

Parámetros que afectan la conversión del ácido algínico en alginato de sodio

Parameters affecting the conversion of alginic acid to sodium alginate

Dora Luz Arvizu-Higuera^{1,2*}
Gustavo Hernández-Carmona^{1,2,3}
Y. Elizabeth Rodríguez-Montesinos^{1,3}

¹ Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas
Apartado postal 592
La Paz CP 23000, Baja California Sur, México
*E-mail: darvizu@ipn.mx

² Becario del Programa de Estímulos al Desempeño de los Investigadores (EDI)

³ Becario de la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas del IPN (COFAA)

Recibido en abril de 2001; aceptado en octubre de 2001

Resumen

Se estudió la etapa de conversión de ácido algínico a alginato de sodio, en el proceso de producción de alginatos, a partir del alga café *Macrocystis pyrifera*, como materia prima. Se determinó el efecto del volumen de alcohol, la proporción de alcohol-agua, el pH y el tiempo de tratamiento sobre el rendimiento y la viscosidad del alginato obtenido. Se experimentaron siete volúmenes de la mezcla alcohol-agua en proporción 50:50, de 9 a 15 mL g⁻¹ de alga. El rendimiento y la viscosidad no fueron significativamente diferentes en ninguno de los volúmenes empleados, sin embargo, con el volumen de 9 mL g⁻¹ de alga, la agitación no fue eficiente, por lo tanto el volumen mínimo a emplear en esta etapa fue de 10 mL g⁻¹ de alga. La proporción apropiada de la mezcla alcohol-agua se determinó usando cinco proporciones: 50:50, 47:53, 44:56, 40:60 y 37:63. El mayor rendimiento y viscosidad se obtuvieron con la proporción 50:50. Se probaron cinco valores de pH de 6 hasta 10 para determinar el pH óptimo de la reacción de conversión. Los mejores resultados se obtuvieron utilizando un pH de 7 a 8 en la solución alcohólica de la etapa de conversión. Para determinar el tiempo mínimo requerido para la reacción de conversión, las fibras de alginato de sodio se mantuvieron en agitación en una solución alcohólica durante diferentes tiempos: 20, 30, 40, 50 y 60 minutos. El rendimiento y la viscosidad obtenidos no presentaron diferencias significativas, por lo tanto, el tiempo mínimo para llevar a cabo la reacción de conversión fue de 30 minutos, para asegurar una reacción completa. Se propone el uso de un mezclador doble planetario para llevar a cabo esta etapa a otro nivel.

Palabras clave: *Macrocystis pyrifera*, ácido algínico, alginato, conversión, viscosidad.

Abstract

The step to convert alginic acid to sodium alginate on the alginate extraction process was studied, using the brown seaweed *Macrocystis pyrifera* as raw material. The effect of alcohol volume, alcohol-water proportion, pH, and treatment time on the yield and viscosity of the alginate obtained was analyzed. Seven volumes of the mixture alcohol-water in proportion 50:50 were experimented, from 9 to 15 mL g⁻¹ alga. The yield and viscosity were not significantly different in any of the volumes used, however, the stirring with the volume of 9 mL g⁻¹ alga was less efficient, therefore the minimum volume to use in this step was 10 mL g⁻¹ alga. The appropriated proportion of the mixture alcohol-water was determined using five proportions: 50:50, 47:53, 44:56, 40:60, and 37:63. The highest yield and viscosity were obtained using the proportion 50:50. Five pH values from 6 to 10 were experimented to determine the optimum pH for the conversion reaction. The best results were obtained using a pH from 7 to 8 in the alcoholic solution of the conversion step. To determine the minimum time required for the conversion reaction, the fibers of sodium alginate were stirred in an alcoholic solution for 20, 30, 40, 50 and 60 min. The yield and viscosity obtained were not significantly different, therefore, the minimum time to carry out the conversion reaction was 30 minutes to assure a complete reaction. The use of a double planetary mixer is proposed to carry out this step at other level.

Key words: *Macrocystis pyrifera*, alginic acid, alginate, conversion, viscosity.

