de ambos haya un 50% de alcohol en peso; por ejemplo, si se usa una solución al 2% de carragenina serán necesarios 50 volúmenes de alcohol para cada 36 volúmenes de licor. Pfister introdujo además un dispositivo para introducir las soluciones finamente divididas, lo que permite obtener un producto muy esponjoso.

A la carragenina así obtenida se le eliminan mecánicamente (por centrifugación en la industria) todas las impurezas pudiéndose repetir el tratamiento con alcohol para obtener una sustancia de mayor pureza, el material obtenido, que contiene todavía un 10-15% de alcohol y un 5%-8% de humedad se pasa por un molino a martillo y se extiende sobre tela metálica donde se lo seca por soplado con aire a 49-66°C durante 2 a 6 horas.

Este método es prácticamente la base de todas las demás técnicas industriales que en general introducen solamente modificaciones de forma. Una de estas variantes el método de Bilhovde, sirvió de punto de partida a Luzzati para elaborar el método que usó en la extracción del ficocoloide de la *Iridea cordata*.

3) Método de Rice (2). Las muestras después de ser lavadas durante 12 horas en agua corriente fría es extraída con agua destilada durante 6 horas en un baño de agua hirviente. El extracto fué filtrado a través de Hyflo Super-Cel (Johns Manville) sobre un Büchner, concentrado a 95-100°C, precipitado con 4 volúmenes de alcohol y después de disolver en agua destilada,

dializado durante 48 horas contra agua destilada. La solución fué luego concentrada al vacío a 35-40°C y nuevamente precipitada con alcohol de 85-90%. El extracto fué secado agregando varias veces etanol absoluto y éter anhidro y por último en un desecador al vacío sobre cloruro de calcio fundido. El producto de aspecto fibroso fué molido en un mortero hasta dar un polvo blanco.

4) Método de Mori y Tutiya (18): En la tésis de Barón (5) figura este método que va a continuación, en la que se dice que sus autores lo adoptaron en virtud de que con él se obtenían ficocoloides libres de materia nitrogenada.

Unos 100 g. de algas secadas al aire molidos en un molino de discos se introdujeron en un balón con 5l. de agua, se agregó cloruro de bario (sin especificar cuanto) y se hirvió a reflujo durante 40 minutos dejando luego en reposo toda una noche.

Se filtró por Büchner a través de 3 papeles de filtro retirando el superior cuando la velocidad de pasaje del líquido se hacía muy pequeña. El residuo del filtro fué deshechado y la solución obtenida (unos 4,5 lts.), cuya viscosidad determinada con viscosímetro de Ostwald era de 27 centipoises, se llevó a ebullición y neutralizó con agua de barita. Se filtró nuevamente, concentró hasta 300-400 m. y se agregó solución de acetato de plomo al 10% hasta que dejó de aparecer un precipitado marrón; se filtra y en el filtrado se precipitó el mucílago con solución saturada de acetato básico de plomo y pulpa de papel.

Se filtró, lavó en el filtro con un poco de agua fría, molió en mortero y finalmente se suspendió en una pequeña cantidad de agua. De ésta solución se eliminó el plomo con ácido sulfhídrico y luego éste y el sulfuro de plomo por la vía común.

Se filtró entonces por pulpa de papel mediante vacío y se agregó a los 300-400 ml. (no fué necesario concentrar), la misma cantidad de alcohol isopropílico logrando precipitar así toda la sal de bario del ficocoloide. La sustancia obtenida se redisolvió en agua, decoloró con carbón activo, concentró y reprecipitó con etanol. Esta precipitación se repitió tres veces obteniéndose -- una sustancia no nitrogenada que lavada con etanol y éter se secó en estufa.



e vacío.

Método de extracción industrial de la carragonina (Irish Moss empleado por la Krim -ko Corporatin de Chicago (19): En la planta de New Bedford se recibe el alga (Irish Moss) blanqueada y sin blanquear en partidas de 30.000 . 40.000 libras en fardos de 150 libras cada una. muestras de estas son analizadas en el laboratorio y con el informe obtenido se procede a clasificar la materia prima en diferentes lotes.

De estos se hace una mezcla de alga a fin de tener un producto uniforme que es recibido por una tolva que alimenta un tanque de extracción de acero de 750 galones aislado con asbesto. De acuerdo al informe de laboratorio se agrega a cada tanque de 115 a 135lbs. de muestra. Se procede a lavar en el mismo el alga a fin de reducir las cenizas del producto final agregando 500 galones de agua corriente y agitando el contenido del tanque con paletas a gran velocidad durante 15 minutos. El agua de lavado es luego separada y se envía al desagadero.

Después del lavado se agrega más agua y se procede a calentar. Durante la cocción el pH de la solución es regulado con neutralizadores apropiados, elegidos según el uso que se dará al producto final. Por ejemplo, si la materia elaborada se destina a suspender el chocolate en leche, ~~es necesario~~ no elegir una sustancia neutralizante incapaz de precipitar la caseína. Si lo que se desea es aprovechar la capacidad gelificantes de la carrageenina entonces se agrega hidroxido de potasio. Acondicionando la extracción es posible regular la viscosidad del extracto, y controlando el pH impedir la hidrólisis.

Etapas de purificación: Mediante bombas centrífugas se lleva el producto a la cocción a las centrífugas. Estas son del tipo cesto suspendido hecho de acero inoxidable que trabajan a 1.200 r.p.m. Las centrífugas separan el extracto caliente del resto del alga. Para cada tanque de extracción hay una centrífuga. El residuo de alga que representa los 2/3 del original es objeto de nuevas extracciones. El líquido después ~~de~~ esta etapa contiene

de 0,8 al 1% de sólidos que se hacen pasar a tanques de acero inoxidable de 700 galones equipados con mezcladores de tipo turbina. En estos se agregan tierras de diatomeas y carbón activo y después de agitar el líquido convenientemente es llevado por bombas a diafragma a filtros prensa.

El volúmen filtrado por estas es de 1500 galones por hora. Después que el líquido deja estos filtros-prensa pasa a tanques de 500 galones donde se agrega una nueva cantidad de tierras para ayudar la filtración y con bombas a diafragma se lo lleva a filtros-prensa para terminar la purificación.

El líquido es entonces bombeado a un evaporador donde con calor y vacío se reduce el volúmen a la mitad llevando la concentración original de 0,8-1,0% hasta 1,6-2,0%.

Una bomba a pistón accionada con vapor lleva el líquido a un tanque de depósito de acero inoxidable de 600 galones.

Después el líquido se va a recipientes de evaporación de doble fondo cromados donde se lo lleva hasta 5 a 6% de humedad. Cuchillas de doble filo flexibles cortan directamente sobre el doble fondo la materia seca en forma de láminas. Estas son recogidas en un tambor desde donde pasan a cuchillas rotatorias y de allí por una corriente de aire a un molino que lo lleva al estado micro-pulverulento. Un mezclador de doble cono de 2000 lbs. de capacidad homogeniza el extracto pulverulento. El mezclador gira a razón de 10 r.p.m. Periódicamente se retiran muestras y se analizan sus propiedades gelificantes, viscosidad y poder de suspensión a fin de lograr un producto uniforme y finalmente el extracto pulverulento refinado es envasado en bolsas de papel de lino.

La compañía realiza constantemente estudios a fin de mejorar los procedimientos de extracción, sobre todo la parte de purificación y filtración. También ensaya extraer mezclas de algas diferentes para lograr mejores propiedades que el producto final.

d) Método de Hassid (20): para extraer iridoficina de la Iridea Laminaroides; Prácticamente es el único método que se encuentra en la literatura para la

extracción del ficocoloide de la Iridea Laminaroides llamado por el mismo autor iridoficina, quien lo describe así:

Las plantas recién recogidas se lavaron con agua destilada y sumergieron en alcohol etílico hirviente del 95% durante 10 minutos. Luego se llevaron en etanol al laboratorio donde se las sometió a una extracción en Soxhlet con alcohol metílico y alcohol etílico hasta ausencia de clorofila, a continuación se las secó a 50°C en estufa de vacío.

El alga se extrajo entonces varias veces con agua calentando en baño de agua varias horas. Se filtró el líquido y se lo virtió en alcohol etílico del 90% (no se especifican proporciones) la solución coloidal lechosa se dejó reposar varias horas y se concentró al vacío. Se echó entonces en alcohol etílico del 95%, se dejó decantar se filtró y lavó con etanol del 95% primero, y absoluto después, secando finalmente a 50°C al vacío. Se obtuvo así una sustancia blanca de consistencia fibrosa.

Posteriormente Ellegwood (21) empleó este mismo método pero efectuó previamente algunas extracciones con diversos disolventes. Trabajó en Soxhlet durante 8 horas obteniendo en todos los casos residuos en forma de películas grasosas, pero en cantidades insuficientes como para intentar un análisis. El porcentaje de extracción en cada uno de los solventes usados fueron:

Eter etílico	0,24%
Cloroformo	0,21%
Eter de petróleo	0,19%
Alcohol etílico	0,70%

Efectuó luego extracciones fraccionadas con los siguientes resultados:

Eter de petróleo	0,1968%
Cloroformo	0,1997%
Eter etílico	0,2050%
Alcohol etílico	0,4530%
Agua	86,34%

Es decir que puede considerarse que el material hidrosoluble es casi el

único extraíble de la Iridea Laminaroides puesto que el resto no llega al 1%.

e) Método de Luzzati para extraer el ficocoloide de la Iridea Cordata: (6)  
Este autor elaboró una técnica utilizando todos los datos de la literatura a su alcance lo que decidió llamar Iridoficina "extracto Standard" (I.E.S.) y la describe así:

Se trabajó sobre 50g. de "muestra representativa". Se hirvió con alcohol isopropílico al 80%, se escurrió y lavó rápidamente con agua destilada. Al alga lavada se agregó 4 lts. de una solución caliente al 0,2% de cloruro de sodio en un vaso de precipitado de 5 lts. que fué colocado luego en un baño de agua hirviendo. Se agitó durante 1 hora manteniéndose el vaso tapado. Se agregó pulpa de papel como adyuvante y se filtró con ayuda de vacío, a través de una gruesa capa de algodón contenida en Buchner - manteniendo la solución caliente mediante la lámpara de infrarojo, lavando repetidamente el residuo con agua hirviendo. Se volvió a filtrar con caliente la solución turbia a través de papel de filtro, previo agregado de adyuvante, lavando nuevamente el residuo. Se obtuvieron 5,5 lts. de solución que se evaporaron en baño de agua hirviendo con agitación constante hasta obtener unos cuatrocientos ml. a los cuales se les agregó 2,5 veces su volumen de alcohol isopropílico, agitando vivamente la mezcla durante la operación, decantándose la iridoficina precipitada -- Se filtró y se hizo un primer lavado con etanol en una licuadora tipo Turmix; se volvió a filtrar siempre con ayuda de vacío, secando todo lo posible la Iridoficina sobre el Buchner mediante la corriente de aire. El ficocoloide obtenido se redisolvió en 1,5 de agua destilada caliente evaporándose, precipitándose con isopropílico y lavándose con etanol de la misma manera anterior. Luego se lavó con éter etílico también en la licuadora filtrando y secando al aire. El secado final se hizo en estufa de vacío a 80°C obteniéndose 16g. de un producto fibroso y blanco; es decir que el rendimiento fué del 32%.

Posteriormente Barón (5) utilizó la misma técnica que la indicada para extraer el ficocoloide de la *Iridaea Cordata* en su estudio de la constitución del mismo.-

## CAPITULO II

Método de extracción del ficocoloide de la Iridea Cordata.

## Introducción.

El valor del ficocoloide depende de la cantidad y calidad que pueda obtenerse a partir del alga original; y ambas, cantidad y calidad son afectadas por numerosos factores, distinguiéndose con mayor o menor importancia: el estado de agitación o estancamiento de las aguas donde crece y se cosecha el alga, las condiciones climáticas del lugar donde habita; la forma de recolección (de profundidad, de superficie, arrojada o abandonada por la marea); de los tratamientos previos a la extracción (secado al aire o en estufa. En este último caso debe obrarse con cautela ya que se carboniza con suma facilidad) y, naturalmente, de la técnica seguida para su extracción.

En lo que al ficocoloide del *Chondrus Crispus*, la carragenina, se refiere, de propiedades y naturaleza muy cercana al de la *Iridea Cordata*, se han distinguido en la literatura tres extractos, tomándose como base para su diferenciación las temperaturas de extracción. Así se distingue un "extracto frío" obtenido a 40-50°C; un "extracto caliente" separado entre 80-100°C y un "extracto a presión" aislado a 115-120°C. El "extracto frío" y el "extracto a presión" son considerados como no gelificantes mientras que una solución al 1-2% del "extracto caliente" normalmente gelifica con rapidez. El "extracto caliente" y "el extracto a presión" son usados para estabilizar el chocolate en la leche; pero el "extracto caliente" es más efectivo si se incorpora en leche caliente mientras que el "extracto a presión" puede ser tan efectivo mezclado con leche fría como con leche caliente, si primero se prepara una solución acuosa concentrada. No hay información acerca del poder estabilizante del "extracto frío". Este último es principalmente la sal sódico potásico de la carragenina, mientras que el extracto caliente es principalmente la sal cálcica. El catión puede ser intercambiado. El extracto caliente pierde sus propiedades gelificantes cuando el calcio que contienen es reemplazado por sodio; sin embargo no se ha podido hallar una relación de-

inida entre el catión presente y la conducta frente a la leche.

