

Tesis de Posgrado

Estudio de un nuevo método de obtención de derivados del ficocoloide de la *Iridea cordata*

Bludau, Dora Teresa

1959

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:

Bludau, Dora Teresa. (1959). Estudio de un nuevo método de obtención de derivados 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_1007_Bludau.pdf

Cita tipo Chicago:

Bludau, Dora Teresa. "Estudio de un nuevo método de obtención de derivados del ficocoloide de la *Iridea cordata*". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1959. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1007_Bludau.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

FCEN-BA.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Estudio de un nuevo método de obtención de derivados
del ficocoloide de la Iridea cordata

TESIS! 1007

Trabajo de tesis presentado por:

DORA TERESA BLUDAU

para optar al título de:

DOCTORA EN CIENCIAS QUIMICAS

Año 1959

Mi más sincero agradecimientos al Doctor Adolfo L. Montes, profesor adjunto de la Cátedra de Bromatología y Análisis Industriales, donde fué realizado el presente trabajo, por haberlo patrocinado y haber puesto todos los elementos disponibles de la cátedra para la ejecución del mismo; al Doctor Andrés Fortunato por los valiosos consejos que en repetidas ocasiones tuve oportunidad de recibir que hicieron posible el término del mismo y a las autoridades del laboratorio del Hospital Tornú por haber facilitado el uso del fotómetro de llama.

A mis padres
a quienes debo haber
terminado esta carrera

I N T R O D U C C I O N

Los trabajos realizados por Torcat (1), quién estudió el reemplazo de cationes en el ficocoloide de la *Iridea cordata* de la zona de Puerto Deseado, y las características de los productos obtenidos; y observaciones realizadas sobre la influencia de pequeñas cantidades de ácidos en la viscosidad de las soluciones de la iridoficina, impulsaron la idea de modificar el método de extracción de este producto y el de obtención de sus "sales".

A tal efecto se ensayó previamente la influencia en la viscosidad de soluciones de iridoficina, de concentraciones crecientes de ácido acético. Fijada de esta manera la mínima concentración de ácido que determinaba un descenso sensible de la viscosidad, se procedió a extraer el producto de la *Iridea cordata*, en medio ácido (2% de ácido acético) y posteriormente se neutralizó con el carbonato o el hidróxido del catión ensayado.

Se obtuvieron de esta manera productos de características diferentes, de los cuales se determinó la viscosidad, el contenido en cenizas, y el análisis de los cationes de las mismas y el poder de suspensión sobre el sistema cacao-leche.

CAPITULO I

Descripción del alga utilizada

La *Iridea cordata* es una Rhodophyceae (alga roja) abundante en nuestro litoral patagónico que crece adherida a las rocas mediante un pedúnculo corto, que sostiene una hoja 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 profundidad, pero es arrojada a las playas en gran cantidad. El presente trabajo se ha efectuado utilizando algas irideas de la zona de Puerto Deseado, cosecha 1956, recolectadas a mano y secadas al aire.

Métodos descriptos en la literatura

Antes de describir el método de extracción usado en el presente trabajo se hará una reseña de los distintos métodos hallados hasta el presente en la literatura. Primeramente se describirán los métodos de extracción de la carragenina, ficocoloide del *Chondrus crispus* o musgo de Irlanda. Estos son aplicables en sus lineamientos generales al alga que nos ocupa, pues el ficocoloide de la *Iridea cordata*, llamado también iridoficina (por semejanza con el producto obtenido de la *Iridea laminarioide*) y la carragenina presentan ciertas semejanzas.

Se conocen con el nombre de ficocoloides a los constituyentes de la pared celular de las Rhodophyceae.

Son sustancias hidrocarbonadas complejas, generalmente galactanos.

El valor del ficocoloide depende de la cantidad y calidad que pueda obtenerse a partir del alga original y ambas son afectadas por numerosos factores distinguiéndose el estado de agitación o estancamiento de las aguas donde crece, las condiciones climáticas del lugar donde habita, la forma de recolección (de profundidad, de superficie, etc.) del tratamiento previo a la extracción (secado al aire o estufa) y por último la técnica seguida para su extracción.

En muchas de las técnicas consultadas se comienza por extraer con agua durante un tiempo y temperatura variable según el autor, para luego seguir ya sea evaporando, con la probable despolimerización parcial y la permanencia de las sustancias conjuntamente extraídas con el ficocoloide tales como sales, etc., o también concentrando hasta un pequeño volumen para terminar finalmente con una insolubilización del producto por agregado de un marcado exceso de alcohol etílico (2) o isopropílico (3). En la literatura se han distinguido tres extractos a distintas temperaturas:

Extracto frío obtenido a	40°-50°
Extracto caliente obtenido a	80°-100°
Extracto a presión obtenido	115°-120°

Calentando directamente en baño de agua hirviente se obtiene un extracto que se ha dado en denominar extracto standard (E.S). Esta denominación de extracto standard fué usada por Luzzatti (4) y por Barón (5) para designar el producto obtenido calentando en baño de agua hirviente sin vigilar la temperatura.

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 leche; el primero es más efectivo si se incorpora en leche caliente mientras que el extracto a presión puede ser tan efectivo con leche fría como con leche caliente, si primero se prepara una solución acuosa concentrada.

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 con precipitación con alcoholes.

a) Métodos de extracción directa.

I) Método de Haas y Hill (6): Es el primero que se registra con 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 ne

cesario 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:

Extracción con agua fría: Se echó alga 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 evaporado 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 18,85 g. de coloide que se obtiene en tiras.

Extracción con agua caliente: Al alga molida se echó en un vaso con agua destilada caliente colocada sobre un baño de agua hirviente 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 Buchener. 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 hirviente. Una vez seco se quitó la carragenina en forma de tiras. Por este método puede obtenerse un 70-75% de extracto hidrosoluble. Tanto el extracto frío como el 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 conservar se bien por un tiempo indeterminado.

2) Método de Young y Rice (7): 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 concentra la solución casi a sequedad al vacío y a 30°-40°, secándose luego a 60° 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 (8): 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 lo preparó de la siguiente manera: el alga cosechada se blanqué al sol, molió hasta

pasar por un tamiz de 2 mn. y lavó con agua a 20°.

Influencia de la temperatura y presión. Se hizo un ensayo preliminar extrayendo 10 g. de carragen media hora, 1 hora y 2 horas a 100° obteniéndose concentraciones de 0,258; 0,266 y 0,271% (igualando los pesos de las mezclas) Como consecuencia de estos resultados se tomó una hora como tiempo de extracción y se trató el *Chondrus Crispus* con agua en la proporción de 100 g. 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 con 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°. Se reúnen los resultados en el siguiente cuadro.

////.....

Efecto de la temperatura

Temp. °C	carragenina soluble lue go de la la. extracción.	Extracción			Total
		1	2	3	
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 vé que trabajando a 100°C no obtuvieron resultados suficientemente buenos para que no tenga mucho sentido extremar las condiciones y extraer a presión.

Efecto de cationes, sales y calentamiento en la extracción de la carragenina: Se ha probado que la presencia de cationes afecta la gelificación y por lo tanto la solubilidad de la carragenina. Como el extracto frío es principalmente la sal de sodio y potasio (9), 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 ClNa , ClK y Cl_2Ca cambiando frecuentemente las soluciones, dializó luego contra agua destilada a 50°C para eliminar el exceso de sales y extrajo recién entonces en un período de una hora. Las cantidades fueron a 40°C . Luego de diálisis contra ClNa :.....32%

Luego de diálisis contra ClK :.....10,7%

Luego de diálisis contra Cl_2Ca :.... 8,3%

mientras que por extracción directa se obtenía un 16,8%. Aumentando la temperatura a 60° la cantidad extraída se vuelve independiente de los cationes presentes. Estas experiencias son de la mayor importancia porque permiten elaborar un método de extracción de iridoficina, ya que el empleo de una solución diluida de ClNa para la extracción facilita mucho las operaciones de filtrado.

b) Métodos de extracción con precipitación

En 1871 se otorgó una patente a Bourgado en la que se empleó un precipitante alcohólico. El empleo de este 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 el agar.

La misión del alcohol es doble: por una parte

deshidratante y por otra arrastra las impurezas hidrosolubles, quedando la carragenina en condiciones de filtrar y secar.

1) Método de M.R. Butler (3). Se lavan 20 g. de alga (no indida si se molió previamente el material) con agua destilada hasta ausencia de cloruro (alcanzan tres o cuatro lavados); se suspendió el sólido en un litro de agua destilada que se calentó 5 ó 6 horas en baño de agua hirviente. 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 300ml. 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 transfiere el precipitado. a: primer día, 200 ml. de etanol absoluto; segundo día 200 ml. de etanol absoluto; tercer día 150 ml. de eter etílico anhidro y el cuarto día 150 ml. de eter etílico 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 (2) La carragenina se extrae con agua caliente y se clarifica por filtración con coadyuvantes; luego se evapora hasta tener una solu-

ción al 10% (para ahorrar alcohol) y el líquido concentrado se vierte lentamente sobre alcohol isopropílico agitando vigorosamente. La proporción de alcohol a usar depende del volúmen 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 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 la elimina mecánicamente (por centrifugación en la industria) todas las impurezas pudiendo 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 saca 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 Bilhve, sirvió a Luzzatti de la *Iridea cordata*.

3) Método de Rice (10): Las muestras después de ser lavadas durante 12 horas en agua corriente fría es extraída con agua destilada durante 6 horas en baño de agua hirviente. El extracto fué filtrado a través

de Hyflo Super Col Johns Manville sobre un Buchner, concentrando 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 eter anhidro y por último en un desecador al vacío sobre Cl_2Ca fundido. El producto de aspecto fibroso fué molido en un mortero hasta dar un polvo blanco.

4) Método de Mori y Tutiya (11) Estos autores crearon esta técnica para obtener ficocoloides libres de materia nitrogenada.

Unos 100 g. de alga secadas al aire, molidos en un molino de discos se introdujeron en un balón de 5 litros de agua, se agregó Cl_2Ba (sin especificar cuanto) y se hirvió a reflujo durante 40' dejando luego en reposo durante toda la noche. Se filtró por Buchener a través de tres papeles de filtro retirando el superior cuando la velocidad de pasaje de líquido se hacía muy pequeña. El residuo del filtro fué deshechado y la solución obtenida (unos 4,5 litros) cuya viscosidad determinada con viscosímetro de Ostwald era de 27 centipoises, se llevó a ebullición y neutralizó con agua de barita. Se filtró nuevamente, concentrando hasta 300-400 ml. y se agregó solución de acetato de plomo al 10% hasta que dejó de aparecer un

precipitado marrón; se filtró 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 esta solución se eliminó el plomo con ácido sulfúrico y luego éste y el sulfuro de plomo por lavado 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 nitrogenada, que lavada con etanol y éter se secó en estufa. Se obtuvo un polvo blanco muy higroscópico.

c) Método de extracción industrial de la carragenina

(Irish Moss empleado por la Krim Co Corporation de Chicago) (12) En la planta de New Bedford se recibe el alga (Irish Moss) blanqueada y sin blanquear en partidas de 30.000 a 40.000 libras en fardos de 150 libras cada uno.