Introducción

Alginato es el término genérico que se utiliza para denominar las sales y derivados del ácido algínico. Este polisacárido se presenta como una mezcla de sales insolubles de calcio, sodio, potasio y magnesio en las algas cafés (Phaeophyceae). El ácido algínico es un polisacárido de alto peso molecular que consiste de diferentes proporciones de ácido D-manurónico y ácido L-gulurónico. La variación en las proporciones de ambos ácidos depende principalmente de la especie de alga utilizada (King; 1983, Smidsrød y Draget, 1996). Para la producción de alginato se emplea una etapa de preextracción ácida (Hernández-Carmona y Aguirre-Vilchis, 1987; Arvizu-Higuera *et al.*, 1995; Hernández-Carmona *et al.*, 1999a) y posteriormente se realiza una extracción alcalina (Arvizu-Higuera *et al.*, 1996; Hernández-Carmona *et al.*, 1999b). El alginato de sodio obtenido del extracto alcalino original tiene que ser purificado y concentrado en forma de ácido algínico sólido, el cual puede convertirse en alginato de sodio sólido. Existen dos procesos básicos para la obtención de alginato de sodio. En el primero, los principales intermediarios son alginato de calcio y ácido algínico. En el segundo, no se forma alginato de calcio, solo ácido algínico. En ambos procesos, durante la etapa de conversión del ácido algínico a alginato de sodio, se usa agua o alcohol como solvente, obteniendo resultados muy diferentes. En el proceso de calcio normalmente el solvente es agua y en el proceso de ácido se emplea más el alcohol, debido al alto contenido de agua en el ácido algínico (McHugh, 1987). El ácido algínico y el alcohol pueden ser mezclados en un recipiente provisto de un medio de agitación, añadiendo la cantidad calculada del agente alcalino deseado, o bien, añadiéndolo simultáneamente con el alcohol (Clark y Steiner, 1949). En algunas patentes se describen estos procesos, pero no se proporcionan detalles de la concentración o el volumen del solvente empleado. En algunos métodos, el ácido algínico se lava con agua hasta obtener un pH de 4 y se mezcla con carbonato de sodio hasta obtener un pH de 7 (Zvered *et al.*, 1969; Baranov *et al.*, 1980). En otros casos, el ácido algínico se mezcla con cantidades determinadas del reactivo correspondiente que contiene el catión necesario para la conversión de ácido algínico a alginato de sodio (Lukachyov y Pochkalov, 1965). El ácido algínico también se puede concentrar por ultracentrifugación y coagularlo usando alcohol para posteriormente recuperarlo (LeGloahec y Herter, 1938). Hasta la fecha, solo se sabe que el volumen de alcohol que se emplea en la conversión debe ser suficiente para permitir una mezcla adecuada de la pasta (McHugh, 1987). También se menciona que el volumen de alcohol debe ser tal como para producir una suspensión de consistencia fácilmente manejable por el aparato de agitación disponible, mientras que la proporción mínima de alcohol-agua en la conversión de ácido algínico a alginato de sodio puede ser 40:60, cuando se emplea alcohol isopropílico (Clark y Steiner, 1949). La forma en la cual se incorpora el álcali depende de su naturaleza: a) se añade carbonato de sodio, potasio o magnesio como un polvo seco finamente molido; b) los hidróxidos de

Introduction

Alginate is a generic term used for the salts and derivatives of alginic acid. This polysaccharide occurs as a mix of insoluble calcium, sodium, potassium and magnesium salts in the brown seaweeds (Phaeophyceae). Alginic acid is a polysaccharide of high molecular weight consisting of varying proportions of D-mannuronic acid and L-guluronic acid, the variation in the proportions of both acids being dependent mainly on the seaweed species used (King, 1983; Smidsrød and Draget, 1996). For alginate production, a pre-extraction step is used (Hernández-Carmona and Aguirre-Vilchis, 1987; Arvizu-Higuera *et al.*, 1995; Hernández-Carmona *et al.*, 1999a) and then an alkaline extraction is carried out (Arvizu-Higuera *et al.*, 1996; Hernández-Carmona *et al.*, 1999b). The sodium alginate from the original alkaline extract has to be purified and concentrated in the solid alginic acid form, which must be converted to solid sodium alginate. Two basic processes exist to manufacture sodium alginate. In the first one, the main intermediates are calcium alginate and alginic acid. In the second one, no calcium alginate is formed, only alginic acid. In both processes, during the conversion of alginic acid to sodium alginate step, water or alcohol is used as solvent with quite different results. In the calcium process, water is usually the solvent, while in the acid process, alcohol is rather more used, because of the high water content in the alginic acid (McHugh, 1987). The alginic acid and alcohol can be mixed in a vessel with stirring, adding the calculated quantity of the preferred alkaline agent or adding it simultaneously with the alcohol (Clark and Steiner, 1949). These processes are described in some patents, but details about concentration or volume of solvent used are not quoted. In some methods, the alginic acid is washed-off with water until attaining a pH of 4, and then it is mixed with sodium carbonate until a pH of 7 is obtained (Zvered *et al.*, 1969; Baranov *et al.*, 1980). In other cases, alginic acid is blended with certain quantities of the corresponding reagent containing the necessary cation for the conversion of alginic acid into sodium alginate (Lukachyov and Pochkalov, 1965). The alginic acid can also be concentrated by ultracentrifugation and coagulated using alcohol and recovering it later (LeGloahec and Herter, 1938). Nowadays, it is only known that the volume of alcohol that is used in the conversion should be enough to allow an appropriate mixture of the paste (McHugh, 1987). Also, it is mentioned that the volume of alcohol should be such as to produce a slurry of consistency most readily handled by the stirring apparatus available, while the minimum alcohol-water proportion in the conversion of alginic acid to sodium alginate can be 40:60, when isopropyl alcohol is used (Clark and Steiner, 1949). The form in which the alkali is introduced depends on its nature: a) sodium, potassium or magnesium carbonate is added as a finely ground dry powder; b) the hydroxides of potassium or sodium may be introduced as strong aqueous or alcoholic solutions; c) ammonia may be added in the form of 28–29% ammonia-water, or as gas into a pressure vessel (Clark and Steiner, 1949).

potasio o sodio pueden añadirse como soluciones acuosas concentradas o soluciones alcohólicas; c) el amoníaco se puede añadir en la forma de amoníaco-agua, 28–29%, o como un gas en un recipiente de presión (Clark y Steiner, 1949).