Es práctica comercial lavar el alga seca en agua fría para quitar las sales. Extraer a 80-85°C (extracto caliente comercial) y después, de extraer a presión. El extracto caliente comercial, en consecuencia, contiene también el extracto frío.

En lo que a la extracción en sí se refiere, Rose (pag. 202-212) realizó las extracciones sobre el *Chondrus Crispus* usando solución de NaCl 0,2%, consiguiendo de esta manera disminuir grandemente los inconvenientes que la alta viscosidad del producto presenta. Este mismo autor estudia la extracción operando, no en baño de agua hirviente, sino que hace un estudio extrayendo a varias temperaturas en otros tantos ensayos y establece la temperatura óptima que resulta ser de 60°C. Realiza la extracción tres veces sobre la misma muestra durante 1 hora cada una y valora los extractos obtenidos por la viscosidad que ellos presentan. Este tratamiento del alga a una temperatura menor de 100° resulta muy desable, pues con ello se evita, o mejor dicho, se disminuye al mínimo posible la despolimerización la que, naturalmente, se acentúa más a medida que se opera a una temperatura mayor. En nuestro caso, como se verá, se ha podido constatar bien ese proceso, al extraer a altas temperaturas.

#### Parte experimental.

Materia prima: La *Iridea Cordata* es una Rhodophyceae que crece adherida a las rocas mediante un pedúnculo extremadamente corto que sostiene una hoja muy ancha de bordes ondulados y de color rojo intenso, a menudo con granulaciones en relieve en tono más oscuro. Su cosecha es dificultosa por tratarse de un alga de gran profundidad; pero esta operación se ve facilitada por ser arrojada a las playas en grandes cantidades. La muestra estudiada fué cosechada en las playas de la zona de Puerto Descado (Territorio Nacional de Santa Cruz).

El aspecto de las algas había variado cuando se las recibí<sup>ó</sup> pues sufrieron -- procesos de lavado por la lluvia y blanqueo por el sol, notándose por lo tanto, la presencia de muchas hojas de color amarillo.

Para obtener una muestra representativa Luzzati (6) -- se recolectaron las hojas más rojas y con mayor depósito de sales, considerando que dicho material

había sufrido menos la acción de la intemperie cuya magnitud es incontrolable

Se tomaron cuatro kilogramos de alga-Luzzati (6)-que se lavaron con agua corriente,limpiaron de sales,depósitos calcareos y otros materiales extraños.

Se dejaron secar al aire varios días y se pasaron a estufa a una temperatura no mayor de 60°C (para evitar la descomposición de los componentes sensibles).El secado se finalizó cuando las algas pudieron desmenuzarse fácilmente con las manos,llovándolas inmediatamente a un molino a martillo del que se obtuvieron partículas de unos 0,5cm.de ancho.a este material bien mezclado se lo llamó "muestra representativa".

b)Influencia de las sales sobre la viscosidad de los extractos:

Siendo los extractos obtenidos calentando esta alga en presencia de agua, sistemas extremadamente viscosos,que dificultan el tratamiento de los mismos y obliga a diluirlos para su manipulación,con las evidentes dificultades que el aumento de volumen acarrea,y existiendo el antecedente de trabajos realizados Rose (12) con Chondrus Crispus en los que se establece que una concentración de NaCl 0,2% era capaz de bajar la viscosidad de los extractos de 50 centistokes a 18 tomado a 40°C y que esta concentración salina parecía reducir el hinchado del alga favoreciendo por estas causas el filtrado,se procedió a determinar si para la Iridea Cordata eran válidas las mismas consideraciones halladas Rose para el Irish Moss y usadas por Luzzati y Baron para las extracciones del alga que nos ocupa.Para este objeto se realizaron dos ensayos,extrayendo con y sin NaCl.Se procedió así: dos porciones de 5g.de muestra representativa de alga fueron colocados en sendos erlenmeyer ubicados en un baño de agua a 60°C.A uno de ellos se le agregó 400 ml.de agua previamente calentada a la misma temperatura del baño y al otro la misma cantidad de solución de NaCl 0,2%.Después de permanecer 1 hora en ese estado,se hicieron pasar los extractos por malla 100 y se filtraron por vacío con algodón.Aquí ya se observó una notable diferencia en el comportamiento de los extractos.Realmente la solución salina, filtra mucho más rápidamente que la solución acuosa.Ambos extractos fueron



objeto de determinaciones de densidad usando un picnómetro y tiempo de escurrimento en un viscosímetro de Ostwald.

Con estos datos se calculó la viscosidad que se da a continuación. En ellos también se consigna la concentración en ficocoloide estimado por valoración con bencidina.

	$\eta_{sp}$	Concentración g/100 ml.
Solución acuosa	452,31	0,699
Solución salina(NaCl)	93,21	0,687

Se observa con estos valores claramente que aún cuando la viscosidad de la solución acuosa es 500% mayor que la salina, la concentración de ficocoloide calculado por el método de bencidina no está alterada sensiblemente.

En consecuencia se resolvió extraer en lo sucesivo con solución salina (NaCl 0,2%)

Se hace notar que se eligió la concentración salina en 0,2% por ser esa la aconsejada por Rose (12) en su trabajo sobre extracción de la carrage<sub>n</sub>ina del *Chondrus crispus*, y por haberse obtenido con ella resultados altamente satisfactorios; pero que no se probó la influencia que tenían otras concentraciones ni otras sales.

c) Influencia de la temperatura de extracción sobre la concentración del extracto: Se procedió a hallar la cantidad de ficocoloide que podía ser extraído operando a diferentes temperaturas (40°, 50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 100° y 110°C).

Para la extracción de 110° se usa un autoclave, con la siguiente técnica: Para cada temperatura elegida, se posan 10g. de muestra de alga representativa que se colocan en un erlenmeyer de 2 l. con 800 ml. de solución salina (NaCl 0,2%) previamente calentada a la temperatura de extracción elegida, ~~siendo~~ ~~situando~~ situando el frasco en un baño caliente para mantener en el interior del erlenmeyer la temperatura constante durante el tiempo que duró

la extracción (1 hora) y agitando eventualmente con termómetro inducido <sup>tré</sup> para ese doble fin. Al cabo del tiempo estipulado (1 hora) se hace pasar el líquido por malla 100 y se filtra por algodón. Al líquido así obtenido se lo denomina "primer extracto", que en lo sucesivo se simbolizará así (1) (p.ej. 40 (1); 50 (1) etc). El resto de alga que queda sobre la malla metálica se vuelve al erlenmeyer, y se procede a una nueva extracción operando como antes con 800 ml. de solución salina (NaCl 0,2%). El líquido separado del algodón en esta segunda extracción se lo denomina "segundo extracto" y se lo abrevia así (2) (p.ej: 40 (2), 50 (2), etc). El residuo de alga es objeto de una última extracción con 400 ml. de la solución salina. El líquido así aislado se lo denomina "tercer extracto"; su símbolo (3) (p.ej. 40 (3); 50 (3) etc). Los restos de alga que aún queda son desechados. El ensayo de 100° se extrajo solo 2 veces y el de 110° una sola vez.

Cada uno de los extractos así obtenidos son pesados y se determina además la concentración de los mismos de dos maneras (viscosidad y bencidina).

Por otra parte, la mitad en peso de cada uno de los extractos diferentes, obtenidos a una misma temperatura fueron reunidos y se concentraron al vacío en un balón de Claisson calentado a 40°C hasta obtener unos 200 ml. que se recibieron sobre 500 ml. de alcohol isopropílico (mezcla azeotrópica) agitado intensamente en un vaso de 1 l. El precipitado así obtenido grueso, blanco y filamentososo, fué roto en una licuadora para poner en contacto con el alcohol isopropílico las partes que por una agitación defectuosa pudieron escapar a su acción y se separó el alcohol filtrado por malla 100.

La sustancia filamentososa así aislada fué secada al aire y luego en estufa de vacío a 50° durante 6 horas. Cada uno de estos productos así aislados constituyó una muestra del ficocoloide extraído a la temperatura elegida, que fué pesado y sirvió para los ensayos que se hicieron.

Para el cálculo de la densidad se utilizó un picnómetro que se utilizó en todos los casos a 25°C.

$$\mu = \frac{1}{V} \rho$$

Masa de agua contonida: 25,0816g.

$$\mu_{25}^{25} = 0,99699$$

$$\frac{1}{\nu} = 0,039708$$

$$\lg \mu = \bar{2},59888 + \lg p$$

En la determinación de la viscosidad se utilizó un viscosímetro de Ostwald calibrado con glicerina.

$$\frac{\rho_2}{\rho_1} = \frac{\bar{v}_2 \mu_2}{\bar{v}_1 \mu_1}$$

$$c = \frac{\rho_1}{\bar{v}_1 \mu_1}$$

$$\rho_2 = c \bar{v}_2 \mu_2$$

Se calculó la constante C del viscosímetro con glicerina de dos concentraciones diferentes.

α) Glicerina ρ °1

$$\mu_1 = 1,21078$$

$$\rho_{1,25} = 48,84 \text{ (por tablas)}$$

$$\bar{v}_1 = 189,8$$

$$c_1 = 0,2125$$

β) Glicerina ρ °2

$$\mu_2 = 1,20650$$

$$\rho_{2,25} = 41,09 \text{ (por tablas)}$$

$$\bar{v}_2 = 158,2$$

$$c_2 = 0,2153$$

Promedio:

$$c = 0,2139$$

$$\lg \rho = \bar{7},33021 + \lg \bar{v}_2 + \lg \mu_2$$

y considerando el valor de lg. antes hallado queda:

$$\lg \rho = \bar{3},92909 + \lg \bar{v} + \lg p$$

en la que  $\bar{v}$  es el tiempo expresado en segundos que tarda en escurrir el líquido entre las dos marcas del viscosímetro y p es la masa de la solución encerrada en el piónómetro.

A fin de poder calcular los rendimientos sobre alga seca, se pesaron tres fracciones de muestra representativa en pesafiltros que se mantuvieron en estufa al vacío a 40°C durante cuatro días, hasta peso constante.

Así se pudo calcular la humedad retenida por el alga en la muestra representativa. Los datos hallados fueron:

Muestra representativa.	Pérdida de peso g.	Humedad %
12,1654	0,5171	4,250
6,9152	0,2926	4,087
11,2549	0,4657	4,137
Promedio:		4,16 %

En la tabla siguiente se dan los rendimientos de las extracciones calculadas en base a la viscosidad y la titulación con bencidina teniendo en cuenta el volumen de extracto obtenido y la humedad de la muestra representativa.

Así mismo, salvo para las extracciones de 100° y 110°C, se consigna el rendimiento total considerando los valores obtenidos en la precipitación con alcohol isopropílico ya descripta. Se hace notar que estos últimos no son en modo alguno datos cuantitativos, dadas las pérdidas inevitables que se producen durante la manipulación de los extractos concentrados; pero se transcriben a fin de indicar la relación que guarda con los otros métodos de determinación, que son exactos y precisos, especialmente el de bencidina, cuyo estudio está descripto en el capítulo respectivo.

Extracto	masa de sol. obt. g	Rend. seg. pp. alc. %	Rend. seg. viscosid. %	Rend. seg. bencidina %
40°C	(1)	683,6	42,75	43,96
	(2)	802,8	12,85	11,67
	(3)	413,8	1,86	1,74
Total 40°C		44,28	57,46	57,37
50°C	(1)	668,3	46,15	47,43
	(2)	821,5	11,92	10,81
	(3)	403,6	1,61	1,44
Total 50°C		59,64	58,68	59,68
60°C	(1)	658,2	49,70	47,95
	(2)	817,5	13,09	12,83
	(3)	394,7	2,76	1,85
Total 60°C		54,58	65,55	62,63
70°C	(1)	690,3	57,90	54,99
	(2)	787,5	16,91	16,34
	(3)	397,4	2,48	2,48
Total 70°C		61,88	77,29	73,81
80°C	(1)	702,5	60,75	59,55
	(2)	805,0	10,08	10,98
	(3)	406,1	2,85	2,28
Total 80°C		61,27	73,68	72,81
90°C	(1)	747,3	67,20	64,88
	(2)	782,0	7,43	7,48
	(3)	373,0	0,75	1,53
Total 90°C		58,29	75,38	73,89
100°C	(1)	784,4	52,80	77,56
	(2)	765,0	1,53	4,77
Total 100°C			54,33	82,33
110°C	780,9		13,68	81,62

En los datos aquí consignados hay que señalar una dificultad, y es la que se ofrece a la masa de solución obtenida. Ella es el resultado de posar el extracto separado con la malla metálica haciendo uso de vacío que no puede dar naturalmente, una separación cuantitativa entre alga y solución ni dejar el alga en un estado de imbibición homogénea; pero el uso de vacío durante un tiempo prolongado disminuye mucho este inconveniente, con todo <sup>datos</sup> la divergen-  
 cia que se observa en la 2da. columna del cuadro anterior se pueden anticipar errores de hasta el 10%.

