

Tesis de Posgrado

Obtención industrial del agar-agar, a partir de un alga de las costas patagónicas

Lacoma, Domingo Mario

1957

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias
Químicas 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. 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. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Lacoma, Domingo Mario. (1957). Obtención industrial del agar-agar, a partir de un alga de las costas patagónicas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0921_Lacoma.pdf

Cita tipo Chicago:

Lacoma, Domingo Mario. "Obtención industrial del agar-agar, a partir de un alga de las costas patagónicas". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1957. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0921_Lacoma.pdf

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

OBTENCION INDUSTRIAL DEL AGAR-AGAR
(a partir de un alga de las costas patagónicas)
Resumen

Tesis presentada por
Domingo Mario Lacoma
Para optar al título de Doctor en Química
Año 1957

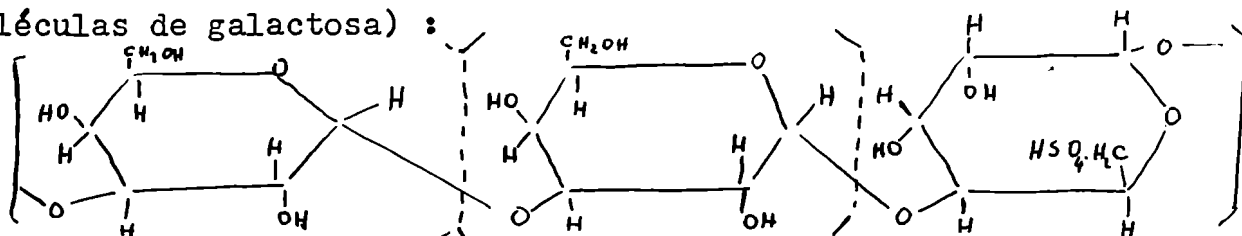
Rev de. TESIS: 921

AGAR-AGAR

Resumen :

Agar o agar-agar, es el nombre comercial aplicado al extracto gelatinoso, seco, parcialmente blanqueado, de ciertas especies de algas rojas (Tressler).

Actualmente la fórmula molecular aceptada es la siguiente (diferiendo los distintos autores solamente en el número de moléculas de galactosa) :



El tiempo de ebullición prolongado, el aumento creciente en la concentración de sales o un pH alcalino o ácido pronunciado, tienen influencia en la disminución de la viscosidad de sus soluciones.

Análisis aprox.de agar	Promedio japonés y americano	Obtenido
	%	%
Humedad	23 a 14	23,24
Fibra cruda	7 a 0,14	4,31
Proteína cruda (N x 6,25)	7 a 1,10	3,15
Carbohidratos (ext.l.deN)	60 a 77	62,21
Extracto en éter	4,15 a 0,20	1,23
Cenizas	4,30 a 3,20	5,76

Carece de valor alimenticio y es usado en la fabricación de cremas, dulces, mermeladas, repostería, sopas, etc. por su alto poder gelificante. En farmacia como laxante suave y en otras industrias como la de films fotográficos, filamentos de lámparas incan

descentes, clarificantes, de licores, terminado de cueros, etc., E.E.U.U. y Japón absorben la producción mundial la cual es insuficiente. La única fuente de obtención conocida de agar son las algas marinas de las especies *Ahnfeltias*, *Gelidium*, *Pterocladia*, *Chondrus*, *Digenea*, *Eucheuma*, *Gracilaria*, *Gigastina* y *Suhria* de las costas de Japón, E.E.U.U., Corea, China, Australia, Rusia, Suecia, Noruega, Chile, Irlanda, Escocia.

El método de extracción varía de acuerdo a los autores y los diferentes tipos de alga, pero fundamentalmente consiste:

- 1) extracción del alga con agua a presión o en vaso abierto (de 50 a 80° C) y separación grosera de ésta de la solución de agar obtenida.
- 2) separación del agar de la solución por congelación y posterior descongelación, utilizando las variaciones atmosféricas como en el primitivo método japonés o en forma artificial como en el método americano.
- 3) decoloración anterior o posterior a esta separación, de acuerdo al autor, con hipoclorito, peróxido de sodio, C animal activado, cloro, etc., e inmediatamente filtración.
- 4) secado final hasta obtener en agar con el 20% de humedad, terminando el producto de acuerdo al mercado en finas tiras, escamas o polvo.

.Antes de la extracción se somete al alga a un lava-

descentes, clarificantes, de licores, terminado de cueros, etc., E.E.U.U. y Japón absorben la producción mundial la cual es insuficiente. La única fuente de obtención conocida de agar son las algas marinas de las especies *Ahnfeltias*, *Gelidium*, *Pterocladia*, *Chondrus*, *Digenea*, *Eucheuma*, *Gracilaria*, *Gigastina* y *Suhria* de las costas de Japón, E.E.U.U., Corea, China, Australia, Rusia, Suecia, Noruega, Chile, Irlanda, Escocia.

El método de extracción varía de acuerdo a los autores y los diferentes tipos de alga, pero fundamentalmente consiste:

- 1) extracción del alga con agua a presión o en vaso abierto (de 50 a 80° C) y separación grosera de ésta de la solución de agar obtenida.
- 2) separación del agar de la solución por congelación y posterior descongelación, utilizando las variaciones atmosféricas como en el primitivo método japonés o en forma artificial como en el método americano.
- 3) decoloración anterior o posterior a esta separación, de acuerdo al autor, con hipoclorito, peróxido de sodio, C animal activado, cloro, etc., e inmediatamente filtración.
- 4) secado final hasta obtener en agar con el 20% de humedad, terminando el producto de acuerdo al mercado en finas tiras, escamas o polvo.

.Antes de la extracción se somete al alga a un lava-

do previo con agua dulce para eliminar impurezas y a veces al mismo tiempo se la somete a los rayos solares para su decoloración.

La congelación como forma de separación del agar de la solución es reemplazada por un autor japonés, por una precipitación del agar con $\text{SO}_4 \text{Na}_2$ y por un autor ruso por un fuerte batido de la solución y posterior agregado á un volumen mayor de agua a temperatura baja con la aparición posterior de copos de agar en suspensión. El alga sobre la que se han hecho los ensayos, fué cosechada en las roquerías de Puerto Deseado y corresponde a la siguiente clasificación botánica :

Grupo	:	Rodophyceae
Orden	:	Gigartinales
Familia	:	Rhyllophoreceaea
Especie	:	<u>Ahnfeltia</u>
Tipo	:	Durvillea

Es la única de las estudiadas hasta ahora en la República Argentina capaz de producir agar-agar de buena calidad y reemplazar al importado con un poder gelificante de un 40% de él de agar de origen chileno y ligeramente inferior al japonés.

Fué obtenido en laminillas transparentes de ligero color pardo grisáceo, insaboro.

El método al cual se llegó finalmente luego de ensayar y adaptar los distintos descriptos en la bibliografía representa una extracción de casi 100%.

La bibliografía si bien es abundante, es prácticamente de origen Japonés o Americana.

Flow sheet del proceso al que se llegó luego de los ensayos citados.

FLOW SHEET DEL PROCESO PRECEDENTEMENTE DESCRITO

Alga secada al sol

Lavado y decolorado del alga sumergida en agua dulce expuesta al sol

96 horas

Secado al sol

48 horas

1 gr.alga/40³ H₂°

Auto clave 3 á 5 Kg/cm²

5 horas

1a. Filtración separación grosera a través de un tamiz de tela metálica (malla 70) del alga cocida de la solución impura a 50 ó 60° C

Solución impura

Alga cocida

Se le agrega C animal activado + 0 C + agitación

1 gs.alga/40 c³ H₂°

Auto clage 3 a 5 Kg/c²

3 Hs.

Filtración a través de pila de papel de 1/2 C.de espesor a 70 u 80 C en el filtro prensa previamente calentado

1a.Filtración separación grosera a través de un tamiz (70 mallas)del alga cocida de la sol.impura

Se deja enfriar a temp.ambiente

24 horas

Alga practicamente extraida pueda procederse asi

Congelación a - 10 C del gel obtenido de color ligeramente amarillento

48 horas

Desecharla

Descongelación acrivada con rayos infrarrojos

Aprox. 6 horas

Unir los desechos de 3 ext. y hacer una

Secado con rayos infrarrojos

4 ó 8 horas

Autoclave 5 ó 6 Kg/C²

1 gs. alga/20 C³ H₂°

6 horas

Agar-Agar

Aprox. 18%

Secado con rayos infrarrojos

4 ó 6 horas

Filtración tamiz 70 mallas

Agar-Agar

Aprox.0,75%

Sol de agar para usar en lugar de H₂

Alga ext. desechada

AGAR-AGAR

18,75% aprox.