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 con el informe de laboratorio se agrega a cada tanque de 115 a 135 libras 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 ruatnte 15'. El agua de lavado es luego separada y se envía al desagüero.

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 elegir una sustancia neutralizante incapaz de precipitar la caseína. Si lo que se desea es aprovechar la capacidad gelificante de la carrageenina entonces se agrega HOK. 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 de la cocción a las centríf

fugas. Estas son de tipo cesto suspendido hecho de acero inoxidable que trabajan a 1200 r.p.m. Las centrifugas separan del extracto caliente el resto del alga. Para cada tanque de extracción hay una centrífuga. El residuo del alga que representa los dos tercios 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 y 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 volumen 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 agregan 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 volumen 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 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 estado 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.

d) Métodos de extracción del ficocoloide de la Iridea cordata.

El primero que registra la literatura es el de Luzzatti (4). Este autor hizo un estudio comparativo de las propiedades físicas y químicas del ficocoloide obtenido del *Chondrus crispus* o musgo de Irlanda llamado carragenina y del ficocoloide obtenido de la *Iridea cordata* llamado iridoficina.

Luzzatti utilizó una técnica que contempló las ventajas de los distintos autores, para obtener lo que llamó "iridoficina extracto standard" (I.E.S.).

Se trabajó sobre 50 g. de muestra representativa, se hirvió con alcohol isopropílico al 80%, se escurrió y lavó con agua destilada rápidamente. Al agua lavada se agregó 4 litros de una solución caliente al 0,2% de ClNa en un vaso de precipitado de 5 litros que fué colocado luego en un baño de agua hirviente. Se agitó durante una hora manteniéndose el vaso tapado. Se agregó luego pulpa de papel como coadyuvante y se filtró con ayuda del vacío, a través de una gruesa capa de algodón en un Buchner, manteniendo la solución caliente mediante la lámpara de infrarrojos, lavando repetidamente el residuo con agua hirviendo. Se volvió a filtrar en caliente la solución turbia a través de papel de filtro, previo agregado de coadyuvante, lavando nuevamente el residuo. Se obtuvieron 5,5 litros de solución que se evaporaron a baño maría con agitación constante hasta obtener unos 400 ml., a los cuales se les agregó 2,5 veces su volumen de isopropílico puro, agitando vivamente la mezcla durante la operación, decantándose la iridoficina precipitada. Se filtró y se hizo un primer lavado con etanol en una liuadora tipo Turmix, se volvió a filtrar siempre con ayuda del vacío, secando todo lo posible la iridoficina sobre el Buchner mediante el pasaje de aire.

El ficocoloide obtenido se redisolvió en 1,5 litros de agua destilada caliente, evaporándose, precipitándose con alcohol isopropílico y lavándose con etanol de la misma manera anterior. Luego se lavó con eter

etílico también en la licuadora, filtrando y secando al aire. El secado final se hizo en estufa a vacío a 60° obteniéndose 16 g. de un producto fibroso y blanco. Luzzatti justificó el método por él aplicado:

Lavado previo con isopropílico al 80%: El lavado elimina sales pigmentos y otras impurezas, que produciría según Lund (13) la hidrólisis parcial de la carragenina.

Extracción con solución de ClNa al 0,2%: Según Rose (14) una extracción del carragen con una solución de ClNa al 0,2% no hace variar el rendimiento, pero reduce el hinchamiento del alga y aumenta la proporción del filtrado obtenido, además la solución conteniendo sal filtra más rápidamente, probablemente debido a su menor viscosidad.

Tiempo de Extracción: Para asegurar que una hora de extracción era suficiente, repitió el proceso sobre el residuo obtenido de la filtración durante una hora, resultando una solución que no precipitó con alcohol isopropílico.

Filtración: Se agregó adyuvante imitando los métodos industriales que especifican su agregado previo al uso del filtro prensa (13).

La filtración por algodón permite el uso del vacío y elimina las partículas groseras.

Evaporación: Se hace con el único objeto de

ahorrar alcohol.

Precipitación: En la literatura se citan dos métodos fundamentales (13).

- 1) secado
- 2) precipitación con alcohol etílico o isopropílico.

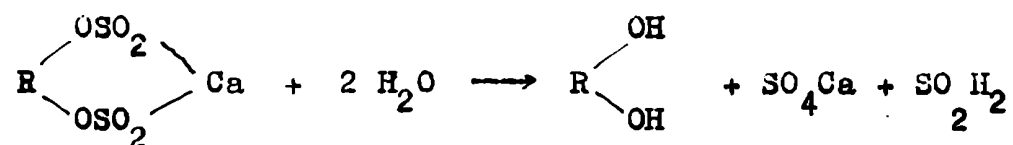
El primero tiene el inconveniente que no elimina las sales que existen en la solución, que influyen luego en la viscosidad del producto final (15).

Con el alcohol etílico se obtuvo un precipitado muy fino casi coloidal muy difícil de filtrar. Con alcohol isopropílico (método industrial con la modificación de Blinové (13) se obtiene un precipitado mucho más fino que no necesita ser molido. La segunda precipitación se recomienda para eliminar restos de sales y otras impurezas.

Lavado y secado

Los lavados en licuadora rompen las partículas fibrosas del ficocoloide al mismo tiempo que las lavan.

En el secado hay que evitar el aumento de temperatura, pues debido a que la iridoficina es un ester ácido del sulfúrico, al calentar hay una fuerte tendencia a la carbonización debido al desprendimiento de SO_4H_2 (16) según la ecuación:



Para obtener una muestra representativa Luzzatti recolecion6 las hojas m6s rojas y con mayor dep6sito de sales, considerando que dicho material habia sufrido menos la acci6n de la intemperie. Se lavaron con agua corriente.

Se secaron al aire varios d6as y se pasaron a estufa a una temperatura no mayor de 60°. Se finaliz6 el secado cuando las algas pudieron desmenuzarse con los dedos, moli6ndolos luego en un molino a martillo. A este material bien mezclado se le llam6 muestra representativa.

Steinitz (17) tomando como antecedente las observaciones de Rose, sobre la influencia del ClNa al 0,2% en la extracci6n de la carragenina del *Chondrus Crispus* procedi6 a determinar si estas eran v6lidas para la *Iridea cordata*. Para esto procedi6 a hacer dos extracciones: una con ClNa al 0,2% y otra con agua. Observ6 que la soluci6n salina filtraba m6s r6pidamente que la soluci6n acuosa. Determin6 la densidad, viscosidad y concentraci6n por valoraci6n con bencidina y comprob6 que si bien la viscosidad de la soluci6n acuosa era mayor que la salina la concentraci6n de ficocoloide no quedaba alterada sensiblemente. Eligi6 la concentraci6n salina de 0,2% por ser esta la aconsejada por Rose (8).

Steinitz estudió la influencia de la temperatura de extracción sobre la concentración del extracto. Procedió a hallar la cantidad de ficocoloide que podía ser extraída a diferentes temperaturas (40°; 50°; 60°; 70°; 80°; 90°; 100° y 110°). La última en autoclave.

Técnica: Para cada temperatura elegida se pesan 10 g. de muestra de alga representativa que se extraen con 800 ml. de solución salina (CLNa 0,2% previamente calentada a la temperatura de extracción elegida) durante una hora, agitando continuamente.

Al cabo del tiempo estipulado se filtra. Al líquido así obtenido se lo denomina primer extracto. Al resto de alga que queda sobre la malla se lo somete a una segunda extracción operando como antes con 800 ml. de solución salina.

Al líquido filtrado de esta segunda extracción lo denominó segundo extracto. El residuo del alga es objeto de una última extracción con 400 ml. de solución salina. El líquido así aislado se lo denomina tercer extracto. Cada uno de los extractos así obtenidos son pesados y se determina además la concentración de los mismos de dos maneras: viscosidad y valoración con bencidina.

Por otra parte, la mitad en peso de cada una de los diferentes extractos obtenidos a una misma temperatura fueron reunidos y se concentraron al vacío, calentando a 40°C hasta 200 ml que se recibieron sobre 500ml.

de alcohol isopropílico. El filtrado obtenido se filtró.

La sustancia filamentososa fué secada al aire y luego en estufa 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. Cálculo la concentración de los primeros extractos en base a la valoración con bencidina y se observó que hasta los 90° demuestran que hay una despolimerización del producto, por lo cual la temperatura de 90° sería el umbral superior para la extracción del ficocoloide de la *Iridea cordata*.

Luego estudió la influencia de la temperatura sobre la viscosidad de los extractos y dedujo que hasta 70° puede extraerse un producto de máxima viscosidad en la que presumiblemente la despolimerización no es marcada.

Estudió también el tiempo de extracción. Para tal fin efectuó una nueva extracción y cada 10 minutos separó una muestra a la que después de filtrada le determinó la viscosidad. Observó así que 60 minutos era el tiempo ideal de extracción, pues prolongando el tiempo de calentamiento desmejora el producto por disminuir la viscosidad.

Con todas estas conclusiones da para extraer el ficocoloide de la *Iridea cordata* el siguiente método:

El alga lavada y secada se muele en un molino a martillo hasta obtener partículas de unos 0,5 cm. de diámetro. Estas se extraen con solución salina de ClNa 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 al 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 destine el extracto. Este puede usarse como tal, llevarse a sequedad con ayuda del calor y vacío o precipitarse el ficocoloide usando 2 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 de vacío a una temperatura no mayor de 50°C. Con esta técnica se extrajeron 50 g. de alga, y el ficocoloide obtenido se usó para las diferentes determinaciones.