Pueden seguirse otros criterios. Rose (12) para salvar este inconveniente - considera, no la masa de solución separada sino el peso total del sistema en nuestro caso sería 800 ml. para las primeras y segundas extracciones y 100 ml. para las terceras) considerando la parte ocupada por el alga con una concentración en ficocoloide similar al de la solución.

En este trabajo, se adoptó otro criterio para efectuar la comparación, y éste fue el de considerar, no la masa de ficocoloide separada en cada operación, sino la concentración de los primeros extractos, puesto que todos ellos se sometían a un tratamiento similar (10g. de muestra representativa y 800 ml. de solución salina), y la solución retenida en el filtro no afecta ese valor. A continuación se dan los valores calculados con las consideraciones precedentes en base a la viscosidad de los extractos y de su titulación con benidina:

Primer extracto de:	Concentración g/100 ml.	
	seg. visc.	seg. bencid.
40°C	0,625	0,616
50°C	0,690	0,679
60°C	0,755	0,698
70°C	0,837	0,763
80°C	0,865	0,812
90°C	0,898	0,832
100°C	0,673	0,948
110°C	0,175	1,002

El gráfico adjunto, ilustra estos valores. En él se ve que hasta los 90°C la concentración de los primeros extractos guarda una relación lineal con la temperatura de extracción. Los valores hallados por encima de 90°C muestran lo que era de esperar. Así los valores calculados según titulación con benidina son altos ya que la despolimerización no altera la concentración -



de radicales sulfato mientras que la viscosidad cae visiblemente.

De todo lo anterior se deduce que el umbral superior para la extracción del ficocoloide de la *Iridea Cordata* teniendo en cuenta solamente la concentración de las soluciones obtenidas es de 90°C. Inmediatamente se estudiarán otros factores que disminuirán la temperatura de extracción aconsejada.

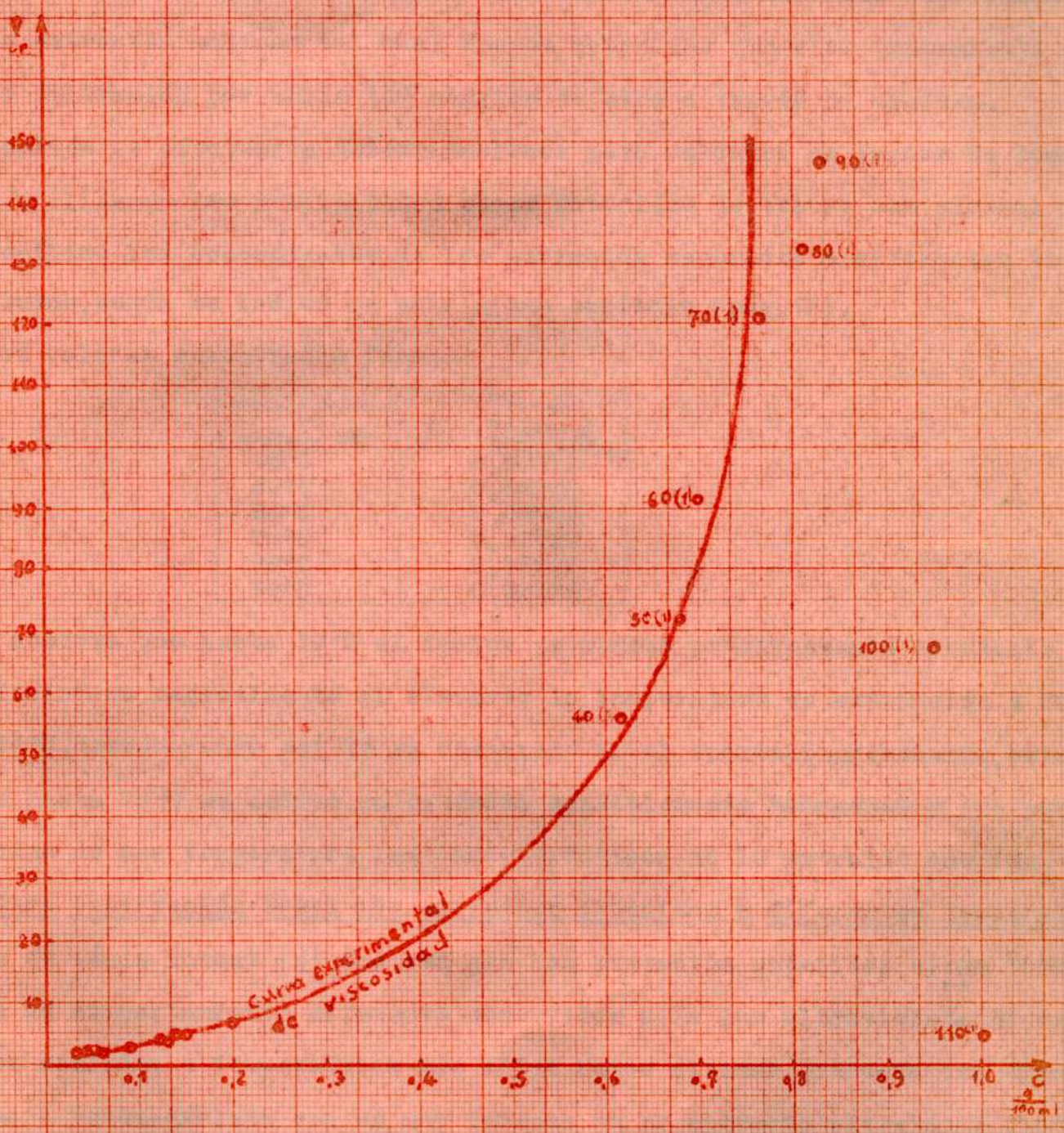
d) Influencia de la temperatura de extracción sobre la viscosidad de los extractos.

Con los datos siguientes se construye el gráfico que va a continuación sobre el que se ha trazado la curva experimental de viscosidad:

Extracto	Concentración	g/100ml	$\eta^{25}$ cp
40°C	(1)	0,616	55,29
	(2)	0,139	4,23
	(3)	0,040	1,67
50°C	(1)	0,679	71,63
	(2)	0,126	3,80
	(3)	0,034	1,58
60°C	(1)	0,698	91,09
	(2)	0,150	4,32
	(3)	0,045	1,97
70°C	(1)	0,763	120,7
	(2)	0,199	6,29
	(3)	0,060	2,01
80°C	(1)	0,812	132,4
	(2)	0,131	3,21
	(3)	0,054	2,01
90°C	(1)	0,832	146,5
	(2)	0,092	2,48
	(3)	0,039	1,45
100°C	(1)	0,948	67,01
	(2)	0,060	1,41
110°C		1,002	4,67

En ella pueden notarse:

- 1°) Hasta 70°C (temperatura de extracción) tanto los extractos primeros como los segundos caen dentro de la curva experimental.
- 2°) Los primeros extractos de 80°C y 90°C se apartan de la curva en un valor que está muy por encima del error experimental, dando valores de viscosidad mucho menores que los que le corresponden a esa concentración. Esta caída - puede ser debida a una despolimerización del producto extraído.
- 3°) El primer extracto de 100°C y el de 110°C se apartan francamente de la - curva, mostrando que muy probablemente que la despolimerización ha tomado cuerpo.





Lo considerado en este apartado deja observar que hasta 70°C puede extraerse un producto de máxima viscosidad en la que probablemente la depolimerización no es marcada.

e) Influencia de la temperatura de extracción sobre el factor de conversión en la valoración con bencidina.

En los apartados precedentes se indican las observaciones realizadas sobre los extractos salinos tal cual fueron obtenidos sin otro tratamiento que una filtración por malla 100 seguida de otra a través de algodón.

También se efectuaron determinaciones para calcular el factor de bencidina utilizando los precipitados secos obtenidos de tratar con alcohol isopropílico los concentrados de los extractos separados a diferentes temperaturas, según se indicó en este mismo capítulo (pág. 17).

Los valores encontrados fueron:

Temperatura de extracción	Factor
40°C	0,03715
50°C	0,03731
60°C	0,03728
70°C	0,03728
80°C	0,03263
90°C	0,03528

Se observa que hasta 70°C el factor permanece prácticamente constante modificándose radicalmente al elevarse la temperatura de extracción a 80°C y 90°C, corroborando así lo ya observado en el apartado precedente, esto es, que hasta 70°C se extrae un producto sensiblemente homogéneo y que por encima de esa temperatura las características de lo extraído cambian.

f) Otra observación sobre los extractos obtenidos a diferentes temperaturas.

En su tesis Torcat (4) observa que los extractos obtenidos hasta 70°C tienen un comportamiento diferente observados a la luz ultravioleta de aquellos aislados a temperaturas más altas. Estos últimos presenta una fluorescencia verde-azulada que es muy intensa en el extracto obtenido a 110°C y que disminuye gradualmente hasta que en el de 80°C es muy débil no observándose ese comportamiento en los extractos separados a 70°C.

Esta es otra observación más que ratifica la inhomogeneidad del produc-

to extraído a temperaturas mayores de 70°C.

g) Influencia del tiempo de extracción.

Por las observaciones apuntadas en los párrafos precedentes se eligió 70°C como temperatura ideal de extracción y se procedió a efectuar una nueva extracción separando cada 10 minutos una muestra que después de filtrada dos veces por algodón se llevó a determinar tiempo de escurrimiento en un viscosímetro Ostwald y densidad en picnómetro. Con estos datos se calculó la viscosidad de los extractos cuyos valores se dan a continuación los que permitieron construir el gráfico adjunto:

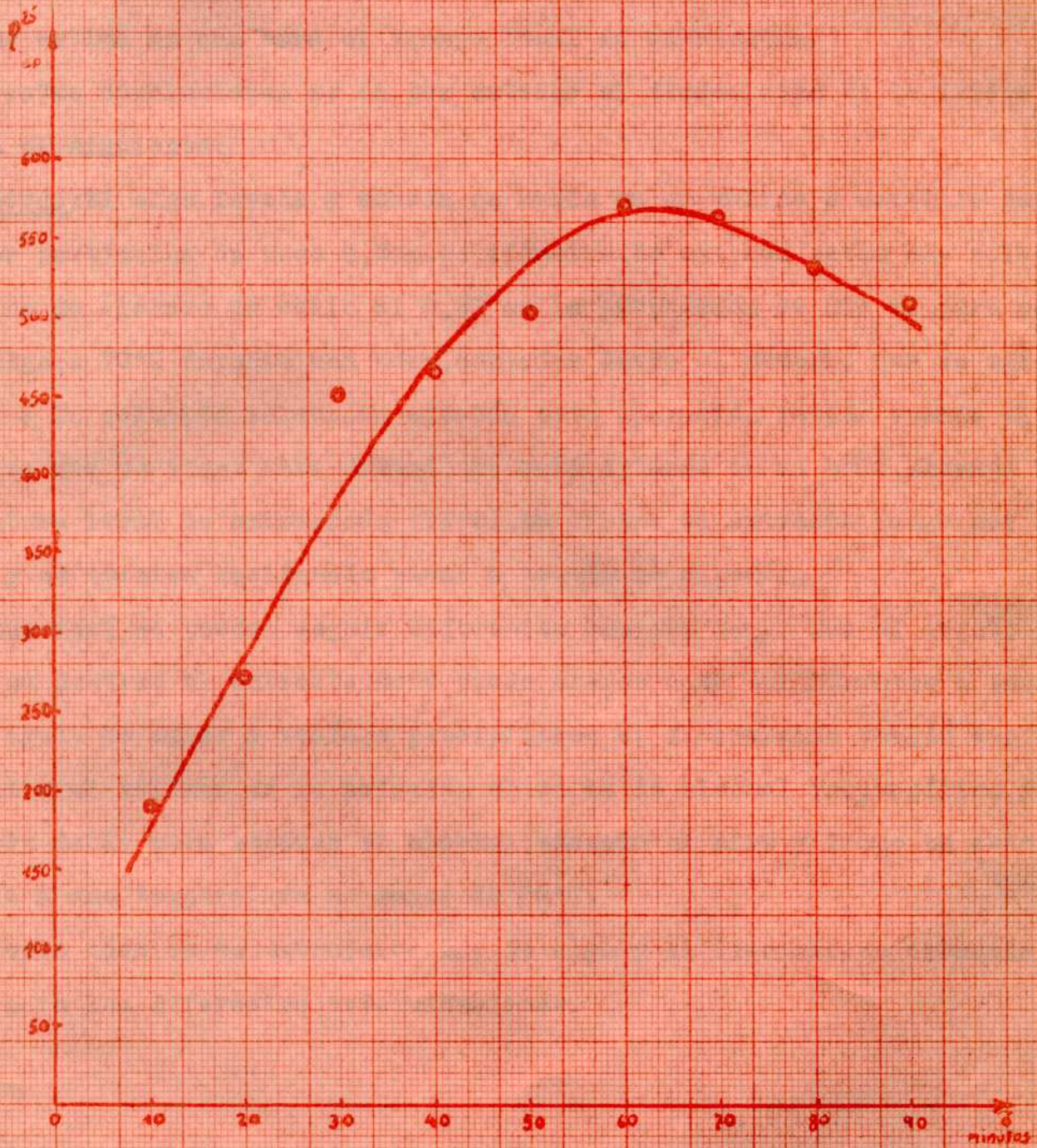
Tiempo de extracción minutos	viscosidad
10	188,6 <sup>cp</sup>
20	270,9
30	456,8
40	464,0
50	502,5
60	568,5
70	562,2
80	530,3
90	508,2

Se observa que 60 minutos es el tiempo ideal de extracción y además que prolongando el tiempo de calentamiento la calidad del producto extraído desmejora, por disminuir la viscosidad.

h) Conclusiones:

1°) Las soluciones salinas diluidas disminuyen la viscosidad de los extractos sin que por ello se modifique ni la cantidad ni la calidad del ficocoloide que puede separarse con alcohol isopropílico. Además disminuye el hinchado del alga, favoreciendo todas estas modificaciones, la manipulación de los extractos especialmente la filtración lo que permite trabajar con concentraciones relativamente altas (1%). La sal usada - fué cloruro de sodio en concentración 0,2%.