FCFBA

A ni madre

(c.u.p.d.)

FOENBA

Sirvan estas líneas para expresar mi profundo agradecimiento al Prof. Doctor Pedro Cattáneo por haber patrocinado este estudio y al Dr. Andrés Fortunato que con sus inestimables consejos hicieron posible realizar felizmente este trabajo como así también mi sincera gratitud a las autoridades y personal del Instituto Tecnológico del Ministerio de Industria y Comercio que han puesto a mi alcance todos los elementos que me fueron necesarios.

1) Descripción del agar-agar.

- a) Características físicas, químicas y tecnológicas.**
- b) Estructura molecular.**
- c) Usos y aplicaciones.**
- d) Fuentes de obtención.**
- e) Métodos industriales.**

2) Descripción de la materia prima utilizada.

3) Análisis químico

4) Método de extracción utilizado.

5) Características del producto obtenido.

6) Conclusiones.

7) Bibliografía.

1) Descripción del agar - agar :

Definición: Agar ó agar-agar, es el nombre comercial aplicado al extracto gelatinoso, seco, parcialmente blanqueado, de ciertas especies de algas rojas (Marine products of Commerce, Tressles, pag. 126).

a) Características físicas, químicas y tecnológicas

ANALISIS APROXIMADO DE AGAR COMERCIAL SECADO AL AIRE

A G A R J A P O N E S

AGAR AMERICANO

	JAPANESE IMPERIAL FISHERIES BUREAU (SMITH 1905)	KELLMER 1905	DAVIDSON 1906	WHITTAKER (PROMEDIO DE 4 EJ.) 1911	FORBES AND MEUSCHING 1913	BEACLE FELLER (PROMEDIO DE 15 EJ) 1916	ANONIMO 1927 MC KINON 1930
	%	%	%	%	%	%	%
Humedad	22,29	22,80	21,79	14,52	15,29	16,57	18,41
Fibra cruda	6,73	-	3,54	0,80	0,89	0,80	0,14
Proteína Cruda (N.6.25)	6,85	11,71	5,95	2,20	1,88	2,34	1,12
Carbohidratos (Ext. Libre DeH)	60,32	62,05	64,59	68,57	77,34	76,15	76,94
Extracto en Eter	3,81	3,44	4,13	-	0,37	0,30	0,19
Silice	-	-	-	0,40	-	0,68	-
Cenizas	-	-	-	3,89	4,23	3,85	3,20
Ca	-	-	-	0,62	0,60	0,92	-
Mg				0,33	0,48	0,57	
Na			}	0,17	0,11	0,25	
K					0,11	0,07	
Cl				0,13	0,03	0,22	
S				1,69	1,77	2,65	
P				0	0,02	0,05	
Fe y Al				0,16	-	-	

Viscosidad de una solución de agar.

Influencia del calor, P^H y sales sobre la viscosidad de una solución al 1 % de agar medido por el viscosímetro de OSTWALD a 45° C relativo al agua.

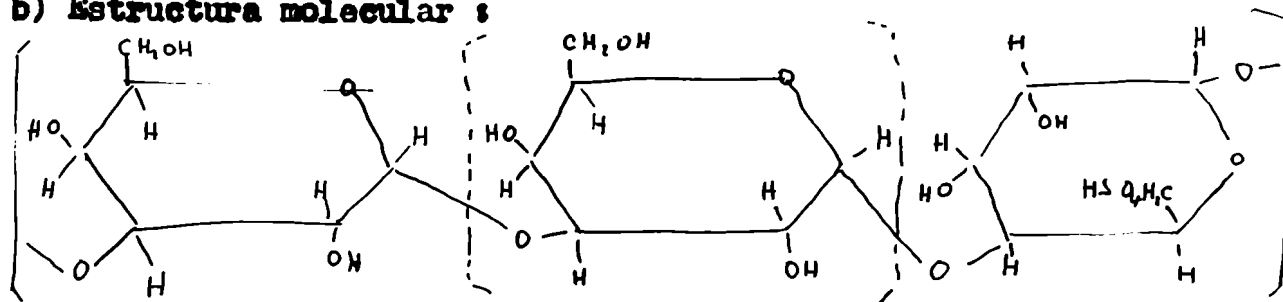
INFLUENCIA DE SALES			
Conc. de Sal	Viscosidad Relativa		
%	SO ₄ K ₂	SO ₄ Mg	(SO ₄) ₃ Al ₂
0,05	1,19	1,17	1,15
0,10	1,189	1,166	1,144
0,20	1,182	1,162	1,142
0,30	1,180	1,160	1,140

----- o o o -----

INFLUENCIA DEL CALOR		INFLUENCIA DEL P ^H	
Duración de la ebullición (min.)	Viscosidad relativa	P ^H	Viscosidad relativa
0	1,16	2,3	1,16
5	1,09	4,9	1,23
10	1,06	7,1	1,26
15	1,05	8,6	1,25
20	1,044	9,5	1,22
25	1,04	10,7	1,16
30	1,035		

----- o o o -----

b) Estructura molecular :



La fórmula anterior del agar-agar, fué la propuesta por Jones y Peat en 1942, y es la aceptada actualmente, consistiendo en el éster sulfúrico de un poligalactósido lineal. De acuerdo a estos autores, el agar consiste de un encadenamiento de nueve residuos de d-Galactopiranososa, unidos por ligaduras en posición 1,3 y terminando en un grupo final reductor de l-galactosa, que está esterificado al átomo de carbón seis, con ácido sulfúrico y unido al resto de la cadena por una ligadura, al átomo de carbón número 4.

En 1944 Bany y Dillon llegaron a la conclusión de que las moléculas de galactosa que corresponde a cada grupo SO_4 es con 53.

Actualmente esta fórmula del agar, es la aceptada, difiriendo solamente las fórmulas posteriores en el número de moléculas de galactosa.

c) Usos y aplicaciones :

El agar como elemento para la alimentación humana, desde hace muchos años, está ampliamente difundido en la dieta de las poblaciones de Corea, Japón y China.

Desde principios de este siglo se ha introducido en los países occidentales, siendo desde entonces su producción

muy inferior a la demanda.

Su valor desde el punto de vista alimenticio, ha quedado completamente descartado, aunque durante mucho tiempo, se lo consideró una gran fuente de calorías.

Atraviesa el tracto intestinal sin sufrir modificaciones en su constitución.

Su uso primordial reside en complementar algunos alimentos, dándoles solidez, aprovechando su gran poder gelificante : de este modo es usado en la fabricación de "ice cream", cremas, magdalenas, dulces, repostería, sopas, etc.

Un uso muy conocido en farmacia es el que se da al agar como laxante de efecto suave, como base para la realización de cultivos en investigaciones microbiológicas, etc.

En otras muchas industrias como: para fabricación de films fotográficos, como lubricante en la fabricación de filamentos de tungsteno de las lámparas incandescentes, como clarificante de licores, en el terminado de algunos cueros y en otras industrias de menor importancia.