Obtención de "sales" de la iridoficina

Torcat (1) considerando que siendo probablemente el ficocoloide extraído de la *Iridea cordata* un electrolito coloidal semejante al de la carragenina, pensó en sustituir el sodio de su molécula por otros

cationes Ca, K, NH_4 , Mg y Ba y observar su comportamiento. Para preparar tales "sales" empleó soluciones de ClK (solución saturada)

Cl_2Mg (solución saturada)

ClNH_4 (solución saturada)

Cl_2Ca 50%

Eligió los cloruros de los cationes en estudio para evitar la incertidumbre que podría introducir el uso de diferentes aniones. Esto último porque se desconoce hasta el momento si estos últimos tienen actividad o no sobre el ficocoloide. Se eligió como anión el cloruro por ser este el que da con los cationes de interés, sales solubles. Los nitratos tendrían desde el punto de vista de su solubilidad para los cationes que nos interesan el mismo comportamiento pero evitó su uso por dos razones:

- a) por tener actividad oxidante y en consecuencia podrían afectar la estructura del ficocoloide. Los cloruros son inertes por ser fisiológicos;
- b) por ser los cloruros más baratos y por estar encaminado este estudio a fines industriales. El ficocoloide con que se realizó estos ensayos fué obtenido tratando una cantidad de alga, con una solución de ClNa al 0,2% a 70°C durante una hora, de acuerdo a la técnica aconsejada en su trabajo de tesis por Steinitz (17). Para purificar el ficocoloide fué precipitado con alcohol isopropílico y el precipitado secado al aire.

Método general de preparación de sales: Se pesó el ficocoloide que se disolvió en agua destilada en cantidad suficiente para completar el 70% de la que es necesaria para obtener una solución al 1% en ficocoloide calentando en baño maría entre 65° - 70° C y agitación. Cuando todo el ficocoloide se halla puesto en solución y homogenizado por agitación con varilla de vidrio se agregan siempre en caliente el 30% del volumen final de la solución salina, se agita y continúa calentando en el baño durante 10 minutos más después de la adición de la solución salina, al cabo de los cuales se retira del baño. Se enfría a temperatura ambiente y se observa su comportamiento.

- b) Se calienta nuevamente en baño maría de $65-70^{\circ}$ C bajando su concentración hasta 1% por adición de agua destilada, se enfría, observa y precipita con 2,5 veces su volumen de alcohol isopropílico.
 - c) El precipitado es secado al aire, retirando una porción para investigar sodio.
 - d) Con la sal obtenida de la primera precipitación con alcohol isopropílico se procede nuevamente como indica en a,b,c,
 - e) Con la sal obtenida de la segunda precipitación con alcohol isopropílico se preparó soluciones de concentración conocida y se observó su comportamiento.
- Con estas soluciones Torcat investigó las propiedades gelificantes de las distintas "sales".

CAPITULO II

Descripción del ficocoloide de la Iridea cordata.

Barón (5) una vez extraído el ficocoloide por el método que elaboró Luzzatti (4) habiendo hecho previamente un análisis del alga hizo el análisis químico del producto. Comenzó por el dosaje de humedad que repetido a diversos intervalos indicó que se trata de una sustancia sumamente higroscópica.

El dosaje de cationes y aniones efectuado calcinando previamente el ficocoloide indicó la presencia de

Cenizas:	21,83%	
Na ⁺	:	26,0 (sobre cenizas)
K ⁺	:	7,6% (sobre cenizas)
SO ₄ ⁼	:	62,0% (sobre cenizas) y 13,6% (sobre sustancia seca)

Estableciendo que el azufre hallado en cenizas está únicamente como sulfato mediante un dosaje después de oxidarlas con agua de bromo.

El porcentaje resultó ser el mismo que sin oxidación previa.

Directamente sobre el ficocoloide sólo dosó sulfatos: 29,55% (sobre sustancia seca), de manera que le fué posible establecer la relación Sulfato total/ Sulfato en cenizas que resultó 29,55/13,36 o bien 2,21/1 \approx 2: 1. Esto

indica la presencia de un sulfato estérico que en virtud del sodio y potasio presentes (en relación 5:1) podría representarse así:



a semejanza de lo que hicieron Haas (16) y Butler (3) con la carragenina y Hassid (18) con la iridoficina. En cuanto a materia orgánica investigó nitrógeno e hidratos de carbono. Para el primero encontró un 0,26% que por ahora permanece inexplicado a semejanza de lo que sucede con el hallado en la carragenina (19). Sobre los segundos ya se sabía que la ausencia de pentosanos (20) por el resultado del análisis del alga entera, encontrando solamente galactosa cuyo dosaje indicó un 49,3%.

Barón seña en su tesis las conclusiones siguientes sobre la estructura del floculoide de la *Iridaea cordata*:

De las determinaciones efectuadas se deduce que se trata de un sulfato estérico de un polímero de la galactosa, parcialmente salificado con sodio y potasio que contiene además un 0,26% de nitrógeno.

Dicha estructura es semejante a la de la carragenina y a la de la iridoficina de Hassid, pero sólo en su aspecto cualitativo.

En ensayo de oxidación con ácido periódico in-

dica que las uniones entre las moléculas de anhidro-galactosa se establecen entre los carbonos 1-3 de igual forma que en el agar-agar y la carragenina.

El grupo sulfato se encuentra muy probablemente unido al C₄ como parecería indicarlo la hidrólisis alcalina.

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

Influencia de la concentración de ácido acético y ácido sulfúrico, sobre la viscosidad de soluciones de iridoficina.

Se procedió primero a hacer una extracción del ficocoloide de la *Iridea cordata* con ClNa al 0,2%, siguiendo la técnica de Steinitz ya descrita en el capítulo anterior, para luego comparar sus características físicas y químicas con los productos obtenidos por el método seguido en el presente trabajo, que se describirá luego.

Con el producto por extracción con ClNa al 0,2% se hicieron los ensayos que se detallan a continuación, tratando los productos con concentraciones variables de ácido acético y ácido sulfúrico.

El producto secado en estufa a 55°C , se dejó durante 48 horas en un desecador con anhídrido fosfórico, pues es muy higroscópico.

Se preparó luego una solución al 1% de iridoficina, que se trató primeramente con ácido acético y luego con ácido sulfúrico, según indica los cuadros. Las soluciones obtenidas se homogenizaron por calentamiento suave a unos 45° .

Se les hizo determinaciones de densidad y de viscosidad, esta última con el viscosímetro de Ostwald, cuyo

uso se indicará en otro capítulo.

<u>Irido- ficina</u> 1% ml.	<u>Acido acético</u> 10%(en vol.)ml.	<u>Agua</u> ml.	<u>Temp.</u> °C	<u>Tpo.de escurr.</u> seg.	<u>Densidad</u> g/cm ³ .	<u>Visc.</u> cp.
40	-	10	20	34,8	1,0004	40,3
40	10	-	20	15,9	1,0035	18,48
40	5	5	20	15,2	1,0025	17,7
40	2,5	7,5	20	32	1,0016	37,1
40	1	9	20	29,4	1,0006	34,0
<u>Irido- ficina</u> 1% ml.	<u>Acido acético</u> 5 %(en vol.)ml.	<u>Agua</u> ml.	<u>Temp.</u> °C	<u>Tpo.de escurr.</u> seg.	<u>Densidad</u> g/ cm3.	<u>Visc.</u> cp.
40	10	-	15	7,8	1,0145	45,7
40	5	5	15	9,8	1,0058	56,8
40	2,5	7,5	15	18,1	1,0030	104,9
40	1	9	15	21,2	1,0029	122,9

Es necesario aclarar que estos ensayos con ácido sulfúrico fueron hechos con iridoficina de otra extrac-

ción que dió un producto mucho más viscoso que el producto con el cual se hicieron los ensayos con acético.

Se adoptó como medio de extracción una solución de ácido al 0,2%, se utilizó el ácido acético porque es un ácido débil y ofrece menos riesgo que el ácido sulfúrico, respecto a la posibilidad de una hidrólisis, aunque la disminución de viscosidad con una concentración de ácido acético es muy pequeña.

Método de extracción del ficocoloide y obtención de "sales"

Para la extracción se siguió en sus lineamientos generales la técnica usada por Steinitz para la extracción con ClNa .

Las hojas de algas, cortadas en pequeños trozos, pero sin lavado previo que hicieron otros autores, se extrajeron con solución de ácido acético al 0,2% en la proporción de 1600 ml. por 40 g. de alga, a 70°C durante una hora con agitación continua mediante un agitador. Se contó el tiempo desde el momento que se agrega el alga a la solución de ácido acético. Se efectúa esta operación recién cuando el recipiente que contiene a esta última, que está situado en un baño, alcanza la temperatura ideal de extracción. Luego se procedió como indica Steinitz, filtrando el extracto primero por algodón y luego por papel.

El extracto obtenido se neutralizó con una solución aproximadamente 10% de carbonato de sodio, gota a gota hasta reacción alcalina débil al tornasol. Posteriormente se procedió a neutralizar con ayuda del potenciómetro.

Se concentró a baño maría y después de media hora aproximadamente de calentamiento se filtró por Buchner para separar sustancias mucilaginosas que precipitaron. Se continuó la concentración con agitación continua hasta consistencia siruposa con el objeto de ahorrar alcohol isopropílico. Se precipitó luego con dos veces y media su

volúmen de alcohol isopropílico agitando continuamente, se dejó decantar y se filtró luego por Buchner con el objeto de separar el alcohol. Se lavó el producto obtenido con alcohol y con éter.

Se secó en estufa a 55°C. En igual forma se prepararon las sales de potasio calcio y amonio, neutralizándose con soluciones de carbonato de potasio al 10%, hidróxido de calcio (saturada) e hidróxido de amonio 20% respectivamente.

Los distintos productos obtenidos se sometieron a las pruebas de poder de suspensión de cacao en leche, a determinaciones físicas (viscosidad y densidad) determinaciones de cerizas y sus componentes principales Na, K y Ca y a ensayos de gelificación según se detallará en los siguientes capítulos.

CAPITULO IVDeterminación de densidades y viscosidades

Estas determinaciones se hicieron sobre soluciones al 1% de iridoficina previamente secada en desecador durante 48 horas con anhídrido fosfórico. La densidad se determinó con el método del picnómetro y las viscosidades con dos viscosímetros de Ostwald de distinto calibre (21), calibrado con una solución acuosa de sacarosa al 60% (en peso) a las temperaturas de 15° y 20°C tomándose los tiempos con precisión de un quinto de segundo. La viscosidad de esta solución de sacarosa es de 74,6 centipoises a 15°C y de 56,5 cp. a 20°C respectivamente (22).

Se sometieron a estas determinaciones el producto extraído con ClNa al 0,2% y los productos de extracción con ácido acético.

Producto		Temp. °C	Tpo. de escurr. seg.	Densidad g/cm ³ .	Visc. cp.
Extraído	Neutraliz.				
ClNa	—	20	55,8	1,0026	64,8
ác. acético	—	20	1,8	1,0021	2,0
ác. acético	CO ₃ Na ₂	20	12,8	1,0022	14,8
ác. acético	CO ₃ K ₂	20	5,8	1,0018	6,8
ác. acético	NH ₄ OH	20	15,8	1,0024	18,3
ác. acético	Ca(OH) ₂	20	14,6	1,0025	16,9

CAPITULO V

Poder de suspensión

Se define como poder de suspensión el grado hasta el cual una muestra de un material a una concentración dada impide la sedimentación.