2°) Hasta 90°C la cantidad de ficocoloide extraído guarda una relación di-



neal con la temperatura de trabajo. Por encima de esta temperatura los valores se apartan de la línea recta, tanto más cuanto más alta es aquella.

3°) Se establecen 70°C la temperatura ideal de extracción pues con ella se obtiene un rendimiento adecuado sin disminución de la calidad del ficocoloide extraído.

4°) Se estima en una hora el tiempo ideal de extracción.

Con estas conclusiones se da por extraer el ficocoloide de la *Iridea Cordata* el siguiente:

i) Método: El alga lavada y socada se muele en un molino a martillo hasta obtener partículas de unos 0,5cm. de diámetro. Se extraen estas con solución salina de cloruro de sodio al 0,2% en la proporción de 800 ml. para cada 10g. de alga, a 70°C durante una hora, contados desde el momento que se agrega el alga a la solución salina. Se efectúa esta operación recién cuando el recipiente que contiene esta última, que está situado en un baño, alcanza la temperatura ideal de extracción (70°C). Se filtra el extracto luego por malla 100 y se termina haciéndolo pasar a través de algodón.

Desde aquí se pueden seguir diferentes caminos según sea el objeto para el que se destino el extracto. Este puede usarse como tal, llevarse a sequedad con ayuda de calor y vacío, o precipitarse el ficocoloide usando dos veces y media el volumen de la solución obtenida de alcohol isopropílico, filtrando por malla para separar el alcohol, secando al aire y luego en estufa al vacío a una temperatura no mayor de 50°C.

Con esta técnica se extrajeron 50g. de alga y el ficocoloide obtenido se usó para las diferentes determinaciones.

## CAPITULO III

Métodos de dosaje del ficocoloideextraído de la Iridea Cordata-

Siendo como es la iridoficina, un polímero de naturaleza química no bien elucidada, y ni aún pueda afirmarse de que se trata de un compuesto único, ya que los tratamientos a que se las someten afectan la magnitud de la molécula en mayor o menor grado, es natural pensar que en el dosaje del mismo se han de presentar las mismas dificultades que se observan en sustancias de este tipo, que en muchos casos obliga a introducir determinaciones empíricas para tener datos cuantitativos que puedan ser de alguna utilidad. En estos casos se aconseja adosar el producto por más de un método.

Para nuestro problema, de varias formas se puede zanjar la cuestión:

a) Métodos físicos

Introducción. Las determinaciones físicas basadas en el índice de refracción - y el de desviación del plano de polarización no dan resultados de los cuales se pueda deducir un método de dosaje (Torcat (1)).

A continuación se transcriben los valores hallados para los diferentes extractos que muestran claramente la falta de proporcionalidad entre esos guarismos y las concentraciones halladas por otros métodos que se transcriben más abajo. La temperatura se mantuvo en todos los casos en 25°.

a) Índice de refracción.

Extracción	$n_D^{25}$	Concentración según bendidina 31001
40°C	(1) 1,3342	0,607
	(2) 1,3330	0,138
	(3) 1,3327	0,040
50°C	(1) 1,3338	0,666
	(2) 1,3332	0,044
	(3) 1,3330	0,034
60°C	(1) 1,3336	0,082
	(2) 1,3340	0,145
	(3) 1,3332	0,045
70°C	(1) 1,3334	0,729
	(2) 1,3327	0,187
	(3) 1,3323	0,066
80°C	(1) 1,3335	0,733
	(2) 1,3326	0,100
	(3) 1,3317	0,059
90°C	(1) 1,3340	0,901
	(2) 1,3326	0,094
	(3) 1,3324	0,039

Extracción		$\eta_{sp}$	concent. según benzidina g/100ml
100	(1)	1,3341	0,935
	(2)	1,3332	0,060
110		1,3346	1,011

)Desviación de plano de polarización: Para este ensayo los extractos fueron fluídos con agua destilada al medio y filtrados con tierra filtrante.

Extracción		$\eta_{sp}$	concent. según benzidina g/100ml
40°C	(1)	0,05	0,304
	(2)	0,70	0,069
	(3)	0,16	0,020
50°C	(1)	0,40	0,333
	(2)	4,35	0,022
	(3)	0,29	0,017
60°C	(1)	0,43	0,341
	(2)	1,10	0,073
	(3)	1,30	0,023
70°C	(1)	5,40	0,365
	(2)	1,70	0,094
	(3)	2,30	0,033
80°C	(1)	4,80	0,367
	(2)	0,15	0,050
	(3)	4,30	0,030
90°C	(1)	3,30	0,451
	(2)	0,35	0,047
	(3)	0,12	0,020
100°C	(1)	4,10	0,468
	(2)	0,30	0,030
110°C	(1)	5,45	0,506

n cambio son adecuadas las determinaciones viscosimétricas. En su trabajo sobre el Chondrus Crispus Rice (2) dice:

Es bien conocido que la viscosidad de una solución de macro moléculas depende del tamaño de las partículas del soluto esto ha sido observado en polímeros tales como acetato de celulosa, poliisobutileno, cloro-polivinilo, poliestierno, caucho natural. La viscosidad es también influida por el solvente y la temperatura. Por ejemplo la viscosidad de una solución de caucho en benceno disminuye un 40% por la adición de 15% de metanol.

Se ha intentado, sin éxito, hallar una relación definida entre la viscosidad y el peso de la partícula suspendida. Recientemente, sin embargo la teoría de las soluciones moderadamente diluidas de alto-polímeros desarrollada por Guthold y Simbra y ampliada por Huggins, llevó a identificar una ecuación que vincula la viscosidad específica  $\eta_{sp}$  con la concentración en volumen, dicha relación es:

$$\frac{\eta_{sp}}{c_v} = (\eta) + k'(\eta)c_v^2$$

con ayuda del calor (no más de 70°) (y llevada a un matraz de 100 ml, el vaso fué lavado con la solución salina y se completó con ella el enrase del matraz. Cada una de las soluciones así obtenidas fué objeto de dos determinaciones. La densidad por una parte estando el picnómetro utilizado para las valoraciones de los extractos; y el tiempo de escurrimiento en el mismo viscosímetro empleado en esta oportunidad.

Cabe recabar la atención en el hecho de que se eligió la concentración salina al 0,2% por ser esa la adoptada durante las extracciones y con vista a encontrar un método rápido y expeditivo de dosaje de los mismos. Los datos fueron:

$$t = 25^{\circ}\text{C}$$

$$C = 7,33021$$

$$\lg \eta = 3,92909 + \lg C + \lg h$$

- $\eta$  viscosidad en centipoises  
 $C$  tiempo de escurrimiento en segundos.  
 $h$  masa de extracto contenida en el picnómetro producida al vacío.

Los datos fueron:

Concentración g/100 ml	$\eta$	cp.
0,05		1,80
0,10		3,08
0,15		3,21
0,20		6,29
0,25		6,80
0,30		10,31
0,35		15,50
0,40		21,02
0,45		22,23
0,50		32,27
0,55		39,08
0,60		49,30
0,65		59,96
0,70		76,91
0,75		106,78

Con estos datos se traza la curva que va a continuación. Con ella es posible conociendo la viscosidad de un extracto (solución de ficocoloide extraído a 70°C y en cloruro de sodio 0,2%) calcular la concentración del mismo y vice-

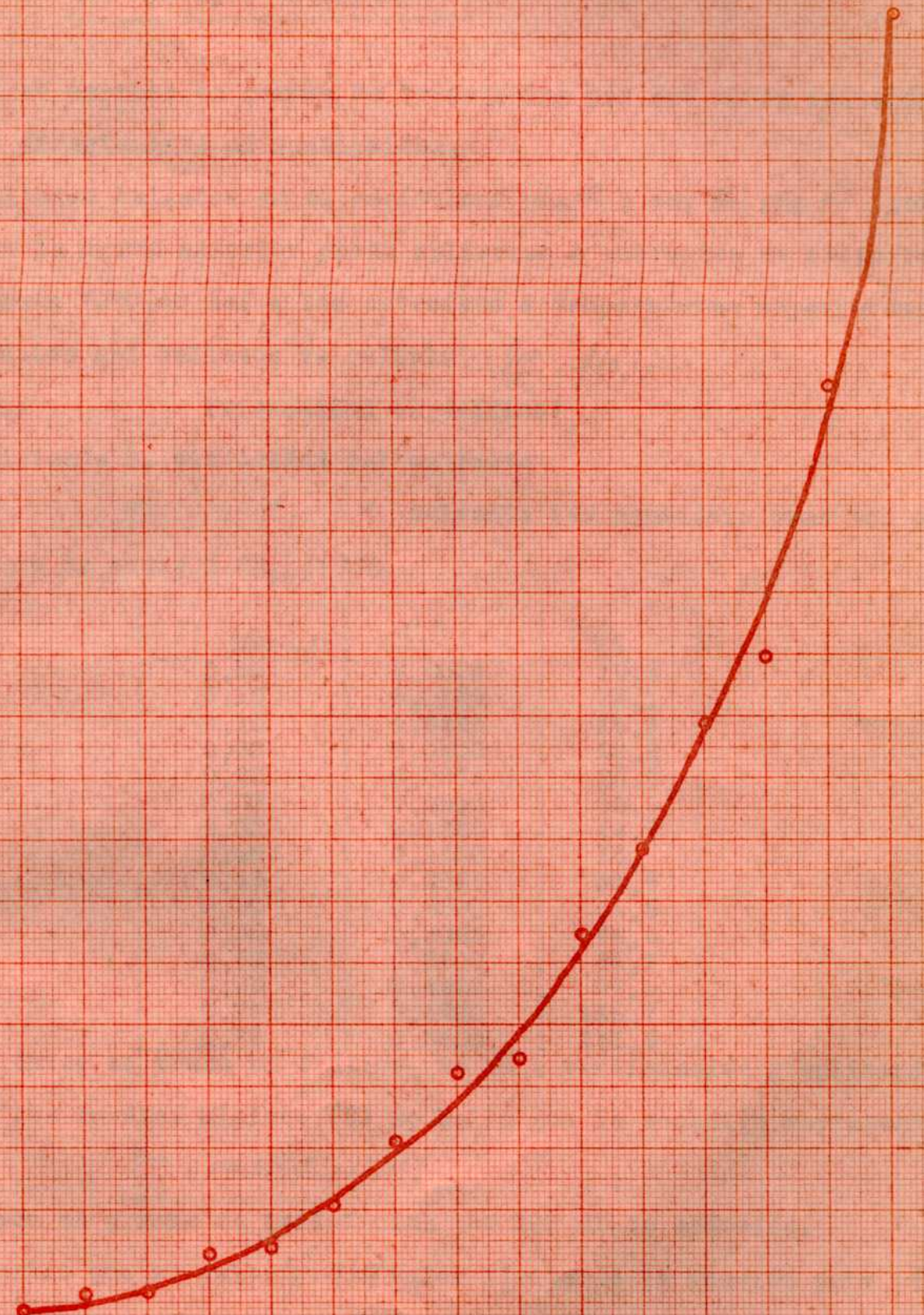
$$\eta = f(c_v)$$

$\eta$

110  
105  
100  
95  
90  
85  
80  
75  
70  
65  
60  
55  
50  
45  
40  
35  
30  
25  
20  
15  
10  
5  
0

0.05 0.10 0.15 0.20 0.25 0.30 0.35 0.40 0.45 0.50 0.55 0.60 0.65 0.70 0.75

$c_v$   
9  
100.000





con ayuda del calor (no más de 70°) (y llevada a un matraz de 100 ml, el vaso fué lavado con la solución salina y se completó con ella el onrase del matraz. Cada una de las soluciones así obtenidas fué objeto de dos determinaciones. La densidad por una parte estando el picnómetro utilizado para las valoraciones de los extractos; y el tiempo de escurrimiento en el mismo viscosímetro empleado en esta oportunidad.