El consumo mayor de este producto se reparte prácticamente entre E.E.U.U. y el Japón.

d) Fuentes de obtención :

La única fuente de obtención conocida del agar-agar, son las algas marinas, y de ellas las de las especies Ahnfeltias, Gelidium, Pterocladia, Chondrus, Digenea, Eucheuma, Gracilaria, Gigastina y Suhria, de las costas Japonesas, Coreanas, Chinas, del oeste Norteamericano, Australia, este Africano, Rusas, Escocesas, Irlandesas, Suecas, Noruegas y actualmente Chilenas.

e) Métodos industriales :

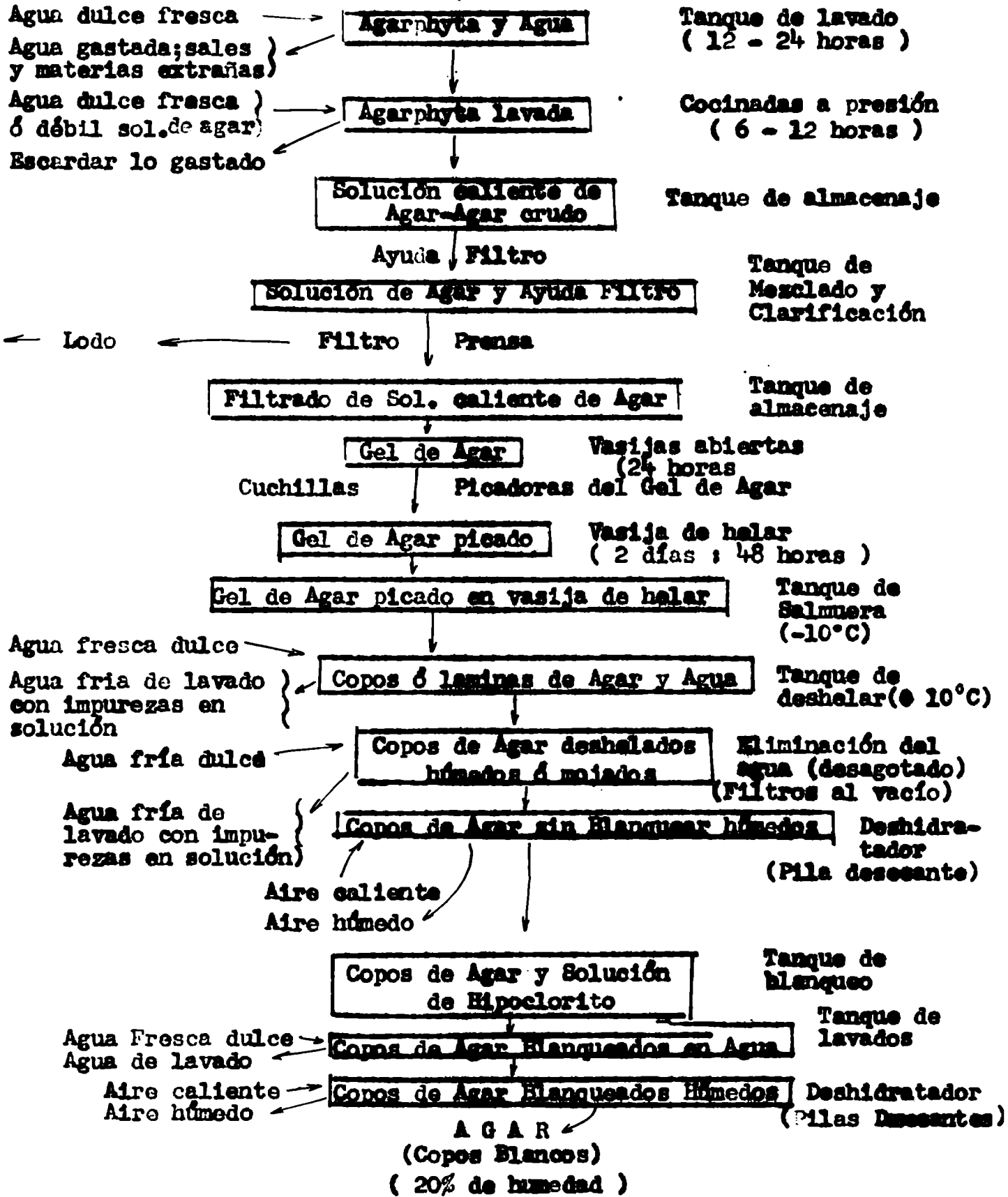
Obtención del agar-agar por el proceso americano
(Colloid Chemistry, Alexander Jerome T6, pag. 679)

El presente proceso de manufactura del agar de gelidium en América es en gran parte el mismo inventado por John Becker (1929d).

El proceso ha sido descrito por varios autores (Anónimo, 1927; Becker, 1929 d) Mac Kinnon, 1930; Robertson, 1930; Treng, 1944c, 1945).

FLOW SHEET DEL PRESENTE PROCESO Y SEGUIA UNA DESCRIPCION DE EL
A G A R P H Y T E

(Secada al sol, sin blanquear)



Descripción del método :

Lavado: El gelidium que llega a la fábrica está secado al sol y sin blanquear, diferente a las agarophytas Japonesas, que son primero blanqueadas en el campo.

Estas son lavadas a fondo con agua dulce fresca en grandes tanques abiertos de 12 a 24 horas. Esta operación ayuda a remover las materias extrañas y eliminar la mayor parte de las sales solubles, fuera de las plantas. El agua usada para este propósito es generalmente el agua de lavado salida del sistema de refrigeración.

Extracción : Las agarophytas lavadas a fondo son entonces transferidas en una canasta de hierro por una guía a un digestor.

Este, es generalmente una olla o tanque a presión, de aproximadamente 6.000 litros y calentado por vapor.

Alternativamente puede usarse una olla abierta al aire. Cerca de 400 g. de agarophyta es adicionada a cada 4.500 litros de agua o de solución diluida de agar de una digestión previa del parcialmente agotado escardado. La razón entre el agua y la agarophyta usada es variable, dependiendo principalmente de la calidad del material crudo, especialmente de la totalidad de las plantas extrañas y animales sobre el gelidium. Es digerido bajo vapor caliente a una presión de 15 lbs. por pulgada cuadrada, durante seis horas. Siguiendo una modificación al método de extracción a contra-corriente, la agarophyta parcialmente gastada recibe dos extracciones más por 8 y 12 horas respectivamente primero con agar diluido en solución y finalmente con agua.

Purificación: La solución de agar crudo caliente resultante, es entonces llevada a un tanque de almacenaje.

En este período, contiene además de agar varias sales solubles, pigmentos y otras impurezas de las cuales ha de ser liberado.

El principio de la purificación usada en el proceso americano, es el mismo que el usado en el Japón.

Por un proceso de congelación y descongelación, el agua fría debe llevarse, la mayoría de las impurezas solubles, purificando de este modo el agar. La purificación consiste de los siguientes pasos :

Filtración: El líquido caliente es tratado con un "ayuda filtros" en un tanque de mezclado y clarificación y filtrado a cerca de 30 lbs. de presión en un filtro prensa con los lienzos previamente impregnados con el mismo "ayuda-filtros". Previamente ha sido adicionado carbón activado al líquido caliente en este período para decolorar la solución.

En el proceso actual esto es omitido y el blanqueo por este método es substituído por un tratamiento con hipoclorito.

Gelatinización: La solución de agar caliente clarificado llena entonces una serie de tubos abiertos, bandejas o vasijas y es dejada gelificar en un cuarto a temperatura ordinaria por un día. Antiguamente era usada una combinación especial de congeladora y gelificadora pero esto no es empleado ahora por ciertos defectos.

Congelación: El gel de agar solidificado es a continuación pasa -

do por una cuchilla cortadera de gel. El gel cortado es dejado dentro de una vasija de helar de 38 kg. de capacidad. Las vasijas son finalmente colocadas en las cámaras de congelación a una temperatura de cerca de -10°C alrededor de dos días. Antes, se usaban vasijas de helar de 114 Kg. que eran también llenadas con gel de agar, fundido denso para ser enteramente helado.

Descongelado: Los pasteles de agar helados pesan alrededor de 38 Kg. finalmente cada uno es cortado en un molino rotatorio para hielo y la masa molida en forma granular, es descongelada en un largo tanque, la temperatura es mantenida debajo de los -10°C .

Filtración al vacío: Del tanque de lavado y descongelado, la mezcla de agua helada y partículas de agar van a un eliminador de agua. Este es un filtro rotativo a vacío que retiene los copos de agar húmedo sobre la criba y arrastra afuera el agua, conteniendo las impurezas solubles. Los copos de agar refinado en este estado llevan cerca de 90% de humedad.

Deshidratación: Para el secado del agar es llevado a un deshidratador especial. Este es una modificación del "Secador de pilas", consistiendo de dos cilindros de 35 pies de alto y 3 pies de diámetro. Los copos de agar húmedos son entregados por transportador a tornillo al primer cilindro, donde una corriente de aire caliente subiendo a 215°F , los seca agitando entonces, constantemente. Cuando están suficientemente secos para levantarlos sobre la cabeza del primer cilindro, por medio de otro transportador a tornillo se lo lleva a un segundo cilindro secador.

Los copos de agar secos pero no blanqueados, contienen 20% de humedad de acuerdo con el requerimiento de U.S.P. y debe ser ahora empaquetado en bolsas de papel impermeable.