En el caso del chocolate en leche por ejemplo es a menudo expresado este dato como los mg. de extracto seco de ficocoloide o sus sales requeridos para mantener en suspensión una cantidad definida de chocolate, en una cantidad dada de leche.

Los extractos acuosos de Irish Moss (*Chondrus Crispus*) se utilizan comercialmente como agente de suspensión; el agente activo y principal sustancia química presente en estos extractos es un sulfato polisacárido llamado algunas veces "gelose" o carragen (23), (16), (24).

Poco se conoce acerca del mecanismo de esta estabilización y la estimación del poder de suspensión, esta generalmente basado en ensayos empíricos que consideran la cantidad mínima de carragenina requerida para obtener una satisfactoria suspensión; esta concentración mínima de carragenina es generalmente variable pues depende de muchos factores como ser procedencia y tiempo de recolección del alga, forma de extracción de la carragenina, concentración de sales, etc. y también de la leche pues esta varía en composición y concentración dentro de un amplio margen.

En la literatura se encuentran métodos empíricos para medir el poder estabilizante de las soluciones de carragenina, uno de ellos basado en medidas de la viscosidad de las soluciones de carragenina en leche y chocolate de Rose y Coke (25), otro de F.A.H. Rice (26) basado en la cantidad de oxalato de calcio (expresados en gramos por gramo de extracto seco) que puede ser mantenida en suspensión en condiciones específicas y que fué relacionado por su autor con la cantidad de chocolate en leche que podía ser mantenida en suspensión por una concentración dada de carragenina.

Torcat (23) siguió el método de Rice modificado de la siguiente manera:

En tubos de centrífuga de 15 ml. se miden cantidades de agua destilada se adiciona 1 ml. de solución de Cl_2Ca 0,1 M y después de mezclar 1 ml. de solución de oxalato de sodio 0,1 M agregado gota a gota; los tubos se agitan suavemente por rotación para asegurar una distribución homogénea del precipitado; se agregan luego cantidades del ficocoloide para obtener contracciones desde 0,02 hasta 0,10 por 100 ml. Se dejan reposar los tubos 10 minutos y son luego centrifugados a 2500 r.p.m. durante 10 minutos. Después de separar el líquido sobrenadante, el precipitado fué lavado tres veces con 10 ml. de solución de NH_3 al 0,2%, centrifugando durante 10 minutos después de cada lavado. Los tubos son secados con papel de filtro y luego se le agregan 3 ml. de SO_4H_2 0,5%, se disuelve el precipitado,

se trasvasa con 5 ml. de agua destilada y se valora con MnO_4K 0,01 N. Se expresó la cantidad de oxalato de sodio suspendida en mg. por 10 ml. La cantidad de oxalato de calcio mantenida en suspensión fué obtenida restando el valor de la titulación de un ensayo en blanco no conteniendo geloso. Torcat aplicó este método a la medida del poder de suspensión de soluciones de ficocoloide de la *Iridea cordata* y obtuvo resultados sin ninguna concordancia, y no pudiendo introducir más modificaciones, aconseja descartarlo.

En el presente trabajo se ensayó nuevamente este método con el ficocoloide obtenido por extracción con ácido acético y neutralizado con carbonato de sodio obteniéndose también resultados dispares. /

Medida del poder de suspensión del chocolate en leche

Torcat usó el ficocoloide de la *Iridea cordata* y sus sales de Ca, K, NH_4 , Ba y Mg para estabilizar la suspensión de cocoa en leche.

Las soluciones de ficocoloide y sus sales fueron preparadas disolviendo cantidades pesadas en H_2O destilada, calentando a baño maría entre 65-70°. En sus ensayos se usó concentraciones de 0,5% diluyendo luego a la concentración necesaria para la técnica.

La suspensión de chocolate en leche fué preparada pesando 50 g. de chocolate amargo, suspendiéndolo en 100 ml. de leche, calentando a 60°C con agitación; cuando la suspensión se había homogenizado se completó su volumen a 2000 ml. con leche obteniéndose así una concentración al 2,5% de chocolate en leche. La suspensión fué agitada energicamente y pasada sobre malla de 100.

Las concentraciones de ficocoloide y sus sales fueron elegidas aumentando de una a otra en 0,01 desde hasta 0,10 midiendo con bureta en tubos de ensayos las cantidades correspondientes de las soluciones de ficocoloide y sus sales; completando con agua destilada hasta 5 ml. agitando energicamente; se deja reposar y se agrega luego 20 ml. de suspensión de chocolate en leche; homogenizada por agitación. Se agita el contenido total de los tubos y se dejan en reposo a temperatura ambiente durante 24 horas al cabo de las cuales se efectuaron las lecturas correspondientes indicándose presencia o ausencia de sedimento, estado

y color de la leche. La sedimentación fué determinada visualmente lã mismo que los otros valores; la concentración mínima de ficocoloide y sus sales en cada caso capaz de detener la sedimentación fué tomada como poder de suspensión; sin embargo dado que las determinaciones eran visuales.

Estos valores son solo aproximados. Con este método Torcat llegó a los resultados siguientes: las concentraciones minimas capaces de impedir la sedimentación de chocolate en leche al 2,5% son

Para ficocoloide	0,03
Para sal de Mg	0,04 *
Para sal de Ba	0,05
Para sa ₁ de Ca	0,05
Para sal de K	0,07
Para agar	0,09
Para sal de NH ₄	0,10

Modificación al método. Después del reposo de 24 horas y efectuadas las lecturas correspondientes se procedió a centrifugar durante 10 minutos a 2500 r.p.m. 10 ml. de suspensión de cada uno de aquellos que representaron mejor poder de suspensión obtuviéndose en algunos casos resultados imposibles de expresar por el hecho que la leche, se hallaba cortada. Adoptó entonces el criterio de centrifugar los tubos para medir el poder de suspensión. Antes de efectuar el proceso se determinó la aci

dez de la leche; se tomaron 10 ml. de leche que se valoraron con NaOH 0,1 N usándose fenolftaleína como indicador. Se determinó así su acidez expresándola en gramos de ácido láctico por litro, esta fué reducida con el agregado de bicarbonato de sodio a 0,90 g. por litro. Con esta leche se prepara una suspensión de chocolate al 2,5% de acuerdo al método descrito anteriormente. En tubos de centrifuga de 15 ml. se miden cantidades de ficocoloides o sus sales para obtener concentraciones desde 0,06 hasta 0,10, el contenido de cada tubo se completa con agua destilada hasta 2 ml. se agitan adicionando luego 8 ml. de la suspensión de chocolate en leche, se dejó reposar durante dos horas, comparándose cada tubo con un tubo testigo que contenía 8 ml. de suspensión de chocolate en leche y dos ml. de agua destilada.

Durante el tiempo de observación se veía claramente que mientras que en la muestra que contenía solamente suspensión de chocolate en leche la sedimentación del chocolate era casi instantánea, en los que contenía ficocoloide o sus sales al cabo de 2 horas no se observaba sedimentación del chocolate. Procedióse luego a centrifugar toda la serie de tubos durante 5 minutos a 2500 r.p.m.

En el presente trabajo se usó para determinar el poder de suspensión de los distintos productos el método de Torcat con la modificación de la centrifugación.

La leche fué adquirida en el comercio lo mismo que el chocolate amargo se determinó la acidez de la leche,

midándose 50 ml. de la misma y titulándola con NaOH 0,10N usándose fenolftaleína como indicador.

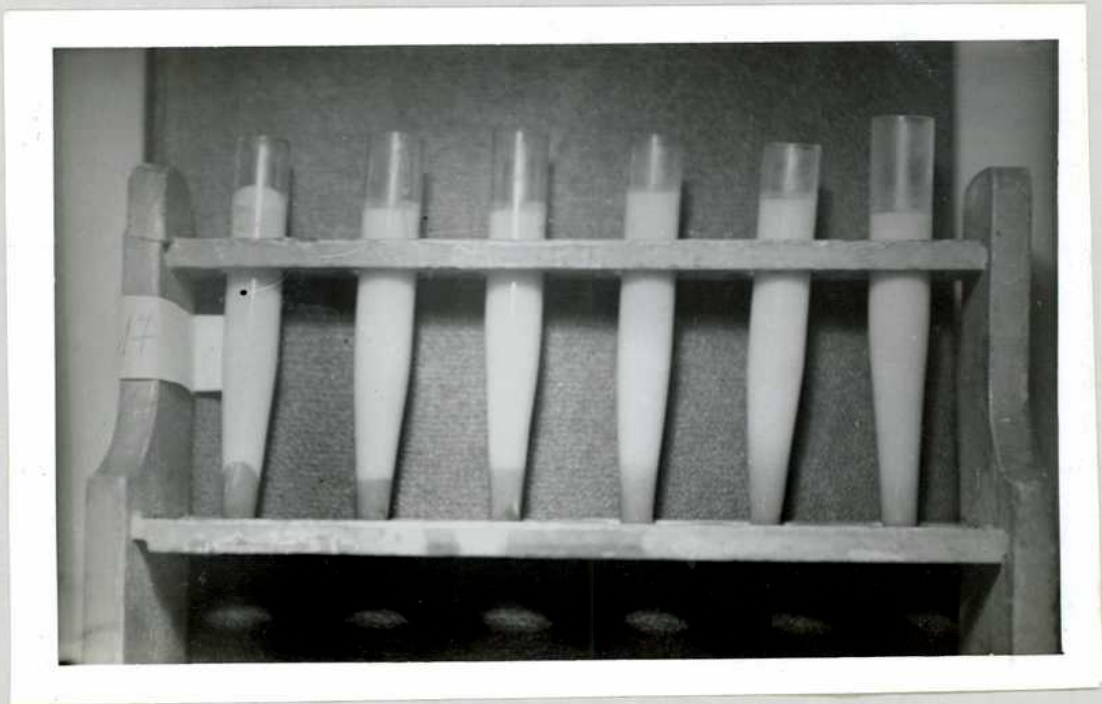
Una vez determinada la acidez esta se redujo a 1,1 g. de ácido láctico por litro, por agregado de la correspondiente cantidad de bicarbonato de sodio. La suspensión de cacao en leche fué preparada como se explicó anteriormente. Se usaron los distintos productos preparados según se describió en un capítulo anterior. Se prepararon con estos soluciones al 0,5% que se diluyeron luego a la concentración necesaria para obtener concentraciones de 0,06 hasta 0,10. El presente cuadro indica la concentración total expresada en gramos de extracto por cada 100 ml. de muestra.