Cabe recabar la atención en el hecho de que se eligió la concentración salina al 0,2% por ser esa la adoptada durante las extracciones y con vista a encontrar un método rápido y expeditivo de dosaje de los mismos. Los datos fueron:

$$t = 25^{\circ}\text{C}$$

$$C = 1,33021$$

$$\lg \eta = 3,92909 + \lg \ell + \lg h_2$$

- $\eta$  viscosidad en centipoises  
 $\ell$  tiempo de escurrimiento en segundos.  
 $h_2$  masa de extracto contenida en el picnómetro producida al vacío.

Los datos fueron:

Concentración g/100 ml	$\eta$	cp.
0,05		1,80
0,10		3,08
0,15		3,21
0,20		6,29
0,25		6,80
0,30		10,31
0,35		15,50
0,40		21,02
0,45		22,23
0,50		32,27
0,55		39,08
0,60		49,30
0,65		59,96
0,70		76,91
0,75		106,78

Con estos datos se traza la curva que va a continuación. Con ella es posible conociendo la viscosidad de un extracto (solución de ficocoloide extraído a 70°C y en cloruro de sodio 0,2%) calcular la concentración del mismo y vice-

versa.

La ecuación de la curva calculada por el método de los cuadrados mínimos (3)

es:

$$\eta = 181,22c_v^3 + 16,049c_v + 0,93$$

Cuando  $C_v$  se expresa en gramos de iridoficina por 100 ml de solución queda expresado directamente en centipoises.

Los resultados hallados en el capítulo II pág 22 y cap III pág 43 permiten afirmar que la curva anterior puede aplicarse a extractos de iridoficina obtenidos hasta 70°C, no así a los extraídos a temperaturas superiores.

Con los datos así hallados se calcula  $\frac{\eta_{sp}}{c_v} = f(c_v^2)$

$$\eta_{sp} = \frac{\eta_c}{\eta_0} - 1 \quad (\text{viscosidad específica})$$

$\eta_c$  coeficiente de viscosidad del extracto

$\eta_0$  " " " " solvente (se considera como tal el sistema

agua cloruro de sodio 0,2%) ( $\eta = 0,93$ )

$C_v$ g/100 ml.	$C_v^2$	$\frac{\eta_{sp}}{C_v}$
0,05	0,0025	18,8
0,10	0,0100	23,1
0,15	0,0225	16,3
0,20	0,0400	28,8
0,25	0,0625	25,2
0,30	0,0900	33,6
0,35	0,1225	44,8
0,40	0,1600	54,
0,45	0,2025	50,9
0,50	0,2500	64,5
0,55	0,3025	74,6
0,60	0,3600	86,7
0,65	0,4225	97,6
0,70	0,4900	116,7
0,75	0,5625	151,8

Con estos datos se traza el gráfico que va a continuación y aplicando el método de los cuadros mínimos (3) se halla que la ecuación representativa es

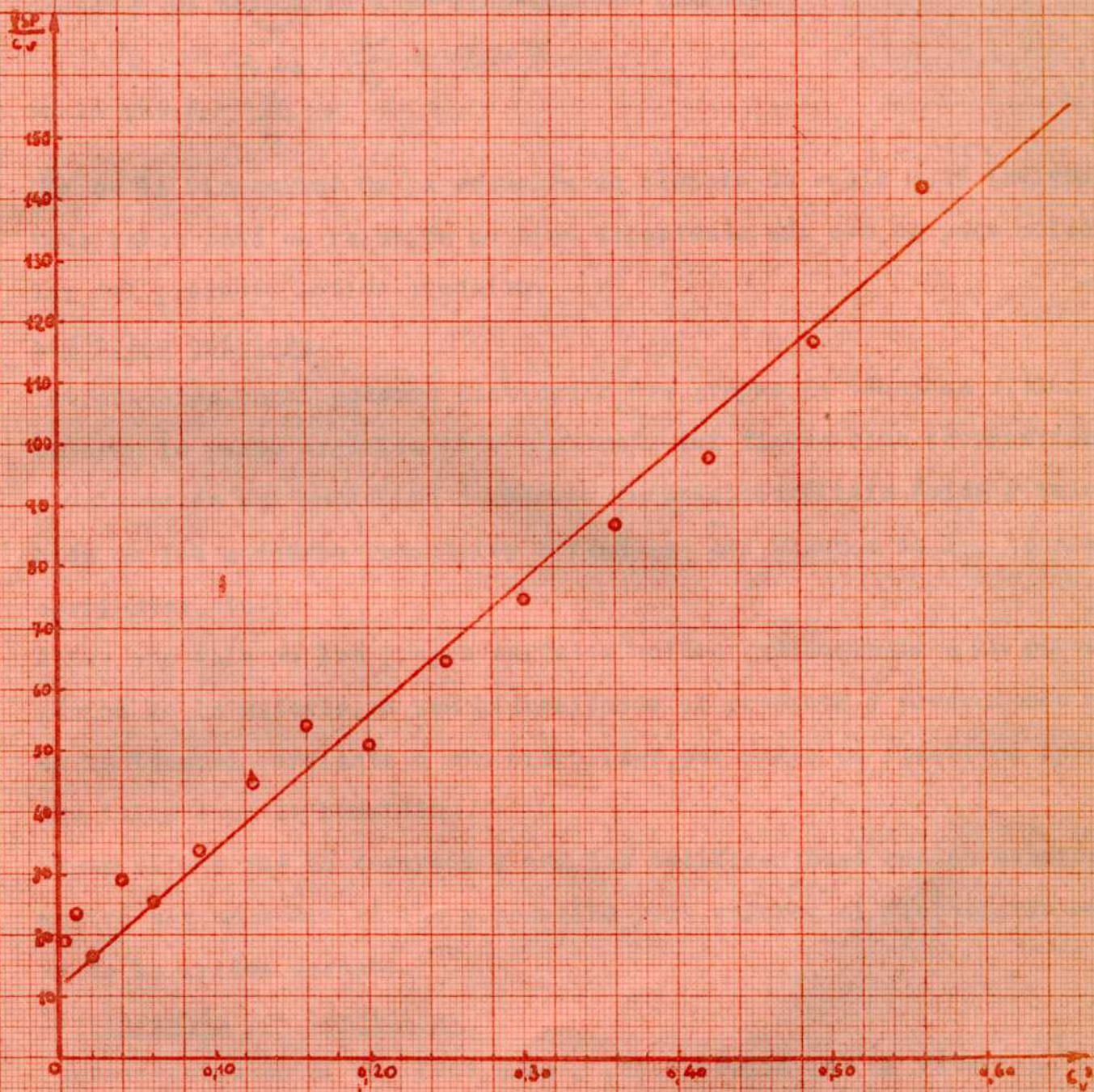
$$\frac{\eta_{sp}}{C_v} = 194,68c_v^2 + 17,257$$

$C_v$  expresado en gramos de iridoficina por 100 ml de solución.

Se hace notar que el valor ( $\eta$ ) = 17,257 valor límite de la función para  $C_v$  tendiendo a cero, según hallaron los autores antes citados está relacionado a la magnitud molecular, de una forma no bien dilucidada aún.

2) Conclusiones. Todo lo visto lleva a indicar que la viscosidad de las solu

$$\frac{p_{sc}}{c_v} = f(c_v^2)$$



ciones de ficocoloide extraída "hasta" 70°C en solución de cloruro de sodio 0,2% constituye un buen método para la valoración de la concentración de la misma y a la cual es aplicable la ecuación

$$\eta = 181,22 c_v^3 + 16,049 c_v + 0,93$$

cuando  $\eta$  se determina a 25°C; habiéndose aislado

$$\lim_{c_v \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c_v} = 17,257$$

en la que  $\eta_{sp} = \frac{\eta_c}{\eta_0} - 1$

$\eta_0$  es la viscosidad de la solución de cloruro de sodio 0,2% (solvente) Este valor está en relación no bien dilucidada aún con el peso molecular del producto activo disuelto.

#### b) Métodos químicos.

Introducción.: aquí podemos distinguir dos grupos de técnicas :1) las que valoran la parte orgánica hidrocarbonada del ficocoloide (combustión - y valoración del anhídrido carbónico formado, hidrólisis ácida y valoración de los azúcares reductores formados por algunas de las técnicas corrientes, etc.)

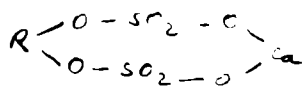
2) Los que valoran los grupos sulfatos unidos químicamente a la parte orgánica de la materia, ya sea: hidrosizando el producto y procediendo como en la técnica corriente; o sin hidrolizar, por medio de reactivos apropiados tales como la bencidina.

Esta última fué la ensayada y con las modificaciones que se mencionarán mostró ser un medio rápido y sencillo para valorar el ficocoloide extraído de la *Iridea cordata*.

#### 1) Valoración con bencidina.

Antecedentes: en el año 1927 Haas y Russell-Wells (4) al referirse a la carragenina (extracto del *Chondrus crispus*) dicen: "es conocido desde algún tiempo (Haas y Hill año 1921) que aún después de una prolongada diálisis los extractos acuosos del *Chondrus crispus* retienen cantidades de cenizas de cerca del 20% que consisten principalmente en sulfatos de calcio; el mucílago dializado contenía según esas observaciones calcio 10-

nizado pero no aparecían iones sulfatos; Haas (1921) sin embargo, por hidrólisis con ácido clorhídrico logró liberar el grupo sulfato mostrando que la sustancia es un ester sulfúrico presentable por una fórmula así:



en la cual  $R$  representa un carbohidrato complejo; estudios posteriores del mucílago revelaron el hecho de que es realmente una mezcla de dos sustancias, en las cuales las diferencias en su composición química son muy pequeñas, pero son distinguibles por sus propiedades físicas. Una de estas sustancias conocida por conveniencia como extracto frío es soluble en agua fría formando una solución viscosa que no gelifica por concentración y enfriamiento. La otra conocida como extracto caliente es poco soluble en agua fría pero soluble en agua caliente que produce similar al agar o a la gelatina un gel cuando la concentración sobrepasa del 2%.

"Precipitación con bencidina; en el curso de una reciente investigación sobre la hidrólisis de los mucílagos de la carragenina para valorar el grado de ésta alcanzada en base a la cantidad de sulfato-iones formado, se apeló a una técnica volumétrica usando bencidina y se observó que una solución de cloruro de bencidina precipitaba no solamente el grupo sulfato libre sino también el grupo sulfato ester de la carragenina. Se sabe ahora que esta precipitación puede ser usada como un método para la determinación de carragenina en solución".

"El primer punto que se estableció fué el hecho de que la precipitación por bencidina era específica para la carragenina. Para afirmar eso el agar y un número de sulfatos-ésteres similares fueron tratados con solución de cloruro de bencidina y en ningún caso fué observada la precipitación. Se vió posteriormente que el cloruro de bencidina no precipitaba soluciones en gelatina, goma arábica, o pectinas obtenidas de naranjas y manzanas. Esto constituye un hecho importante con vistas a la determinación de carragenina en jaleas y mermeladas o en adhesivos".

"Fué posteriormente encontrada que la solución de cloruro de bencidina --

cuando se agrega al extracto caliente o al extracto frío producen en cada caso un precipitado cuantitativo dejando una solución libre de carbohidratos. Cuando se calienta con agua a 70°C el precipitado formado del extracto frío se disuelve completamente; pero el formado por el extracto caliente sólo lo hace parcialmente"

"Valoración de los precipitados de carragenina: a fin de obtener una medida de la cantidad de carragenina precipitada por ese camino el precipitado fué filtrado, lavado con solución concentrada de sulfato de bencidina hasta ausencia de cloruro, suspendido con el papel de filtro en agua, calentado hasta 80°C y el líquido titulado con hidróxido de sodio décimo normal en presencia de fenolftaleína. Un gramo de extracto caliente seco requerían 29,2 ml de hidróxido de sodio décimo normal para neutralizar el precipitado producido (valor medio) mientras que el extracto frío requería para lo mismo 32,6ml"

"Debido a la circunstancia que tanto el extracto caliente como el frío son completamente precipitado por cloruro de bencidina, y el hecho de que su solubilidad en agua no es suficientemente diferente como para individualizarlos por ese camino, no es posible determinar las cantidades relativas de los dos constituyentes de las mezclas. A fin de obtener una expresión para el valor correcto del equivalente de un gramo de mezcla, fueron hechas determinaciones de varias posibles mezclas de las dos sustancias con los resultados consignados en la siguiente tabla

Mezcla caliente		Requieren
Ext. caliente	Ext. frío	Nº OH q/ml.
0,1	0,9	32,26
0,2	0,8	31,92
0,3	0,7	31,58
0,4	0,6	31,24
0,5	0,5	30,90
0,6	0,4	30,56
0,7	0,3	30,22
0,8	0,2	29,88
0,9	0,1	29,54

"Esta tabla muestra que la titulación de carragenina es muy poco afectada por la proporción relativa de extracto caliente y frío en la mezcla y que el valor medio de 30,9ml. de hidróxido de sodio décimo normal deben ser tomados con bastante seguridad como el equivalente de un gramo de extracto -

soco o expresado de otra forma un ml. de hidróxido de sodio décimo normal equivalen a 0,0324 g. de extracto. En apoyo de este punto de vista se realizaron experiencias en la que conocidas cantidades de carragonina seca, fué disuelta en agua, precipitada y titulada y la cantidad presente fué determinada por el valor medio 0,0324 con los resultados siguientes:

MEZCLA PESADA	Titulación Con NaOH 0,1N ml	MEZCLA Calculada %
0,20	6,55	0,212
0,17	6,15	0,199

"Una comparación de los valores calculados demuestran concordancia entre los resultados. Esto es importante si se tiene en cuenta que el llevar hasta peso constante es un proceso algo dificultoso debido a la tendencia marcada que tiene la sustancia para carbonizar".

