

EXTRACCION DE CARBOHIDRATOS (ácido algínico) DE LA ESPECIE GRATEOLOPIA DORYPHORA (ALGAS PARDAS- ANCON -PERU)

Otilia Acha de la Cruz

Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería

RESUMEN

De las hojas y raíces de la especie Grateoloupia Doryphora fueron extraídas separadamente el manitol cristalino y dos ácidos oligurónicos, ambas extracciones se hicieron en etanol. Los "fucans" estuvieron presentes en todas las extracciones secuenciales acuosas ácidos y básicas. Cada tipo de "fucan" contenía proporciones variantes de fucosa (mayor porcentaje), galactosa, manosa, xilosa, ácido glucurónico, sulfatos y pequeñas proporciones de proteínas.

Los alginatos se extrajeron directamente en medio alcalino, la diferencia de las extracciones secuenciales en ambas partes de la planta fue la mayor cantidad de ácido gulurónico presente en el ácido algínico extraído en las raíces de la planta.

ABSTRACT

Stipes and frond were extracted separately. Crystalline manitol and two oliguronic acids were separated from the ethanolic extracts of both parts of the algae. Fucans were presents in all the sequential aqueous, acidic and alkaline extracts. Each of the fucans contained varying proportions of fucose (major), galactose, mannose, and glucuronic acid, half ester sulfate and small proportions of protein. Alginates (alginate acid) were present in the sequential and direct alkaline extracts. The only significant differences were the higher proportion of glucuronic acid in the alginate acid from the stipes.

INTRODUCCION

La mayoría de las investigaciones químicas en carbohidratos han sido llevadas a cabo en algas pardas.

El mar peruano cuenta con un potencial algológico elevado, de algas pardas, las cuales tienen mayor importancia económica, porque se destinan principalmente a la producción de ácido algínico.

El presente trabajo tuvo como finalidad realizar un estudio experimental sobre la extracción del ácido algínico y alginato de sodio en algas pardas (PHAEOPHYTA), orden LAMINARIALES, de la especie GRATEOLOPIA DORYPHORA de la zona de Ancón.

El estudio se hizo en la planta completa (raíces, hojas y tallos).

Se ha demostrado que en los alginatos de ácidos "Grateoloupia Doryphora", hay residuos de ácido gulurónico los cuales se incrementan desde la raíz

a las hojas, también se ha encontrado laminarina y ácidos oligurónicos [1]

Algina es un término de referencia para el ácido algínico y sus derivados de sodio, amonio, potasio, propilenglicol, etc. Se presenta en casi todas las algas pardas como principal constituyente de su pared celular [2]

Las alginas se extraen por medio de un álcali, y luego de blanquearlas se precipitan, filtran, coagulan, neutralizan, deshidratan y muelen, sus propiedades varían según la materia prima y método del proceso de extracción.

En el mercado se conoce como grado refinado (para alimentos) y técnico (comercial), la algina refinada está libre de celulosa, los cuales se eliminan por filtración y el producto es blanqueado y purificado, en cambio, la algina comercial contiene celulosa y no se blanquea (es un proceso costoso y difícil [3])

Una de las cualidades más sobresalientes de la algina es su alta capacidad de absorción de agua, cualidad que la convierte en uno de los productos más utilizados por numerosas industrias que requieren de agentes espesantes, estabilizante, emulsificante de suspensión y que formen un gel o película coloidal [4]

El ácido algínico por otro lado tiene una alta capacidad de reacción. Puede ser mezclado con álcalis, amonio, aminas y bases orgánicas formando sales solubles en agua como alginatos de amonio, fierro, litio, magnesio, potasio, sodio o sales insolubles en agua como; alginatos de aluminio, cobre, níquel, plata, zinc [5]

Los más importantes son los alginatos de sodio, potasio, amonio y calcio, su empleo es alto y variado en diferentes Industrias; Industria alimentaria, Farmacológica y otros [6]

PARTE EXPERIMENTAL

Para tener una idea del porcentaje de carbohidratos y otros constituyentes en la planta, se realizaron varios análisis químicos previos, a fin de realizar un buen proceso de extracción de las alginas.

Los análisis químicos de; calcio, magnesio, sodio y potasio se realizaron por el método de absorción atómica, el nitrógeno, sulfato, carbohidratos, materia insoluble, y sílice se determinaron por métodos clásicos, los halógenos se determinaron con electrodos selectivos.