Blanqueado: El blanqueado es llevado a cabo cuando los copos han pasado por el primer cilindro secador y están parcialmente secos con un contenido de humedad de cerca del 25%

Es efectuado por el método usual del hipoclorito a la temperatura del lugar. Después el exceso de hipoclorito de sodio es reducido por una solución de hiposulfito de sodio, el agar blanqueado es lavado repetidamente con agua y finalmente deshidratado en "la pila secadora".

Molido: El agar groseramente laminado es satisfactorio para muchos propósitos. En ciertos casos especialmente en la industria de la alimentación, es preferido un producto finisimamente molido. Este es preparado por pasaje por un molino a martillo equipado con un soplador para succionar y ciclón colector. El agar finisimamente molido queda con un promedio del 25% de 100 mallas y el resto de 60 mallas. Para el producto ya terminado y envuelto es aceptado un promedio de pérdidas del 10% aproximadamente.

Otros procesos

El proceso americano descrito más arriba está basado en el método corrientemente usado en la fabricación del agar de gelidium en California. Sobre la costa este la Gracilaria es industrializada por un proceso similar, pero algo modificado. Los

tallos secos o frescos de "Gracilaria confervoides" son lavados en largas artesas de madera con paletas revolventoras.

Las agarophytas son digeridas por cerca de dos horas en agua hirviendo en una gran olla de madera abierta al aire. El líquido caliente pasa por un saco previo al filtro prensa. La solución filtrada es arrastrada a vasijas de congelación y congelada por varios días. El gel congelado es molido, descongelado y lavado con agua fría. Los copos lavados son extendidos sobre bandejas que luego son llevados a grandes salones con aire caliente para ser secados.

Finalmente los copos de agar serán molidos a fino polvo con un molino a martillo.

El proceso de Nueva Zelandia para industrializar "Pterocladia agar" ha sido descrito por Moore (1944). Las agarophytas secas son lavadas con agua fría en bateas de madera hasta que la sal, arena y otros materiales extraños sean removidos. Entonces son digeridas por agua caliente en una olla a presión especialmente diseñada. El líquido con el extracto es retirado aún caliente a una vasija de mezcla donde es tratado con agentes blanqueantes y filtrada.

El líquido filtrado es colocado en un vaso abierto esmaltado.

El gel solidificado es entonces cortado y dializado en una serie de operaciones, y la mayoría de las impurezas serán removidas por congelación. Después de descongelado, el gel húmedo es extendido sobre una banda de gasa y secado en una cámara

de aire caliente, hasta que la humedad contenida sea del 18%, en concordancia con los requerimientos de la Farmacopea Británica. Finalmente el agar seco es pulverizado en un molino a martillos, a fino polvo que es cernido y mezclado como se desea.

El proceso comercial usado en la industrialización de la Gracilaria en Australia y Sud Africa no ha sido todavía publicado.

Wood (1941) ha descrito un proceso en planta piloto que puede haber sido adoptado por los fabricantes Australianos. El método usado parece ser basado sobre el proceso americano y semejante al antiguamente usado en California y descrito por Mac Kinon (1930) empleando carbón activado para decolorar el líquido y más adelante filtrado por filtro prensa.

En Japón el método tradicional depende fundamentalmente de las condiciones atmosféricas.

El alga traída a las playas por las barcas es removida y rápidamente lavada para eliminar los moluscos, arenas y piedras, luego colocadas en unas cajas de bambú y sumergidas éstas en bateas con agua para eliminar sales. Inmediatamente se colocan sobre un tejido de bambú, se exponen al sol y a las lluvias además de ser removidas con chorros de agua para facilitar su decoloración durante varios días al sol. Hecho esto son colgadas en tinas de madera si son calentadas con vapor o en tanque de hierro si son hervidas a fuego directo con alrededor de 50 veces su peso en agua (varía de acuerdo al alga usada, algunas

veces se acidifica con ácido sulfúrico o acético). El cocido obtenido es filtrado a través de sacos de tela de algodón y éste una vez gelificado es cortado y llevado a la cumbre de las sierras donde la baja temperatura hará cristalizar el agua y luego por descongelación, nuevamente en la parte costanera, se obtendrán copos de agar que luego serán secados al sol.

Además del método arriba descripto hay varios otros procesos patentados, algunos de los cuales deben estar ya en uso.

Una patente fué concedida a Utanki (1922) para un proceso modificado. El alga es lavada y tratada durante una o dos horas en agua caliente conteniendo 0,2 a 0,5% de carbonato de sodio o sulfato de sodio. Entonces es blanqueada con cloro o peróxido de sodio y hervida en agua, el filtrado es concentrado bajo presión reducida y dejado solidificar. El gel es congelado, molido, descongelado, secado y el agar purificado es pulverizado. El proceso es por lo tanto muy similar al presente proceso americano. Oki y Imbe (1933) patentó un proceso para fabricar agar pulverizado. Las algas son extraídas con agua caliente como es usual, pero el agar es separado de la solución por la adición de sulfato de sodio. El precipitado de agar es entonces lavado con agua fría y secado a baja temperatura.

El proceso Ruso es similar, presumiblemente al americano, exceptuando que es practicado el secado en tambores de agitado en lugar de pilas de secado. Varias patentes rusas han si-

do publicadas sobre manufacturas de agar. Entre estas está una concedida a Smidovich (1939). El agar es extraído de la agropyta por ebullición en agua como en otros procesos; el extracto es batido a una espuma para obtener un gel poroso que es entonces enfriado y secado de la manera usual.

A Kisevetter (1940) le fué concedida una patente por otro proceso.

El alga Ahnfeltia es hervida en agua y el extracto agitado a baja temperatura hasta que adquiera una consistencia semejante a grasa. Dos o tres volúmenes de agua fría son entonces agregados.

El agar, insoluble en agua fría, es precipitado en forma de copos que son lavados con agua fría y secados.

2) Descripción de la materia prima utilizada :

La variedad de alga sobre la que se han hecho los ensayos de obtención, fueron cosechadas en las roquerías de Puerto Deseado (Gobernación Militar de Comodoro Rivadavia) por el Sr. Teodoro Giamangelli en el año 1951.

Corresponde a la siguiente clasificación botánica, dada por Fries en el año 1885, por Kylin en 1941, etc.

Grupo	:	Rhodophyceae
Orden	:	Gigartinales
Familia	:	Rhizophoreceae
Especie	:	Abnfeltia
Tipo	:	Durvillea

Esta variedad de alga, única de las estudiadas hasta ahora en la República Argentina, capaz de producir agar-agar de buena calidad, es de difícil cosecha, ya que su habitat normal es el fondo marino. Su escasa frondosidad y su preferencia por las aguas más o menos profundas, aumentan los inconvenientes.

Así como otras algas del sur patagónico son arrojadas en cantidades inmensas por las mareas sobre las arenas de las playas, ésta es muy raro encontrarla.

La muestra recibida, secada al sol, presenta la forma de pequeñas ramitas, de aproximadamente 0,25 mm. de espesor fijadas generalmente por su extremo inferior a trozos de rocas, moluscos y arenas.

Adosadas fuertemente sin ninguna parte diferenciable en toda su estructura, se eleva del fondo marino, ramificándose

se profusamente sin ningún orden, manteniéndose en todo el tamaño del alga el diámetro de su tallo, de un color violeta obscuro y de una resistencia extraordinaria, tanto seca, como fresca, o luego de ser extraído el agar.

El molido o el desmenuzado, si bien se lleva a buen término es bastante costoso, siendo de una resistencia notable.

----- o o o -----

3) Análisis Químico:

Se realizaron determinaciones que se creyeron de interés práctico describiéndose a continuación; éstas se efectuaron sobre una porción de alga molida finamente, en un molino a bolas de porcelana.

- a) Humedad : 5,42%, a 50° C/20 mm Hg. durante 3 hs. (6 hs constancia de peso)
- b) Cenizas: 15,3 %, calcinadas en mufla a 600° C.
- c) Extracto en éter: 1,19 %, se realizó usando un extractor Soxhlet.
- d) Extracto en metanol: 11,2 % utilizando el mismo aparato anterior y la Ahnfeltia extraída ya con éter.
- e) N: 2,14 %, por el método común de Kjeldahl.
- f) Fibra cruda: 10,67%, realizada sobre lgr. de alga seca y molida por el método común de digestión sulfúrica y luego alcalina, filtración y pesada posterior.
- g) de AGAR-AGAR: 18,75 %, decolorado y seco sobre alga decolorada y secada al sol, utilizando para esta determinación el método descrito finalmente en el punto 4), sobre una cantidad de 30 gr. de alga en condiciones cuantitativas.