"Para contrarrestar la precisión de la determinación en el punto final de la titulación varias cantidades diferentes de la solución fué precipitada y titulada y de los resultados dados abajo se puede ver claramente que la determinación del porcentaje de carragonina puede ser determinada con suficiente grado de seguridad como para justificar el método.

VOLUMEN DE NaOH 0,1N consumidos		CARRAGENINA ENCONTRADA	
MEZCLA	ml	g	% $\frac{P}{J}$
30	6,15	0,20	0,66
40	8,35	0,27	0,67
45	9,10	0,29	0,65

"Como ejemplos posteriores los siguientes valores fueron obtenidos para diferentes pesos de la misma decocción de Irish Moss (Chondrus Crispus) preparado de acuerdo al British Pharmaceutical Codex)"

DECOCIÓN NaOH 0,1N consumidos ml		CARRAGENINA ENCONTRADA	
g	ml	g	% $\frac{P}{J}$
8,77	4,6	0,1489	1,70
8,82	4,7	0,1521	1,72

"Método de determinación: En vista de estos hechos el procedimiento siguiente es recomendado para la determinación del mucílago. Una cantidad de solución conteniendo aproximadamente 0,2 g. de extracto soco es medida o pesada de acuerdo a la viscosidad del fluido. Las soluciones son luego diluídas hasta cerca de 100 ml.

acidificada con 4 gotas de ácido clorhídrico cuatro normal y precipitada con 150 ml de solución de cloruro de bencidina que contienen 4g. de bencidina base y 5ml. de ácido clorhídrico concentrado en 2 lts. La mezcla es dejada en reposo durante 20 minutos y el precipitado flocculento es filtrado a través de papel de filtro plegado y lavado hasta ausencia de cloruros con solución saturada de sulfato de bencidina. El precipitado y el papel de filtro se colocan en un vaso y se le agregan 250 ml. de agua -- Se calienta en baño de agua a 80°C y se titula con hidróxido de sodio décimo normal en presencia de fenoftaleína. La cantidad de mucílagos se calcula sobre la base de que un mililitro de hidróxido de sodio décimo normal corresponde a 0,0324 g. de mucílago como ya fuera explicado. La operación completa lleva cerca de 2 horas.

"Carragenina en presencia de otras sustancias: A fin de ver si el mucílago podría ser determinado en presencia de otras sustancias viscosas - coloidales, fueron hechas determinaciones en presencia de agar, goma arábica, gelatina y pectinas de manzana, los resultados fueron

	Cantidad de mucílago tomado	en gramos encontrado
Agar presente en solución 0,025	0,17	0,178
Goma arábica pres. en sol. 0,1	0,148	0,148
pectina " " " 0,1	0,148	0,148
gelatina " " " 0,1	0,148	0,148

"Las sustancias arriba mencionadas fueron elegidas en vista del posible uso del mucílago del carrageen como un adulterante en dulces, jaleas y otros productos comerciales".

"También se hizo el estudio en la determinación de los mucílagos del aceite de hígado de bacalao dada la posible aplicación del mucílago para estabilizar la emulsión. La cantidad exacta de mucílago agregada no era conocida, pero de los resultados obtenidos en la determinación de la cantidad en volúmenes de emulsión puede verse que el método da resultados concordantes.



Emulsión usada ml	NaOH 0,1N consumo ml	Carragenina encontrada g	Carragenina g x 100 ml
20	3,4	0,1100	0,550
30	5,1	0,1650	0,550
<b>37</b>	6,0	0,1942	0,535

"Para esta determinación el procedimiento fué modificado en la forma siguiente: la cantidad medida de emulsión fué acidificada suavemente con ácido clorhídrico y precipitada con 150ml de cloruro de bencidina para cada 0,2g. de carragenina presentes, fué luego filtrada a través de papel de filtro plegable y lavado hasta ausencia de cloruros con solución saturada con sulfato de bencidina. El papel del filtro y el precipitado fueron transferidos a un vaso de precipitación, se le agregó suficiente cloroformo para disolver el aceite y el total cubierto con 250ml de agua, calentado en baño de agua hasta que el cloroformo comienza a hervir y titulado con solución caliente de hidróxido de sodio décimo normal en presencia de fenolftaleína".

"Determinación en presencia de sulfatos libres. Se han hecho experimentos para ver si es posible determinar carragenina en presencia de sulfatos libres aunque en realidad la presencia de cantidades grandes de éstos últimos en la carragenina es remota. El método consiste en determinar el extracto de carragenina por medio de una solución de bencidina en la cual fué precipitada previamente el sulfato libre con cloruro de bario. Se encontró sin embargo que el cloruro de bario precipita carragenina en alguna extensión y que los resultados de la determinación de mucílagos en las soluciones a las cuales se había agregado cloruro de bario era bajo. En solución conteniendo apreciables cantidades de sulfato, sin embargo el cloruro de bario parece precipitar de preferencia el sulfato antes bien que el extracto de carragenina, con el resultado de que una determinación aproximada de ambos puede ser hecha en la misma solución precipitando la carragenina en presencia y ausencia de cloruro de bario. Es necesario sin embargo agregar un considerable exceso de cloruro de bencidina para asegurar la completa precipitación de la carragenina y del sulfato. Los siguientes valores dan los resultados de tales experimentos". 1°) 40 ml. de mucílagos de carragenina conteniendo 0,1100 g. de sulfato de potasio precipitados en frío con 0,8 g. de cloruro de bario (esta precipitación debe ser hecha en frío a fin de evitar la hidrólisis de la carragenina seguida de agregado de 150cm<sup>3</sup>.

de solución de cloruro de bencidina requerían 5,9 ml de solución de hidróxido de sodio décimo normal; en consecuencia fué encontrado una cantidad de carragenina de 0,1912 mientras que la cantidad agregada fué de 0,2009 g. de extracto caliente".

"2°) 40 ml. de la misma solución precipitada con 300 ml. de cloruro de bencidina en ausencia de cloruro de bario requerían 18,75 ml. de hidróxido de sodio décimo normal. Restándole a éste valor 5,9, la cantidad de sulfato de potasio - encontrado fué  $(12,85 \times 0,0087)$ : 0,1118 g. La cantidad agregada fué de 0,1100 g."

En lo que respecta al ficocoloide extraído de la *Iridea Cordata* existe el antecedente de su determinación por el método antes descrito, sin ninguna modificación y con resultados favorables (Barón pág 100 (5)), estimando el error de método en 5%.

## 2) Parte experimental.

La determinación con el método original tal cual fué expuesto efectuada sobre 6 ensayos para probar su aplicabilidad, fué francamente desalentadora en virtud del largo tiempo de filtración (excedía de 6 horas aún empleando papel de filtro S S banda negra) Por otra parte cuando se cambió el reactivo, por sospechase que el original no estaba en condiciones de ser empleado, se notó que aún cuando en algunos ensayos se observó una precipitación neta dejando una solución más o menos turbia, en otros por el contrario no se observaba separación de precipitado alguno, aunque sí, una fuerte turbidez, además el líquido separado en las filtraciones en las que la precipitación fué efectiva, producían un nuevo precipitado al modificarse ligeramente el pH. Esto llevó a suponer que era este factor el responsable de las deficiencias ya anotadas y en consecuencia se procedió a determinar el pH óptimo de precipitación. Para ello se procedió así: el pH del reactivo clorhidrato de bencidina era de 3,35. Este por un lado y la solución del ficocoloide por otra fueron llevados por separado al mismo pH indicado más abajo. Se mezclaron -

las soluciones, se midió el pH de mezcla y se describe el resultado obtenido. El extracto usado fué el obtenido a 80°C.

pH solución ficocoloide	pH a que es llevado sol. y reactivo por separado	pH de Mezcla	Observaciones
5,29	3,10	2,75	No hay pp. Mezcla no muy turbia
5,35	5,30	2,95	vestigios de pp. Solución muy turbia
5,19	3,50	3,20	Precipitado escasos Solución turbia.
5,12	3,70	3,30	Más pp. que el anterior. Solución muy turbia.
5,20	3,90	3,35	Más pp. que al anterior. Solución muy turbia.

Al ultimo de los ensayos se le agregó hidróxido de sodio normal y se agitó después de cada agregado observándose que alrededor de pH 4,5 se formaba un precipitado que rápidamente decantaba dejando una solución limpia que separada no precipitaba por pequeños agregados ulteriores de la solución alcalina.

Estos resultados llevaron a sospechar que el pH óptimo está en una zona -- mucho más alcalina que la estudiada; y en consecuencia se procede a una -- nueva serie de determinaciones, con las modificaciones siguientes: reactivo y solución a titular son mezclados y el producto es llevado al pH más abajo indicado con hidróxido de sodio normal o ácido clorhídrico normal según el caso procediéndose a la valoración con hidróxido de sodio décimo normal en los casos en que la filtración era posible.

pH de mezcla	Consumo de NaOH 0,1N	Observaciones
4,2	--	La pp. es lenta y deja un líquido sobrenadante turbio. No puede ser filtrada.
4,4	3,11	Precipita rápidamente. El filtrado no forma pp. por alcalinización ni por acidificación.
4,6	3,59	Idem al anterior.
4,8	4,41	Idem al anterior
5,0	4,14	Idem al anterior; pero el líquido sobrenadante pp. base bencidina al alcalinizarlo.

La solución de ficocoloide era la extraída a 80°C y en todos los casos se tomaron 20 ml.

El pH de la solución de sulfato de bencidina para lavado es de 2,85.

A continuación se transcriben dos ensayos que se efectuaron con la técnica --

original de Haus y Russell Wells y el pH de mezcla y más abajo se comentan en conjunto las determinaciones anteriores y siguientes.

pH de mezcla	Consumo de NaOH 0,1N
1,82	4,72
1,10	4,91

El desacierto de estas determinaciones debido a la inconsistencia de los valores hallados lleva a sospechar que aún cuando el sulfato de bencidina usado en los lavados no consume prácticamente hidróxido de sodio décimo normal en la valoración, puede debido a su pH bajo (2,85 siendo el de precipitación entre 4 y 5) disolver parte del precipitado ya formado. Las soluciones separadas en las dos últimas determinaciones (pH 1,82 y 1,10) después de filtradas al ser llevadas a pH 4,5 produce un nuevo precipitado abundante que consume hidróxido de sodio décimo normal.

Una nueva determinación es llevada a cabo a pH 1,50. Se observó el precipitado antes descrito y sin filtrar se procede a incrementar el pH con hidróxido de sodio normal. Se observa lo siguiente: hasta pH 2,5 la solución es más o menos límpida y hay precipitado. a partir de aquí y hasta pH 4,0 la solución gana en turbidez y el precipitado desaparece. El máximo de turbidez están en pH 4,0 aproximadamente. Desde aquí y al aumentar el pH la solución se aclara y aparece un precipitado que al llevar a 4,4 cobra el máximo de volumen y es muy abundante, mientras que sedimenta con rapidez y deja un líquido sobrenadante claro. Esta situación continúa sin variantes hasta cerca de pH 5, luego sobreviene la precipitación de la base bencidina, que se distingue fácilmente de la anterior por dar un precipitado cristalino de brillo vítreo que no sedimenta con facilidad. Conjuntamente se observa la desaparición del precipitado floconoso característico del ficocoloide. El líquido sobrenadante de las determinaciones hechas a pH 4,4-5,0 no producen precipitados al acidificarse ni al alcalinizarse salvo cuando se extreman las cosas y se lleva hasta el umbral de precipitación de la bencidina base misma.

Se hace notar también que la filtración en papel de filtro no es recomendable

pués resulta dificultoso (como) durante la disolución del precipitado por el calor, determinar el momento en que se ha disuelto todo y conviene iniciar la titulación.