1.- ANALISIS QUIMICO DE LAS ALGAS

La muestra investigada fué recolectada en las costas de Ancón en los meses de junio-setiembre de 1995, después de una limpieza y secado correcto (se colocó sobre papeles, protegido directamente del sol con un techo de calamina y en forma natural después de 07 días se secó totalmente), fué finamente pulverizada (malla 75 μ m). Se tomó 150 mg y se hizo un análisis químico previo para determinar el contenido de carbohidratos y minerales en la planta completa cuyos resultados se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Análisis Químico en GRATEOLOUPIA DORYPHORA (polvo fino)

CONSTITUYENTE	PORCENTAJE (%)
Nitrógeno	14.88
Sulfatos	13.52
Calcio	1.41
Magnesio	0.82
Sodio	0.16
Potasio	0.03
Yodo	0.94
Cloruros	0.12
Fósforo	0.20
Carbohidratos	59.99
materia insoluble	1.50
Sílice	0.25
Cenizas	16.42

2.- EXTRACCION ACUOSA DE ALGAS CARBOHIDRATOS

Para la extracción de carbohidratos, se tomó 250 g de alga seca finamente pulverizada y se sometió a un proceso de extracción (raíces y hojas en forma separada) en medio acuoso, en diferentes temperaturas frío y caliente.

También se hizo una tercera extracción (250g de alga) con 80 % de etanol, en donde se tomó la mitad del extracto etanólico para hacer los estudios del contenido de manitol, laminarina y ácidos urónicos (comúnmente se encuentran con el ácido algínico) y en la otra mitad, se hizo un tratamiento con 100 ml de HCHO acuosa (30%), el material residual separado fué extraído secuencialmente con 2% de CaCl_2 , acidificado con HCl 2N hasta pH =2 (llevado en un proceso frío y luego calentando hasta 70 °C), finalmente fué tratado con Na_2CO_3 aq.(50%). El ácido algínico del extracto alcalino fue separado de acuerdo al siguiente método GLOAHEC-HERTER [7], el cual comprende las siguientes etapas:

- Extracción; Se añadió a la muestra lixiviada una solución de Na_2CO_3 al 4% en relación 3 a 1 con

respecto al peso de alga húmeda, se calentó durante 1h, 30 min. a temperatura de 60°C, y se hizo la centrifugación.

- b) **Clarificación;** La solución que contenía la alga impura (celulosa y otras impurezas) se diluyó con agua en proporción 3 a 7, agitando hasta formar una suspensión homogénea. Se procedió a centrifugar la celulosa del alga.
- c) **Blanqueado;** A la solución en caliente se añadió 0.5g de carbón activado, calentado durante 10 min a una temperatura de 60°C, luego se filtró.
También se hizo otro proceso de blanqueo en forma paralela con hipoclorito de sodio, pero los resultados fueron negativos porque el ácido algínico se solubilizó.
- d) **Precipitación.** A la solución que contenía el alginato de sodio se añadió HCl al 10% hasta obtener un pH = 2, se precipitó el ácido algínico, posteriormente realizó una filtración al vacío, un lavado con alcohol etílico, y finalmente un secado a 40°C, y se determinó un rendimiento de (% de rendimiento = $(29.56/125) \times 100$) 23.65%.
- e) **Obtención del alginato de sodio.** Al producto obtenido se agregó 50 ml de agua y luego 20 ml de Na₂CO₃ al 4% hasta tener un pH neutro y convertir el ácido algínico en alginato de sodio; el cual se secó en la estufa a una temperatura de 60°C durante 5 horas.

3. INVESTIGACION EN LOS EXTRACTOS ACUOSOS

Cada uno de los extractos acuosos (raíces y tallos separados) fueron dializados y sometidos a un proceso de concentración, obteniéndose sustancias de aspecto jarabe, los cuales fueron hidrolizados en medio ácido (pH = 3), luego se tomaron alícuotas (50 mg) y fueron esterificados con 50 ml de HCl-MeOH al 3%. Los derivados esterificados fueron reducidos con hidrogeno nascente, procedente de la

reacción; HCl-Zn, secuencialmente se hizo la caracterización de los ácidos urónicos con m - hidroxilbifenil (en un tubo de ensayo se tomó 5 ml de la muestra y se agregó gotas del reactivo m-hidroxilbifenil al 2%, hasta observar coloración amarillenta). En los extractos acuosos en frío y en caliente se hicieron los análisis químicos; las proteínas se determinaron por método Kjeldahl, los sulfatos por método gravimétrico, los carbohidratos se determinaron por el método de oxidación directa con ácido periódico, los ácidos urónicos se determinaron por el método espectrofotométrico. Cuyos resultados se encuentran en la tabla 2.