N o t a : Los métodos utilizados en las determinaciones precedentes, no se han descrito, por ser éstos los usados comúnmente en el laboratorio para materiales orgánicos y hallarse su técnica desarrollada en cualquiera de los textos de la especialidad. En la bibliografía quedan citados los que fueron consultados.

4) Método de extracción utilizado :

Antes de llegar al método final se hicieron los siguientes ensayos tratando de aplicar y comparar entre sí los métodos descritos en la bibliografía, para llegar a introducir las variantes necesarias que fueron las más apropiadas para el tipo de alga estudiada.

Extracción y decoloración :

Se hizo la extracción del alga en vaso abierto con agitación constante y a una temperatura que osciló entre los 80°C y 100°C, por calentamiento directo.

Las técnicas empleadas fueron las siguientes a través de 20 extracciones sucesivas :

- a) Se hicieron extracciones manteniendo la cantidad de agua fija, en un litro y medio, variando la cantidad de alga a extraer de 20 a 80 gr. siendo la cantidad más favorable de 30 gr. (un gramo de alga en 50 cc. de agua)
- b) La agitación debe ser moderada, una falta de agitación o una agitación lenta, produce un considerable aumento en la temperatura local (con la consiguiente destrucción del poder galificante del agar obtenido) además de una ebullición sumamente irregular; por el contrario, una agitación demasiado rápida, da por resultado un considerable aumento en la espuma que hace necesario un recipiente de gran dimensión o un antiespumante.
- c) La decoloración previa a la extracción, se la intentó ha -

cer al sol y luego efectuar la extracción en vaso abierto, pero resultó un fracaso, ya que parece producirse una oxidación del colorante al ser calentado al aire.

También se intentó hacer un pasaje de cloro sobre una porción de 30 gr. de alga sumergida previamente durante 24 horas en agua, (750 ml); el pasaje se hizo rápidamente, haciendo burbujear el cloro a razón de cinco burbujas/minuto, manteniendo agitación constante.

A los doce minutos quedó totalmente blanqueada, inmediatamente se procedió a la destrucción del cloro con hiposulfito de sodio y luego a la extracción en vaso abierto. El producto obtenido careció de poder gelificante.

d) Decoloración posterior a la extracción. Se intentaron varios métodos :

1) Con tierra activada nacional, si bien se obtuvieron resultados desde el punto de vista de la decoloración, no dió resultado, pues usando aproximadamente 2% (cantidad óptima) el agar también queda adsorbida, en su mayor parte junto con el colorante.

2) Con corriente de cloro (t = 50° C. a 60° C.)

aa) en medio alcalino

bb) en medio neutro

En las dos formas la decoloración es buena (conc. de agar aproximado 1 %), pero a pesar de la velocidad (se intentó con 3, 5 y 10 burbujas por minuto), y al poco tiempo de contacto (14, 10 y 5 minutos) con la inmediata destrucción del hipoclorito formado con

hiposulfito, la solución obtenida perdió su poder gelificante.

- 3) Por acción directa del hipoclorito de sodio diluido sobre la solución diluida de agar (aprox. 15 grs. en 1,500 lts. de agua a 50° C) se usó el "agua lavandina común" (al 10%), se intentó con 3 y 6 ml.) y luego se procedió a la destrucción con hiposulfito.

La decoloración fué buena, su poder disminuyó considerablemente, pero no lo perdió totalmente como en los dos casos anteriores.

- 4) Con carbón animal, el método más efectivo y rápido. Hasta llegar al método final indicado más abajo se hicieron ensayos de filtración, pues el inconveniente de este sistema consiste en la eliminación total del carbón, que es muy difícil de retener en el filtro. La filtración a través de "ayuda filtro" por Buchner produce una gran cantidad de espuma que molesta la operación, además el vacío ha de ser muy alto, pues para que sea efectiva la capa de "ayuda filtro" tiene que ser gruesa, (aprox. 1 cm.), los poros se tapan fácilmente y restan eficacia (se hace notar que a la solución a la cual se le ha agregado el C, también se le debe agregar el 50 % del peso de éste de "ayuda filtro", de lo contrario la obturación de la capa filtrante es inmediata). El papel de filtro indicado en el método finalmente usado en el filtro prensa, es la forma más efectiva y rápida de eliminarlo, antes de llegar a éste, se probaron varios tipos de telas y papeles comunes en el laboratorio, haciendo o no, capas de ayuda filtro y agregando

en todos los casos el 50 % de éste a la solución (con respecto al C) todas estas filtraciones se realizaron en caliente (de 60° C a 90° C) .

- 5) Aplicación del método Ruso modificado. La técnica empleada definitivamente luego de varios intentos laterales fué la siguiente :

A medio litro de solución concentrada de agar de primera extracción, después de filtrado y previo calentamiento a 75° C y fuerte agitación, fué volcado en una solución de 1.500 lts de agua más 50cc de solución de hipoclorito al 10 % a 5° C, agitando por espacio de tres minutos y con la temperatura elevada a 10° C por el agregado de la solución caliente, a los 8 minutos, comenzó la precipitación de copos de agar en el seno del líquido. Se lo dejó dos horas con hipoclorito y luego se destruyó este con hiposulfito.

Hecho esto se recogieron los copos de agar que flotan en la superficie y se volvió a hacer la misma operación pero sin hipoclorito, para lavar los copos.

El agar obtenido produce un gel, ligeramente amarillento, el inconveniente fundamental de éste método, es el gran volumen de agua con que se debe trabajar, que hacen incómodas las operaciones, pero tienen la ventaja de que los copos de agar húmedos obtenidos por segunda vez no es necesario congelarlos para purificarlos, eliminando la mayor parte del agua e impurezas por simple decan -

tación, quedando listos para el secado final

Aclaración : la determinación del poder gelificante en todos los ensayos arriba mencionados, se hizo por comparación con un testigo de la solución antes de tratar.

Método de extracción y purificación utilizado :

Después del ensayo de los métodos usados en las distintas partes del mundo arriba indicados, se llegó a una adaptación de éstos con algunas variantes y agregados, de acuerdo a las características del alga y a la economía de tiempo y dinero del proceso, sin afectar el rendimiento.

El alga sobre la que se hicieron los ensayos, se recibió secada al sol, pero sin decolorar. Luego de una serie de ensayos preliminares se llegó a una decoloración casi total, exponiendo el alga sumergida en agua dulce a los rayos solares durante 4 días luminosos, con sus noches (el ensayo se realizó en el mes de Julio), removiéndolas periódicamente al mismo tiempo que se removió el agua. Se llegó de un color original violáceo oscuro a un tono blanco amarillento. El alga así decolorada, queda prácticamente limpia y exenta de sales marinas y restos extraños (también se produce un ablandamiento en el alga que quizás sea producido por una pequeña fermentación).

Luego se secó al sol para ser pesada y comenzar el proceso de extracción. Este procedimiento es económico y si bien la solución de agar obtenida en la extracción no es com -

pletamente incolora, pierde muy apreciablemente su tono intenso y parecería que justamente los colorantes más difíciles de eliminar, fueran destruidos por los rayos ultravioletas, además de disminuir apreciablemente la concentración de sales y productos extraños.

Extracción: Esta se llevó a cabo en un autoclave a una presión de vapor de agua de 3 a 5 Kg/e². Se trabajó sobre 25,8 grs. de alga decolorada y secada al sol con un volumen aproximado de 1,500 lts. de agua (1 gr/40 ml), se calentó durante 5 horas. Luego se procedió a la filtración.

Filtración y decoloración final : La filtración podemos dividir - la en dos etapas :

- A) Filtración grosera a través de un tamiz de tela metálica (malla No. 70) entre 60° C y 70° C, para eliminar el alga cocida y escurrida para facilitar la segunda.
- B) Filtración final. La solución de agar obtenida en la filtración o tamizado anterior se calienta a unos 80 a 90° C, con agitación y agregado de carbón animal activado, durante 1 hora aproximadamente (más el 50% de ayuda filtro peso/peso C). Luego se procede a la filtración a través de papel de filtro (marca Erthel No. 4) que es una mezcla mecánica de celulosa y fibra de amianto prensados, intimamente mezclados de 0,4 cm de espesor.
Se realizó con papel de filtro prensa, sosteniendo el papel con una tela gruesa, recirculando una vez armado el filtro agua caliente a unos 80° C a 100° C .