De acuerdo a las observaciones precedentes se procede a efectuar una nueva serie de determinaciones en las que se introducen las siguientes modificaciones:

1°) Se sustituye el lavado del precipitado con solución saturada de sulfato de bencidina por lavado con agua destilada.

2°) Se utiliza vaso de plata filtrante Jona 101 en lugar de papel de filtro plegado.

3°) Se hace uso de vacío en la filtración en los casos en que este es necesario.

La mezcla reactivo y extracto es llevada como antes al pH deseado usando hidróxido de sodio normal o ácido clorhídrico normal según el caso.

Vaso n°	pH de mezcla	N.º ON 0,1 N Consumido ml
1	4,41	5,29
2	4,5	5,24
3	4,6	5,28
4	4,8	5,22
5	4,0	-

El precipitado que proviene del vaso n° 5 tapa el filtro y ante la imposibilidad de poder valorarlo, se deshecha. Es evidente aquí la formación de bencidina base.

En los vasos número 1, 2 y 3 se observa una solución sobrenadante límpida y precipita rápidamente. En el n° 4, la solución es turbia y precipita con dificultad.

La filtración de los ensayos 1, 2 y 3 es fácil y durante la valoración poco antes de llegar al punto final, el líquido turbio por la dispersión del precipitado en baño maría se aclara visiblemente. En esta valoración se usaron 7 gotas de solución de fenolftaleína para cada ensayo y para transvasar al filtro el precipitado cuantitativamente se utilizaron las aguas madres ya separadas.

En vista de la reproductibilidad de los valores y teniendo en cuenta que el pH ideal está entre 4,4 y 4,6 pudiendo extenderse hasta 4,2 en el extremo inferior y 4,8 en el superior sin peligro para la determinación pero sí para la comodidad de la filtración, lo que hace un margen relativamente amplio (4,2-4,8); se procede a efectuar una nueva serie de determinaciones usando un buffer apropiado.

El sistema acetato de sodio-ácido acético tiene una zona de pH de 3,6 a 5,6. Con el fin de encontrar la relación óptima de esos dos componentes, para nuestro caso, se diluyen 200 mg. de solución de floculoide hasta 100 ml. con agua destilada se agrega 1 g. de acetato de sodio, el reactivo y se determina el pH. Se agregan cantidades sucesivamente de 1 g. de acetato de sodio hasta llegar a 5 g. luego se ensaya el pH agregando 1 ml. de ácido acético glacial a la solución anterior y se sigue adicionando acetato de sodio hasta completar 5 g. El vaso donde se efectúa este ensayo se numerará a 6 y los valores de pH determinados así como la relación de acetato de sodio-ácido acético se muestran a continuación:

Acet. de sodio g	Ac. acético ml.	pH
1	0	4,40
2	0	4,80
3	0	5,05
3	1	4,35
4	1	4,50
5	1	4,62

Se observa que una cantidad de 3-4 ó 5 g. de acetato de sodio para 1 ml. de ácido acético proporciona una situación ideal. En consecuencia se adopta la relación 4 partes en peso de acetato de sodio para 1 en volumen de ácido acético.

Como para el sulfato de bencidina la concentración salina aumenta la cantidad de precipitado que se pierde disuelto y para investigar el aumento de la solubilidad por acción del buffer, se procede a efectuar una nueva serie de 6 valoraciones con cantidades variables de buffer en la relación constante 4-1. Los resultados fueron:

Vaso no	Acetato de sodio g.	Acido Acético ml	pH de mezcla	NaOH 0,1 N consumido ml
1	1	0,25	4,20	5,47
2	2	0,50	4,32	7,23
3	3	0,75	4,42	5,51
4	4	1,00	4,40	5,52
5	5	1,25	4,20	5,53
6	5	1,00	4,62	5,42''

Observaciones: (') Como el precipitado filtrado en vacío dejaba una masa compacta que no se dispersaba al ponerlo en baño de agua hirviente y hacía necesario agregar el hidróxido de sodio en porciones, se intentó agregar un exceso medido de 10 ml y retitular después de disolverse todo con ácido clorhídrico décimo normal. El resultado alto indica que hay evidentemente un consumo extra de álcali. Bien pudiera ser la hidrólisis de restos sulfónicos, etc. Por lo pronto la valoración por retitulación no es por esto recomendable. Estas observaciones se refieren al vaso n° 2.

('') Este es el vaso en el que se hicieron los ensayos de pH antes indicado. Se explica la pequeña disminución en el consumo de álcali, como debido a las múltiples manipulaciones que sufrió (6 mediciones de pH).

La dificultad de la disolución del precipitado se puede evitar no usando vacío durante la filtración. Se obtiene así un precipitado floconoso que es más manejable.

El método muestra así ser muy recomendable y sus resultados reproducibles y por ello se transcribe su técnica con todas las modificaciones introducidas.

### Método

Reactivos: Los valores están dados por una titulación

Solución de clorhidrato de bencidina 4%	cuya preparación se apunta -
más abajo . . . . .	150 ml
Acetato de sodio . . . . .	4g
Acido acético glacial . . . . .	1ml
Fenolftaleína, solución alcohólica . . . . .	7 gotas
Hidróxido de sodio décimo normal . . . . .	-

La solución de bencidina clorhidrato se prepara así:

a) Si la droga disponible es bencidina clorhidrato:

Pesar 4g. de la droga colocarla en un vaso de 100 ml. ompastarla con 1 ó 2 ml. de agua y agitar la masa con una varilla hasta no apreciar nada más que una fina pasta. Agregar agua, agitar e introducir la suspensión en un recipiente de unos dos litros. Lavar el vaso con más agua y completar el agregado de 1 litro de agua. Agitar, dejar reposar hasta el día siguiente y filtrar por papel Whatman n° 1 plegado recibiendo el filtrado en un frasco oscuro donde se lo almacena.

b) Si la droga disponible es bencidina base:

Pesar 2,88g. de la droga previamente porforizada en un mortero, agregarle 0,5 ml de agua destilada y 2,8 ml de ácido clorhídrico concentrado (36% en peso) Esta operación se efectúa en un vasito de 100 ml., se agita la masa con una varilla hasta no apreciar nada más que una fina pasta y seguir como en (a) (agregar agua, agitar e introducir, etc. etc...)

Instrumentos:

Una pipeta (la medida, según la concentración de la solución a valorar)

2 vasos de precipitados de 500 ml. alto.

1 probeta de 250 ml.

1 varilla de vidrio.

1 vaso de placa filtrante 1 $\mu$ l, (grano grueso)

1 Kitasato (Si no se usa vacío puede sustituirse por un soporte de filtración)

Un sistema de vacío. No siempre es necesario ó conveniente.

1 bureta de 25 ml.

1 pipeta de 1 ml.

Técnica:

Se mide o se pesa un volumen de solución que contenga aproximadamente 0,2g de Nicocoloide que se diluyen a unos 100 ml con agua destilada en vaso de 500 ml.

Se agregan 4 g. de acetato de sodio y 1 ml. de ácido acético glacial. Se agita, se agrega 10 ml. de solución de clorhidrato de bencidina 4% y después de unos

los o tres minutos ciento cuarenta ml. más de la misma solución. Se agita fuer-

temente y se deja estar unos 20 minutos. Se filtra entonces por vaso de placa

filtrante 1 $\mu$ l, "sin vacío" usándose éste solamente al final de la operación si

debido a la velocidad de filtración se hace imprescindible. Se transvasa todo -



el precipitado del vaso ayudándose con las aguas madres y cuidando de desprender de las paredes con una varilla provista de policeman el precipitado que queda fuertemente adherido. Se lava 4 veces con 5 ml. de agua destilada cada vez (fría) se calienta en baño de agua hirviendo con agitación intensa y se agrega 7 gotas de solución de fenolftaleína. Se titula con hidróxido de sodio décimo normal y se asegura haber llegado al punto final cuando por calentamiento en el baño se nota después de por lo menos 20 minutos estabilidad de color.

Nota. Los extractos obtenidos a altas temperaturas presentan una dificultad marcada en la disolución del precipitado con bencidina. Se impone en estos casos el agregado del álcali en varias porciones esperando la acidificación antes de efectuar un nuevo agregado.

Factor de equivalencia: Con el fin de hallar la relación que vincula el número de mililitros de hidróxido de sodio décimo normal consumidos en una titulación con el peso de ficocoloide valorado, se titula con la técnica anterior 0,2g. de ficocoloide separados según se indica en el capítulo correspondiente y secado en estufa al vacío a 50°C durante 6 horas y mantenido en vacío hasta el día siguiente. Se dan los factores de equivalencia para los extractos obtenidos a diferentes temperaturas.

Temp. de extracción °C	Ficocoloide valorado g	NaOH 0,1N $P=0,914$ ml	Promedio de consumo NaOH 0,1N ml	Factor ficocoloide NaOH 0,1N $\frac{g}{ml}$
40	0,2	5,88	5,39	0,03715
	0,2	5,90		
50	0,2	5,86	5,36	0,03731
	0,2	5,85		
60	0,2	5,90	5,37	0,03728
	0,2	5,84		
70	0,2	5,84	5,37	<u>0,03728</u>
	0,2	5,87		
	0,2	5,86		
80	0,2	5,89	6,13	0,03263
	0,2	6,72		
90	0,2	6,69	5,67	0,03528
	0,2	6,22		
	0,2	6,17		

En consecuencia se adopta para los extractos obtenidos hasta 70°C el factor; 0,03728 g. de Iridoficina por ml. de hidróxido de sodio décimo normal consumido. Para temperaturas de extracción superiores se adopta el factor encontrado en cada caso.

A fin de observar hasta qué punto ese factor es proporcional con la cantidad de

ficocoloide presente, se realizó una serie de determinaciones para el ficocoloide extraído a 70°C con los resultados que se consignan a continuación:

Ficocoloide valorado g	NaOH 0,1N $f=0,914$ ml	Promedio de consumo NaOH 0,1N ml	Ficocoloide calculado g
0,02	0,70		
0,02	0,66	0,62	0,0221
0,05	1,47		
0,05	1,49	1,35	0,0503
0,10	2,97		
0,10	2,93	2,70	0,1007
0,15	4,39		
0,15	4,39	4,01	0,1495
0,25	7,38		
0,25	7,35	6,74	0,2513
0,30	8,79		
0,30	8,83	8,05	0,3001
0,35	10,22		
0,35	10,27	9,37	0,3493
0,40	11,75		
0,40	11,79	10,76	0,4011

Los resultados muestran que el factor 0,03728 para el método descrito es satisfactorio para valorar extractos obtenidos hasta 70°C estimándose el error cuadrático medio en 0,2%. Se efectuaron con este método 84 determinaciones en el curso del presente estudio sin observar inconvenientes, por lo que se concluye recomendándolo como método de determinación del ficocoloide extraído de la *Iridea Cordata*.

c) Apéndice: A continuación se transcriben brevemente algunos trabajos efectuados por otros autores que han estudiado gomas como las que nos ocupa con vistas a identificar y valorar las mismas.

1) Precipitación por reactivos químicos: Jacobs y Jaffe (7) pág. 468-71 realizaron un estudio para la identificación de gomas por medio de varios reactivos químicos orgánicos o inorgánicos y que producen precipitados característicos cuando se agrega a soluciones acuosas diluidas de las gomas. Los reactivos ensayados fueron: molibdato de amonio, hidróxido de potasio (10%) reactivo de Millon, cloruro férrico (10%). Estos autores recomiendan hacer un ensayo en blanco con cada una de las gomas y establecen además que para el agar las reacciones deben ser estudiadas más a fondo.

2) Boungenberg de Jong y Van der Linde P: (8) pág 737-46 estudiaron la coagulación efectuada por sales neutras en agua y soluciones acuosas de acetona sobre la carragenina y hallaron que es similar a los autocomplejos descrip-

os para otros coloides hidrofílicos cargados negativamente aunque el coágulo no posea propiedades aglutinantes y esté formado por elementos fibrilares.

3) Determinaciones colorimétricas: (9)728-8 fueron realizados estudios para la identificación de gomas por medio del reactivo cloro-ioduro de cinc (a 100 ml de una solución de cloruro de cinc densidad 1,8 se agrega una solución de 10 g de ioduro de potasio y 0,15 g. de yodo (U.S.P.); se mantienen unos pocos cristales de yodo en la solución); tintura de yodo (U.S.P.); rojo de rutenio (a unos pocos ml de una solución al 10% de acetato de plomo se agrega suficiente rojo de rutenio para producir un color "vinoso"); azul de metileno (0,1% de solución en alcohol; 0,1% solución en agua); La técnica del ensayo y reacciones obtenidas con varios agentes se describen en detalle, los resultados son muy satisfactorios y la aplicación del método como una tentativa de determinación es recomendable.