Tabla 2. ANALISIS EN EL EXTRACTO ACUOSO DE ALGAS

Ms	Carb. a. urón (%)	sulfato (%)	prot. (%)	peso (%)
A	46	18	09	6.8
B	18	05	06	4.2
C	58	17	10	11.1
D	59	15	12	11.3

Ms muestra

raíces extraídas en frío = A

hojas extraídas en frío = B

raíces extraídas en calor = C

hojas extraídas en calor = D

4. ANALISIS FISICO-QUIMICO DEL ACIDO ALGINICO (obtenido de las hojas)

A continuación se indican los ensayos físico-químicos que se hicieron en la muestra de ácido algínico, extraídos de las hojas, respecto a la humedad se debe tener especial cuidado porque es muy higroscópico, en soluciones acuosas de 1 % muestra un pH neutro y es muy viscoso, el color ligeramente verdusco se

debe a que no hubo decoloración total, respecto al tamaño de las partículas el tamaño mayoritario es 10 mesh.

- a) Humedad = 10.21 %, en condiciones nor-males el ácido algínico es muy higroscópico
- b) pH de la solución acuosa (1 %) = 9.0
- c) Viscosidad de la solución acuosa al 1% en peso = 23.4 cps
- d) Color: Blanco verdusco.
- d) Solubilidad = es insoluble en alcohol, éter, glicerol y agua fría y poco soluble en agua hirviendo.
- f) Actividad óptica = tiene un poder rotatorio de 132.6°
- g) Equivalente de neutralización = 176.
- h) Tamaño mayoritario de las partículas = 10 mesh.

El ácido algínico obtenido de las raíces, cumple con las características similares, excepto con la viscosidad (tiene un valor muy bajo, es de 5.37 cps).

5. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL ÁCIDO ALGÍNICO Y ALGINATOS

Se observaron varias propiedades físicas y químicas del ácido algínico y de sus sales (alginatos), las cuales son muy usadas en la industria alimenticia, entre las propiedades más importantes son:

- a) El ácido algínico; cuando está húmedo absorbe varias veces su peso en agua, si se seca, se endurece mucho, se vuelve córneo y resistente a los disolventes, no reduce la solución de Fehling, pero forma rápidamente sustancias reductoras cuando se seca a 100° C o se hierva con ácido diluido (HCl 2 N).
- b) El ácido algínico es un ácido débil, pero su constante de disociación es suficiente para desprender dióxido de carbono de las soluciones de carbonatos, el ácido algínico puede ser titulado con álcali (NaOH 2N) usando como indicador fenolftaleína.
- c) Las sales de ácido algínico con metales alcalinos, amonio, magnesio

y aminos inferiores son hidrosolubles. Otros alginatos son insolubles en agua. Los alginatos solubles son coloides muy hidrófilos que forman soluciones sumamente viscosas a baja concentración. Por ejemplo la solución 1% de alginato sódico, puede tener la viscosidad aproximada de 1000 centipoises a 17°C. La viscosidad de las soluciones de algina varía mucho según el método de preparación.

- d) El pH del alginato de sodio dió una medida aproximada de 7.8; en la industria conviene emplear algina con intervalo de pH de 4 a 10. Cuando el pH es menor de 4, el ácido algínico tiende a precipitarse, y si pasa de 10 pierde rápidamente su viscosidad y tiende a volverse inestable. El aumento de la temperatura reduce la viscosidad de las soluciones de algina.
- e) Efecto de la temperatura en el rendimiento; el efecto de la temperatura en el proceso de extracción del ácido algínico afecta sobre el rendimiento, en la tabla 3, se muestran los resultados a diferentes variaciones de temperatura, siendo aparentemente el más óptimo la extracción a 70 °C, en donde se obtuvo un rendimiento de 15.5 %, pero hay algunas observaciones.

Tabla 3. Rendimiento en ácido algínico con proceso de extracción a diferentes temperaturas.

alga	temp. (°C)	% ácido algínico
R	70.0	15.5
H	70.0	15.8
R	60.0	13.0
H	60.0	13.2
R	50.0	13.3
H	50.0	13.5

OBSERVACIONES

e1) De la tabla anterior se estableció que la temperatura óptima de extracción es 60°C, por las siguientes razones:

La temperatura tiene influencia sobre la viscosidad de los alginatos, porque a una temperatura 70°C se observó disminución de la viscosidad, considerando que por cada grado de aumento de la temperatura, disminuyó en 2.5% la viscosidad del producto (siendo la viscosidad irreversible).

e2) En cuanto a las características del producto final se puede apreciar que a 60°C el color de la solución de extracción y del producto es pardo bajo mientras que a mayor temperatura presenta un color pardo oscuro (el ácido algínico tiende a hidrolizarse).

e3) El hipoclorito de sodio como blanqueador tiene una influencia negativa en el rendimiento del producto, puesto que el ácido algínico se solubiliza. Se asume ésta afirmación por los resultados obtenidos en los experimentos al blanquear con hipoclorito de sodio.