Obtenida una temperatura de unos 80° C en el equipo filtrante se procede a la operación de filtrado de la solución de agar, más el carbón suspendido, terminada ésta, se lava, el filtro con agua a 80° C para arrastrar el agar retenido con más o menos tres veces el contenido de líquido del filtro. La solución obtenida tiene un mayor volumen pues recibe el agua de lavado del filtro. Esta solución se deja enfriar en reposo durante 24 horas. El gel obtenido se llevó en bolsas a la congeladora donde permaneció 48 horas entre -8 y -10° C .

Luego se procedió a la descongelación sobre un tamiz (malla 70) donde quedan retenidos los copos blancos de agar, y pasa una solución ligeramente amarilla, de colorantes e impureza solubles en agua y no adsorbidas ni absorbidas por el agar.

Esta descongelación dura aproximadamente 6 horas activada con rayos infrarrojos. El procedimiento que resultó más cómodo para secar el agar-agar obtenido fué su exposición a rayos infrarrojos procedentes de una lámpara, previamente se trasladó los copos de agar a una cápsula de porcelana para facilitar su recolección, una vez secos.

El tiempo requerido en esta forma de secado fué de 6 a 8 horas. Se usó también estufa a vacío (a 10 mm de Hg y 50° C) sin resultado por ser más lento el secado y más incómodo el control.

Industrialmente podría secarse en túnel con circulación de aire caliente a unos 60° C.

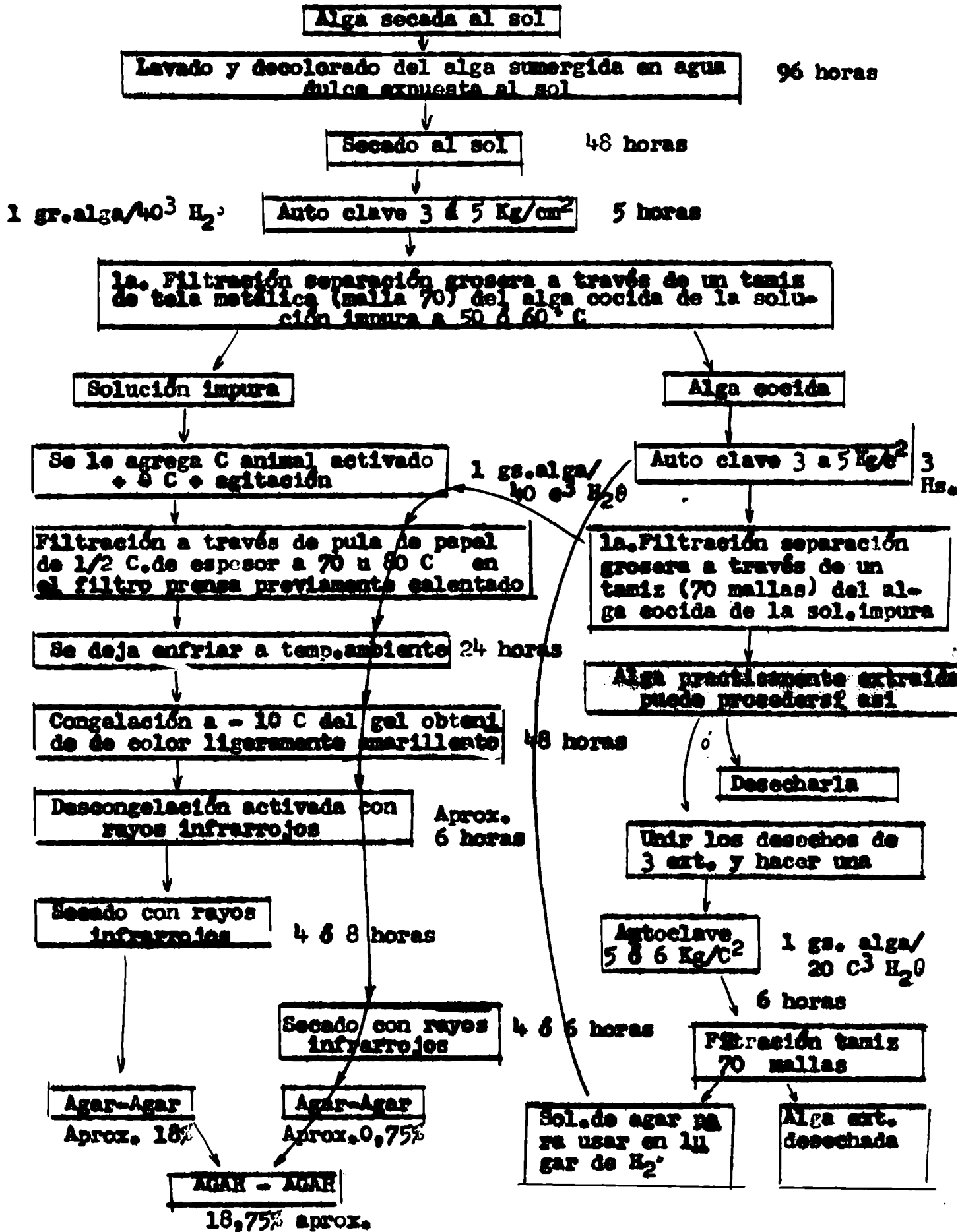
El rendimiento de esta operación es de aproximadamente del

18% sobre el material decolorado y secado al sol, lo cual representa el 96% del contenido en agar del alga.

Una segunda extracción fué hecha con el alga cocida de la primera filtración. Se procedió así después de varios ensayos :

En la misma forma anterior pero calentado en autoclave 7 horas y la decoloración con C activado se realizó en menor tiempo de 30' a 1 hora; la filtración y lavados en la misma forma; lógicamente la única variación en el resto del procedimiento fué el menor tiempo de secado del agar por la cantidad muy pequeña obtenida en 0,75 % sobre alga secada y decolorada al sol (4%). Una tercera extracción sobre el alga extraída por segunda vez es posiblemente desde el punto de vista industrial muy poco justificable pues el alga queda así totalmente agotada, pero para hacerla podría recomendarse lo siguiente, ensayado en el laboratorio, el alga restante de las segundas extracciones de tres "batches" se coloca en el autoclave y se procede a la extracción a 5 o 6 - - Kgs/cm² con una cantidad de agua de 1g/20 ml, se calienta 6 horas y la solución pobre obtenida se usa para hacer la segunda extracción del "batch" siguiente. Ahora bien, el alga de esta 3a. extracción (es decir el alga de tres extracciones sucesivas) completamente agotada puede ya desecharse íntegramente.

FLOW SHEET DEL PROCESO PRECEDENTE ENTE DESCRIPTO



54) Características del producto obtenido:

Las características del producto final determinadas, se han reducido a las fundamentales que requiere la técnica y se han pasado por alto aquellas no impresionables y difíciles de realizar cuando no se dispone de los aparatos necesarios.

1) Prueba de gelificación: un ensayo realizado en los laboratorios de la firma Clarifix S.A. (fabricante de los productos Daliflor), dió como resultado tener un poder gelificante un 40% de el de agar de origen chileno y ligeramente inferior al japonés, usando como método, la comparación de geles preparados con diferentes concentraciones del agar obtenido, con otros preparados de la misma forma pero usando agar de los orígenes indicados, refiriéndose al gel producido por un agar tipo, tomado como estándar por ellos.

En el informe también se hace referencia al gel producido por el agar en estudio como bastante retentivo del agua y además de tener pequeñas impurezas insolubles en agua caliente, siendo apto para la elaboración de sus productos en el caso de que las determinaciones correspondientes lo hicieran indicado para su uso como comestible.

2) Humedad: 23,2% a 50°C/20mmHg durante 3 hs (ésta constancia de peso)

3) Grasas: 5,76% calcinación en mufla a 600°C.

4) Extracto en agua: 1,23 % realizado en extractor Soxhlet por el método común.

5) Fibra seca: 4,31% realizada sobre un gr. de agar seco por el método común de digestión sulfúrica y luego alcalina, filtración y pesada posterior.

6) Proteína seca: (N / 6,25) : 3,15% realizado por el método común de Kjeldahl.