Nº	Suspensión chocolate ml.	Ficocoloide ml.	Agua ml.	Concentración
1	8	1,2	0,8	0,06
2	8	1,4	0,6	0,07
3	8	1,6	0,4	0,08
4	8	1,8	0,2	0,09
5	8	2,0	-	0,10
Blanco	8	-	2,0	-

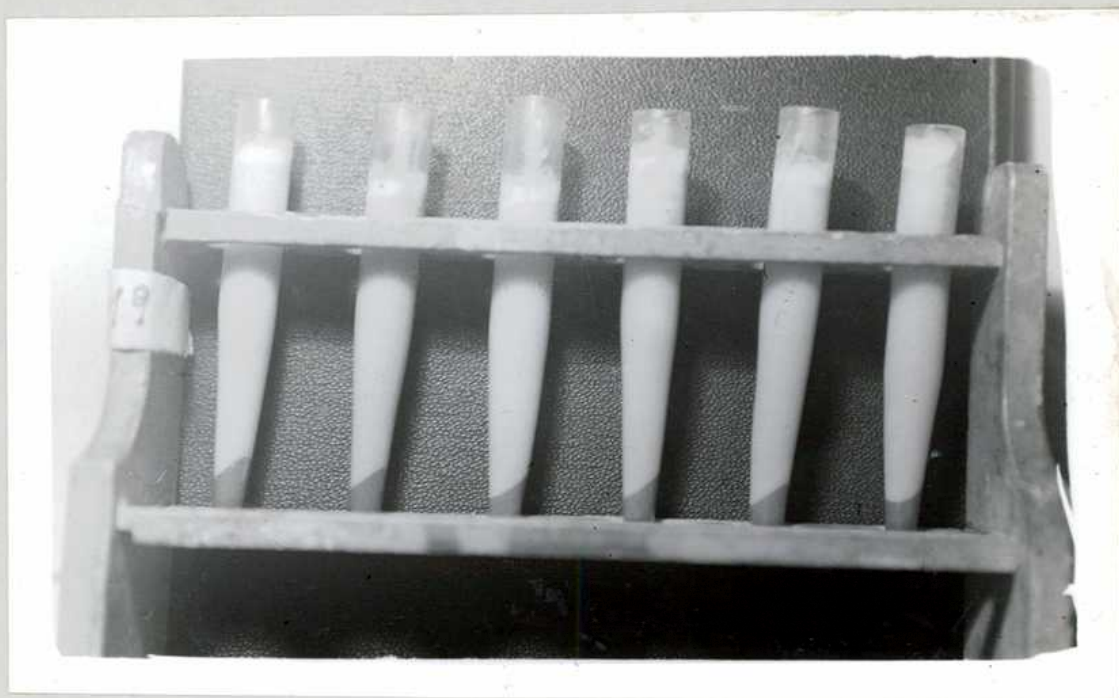
Las fotografías adjuntas demuestran los resultados obtenidos con los distintos productos.

Medida del poder de suspensión del chocolate en leche del
ficocoloide de la Iridea cordata.

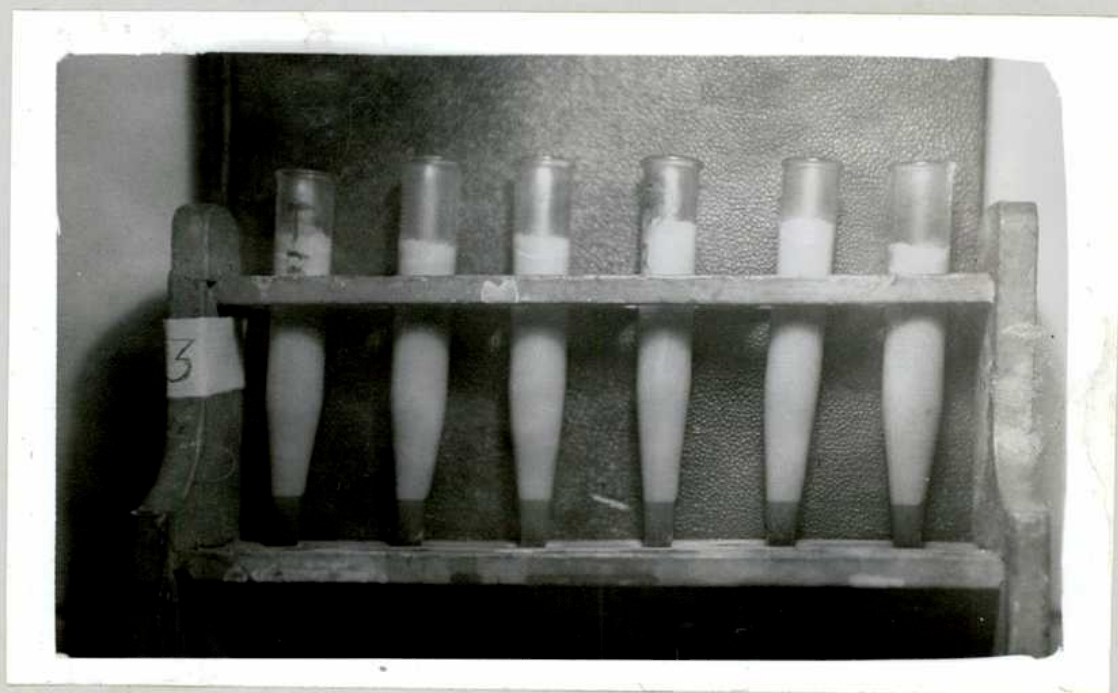
a) Extraída con una solución de ClNa 0,2%.



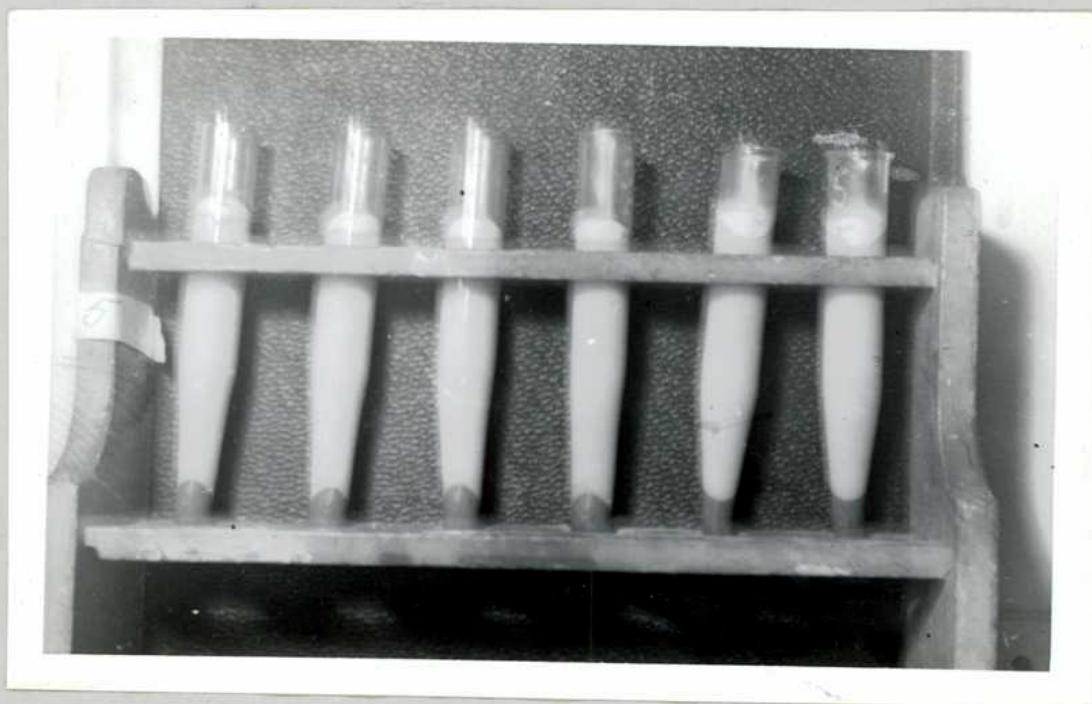
b) Extraída con una solución de ácido acético 0,2%.



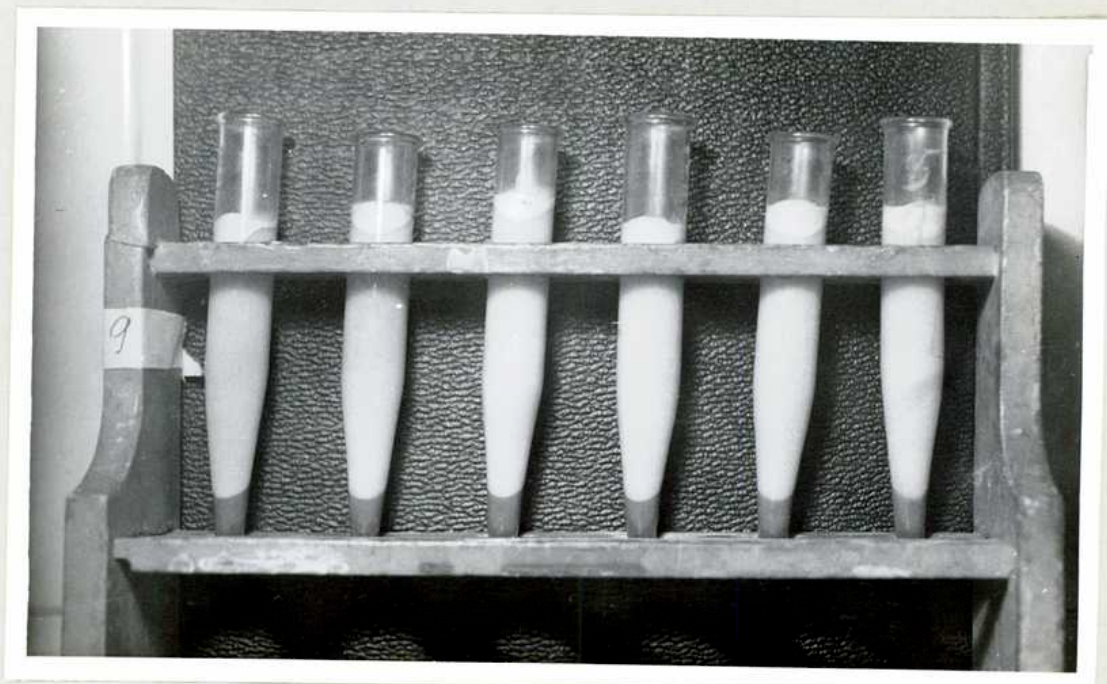
c) Extraída con una solución de ácido acético 0,2% y neutralizada con una solución de CO_3Na_2 al 10%.