RESULTADOS Y DICUSION

Analizando los resultados de la tabla 1, se observa que los constituyentes mayoritarios son los carbohidratos, por lo que se recomienda hacer una extracción industrial del ácido algínico a partir de esta especie, respecto a los otros constituyentes (materia residual), por el contenido de nitrógeno (14.88%), sulfatos (13.52%) y minerales puede servir para la elaboración de fertilizantes mezclado con otras sustancias específicas revitalizadoras (fósforo, calcio, sodio y potasio).

El manitol recuperado del extracto etanólico y recristalizado (de 50g de raíces y hojas se obtuvo 53 y 68 mg respectivamente), los cuales fueron caracterizados por el punto de fusión, teniendo un patrón de referencia auténtico de manitol con un punto de fusión de 165° C.

Respecto a la laminarina la variación de porcentajes es muy fluctuante (5 al 12 %), esto depende de la estación de recolección de las algas (lo cual merece un estudio con mayor detenimiento).

Del extracto etanólico madre (concentrado hasta obtenerse una especie de jarabe), se observó por cromatografía de papel la presencia de dos ácidos

oligurónicos, los cuales fueron hidrolizados en medio ácido (25 ml de HCl 2N), los compuestos hidrolizados de ambos materiales contenían fucosa (mayor cantidad), xilosa, manosa, galactosa y ácido glucorónico, los cuales fueron caracterizados mediante patrones de referencia en cromatografía de papel.

De los resultados de análisis en los diferentes concentrados acuosos (tabla 2), se observa que el mayor porcentaje de carbohidratos (59%), se obtiene en las hojas durante la extracción en caliente, por lo tanto en este medio se extrae en mayor cantidad el ácido algínico.

La viscosidad relativa del ácido algínico, sol. al 1 % (extraído de las hojas) es bastante alta (23.4 cps) con relación al ácido algínico extraído de las raíces (5.36 cps), lo que indica que las propiedades físicas de las algas extraídas de las algas marinas, son fuertemente influenciadas por la presencia de los ácidos manurónicos y residuos de ácidos gularónicos. Por ejemplo, cuando se extrae en frío el ácido urónico de las raíces, se observa la obtención de mayor porcentaje (18%) con referencia a las hojas(5%).

Respecto al contenido de sulfatos, este se encuentra en porcentaje mayoritario en las hojas (12%), cuando se realiza la extracción en caliente. Lo mismo sucede con las proteínas, donde se obtiene hasta un 11.3%.

CONCLUSIONES

Esta especie de alga marina peruana, merece ser industrializada como fuente de ácido algínico y por la composición de sus minerales residuales se puede utilizar en la Industria de fertilizantes. En el Japón esta especie, es utilizada como fuente de ácido algínico y adicionalmente en la Industria de fertilizantes.

SIMBOLOGIA

Ms	=	muestra
carb.	=	carbohidrato
a.urón.	=	ácido urónico
prot.	=	proteína

AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente a la Dra Olga Lock de Ugaz, por su extenso apoyo en el desarrollo de mi trabajo de investigación así como su asesoría en todo momento.

Agradezco a todo el personal del IGI de la F.Ciencias, especialmente al Dr. Manfred. Horn. Por alentarme a publicar mis trabajos de Investigación.

Agradezco al CONCYTEC por el apoyo económico.

REFERENCIAS

1. ESPINOZA, Atencia. "Implementación de una planta piloto para la extracción del ácido algínico". Tesis de Ingeniero Pesquero, Universidad Nacional Agraria, 1977 pp. 90-91
2. ACLETO, César. "Algas Marinas del Perú de Importancia económica". U.N.M.S.M. Museo de Historia Natural, Departamento de Botánica, 1986 pp. 88-107
3. STOCKTON, B, EVANS "Alginate industries " (1980) Bot. Mar.XXIII pp 563-569.
4. Jabbar Mian,A. and Percival,E.(1973) Carbo hydrat. Res.26,133.
5. Sociedad Nacional de Pesquería. Empresa Pública de servicios Pesqueros, EPSEP. Gerencia de Producción y Proyectos. "Estudio de Pre-factibilidad de Industrialización de un Planta Piloto de alginatos"
6. VARGAS Rodrigo. "Determinación de Acidos Urónicos en el Acido Algínico obtenido a partir de las Algas Lessonia Nigrescens Bory, Vol. LX, 1974 pp. 55-64
7. RESSLER, Donald K. Marine Products of commerce,Reinbold Publishing Corporation. New York, 1970.