7^a) Carbohidratos (extracto libre de N): 62,21% determinados por diferencia con la suma de los anteriores valores.

8^a) Color y sabor: laminillas transparentes ligeramente pardo grisáceas. El gel es insípido.

Nota: en la bibliografía quedan citados los textos en los cuales están descritos los métodos usados en las determinaciones precedentes

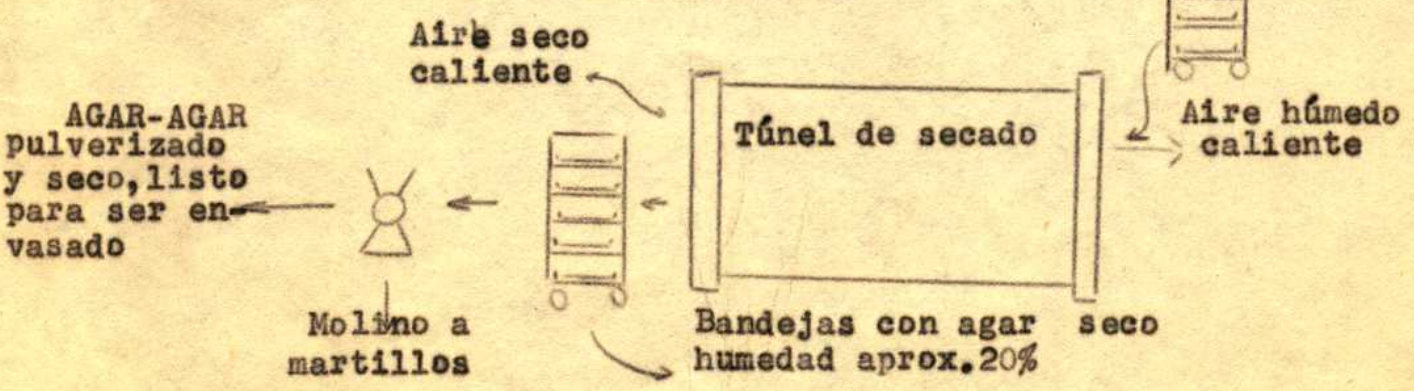
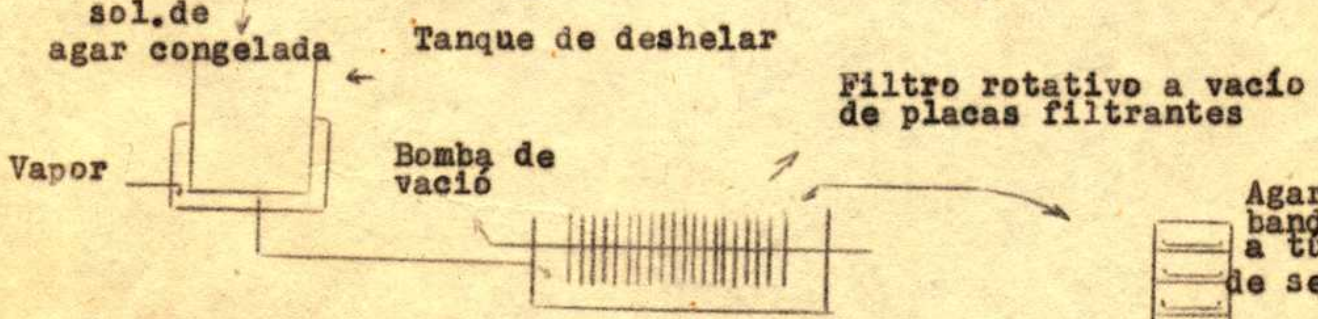
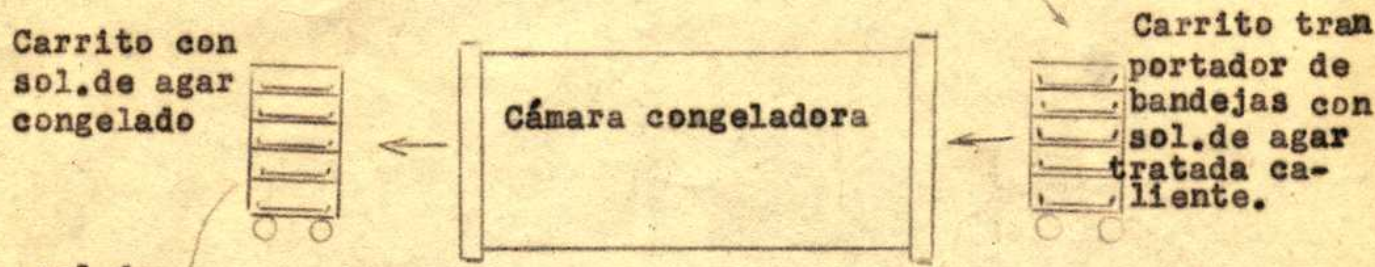
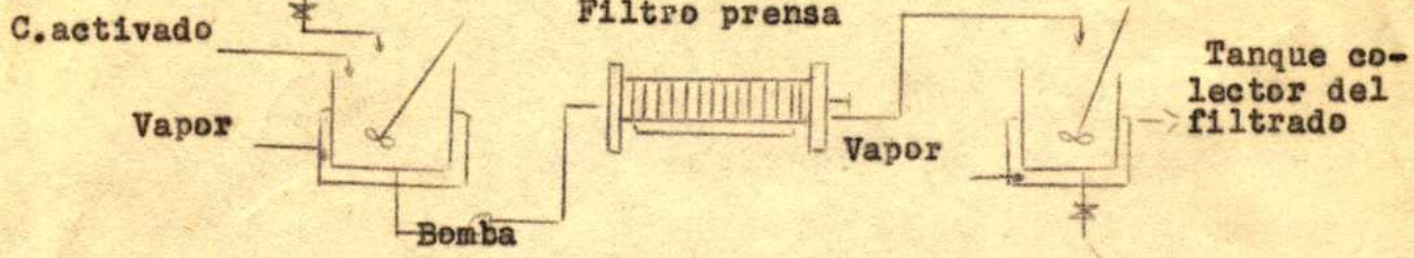
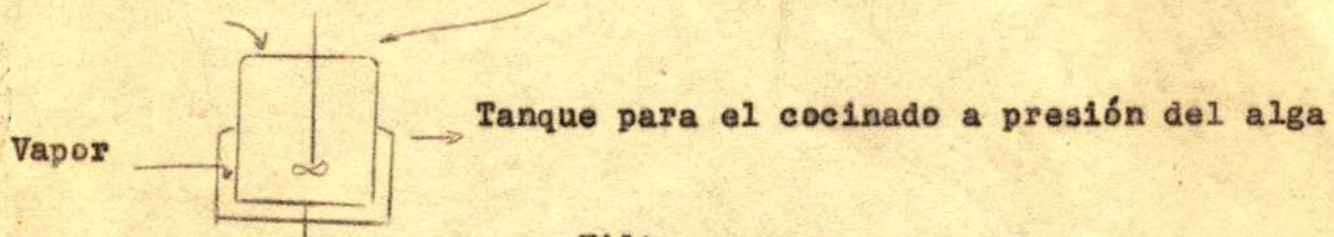
6) Conclusiones :

El producto final de acuerdo a sus características físicas y su poder gelificante resulta de buena calidad y capaz de reemplazar al importado.

En cuanto al método de obtención, además de no presentar complicaciones, no representa un problema su aplicación práctica en cuanto a los materiales usados, ya que el carbón animal y el papel de filtro son fácilmente asequibles a precios no elevados en el mercado nacional. El cocido en autoclave es fundamental si se decolora el alga al sol, pues parece producirse una oxidación del colorante al ser calentada en vaso abierto, en contacto con el aire después de ser reducido su color por los rayos ultravioletas; además la extracción es más rápida y completa, siendo casi total en la primera; en cambio con vaso abierto la primera representa un 60% y la segunda un 35% aproximadamente, así como también presenta el problema de una abundante espuma difícil de combatir, requiriendo una agitación moderada.

A continuación se presenta flow-sheet de una instalación industrial para el método empleado :

Piletas de poca profundidad para exponer y lavar al sol el agar



7) Bibliografía:

REFRA.