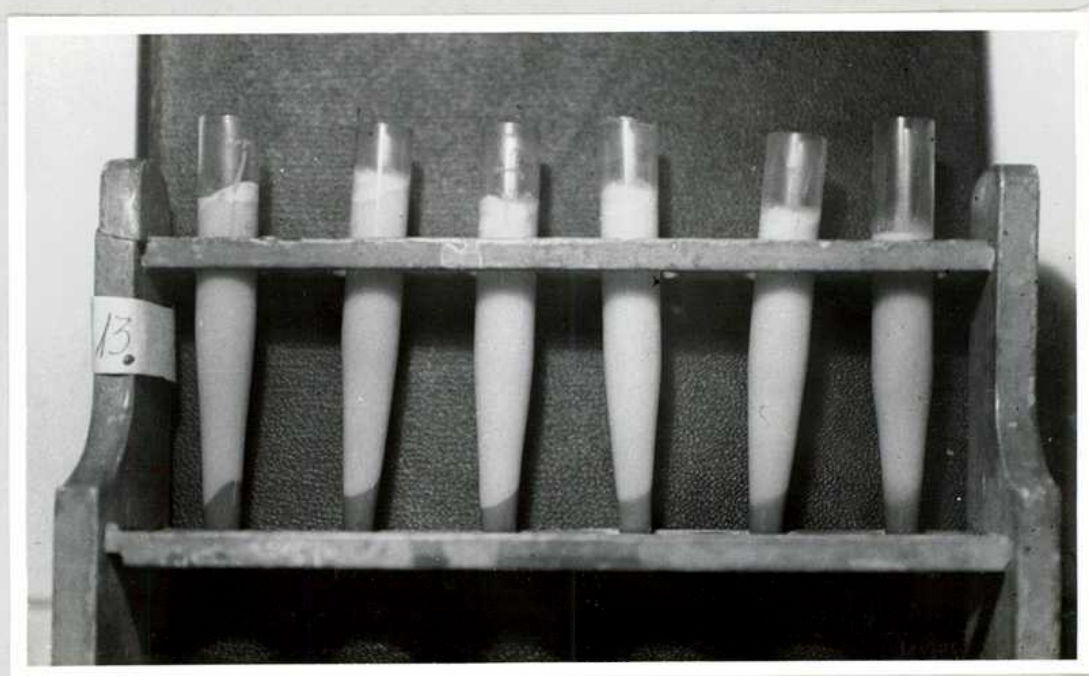
d) Extraída con una solución de ácido acético al 0,2% y neutralizada con solución de CO_3K_2 al 10%.



e) Extraída con una solución de ácido acético al 0,2% y neutralizada con una solución de NH_4OH al 20%.



f) Extraída con una solución de ácido acético al 0,2% y neutralizada con una solución saturada de $\text{Ca}(\text{OH})_2$.



CAPITULO VI

Determinación de cenizas

Se pesó 1 gramo de los distintos productos obtenidos. Se colocó un crisol de porcelana y se carbonizó a baja temperatura porque el material aumenta mucho de tamaño y se corre el riesgo de perderlo. Una vez completada esta etapa se llevó a la mufla a una temperatura entre (550 600°). Después de una hora aproximadamente se saca de la mufla y se humedece con unas gotas de agua. Luego de calentarla suavemente, se llevan nuevamente a la mufla hasta constancia de peso. Se deben obtener cenizas más o menos blancas. Si esto no sucediera, se vuelve a repetir el humedecimiento con unas gotas de agua.

Análisis de las cenizas: Se disolvieron en ClH 1: 5 y se llevaron a volumen en un matraz de 250 ml. Se determinó el porcentaje de las cenizas, el porcentaje de Na^+ , K^+ y Ca^{++} sobre cenizas se determinó por medio del fotómetro de llama (Crudo Caamaño).

////.....

Producto		% de cenizas.	g.% Na ⁺ s/cenizas	g.% K ⁺ s/cenizas	g. % Ca ⁺⁺ sobre cenizas
Extraído	Neutralizado				
ClNa	--	21,63	22,2	10,7	6,4
ác.acético	--	15,60	18,3	7,7	8,6
ác.acético	CO ₃ Na ₂	21,84	26,6	2,3	6,4
ác.acético	CO ₃ K ₂	30,2	4,2	26,5	8,2
ác.acético	NH ₄ OH	11,15	16,1	6,3	8,8
ác.acético	Ca(OH) ₂	17,94	8,8	3,9	23,6

Descripción del fotómetro de llama (Crudo Caamaño)

Las determinaciones de sodio, potasio y calcio en cenizas se hicieron con el fotómetro de llama de los laboratorios Crudo Caamaño y Cía.

A continuación se hace una descripción de las distintas partes que componen este aparato. Con él se pueden determinar los cationes sodio, potasio, calcio y bario.

Su circuito electrónico, simplificado al máximo consta de un amplificador de una sólo válvula (doble triodo), cuya primera sección trabaja como amplificadora fotométrica y la segunda como compensadora en circuito puente.

La otra válvula existente cumple funciones de rectificación.

Las corrientes fotoeléctricas están suministradas por dos foto tubos al alto vacío, de características completamente diferentes entre sí, una de las células fotoeléctricas detecta rangos de ondas desde 6200 \AA hasta 11000 \AA (infrarrojo) y la otra detecta desde 6000 \AA hasta 3000 \AA (ultravioleta).

La selección de los cationes alcalinos sodio y potasio, se hace por simple movimiento de una perilla control, sin necesidad de cambiar filtros y para los alcalinos térreos, calcio y bario se cambian los filtros y la selección se consigue por la misma perilla.

Sistema de llama. Se ha buscado evitar posibles explosiones de la mezcla aire y gas, que aunque no peligrosas, pueden producir desperfectos en los aparatos. El gas se combina en el mechero, con aire atmosférico a presión normal, en la misma forma que los mecheros comunes de laboratorios. La nebulización de la solución a analizar, es adicionada también a presión normal y por medio de una cámara de combinación se suma a la corriente de gas y aire, coloriendo la llama. Otro detalle es el encendido eléctrico, que evita desmontar parte del aparato.

Sistema nebulizador. El sistema nebulizador o atomizador consta de una ampolla con un inyector de aire y un tubo colector de muestra de acero inoxidable de 0,42 mm. de diámetro, colocados a 90° delante de un interceptor entre 0,6 y 0,8 atmósferas. Colocando la cubeta con el testigo o la muestra, sobre la platina del elevador, se acciona sobre la palanca de éste sobre el operador, quedando la cubeta en posición para que el líquido sea absorbido por el tubo de acero. Este, a su vez está montado sobre una pieza metálica rosca-da a la ampolla que facilita su regulación, así como su desmonte para eventuales limpiezas pero la del atomizador y de todo el sistema se consigue nebulizando agua bidestilada 20-30 cc. de vez en cuando. Este diseño de nebulizador es de auto limpieza, porque el paso de un testigo a otro puede hacerse sin pasaje previo de agua debido a que es pequeñísima la superficie de contacto con el líquido, lo cual evita contaminaciones. Su sistema de sifón permite un drenaje au-

tomático, manteniéndolo la presión constante dentro de la ampolla.

Gas. Los fotómetros se preparan para gas de canalización y supergas cambiando únicamente el diámetro del pasaje de gas al mechero.

Aire. Puede emplearse cualquier compresor de los aptos para nebulizaciones que suministren aire hasta una atmósfera de presión y un caudal de 16/18 litros por minuto, así como tubos de aire comprimido si se prefiere. En este caso, debe contarse con un manómetro diferencial. El instrumento lleva un manómetro calibrado en décimo de atmósfera y libras, y debe tenerse cuidado de que las medidas de los testigos y los problemas sean hechos a la misma presión.

Llama. La llama es de pequeña altura y se regula exclusivamente con la llave de entrada de gas. Una ventana en el protector del tubo chimenea permite la apreciación del color de la llama, su altura, fluctuación, etc. Destacamos la importancia de la visión de la llama, como parte del análisis cualitativo, que la práctica aconseja, pues por ejemplo, la presencia de cationes interferentes es rápidamente observada, viéndose el caso de apreciar pequeñísimas cantidades de sodio, potasio, bario, calcio, etc. en aguas aparentemente purísimas, incorporadas en su mayor parte por los recipientes que la contienen.

Filtros. El aparato va munido de cuatro filtros: para sodio, potasio, calcio y bario. Los filtros para sodio y potasio son para lecturas directas, el del calcio y del bario para lecturas indirectas (calcio extraído por precipitación y el bario reducido por sulfatos) de acuerdo a las técnicas correspondientes. Se pueden suministrar otros filtros para litio, estroncio, etc.

Instrucciones para su manejo

- 1) Conéctese a las fuentes de gas, aire y electricidad.
- 2) Póngase la llave general en posición "si".
- 3) Abrase la llave de gas (hasta la mitad y oprímase el botón marcado "encendido". Una resistencia de platino al costado del mechero se pondrá incandescente prendiendo el gas.
- 4) regúlese la llave del gas hasta que la llama llegue aproximadamente hasta la altura de la ventana.
- 5) Conéctese el compresor y regúlese la presión a 0,6 atmósferas.
- 6) Colóquese el filtro correspondiente en la abertura marcada igual que el filtro.
- 7) a) con la perilla selectora de cationes elíjase el que se va a analizar.
b) gírase la perilla marcada "Sensibilidad" hacia el máximo rotada toda hacia la derecha (sentido de las agujas del reloj).
c) colóquese en el elevador una cubeta con agua bi-distilada.

- d) nebulícese y ajústese el cerp del aparato por medio de las perillas de macro y micro ajuste.
- 8) Conseguído este ajuste sustitúyase el agua por la solución y procédase como se indica en las técnicas.

Preparación de soluciones testigo

En el manual de procedimientos, de donde se ha extractado la presente descripción del aparato, se dan técnicas para la determinación de sodio, potasio, calcio y sulfatos en suero y demás líquidos orgánicos dado que el aparato es usado principalmente en análisis clínicos. En el presente trabajo se han usado las soluciones testigo preparados para tal objeto, llevando las soluciones problema a la dilución adecuada para que dieran lecturas en la escala del aparato en puntos de la misma donde haya mayor sensibilidad. Como las cenizas de los distintos ficocoloides estaban en solución clorhídrica se prepararon testigo de la misma concentración que la indicada en la técnica, pero en solución clorhídrica. Se usó también como blanco una solución de ClH 1:5. Todo esto se hizo de acuerdo con las indicaciones del manual para evitar cualquier variación en la lectura, que pudiera resultar de la presencia del ácido. Posteriormente se vió que la solución clorhídrica podía dañar el aparato y dado la gran cantidad de determinaciones a efectuarse, se procedió a neutralizarse las soluciones con el álcali conveniente en cada caso, a fin de evitar interferencias. Luego ~~me~~ citaré en ca da caso particular el álcali usado.