4) Floculación por formación de tricómplejos: Bungeber H.G. de Jong y Rering C.H. (10) pág 2576-705-12; 713-17. Brevemente la reacción se describe así: fosfátidos de la soya + Carragenina + un catión cristalino. Las experiencias dependen del contenido en el sistema coloidal de un ion anfótero y un anión que puede ser precipitado por la adición de un catión a través de una floculación tricómpleja. Los fosfátidos de la soya (ión anfótero) y el sol de carragenina (anión) puede ser precipitado por cationes en el siguiente orden  $Cu > Ca > Mg > Ag > Sr > Ba > Li$ . Los cationes Na y K no han tenido el poder de flocular tricómplejos en soluciones acuosas pero si lo hacen en soluciones de alcohol etílico al 25%. Un exceso de catión de Na y K impiden la formación del tricómplejo. En experimento de cataforesis en los cuales el depósito proveniente de la carragenina sobre partículas de sílice los iones mencionados cambian la carga del fosfátido y de la carragenina en direcciones opuestas.

Agregada a la investigación de los fosfátidos de la soya está la precipitación de la lecitina de huevo y soles de carragenina a través de tricómplejos de floculación en los cuales las sales siguen este orden  $Cu > Ca > Mg > Sr > Ba > Li > Na > K$ . Para aniones el orden fué  $CNS > I > Br > NO_3 > Cl$ . La lecitina de huevo fué precipitada por sulfocianuro de calcio y ioduro de calcio (Un ión coloidal anfótero + un anión cristalino + un catión cristalino). Las sales inorgánicas disminuyen -

floculación del tricomplejo. Los iones rebajan la unión entre los iones co-  
diales y desparejan las cargas unidas a ellos.

Para la precipitación de gelatina y soles de carragenina el orden de tricom-  
plejos de floculación fué  $Ca > Ba > Sr > Mg > Li > Na > K$ . Las medidas electro-  
réticas muestran que las cargas de gelatina y carragenina están afectadas  
en direcciones opuestas por la adición de cationes; pero el efecto de los io-  
nes parece ser idéntico, en los fosfátidos de la soya, lecitina del huevo y so-  
les de gelatina. Los aniones se comportan así  $SO_4 > I > Br > NO_3 > Cl$ . Los ca-  
niones  $K > Na > Li$ .

5) Justin-Mueller (11) pág. 34. ensaya una reacción de precipitación con safra-  
ina para el mucílago del *Chondrus crispus* y Barón (5) pág 100 encuentra que  
ella es aplicable a la iridoficina dando como límite de sensibilidad 2 gamas.

#### 1) Conclusiones:

1°) Las determinaciones físicas basadas en el índice de refracción y el de des-  
viación del plano de polarización no dan resultados de los cuales se pueda de-  
ducir un método de dosaje. En cambio son adecuadas las determinaciones viscosi-  
métricas.

2°) Analizados los valores de la viscosidad del ficocoloide en función de la con-  
centración del mismo en solución salina (cloruro de sodio 0,2%) por el método de  
los cuadrados mínimos, resulta la siguiente parábola de 3er. grado.

$$\eta = 181,22 c_v^3 + 16,049 c_v + 0,93$$

donde  $\eta$  es la viscosidad del ficocoloide en la solución salina (cloruro de so-  
dio 0,2%) medido en centipoises y  $c_v$  la concentración de ficocoloide expresada  
en gramos por 100 ml. de solución.

3°) El cociente de la viscosidad específica por la concentración expresada en  
gramos por 100 ml de solución de las dispersiones del ficocoloide de la iridea  
ordata en solución salina de cloruro de sodio 0,2% son función cuadrada de la  
concentración y está representada por

$$\frac{\eta_{sp}}{c_v} = 194,68 c_v^2 + 17,257$$

donde  $\eta_{sp}$  es la viscosidad específica.

4°) El valor límite de la relación  $\frac{\eta_{sp}}{c_v}$  para dilución infinita que según Guth,

la y Simbra está relacionada con el peso molecular del soluto en una forma bien dilucidada aún, es para el ficocoloide de la Iridea Cordata extraído a solución salina de cloruro de sodio 0,2% hasta 70°C:

$$\lim_{c_v \rightarrow 0} \frac{D_{sp}}{c_v} = 17,257$$

6°) La valoración con bencidina que Naas y Russell-Wells aplicaron con éxito a la carragenina no puede ser utilizada con el ficocoloide extraído de la Iridea Cordata sin modificación.

7°) El pH óptimo para la precipitación del ficocoloide del alga que nos ocupa con clorhidrato de bencidina es 4,4-4,6, pudiendo extenderse hasta 4,2 en el extremo inferior y 4,8 en el superior sin peligro para la determinación; pero sí para la comodidad de la filtración.

8°) Se recomienda el uso de un buffer acetato de sodio-ácido acético en la proporción de 4 partes en peso de acetato para 1 en volumen de ácido acético glacial.

9°) Se observa que el lavado del precipitado obtenido con solución saturada de sulfato de bencidina resulta inadecuado, debido probablemente al pH bajo de la misma (pH 2,85). Se aconseja en cambio el lavado con agua.

10°) Con todas las modificaciones estudiadas la técnica definitiva es:

Se mide o se pesa un volumen de solución que contenga aproximadamente 0,2g. de ficocoloide que se diluyen a unos 100 ml con agua destilada en vaso de 500 ml. Se agrega 4g. de acetato de sodio y 1 ml. de ácido acético glacial. Se agita, se agrega 10 ml. de solución de clorhidrato de bencidina 4% y después de 2 ó 3 minutos 140 ml. más de la misma solución. Se agita fuertemente y se deja estar unos 20 minutos. Se filtra entonces por vaso de placa filtrante 1G1 "sin vacío", usándose este solamente al final de la operación si debida a la velocidad de filtración se hace imprescindible. Se transvasa todo el precipitado del vaso ayudándose con las aguas madres y cuidando de desprender de las paredes con una varilla provista de policeman el precipitado que queda fuertemente adherido. Se lava 4 veces con 5 ml. cada vez de agua destilada fría. Se calienta en baño de agua hirviente con agitación intensa, y se agrega 7 gotas de solución de fenolftaleína. Se titula con hidróxido de sodio décimo normal y se asegura haber llegado al punto final cuando

por calentamiento en el baño, se nota después de por lo menos 20 minutos estabilidad de color.

Si el extracto fué obtenido hasta 70°C por extracción a partir del alga, entonces 1 ml. de hidróxido de sodio décimo normal consumido equivale a 0,03728 g. de ficocoloide. Si la temperatura de extracción fué 80°C; 0,03263 y 0,03528 si lo fué a 90°C.-

-----00000-----

Los métodos que se encuentran en la literatura aplicados a la extracción del -  
colloide de la Iridea Cordata resultan inadecuados para la obtención de produc  
de óptima calidad y rendimiento.

La vez, haga excepción a lo dicho anteriormente, en lo que a calidad se refiere -  
método frío de Haas y Hill (ver pág. 2) pero (aunque) a costa de rendimiento pobre.  
Los apartados 2, 3, 4 y 5 de este capítulo y que siguen a continuación, se esta-  
en las condiciones óptimas de extracción para el alga estudiada.

Las soluciones salinas diluidas disminuyen la viscosidad de los extractos sin  
por ello se modifique ni la cantidad ni la calidad del ficocoloide que puede  
rarse con alcohol isopropílico.

Más disminuye el hinchado del alga, favoreciendo todas estas modificaciones, la  
pulación de los extractos, especialmente la filtración, lo que permite trabajar  
concentraciones  
condiciones) relativamente altas en ficocoloide (1%). La sal usada fué NaCl en -  
concentración 0,2%.

Hasta 90°C la cantidad de ficocoloide extraído guarda una relación lineal con  
temperatura de trabajo. Por encima de esa temperatura los valores se apartan -  
a línea recta, tanto más cuanto más alta es aquella.

Se establece en 70°C la temperatura ideal de extracción pues con ella se ob-  
e un rendimiento adecuado sin disminución de la calidad del ficocoloide ex-  
do.

Se estima en 1 hora el tiempo ideal de extracción.

Las determinaciones físicas practicadas sobre el ficocoloide extraído de la  
oa Cordata basadas en el índice de refracción y el de desviación del plano  
polarización no dan resultados de los cuales se pueda deducir un método de  
jo. En cambio son adecuadas las determinaciones viscosimétricas.

Analizada los valores de la viscosidad del ficocoloide en función de la -  
concentración del mismo en solución salina (NaCl 0,2%) por el método de los cu  
mínimos, resulta la siguiente parábola de tercer grado:

$$\eta = 181,22c^3 + 16,049c + 0,93$$

donde  $\eta$  es la viscosidad del ficocoloide en la solución salina (NaCl 0,2%) medida en centipoises y  $c_v$  la concentración del ficocoloide expresada en gramos por 100 ml. de solución.

8°) El cociente de la viscosidad específica por la concentración expresada en gramos por 100 ml. de solución de las dispersiones del ficocoloide de la *Iridia Cordata* es una función cuadrada de la concentración y está representada por:

$$\frac{\eta_{sp}}{c_v} = 194,68 c_v^2 + 17,257$$

donde  $\eta_{sp}$  es la viscosidad específica.

9°) El valor límite de la relación  $\frac{\eta_{sp}}{c_v}$  para dilución infinita, que según Guth, Gold y Simbra está relacionada con el peso molecular del soluto en una forma no bien estudiada aún, es para el ficocoloide de la *Iridia Cordata* extraído en solución salina NaCl 0,2% hasta 70°C:

$$\lim_{c_v \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c_v} = 17,257$$

10°) La valoración con bencidina que Haas y Russell-Wells aplicaron con éxito a la carragenina no puede ser aplicada al ficocoloide de la *Iridia Cordata*, sin modificación.

11°) El pH óptimo para la precipitación del ficocoloide del alga que nos ocupa con clorhidrato de bencidina es 4,4-4,6 pudiendo extenderse hasta 4,2 en el extremo inferior y 4,8 en el superior sin peligro para la determinación, pero sí para la comodidad de la filtración lo que hace un margen relativamente amplio de trabajo (4,2-4,8).

12°) Se recomienda el uso de un buffer acetato de sodio-ácido acético en la proporción 4 partes en peso de acetato por 1 en volumen de ácido acético glacial.

13°) Se observa que el lavado del precipitado obtenido con solución saturada de sulfato de bencidina resulta inadecuado, debido probablemente al pH bajo de la misma (pH 2,85). Se aconseja en cambio el lavado con agua.

14°) Se estima el error del método en 20/100.-



## BIBLIOGRAFIA

- 1-Torcet J.V.R.
- 2-Rice F.H.A.-The effect of solvent and temperature on the viscosity of the polysaccharide of Irish Moss and the effect of solvent on its initial gelation-Canadian Journal of Research 24-B-12 (1946)Asociación Química Argentina.
- 3-Altmann S.L. y Puente H.A. Teoría y cálculo de errores (1952).
- 4-Haas P y Russell-Wells H.-Mucilago del Irish Moss y un método para su determinación-The Analyst 52-265-269 (1927)
- 5-Baron H.-Estudio de la constitución del floculoide de la Iridaea Cordata.Tesis -1954.
- 6-Inzatti-Extracción del Floculoide de la Iridaea Cordata-Tesis 1953.
- 7-Jacobs y Jaffe-Journal Associated Official Agriculture Chemistry 17 (1934)
- 8-Bungenberg de Jong y P.Van del Linde-Reo.Trav.Chim 53 (1934)
- 9-Cannon J.H.Journal Associated Official Agriculture Chemistry 22 (1939)
- 10-Bungenberg H.B.de Jong y Rosing G.H. Chemisches Zentralblatt (1943)I
- 11-Justin-Mables-Reacción de los colorantes oxímicos y tiazímicos con el mucilago del Chondrus Crispus.Bull.Soc.Chim.de France 35-390 (1924)
- 12-Rose R.Co.- Canadian Journal of Research 28 F-(1950)
- 13-J.Alexander.Colloid Chemistry.New Jerk.Reinhold Publ.Co Tomo VI pag.660,686,690
- 14-I.R.Butler Algunas propiedades del polisacárido complejo extraído del Chondrus Crispus.Biochemical J. 28 759 (1934)
- 15-Haas P y Hill T.G.-Acorrea del Carrageon.Ann.Applied Biol.7 352 (1920)
- 16-Young y Rice.El ácido 2 ceto- glucónico en el polisacárido del Irish Moss.J. Biol Chem 164 35 (1946)
- 17-B.Russell-Wells-Constitución de la pared celular del Chondrus Crispus Biochemical J. 16 578 (1922)
- 18-Mori y Tutiya-Estudio de mucilagos de Rhodophyceas.J.of the Agric Chem.Soc.Japan 14- 164 (1938)
- 19-Godston John-Soapplant extractiva recovered by new techniques.Food Industries-June (1949)pág 50.
- 20-Hassid-Extracción de un ester sulfúrico de galactana.J.AmChem.Soc.55 4163(1933)
- 21-Ellegwood-Un estudio fitoquímico de la Iridaea Laminaroides.J.Am.Chem.Assoc.28-294 (1939).-