- 1) Alexander Jerome, Colloid Chemistry Tomo 6, pag. 629-734.
- 2) Tressler, Marine Products of Commerce, pag. 111-133 (1.940).
- 3) Kirk-Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology. Vol 1, pag. 232-38.
- 4) Colonial plant and animal products Vol II Number 2-1951 (London His Majesty's stationery office).
- 5) Treng C.K. Food Industries, 17, 10, 11, 122, 140, 141, 230, 232, 234, 258, 259, 356 358 (1945).
- 6) Giral J. Aprovechamiento industrial de las plantas marinas (1922).
- 7) Chemical Abstracts 1951. Agar-agar manuf. from seaweeds. P. 7278⁶ Tsoe Sio Lian U.S. 2, 551, 143 May 1, 1951.
- 8) Sauvagean Courelle; Utilisation des algues marines (1920), pag. 122-129 (Gaston Doin Editeur, Paris).
- 9) A. L. Winton, Análisis de Alimentos, pag. 49-50, 65-81, 1947 (Ed. Nasa).
- 10) Chemical Abstracts de 1935 a 1953 (m.e.):
 - 1937, pag. 7564⁶ Agar-Agar. A. A. Korontsvit, Russ. 42, 648, April 30, 1935.
 - 1937, pag. 4012⁷, Artificial cold in the production of agar. V. V. Vasil'ev and A. L. Guenis Kholodil'nic Dale 14, N°2, 26-7 (1936) Chemie and Industrie 36, 1136.
 - 1940, pag. 3124⁵ Agar-Agar I. R. Smuskevich Russ. 56, 068, Nov. 30, 1939.
 - 1940, pag. 3942⁴ Improvement of quality of agar. P. N. Pavlov and M. I. Borshin. Zhimia 1936, 147-52.
 - 1940, pag. 7482⁴ The influence of the temperature and duration of freezing gals from the seaweed Ahnfeltia plicata on the character of the freezing. V. Grynner and I. Gorkhev. J. Applied Chem. (U.S.S.R.) 10, 2054-63 (1937); Chem. Zentr. 1939, I. 4545.
 - 1938 pag. 3061¹. Purification of agar-agar B. I. Popovich, Russ, 44, 289, Sept. 30, 1935.

FOFBA

- 1938, pag. 5863⁹ Purification of technical agar H. P. Tokareva Konservatorye
 From 1936 N° 3, 36-7; Chem. Zentr., 1936 II 3.007.
- 1938, pag. 3526³ Purifying agar-agar V. V. Danilova, Russ. 35, 935, April 30, 1938
- 1938, pag. 5531³ Extraction of agar-agar by the countercurrent method A. In
 rentsvit J. Applied Chem. (U.S.S.R.) 11, 331-5 (in French 335) (1938).
- 1941, pag. 3360² Fundamentals in the complex treatment of the laminaria of
 the White Sea, A. I. Votrinskii, Chem. Zentr., 1939, II, 523.
- 1941, pag. 3475⁴ Methods of control for the production of agar from Anfall
 U. P. Pleskatsovich, Chem. Zentr., 1939, II, 5249.
- 1942, pag. 2752² Agar-Agar production in New Zealand L. H. Moore Bull. Imp.
 Inst., 39, 355-6-(1941).
- 1942, pag. 3062¹ Agar-Agar I. V. Kisovetter Russ. 97, 346 June 30, 1940.
- 1943, pag. 1806¹ Seaweeds in the service of self preservation Haskon For-
 gerson Tek Ucheblad 88, 110-13 (1941).
- 1943, pag. 3965⁵ Agar-Agar manufacture, H. J. Ferguson Wood, J. Council Sci.
 Ind. Research 15, 295-9 (1942).
- 1943, pag. 5884⁵ Manufacture of agar-agar in India J. L. Bose, Karimallah
 and S. Siddiqui, J. Sci and Ind. Research (India) 1, 98-101 (1943).
- 1943, pag. 6303⁹ Report of Botany Division, Wellington, H. H. Allan, New
 Zealand Dept. Sci. Ind. Research, Ann. Rept 17, 15-17 (1943); of. S. A. 36, 615³.
- 1943, pag. 6487⁸ Science Library Bibliographical Series N° 594, The manufac-
 ture of Agar-Agar, 1923-1943, London Science Museum.
- 1945, pag. 2358⁹ Utilization of seaweeds G. K. Tseng, Sci Monthly 59, N° 1, 37-
 46 (1944); Expt. Sta. Record 91, 650 (1944).
- 1945, pag. 2304⁴ A note on agar from Australian and New Zealand seaweeds,
 H. L. Jensen, Australian J. Sci., 7, 94 (1944); of. S. A. 38, 6326⁶.
- 1945, pag. 3860³ America's agar industry, G. K. Tseng, Food Industry, C17, 10-1
 122, 140-1, 230, 232, 234, 258-9, 356, 358 (1945).

- 1947, pag. 2511^b Australia's agar industry, Agap Makareff, Food Industries 18, 1545-7 (1946).
- 1947, pag. 1355^b Manufacture of agar-agar from *Gracilaria confervoides*, Diptish Chakraborty (Bengal Immunity Research Lab. Calcutta) J. and Proc. Inst. Chem. (India) 17, 188-92 (1945).
- 1947, pag. 1778¹ Agar, Joseph F. Bruno and Philip S. Fowling, Brit 577, 533, May 22, 1946.
- 1947, pag. 3555^b Seaweeds resources of North America and their utilization, C. K. Tseng (Scripps Inst. La Jolla, Calif.) Econ. Botany 1, 69-97 (1947) c.f. C. A. 40, 2245⁵.
- 1947, pag. 3889^a Seaweeds utilization in South Florida, Robert H. Williams, Proc. Florida Acad. Sci. 8, 161-70 (1945).
- 1947, pag. 4592¹ Preparation of agar, Koki Watanabe, J. Agr. Chem. Soc. Japan 17, A 69-76 (1941).
- 1948, pag. 6021^b A study of agar from two Brazilian seaweeds, H. J. Egan and L. S. Williams (Duke Univ. Marine Lab., Beaufort, N. C.) Am. J. Botany 35, 287-92 (1948).
- 1948, pag. 1363^f The Japanese agar-agar industry, Anon. Gen. Head quarters Supreme Commander Allied Powers, Nat. Resources Sect. Rept. No. 42, 31 pp 1946.
- 1950, pag. 2675^a Marshall, S. M., Newton, L., and Orr, A. P.: British Seaweeds and Agar, London: H. K. Stationary Office 1949, 184pp, 27s. 6. d. Reviewed in Pharm. J. 164, 53 (1950).
- 1950, pag. 11028^o Agar-agar from Brazil Tharcillo A. Neubern de Toledo (Univ. vers. Sao Paulo, Brazil) Anis faculdade farm. e odonto, Univ. Sao Paulo 7, 91-103 (1949).
- 1951, pag. 3964¹ Agar from Baltic Sea Karl Hofster (Warnemünde, Ger). Pharm. Zentralhalle 89, 409-10 (1950).

FOUNDA

- 1951, pag. 5864^h. The extraction of agar-agar or like gels from marine algae and the recovery of used agar-agar *Savona Medicinali Societa ann.* (Carlo M. Maldura, inventor) Ital. 452,901, Nov. 9, 1949. Addn. to Ital. 407,771.
- 1951, pag. 8167^g Agar from *Bignonia simplex*. Harold J. Humm. *Quart J. Florida Acad. Sci.* 13, 73-6 (1950).
- 1952, pag. 1672^a Agar-agar and adhesive from sea algae. Hingo Kiyota Japan 173,575, Sept. 2, 1946.
- 1952, pag. 9227^o The utilization of raw materials from the sea. W. Rudolph *Natur u. Nahrung* 3, 1-2 (1949). *Chem. Zentr.* 1950, I, 1921
- 1952, pag. 7444^f Agar-agar by electro-chemical extraction. Nobuo Takushi Japan 1286 ('50), Apr. 18.
- 1953, pag. 1308ⁱ Agar from Egyptian seaweed. A.F. Mohamed and Y. Halim (Farouk I. Univ., Alexandria, Egypt.) *Am. J. Botany* 39, 689-91 (1952).
- 1953, pag. 2916^h. Agar-agar Moriaki Yokogama, Japan. 5284 ('51) sept 15.
- 1953, pag. 8288^g Preparation of agar-agar from *Gracilaria confervoides*, I Koemon Funaki and Yoshio Kojima (Tokyo Inst. Technol.). *Bull. Japan Soc. Sci. Fisheries* 16, 401-4 (1951).