Preparación de soluciones testigo de sodio: Se prepara primeramente una solución madre que contenga 300 mg. por ciento. Para ello se pesan 7,625 gr. de ClNa pro-análisis bien seco y se lleva a 1000 con agua destilada. Luego para usarla como testigo se diluye 1 ml. de la solución madre a 400 con agua bidestilada.

Preparación de soluciones testigos de potasio: Para preparar una solución madre que contenga 20 mg. de K por ciento se pesan 0,381 gr. de ClK pro-análisis bien seco y se lleva a 1000 con agua bidestilada.

Para usar como testigo debe diluirse 1 ml. de la solución madre a 20 ml. con agua bidestilada.

Preparación de solución de testigo de calcio: Se pesan 0,277 gr. de Cl₂Ca pro-análisis bien seco, y se lleva a 1000 ml. con agua bidestilada.

Sugerencias para la preparación de soluciones testigos

Para evitar la posible interferencia de unos cationes sobre otros en la emisión espectral, se sugieren la preparación de la solución testigo única para la investigación de sodio, potasio y calcio en las mismas cantidades de ClK, ClNa y Cl₂Ca que indicadas anteriormente para cada solución aislada.

Determinación de potasio

Procedimiento: Una vez conectado el fotómetro y ajustado el gas y la presión de aire, se espera unos dos minutos para permitir la estabilización del amplificador y colocada la perilla en la posición "K" y el filtro de potasio en su lugar correspondiente se ajusta el cero con agua bidestilada. Se coloca la cubeta con el testigo de potasio, ajustando la deflexión de la aguja a 50 de la escala, por medio de la perilla "Sensibilidad". Obtenida la lectura, se cambia el testigo por la cubeta "problema" y la lectura correspondiente será proporcional al contenido de potasio del testigo.

La solución problema se diluyó de la siguiente manera: Primero se neutralizó con hidróxido de amonio y luego se llevó a volumen de modo que dió una solución 1:20. Como la solución testigo es 1:20 la fórmula a aplicar es:

$$\frac{\text{Lectura del desconocido. 20}}{(\text{Lectura del testigo. 50})} = \text{mg \% de K}$$

Este resultado referido a 100 ml. de solución, se refiere luego a 250 ml. y a 100 mg. de muestra de cenizas, expresándose el resultado final en g de ertión K por 100 g de cenizas.

Determinación de sodio

Procedimiento: Preparado el instrumento como se indicó para el método anterior y colocados, la perilla en posición "Na" y el filtro de sodio en el lugar corres-

pondiente, llevar el aparato a cero con agua bidestilada, Colocar el testigo de sodio y ajustar la aguja en 50 de la escala. Sustituir el testigo por el problema y efectuar la lectura.

La solución problema fué neutralizada con hidróxido de amonio igual que para la determinación de potasio y luego se llevó a volúmen en la misma forma (1:20). Como la solución testigo de sodio, se había diluído 1:400 y la solución madre contenía 300 mg. de sodio por ciento, la concentración de esta solución es de 0,75 mg% de Na ml de solución. Luego se aplicó la siguiente fórmula:

$$\frac{0,75. \text{ Lectura del desconocido}}{50. \text{ Lectura del testigo}} = \text{mg de Na \% ml de solución.}$$

Este resultado se multiplicó por 20, dilución de la muestra y se refirió luego a 250 ml. de solución y a 100 g de cenizas igual que en el caso anterior.

Determinación de calcio

Procedimiento: Esta medida no se hace directamente, es necesario precipitar el calcio de los líquidos a analizar, por medio de oxalato de amonio-ácido oxálico, pues estas sales no interfieren en la llama.

El calcio es precipitado con una mezcla de ácido oxálico-oxalato de amonio que tiene un ph tal que actúa como buffer, evitando si hay Mg en la muestra, la precipitación del mismo.

La mezcla se centrifuga, el líquido sobrenadante se desecha y el precipitado es entonces disuelto en ácido perclórico suficientemente concentrado para disolverlo, pero no tanto que haga bajar las lecturas del calcio.

Esta solución se usa entonces para nebulizarla en el fotómetro de llama.

Reactivos

Oxalato de amonio-ácido oxálico ph 5

Se prepara con 10 ml. de ácido oxálico molar 0,1 y 190 ml. con agua bidestilada.

Acido perclórico aproximadamente 0,005 N

Se prepara con 0,83 ml. de ácido perclórico al 60% llevado a 100 ml. con agua bidestilada.

PROCedimiento

Se pipetea 4 ml. de muestra en un tubo de centrifuga y se agregan 6 ml. de la mezcla oxalato de amonio-ácido oxálico. El contenido se mezcla bien y se deja reposar 30 minutos. Al mismo tiempo se prepara el testigo tratando 4 ml. de la solución de cloruro de calcio (conteniendo 10 mg de Ca por l) con 6 ml. de la solución precipitante. Los tubos son centrifugados 10 minutos a una velocidad de por lo menos 2500 rpm. El líquido sobrenadante se decanta y el tubo se escurre sobre papel de filtro.

Se aconseja agregar 4 ml. de la solución precipitante, mezclar y volver a centrifugar durante 10 minutos y escurrir a efectos de eliminar la mayor cantidad posible de sodio presente. Agregar 2 ml. de ácido perclórico 0,05 N.

Cerrar los tubos con tapón de goma, calentar suavemente y sacudir vigorosamente durante 10 segundos. El contenido del testigo y el del problema se transfiere a dos cubetas del aparato. Una tercera se llena con agua bidestilada. El fotómetro de llama se lleva a cero con el filtro para calcio, que puede ser el mismo que el empleado para sodio, y con la solución testigo se lleva a 50 EN LA escala. Se coloca la solución problema y se toma nota de la lectura obtenida. La solución problema se preparó de la siguiente manera: Se neutralizó previamente con HOK al 40% y se llevó a volumen de modo que quedara una dilución 1:2,5. Se sometió luego a la técnica indicada anteriormente. Para el cálculo se usó la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Lectura del desconocido. 10}}{\text{(concentración del testigo)}} = \text{mg \% ml de Ca}$$

Lectura del testigo. 50

el resultado se multiplicó por el factor de dilución 2,5 y se refirió luego a 250 ml. de solución y a 100 gramos de cenizas, como para la determinación de sodio y potasio.

Nota: En el presente trabajo se utilizó el filtro especial

para calcio, su uso es debido a que se observó que en las muestras de cenizas investigadas había suficiente sodio como para interferir ópticamente, como sucedería si se utiliza el filtro anterior. Además al usar éste filtro se evita el lavado del calcio precipitado que se realiza para eliminar el sodio presente, que podría provocar una pérdida mecánica del precipitado al efectuar el escurrimiento del líquido después de centrifugar.

a) Ensayos de gelificación

Se preparó una solución al 2% con cada uno de los productos obtenidos. No gelifican.

b) Ensayos de ph y viscosidad

1) Se preparó una solución al 1,5% del producto extraído con ClNa, se llevó con agua y ácido acético al 1%. Se determinó ph y viscosidad.

Irido- fici- na. 1% ml.	ácido acético 10% ml.	Agua ml.	Temp. °C	ph	Tpo. esc. seg.	Densidad g/cm ³ .	Visco- sidad cp.
20	0,6	9,4	20	3,73	57,1	1,0174	344,07
20	-	10,0	20	7,3	44,7	1,0218	270,52

2) Se preparó una solución al 1,5% de iridoficina, extraída con ácido acético y neutralizado con una solución de CO_3Na_2 al 10%, se llevó al 1% con agua, se determinó ph y viscosidad.

Temp. °C	ph	Tiempo de escurr.en seg.	densidad g/cm ³ .	viscosidad cp.
20	10,5	6,4	1,0018	7,42
Se neutralizó con ácido acético al 10% y se determinó visc.				
20	7,23	5,8	1,0023	6,73

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

- 1) Se ha estudiado un nuevo procedimiento para la obtención de "sales" del ficocoloide de la *Iridea cordata*.
 - 2) Los análisis de cationes de las cenizas, revelan que hay un reemplazo efectivo del sodio por el catión utilizado.
 - 3) Los productos resultantes tienen menor viscosidad que los obtenidos por el método de extracción con ClNa 2%.
Ello no puede atribuirse al reemplazo de los cationes, aunque se nota sin embargo una influencia debida a la naturaleza de los mismos.
 - 4) Es evidente que hay una desnaturalización del ficocoloide producida por el calentamiento en presencia de ácido acético, lo cual ocurre a temperatura inferior, que cuando la extracción se efectúa con solución de ClNa al 2%.
 - 5) Los ensayos sobre poder de suspensión de cacao en leche, parecen confirmar estas presunciones, ya que comparativamente al producto obtenido con ClNa, todas las "sales" tienen un poder de suspensión muy bajo o nulo.
-

B I B L I O G R A F I A

- 1) Torcat Juan - Estudio y aplicaciones del ficocoloide de la *Irídea cordata* Tesis (1955).
- 2) Alexander - "Colloid Chemistry. New York Reinhold. Publ. Co. Tomo VI pág. 660-696-686. (1946).
- 3) M.R. Butler. Algunas propiedades del polisacárido complejo extraído del *Chondrus Crispus*. Biochemical J. 28-759(1934)
- 4) Luzzatti Mario. Extracción del ficocoloide de la *Irídea cordata*. Tesis (1953)
- 5) Barón Máximo. Estudio de la constitución del ficocoloide de la *Irídea cordata*. Tesis (1953).
- 6) Haas P. y Hill T.G. Acerca del carrageen Ann Applied Biol 7-352 (1920).
- 7) Young y Rice. El ácido 2-cetoglucónico en el polisacárido del Irish Moss J. Biol. Chem. 164-35 (1946).
- 8) Rose R.C. Canadian Journal of Research 28 F 91950).
- 9) Russell Wells. Constitución de la pared celular del *Chondrus Crispus* Biochemical J. 16-578 (1922).
- 10) 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).
- 11) Mori y Tutiya. Estudio de mucílagos de Rhodophyceas. J. of the Agric. Chem. Soc. Japan 14- 164 (1938).
- 12) Godston John. Scaplant. Extractiva recovered by new technics. Food Industries. June 1949-pág. 50.

- 13) Alexander J. Obra citada pág. 686.
- 14) Rose R.C. Can. J. Research 28 F -202-12 (1950)
- 15) Kruyt H.R. "Colloid Science" New York, Elsiwier Publ. Co. 1949 pág 225
- 16) Haas. Biochem J. 15- 469. (1921)
- 17) Steinitz Samuel. Estudio del método de obtención y determinación del ficocoloide de la Irídea cordata. Tesis (1955).
- 18) Hassid. Extracción de un éster sulfúrico de galactano (L) J. Am. Chem. Soc. 55-4163 (1933).
- 19) Butler. Acerca del nitrógeno de la Carragenina Bioch. J. 29-1025 (1935).
- 20) Wise. Wood. Chemistry. Ed. 1946 pág. 611-24.
- 21) Fernandez y Galloni- Segunda edición 1951- pág. 148.
- 22) Hodgman. Handbook of chemistry and Physics 38 edición pág. 2042.
- 23) Buchman Percival y Percival. Estructura del polisacárido del Chondrus Crispus. J. Chemical Society (Londres) 51-4 (1943).
- 24) Young y Rice. J. Biol Chem. 156 - 781 (1944).
- 25) Rose y Coke. El poder de suspensión y la viscosidad de la carragenina. Canadian Journal of Research. 27. F- 323 (1949).
- 26) Rice F.A.H. Un método para medir poder estabilizante de la carragenina. Canadian Journal of Research 24 b- 20 (1946).

delgado y prontos

Poracuesalibus

I N D I C E

	<u>Página</u>
Introducción	1
<u>CAPITULO I</u>	
Descripción del alga utilizada.....	2
Métodos descriptos en la literatura	2
a) Método de extracción directa	4
1) Método de Haas y Hill	4
2) Método de Young y Rice	6
3) Método de Rose	6
Efecto de cationes sales y calentamiento en la extracción de la carragenina	8
b) Métodos de extracción con precipitación ...	9
1) Método de M.R.Butler	10
2) Método de Pfister	10
3) Método de Rice	11
4) Método de Mori y Tutiya	12
c) Método de extracción industrial de la carra genina	13
d) Métodos de extracción del ficocoloide de la Iridea cordata	16
Obtención de "sales" de la iridoficina	23
<u>CAPITULO II</u>	
Descripción del ficocoloide de la Iridea corda ta	26

CAPITULO III

Influencia de la concentración del ácido acético y ácido sulfúrico sobre la viscosidad de la solución de iridoficina 29

Método de extracción del ficocoloide y obtención de sus sales 32

CAPITULO IV

Determinación de densidades y viscosidades .. 34

CAPITULO V

Poder de suspensión 35

Medida del poder de suspensión de chocolate en leche 38

CAPITULO VI

Determinación de cenizas 48

Análisis de las cenizas 49

Descripción del fotómetro de llama (Crudo Caa maño) 50

Preparación de soluciones testigo 54

Determinación de potasio 56

Determinación de sodio 56

Determinación de calcio 57

a) Ensayos de gelificación 61

b) Ensayos de ph y viscosidad 61

Conclusiones 62

Bibliografía 63

Indice



UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Resumen de tesis: presentado por: DORA TERESA BLUDAU, para optar al título de Doctora en Ciencias Químicas.

T e m a : "Estudio de un nuevo método de obtención de derivados del ficocoloide de la Iridea cordata".

Introducción:

Los resultados realizados por Torcat, quien estudió el reemplazo de cationes en el ficocoloide de la Iridea cordata y las características de los productos obtenidos; y observaciones realizadas sobre la influencia en la viscosidad de las soluciones de iridoficina, de pequeñas cantidades de ácidos, impulsaron la idea de modificar el método de extracción de este producto y el de obtención de sus "sales".

CAPITULO I

Descripción del alga utilizada

La Iridea cordata es una Rhodophyceae (alga roja) abundante en nuestro litoral patagónico que crece adherida a las rocas mediante un pedúnculo corto, que sostiene una hoja de bordes ondulados y de color rojo intenso a menudo con granulaciones en relieve en tono más oscuro.

Métodos descriptos en la literatura

Consta de una descripción de los métodos de extracción hallados en la literatura hasta el presente y especialmente

Resumen : 1007

el método de extracción del ficocoloide de la *Iridea Cordata* puesto a punto por Steinitz; que usó como medio de extracción ClNa al 2%.

CAPITULO II

Descripción del ficocoloide de la *Iridea cordata*

De las determinaciones efectuadas se deduce que se trata de un sulfato etéreo de un polímero de la galactosa parcialmente salificado con sodio y potasio.

CAPITULO III

Parte experimental

Influencia de la concentración de ácido acético y ácido sulfúrico sobre la viscosidad de las soluciones de iridoficina: Se efectuó una extracción del ficocoloide de la *Iridea cordata* con ClNa al 0,2%, siguiendo la técnica de Steinitz, el producto obtenido se dejó durante 48 horas en un desecador con anhídrido fosfórico porque es muy higroscópico.

Se preparó una solución de iridoficina al 1% y se la trató con concentraciones variables de ácido acético y ácido sulfúrico. Se determinó la densidad y viscosidad de cada una de las soluciones obtenidas. Se observó que la viscosidad disminuye a medida que la concentración de los ácidos aumenta.

Como resultado de estos ensayos se adoptó como nuevo medio de extracción el ácido acético al 0,2%; se desechó el uso del ácido sulfúrico por el peligro de la hidrólisis.

Método de extracción del ficocoloide y obtención de sus "sales"

Las hojas del alga se cortaron en pequeños trozos, se realizó la extracción con ácido acético al 0,2%, a 70° durante una hora con agitación continua. Se filtró, el extracto obtenido se neutralizó con ayuda del potenciómetro.

El extracto se concentró a Baño María, se precipitó luego con dos veces y media su volúmen con alcohol isopropílico. El producto obtenido se secó a estufa de 55°.

Se realizaron cinco extracciones con ácido acético al 0,2%.

La primera extracción no se neutralizó.

La segunda extracción se neutralizó con una solución de
 CO_3Na_2 al 10%

La tercera extracción se neutralizó con una solución de
 CO_3K_2 al 10%

La cuarta extracción se neutralizó con una solución de
 NH_4OH al 20%

La quinta extracción se neutralizó con una solución de
 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ saturada

CAPITULO IV

Determinaciones de densidades y viscosidades.

Estas determinaciones se hicieron sobre soluciones al 1% de iridoficina previamente secada en desecador durante 48 horas con anhídrido fosfórico.

La densidad se determinó por el método del pignómetro y las viscosidades con dos viscosímetros de Ostwald de

distinto calibre, calibrados con una solución acuosa de sacarosa al 60% (En peso) a las temperaturas de 15°C y 20°C.

Se sometieron a estas determinaciones al producto extraído con ClNa al 0,2% y a los productos extraídos con ácido acético al 0,2%.

Se comprobó que las densidades y viscosidades son menores que el producto obtenido por extracción con ClNa al 0,2%.

Producto		Temp.	Tiempo de escurrimiento	Densidad	Viscosidad
Extraído	neutralizado	°C			
			seg.	g/cm ³	cp
ClNa	—	20	55,8	1,0026	64,8
ácido acético	—	20	1,8	1,0021	2,0
ácido acético	CO ₃ Na ₂	20	12,8	1,0022	14,8
ácido acético	CO ₃ K ₂	20	5,86	1,0018	6,8
ácido acético	NH ₄ OH	20	15,8	1,0024	18,3
ácido acético	Ca(OH) ₂	20	14,6	1,0025	16,9

CAPITULO V

Poder de suspensión: Se define como el grado hasta el cual una muestra de un material a una concentración dada impide la sedimentación.

En el presente trabajo se estudió el poder de suspensión del oxalato de calcio por medio del ficocoloide obte-

nido por extracción con ácido acético y neutralizado con carbonato de sodio, a partir de la concentración 0,02 hasta 0,10 por ciento. Como se obtuvo resultados dispares se descartó este método.

Medida del poder de suspensión del chocolate en leche

Se refiere a los miligramos de extracto seco de ficocoloide o sus sales requeridos para mantener en suspensión una cantidad definida de chocolate en una cantidad dada de leche. Se realizó el estudio sobre concentraciones de 0,06 hasta 0,10% de cada uno de los productos obtenidos, que comparado con el extraído con ClNa, todas las "sales" presentan un poder de suspensión bajo o nulo.

Los resultados se pueden observar mediante las fotografías que acompaña el presente trabajo.

CAPITULO VI

Se determinó el porcentaje de cenizas de los productos obtenidos; luego se procedió al análisis de estas cenizas, para ello se determinó el porcentaje de los cationes sodio, potasio y calcio sobre cenizas.

Estas se realizaron con el fotómetro de llama de los laboratorios Crudo Caamaño y Cía.

En el presente trabajo se hace una descripción detallada del aparato, modo de usarlo, preparación de las soluciones testigos que fueron especialmente adaptados a este trabajo debido que el aparato es usado principalmente en análisis

sis clínicos.

De este análisis se reveló que hay un reemplazo efectivo del sodio por el catión utilizado.

Extraída	Neutralizada	% de cenizas	g% Na ⁺ sobre cenizas	g% K ⁺ sobre cenizas	g% Ca ⁺⁺ sobre cenizas
ClNa	---	21,63	22,2	10,7	6,4
ác. acético	---	15,60	18,3	7,7	8,6
ác. acético	CO ₃ Na ₂	21,84	26,6	2,3	6,4
ác. acético	CO ₃ K ₂	30,2	4,2	26,5	8,2
ác. acético	NH ₄ OH	11,15	16,1	6,3	8,8
ác. acético	Ca(OH) ₂	17,94	8,8	3,9	23,6

Ensayos de gelificación

Se preparó una solución al 2% con cada uno de los productos, dando resultado negativo.

Conclusiones

- 1) Se ha estudiado un nuevo procedimiento para la obtención de "sales" del ficocoloide de la *Iridea cordata*.
- 2) Los análisis de cationes de las cenizas, revelan que hay un reemplazo efectivo del sodio por el catión utilizado.
- 3) Los productos resultantes tienen menor viscosidad que los obtenidos por el método de extracción con ClNa a 1 0,2%.

Ello no puede atribuirse al reemplazo de los cationes, aunque se nota sin embargo una influencia debida a la naturaleza de los mismos.

- 4) Es evidente que hay una desnaturalización del ficocoloide producida por el calentamiento en presencia de ácido acético, lo cual ocurre a temperatura inferior que cuando la extracción se efectúa con solución de ClNa al 0,2%.
- 5) Los ensayos sobre poder de suspensión de cacao en leche, confirman estas presunciones, ya que comparativamente al producto obtenido con ClNa, todas las "sales" tienen un poder de suspensión muy bajo o nulo.

Bibliografía.

Indice.

Adolfo L. Montes

Dona Teresa de la Cruz