Se ha propuesto que durante la conversión de ácido algínico a alginato de sodio, la reacción de conversión se completa cuando se tiene un pH de 6 (McHugh, 1987). Algunos autores sólo indican que se requiere un pH neutro (Clark y Steiner, 1949; McNeely, 1959; Hernández-Carmona y Casas-Valdez, 1985), mientras que otros mencionan que el pH del producto seco debe estar entre 5 y 10 para mayor estabilidad (McDowell, 1977; King, 1983; Kelco, 1986). Hernández-Carmona y Casas-Valdez (1985), optimizaron la etapa de conversión a alginato de sodio, determinando los volúmenes de álcali respectivamente, para un máximo rendimiento, pero con un excedente de alcohol.

En los estudios realizados con anterioridad, no se había determinado el efecto de reducir el volumen de alcohol durante la conversión de ácido algínico a alginato de sodio hasta obtener una pasta, en lugar de una suspensión, ni el efecto de la proporción de alcohol-agua en dicha pasta. En ningún método se menciona el efecto del pH durante la conversión de ácido algínico a alginato de sodio en el producto final, ni el tiempo de reacción óptimo en esta etapa. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar el volumen mínimo necesario de mezcla alcohol-agua, la mejor proporción alcohol-agua, el efecto del pH y el tiempo de reacción en la etapa de conversión de ácido algínico a alginato de sodio, sobre el rendimiento y la viscosidad del alginato.

Materiales y métodos

Para cada uno de los cuatro experimentos se realizaron extracciones por separado, utilizando *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh, de Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. Se llevó a cabo el siguiente método para obtener las fibras de ácido algínico.

Se hidrataron 10 g de algas secas y molidas con 90 mL de solución de formaldehído al 0.1%, durante 12 horas. La solución residual se drenó y las algas se lavaron tres veces colocándolas en 150 mL de agua, ajustándose el pH a 4 con una solución de ácido clorhídrico 1N, y manteniendo una agitación de 15 minutos en cada lavado. La extracción alcalina se llevó a cabo colocando las algas en 25 partes de agua por una de algas, ajustando el pH a 10 con una solución de carbonato de sodio al 10%. Las muestras se mantuvieron en baño maría a 80°C con agitación constante de 800 rpm durante 2 horas. La pasta obtenida se diluyó con agua caliente y se filtró al vacío, con ayuda de tierra de diatomeas y papel filtro Whatman No. 4. La solución de alginato clarificada se precipitó como alginato de calcio con una solución de cloruro de calcio al 10%, con agitación constante. El alginato de calcio precipitado se filtró y las fibras se suspendieron en 20 partes de agua por una parte de algas, ajustándose el pH a 2 con una solución de ácido clorhídrico

It has been proposed that during the conversion of alginic acid to sodium alginate, the conversion reaction is complete when it has a pH of 6 (McHugh, 1987). Some authors only mention that a neutral pH is required (Clark and Steiner, 1949; McNeely, 1959; Hernández-Carmona and Casas-Valdez, 1985), while others mention that the pH of the dry product should be between 5 and 10 for more stability (McDowell, 1977; King, 1983; Kelco, 1986). Hernández-Carmona and Casas-Valdez (1985), optimized the conversion to sodium alginate step, determining the volumes of alkali respectively for a maximum yield, but using an excess of alcohol.

In previous studies, the effect of reducing the volume of alcohol during the conversion of alginic acid into a sodium alginate paste, instead of a suspension, had not been determined, neither the effect of the alcohol-water proportion in this paste. In no one method the effect of pH during the conversion of alginic acid into sodium alginate on the final product is mentioned, neither the optimum reaction time of this step. Therefore, the aim of this work was to determine the minimum volume of alcohol-water mixture needed, the best alcohol-water proportion, the effect of pH and the reaction time in the conversion of alginic acid into sodium alginate step, on the alginate yield and viscosity.

Materials and methods

Separate extractions were carried out for each of the four experiments, using *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh, from Bahía Tortugas, Baja California Sur, Mexico. To obtain the fibers of alginic acid the following method was carried out:

Ten grams of dried and milled algae were hydrated with 90 mL of 0.1% formaldehyde solution for 12 h. The residual formaldehyde solution was drained off and the algae were washed three times with 150 mL of water adjusting the pH to 4 with 1N hydrochloric acid solution with constant stirring during 15 min in each washing. The alkaline extraction was carried out by placing the algae in 25 parts of water per 1 part of alga, adjusting the pH to 10 with 10% sodium carbonate solution. The algae were heated in a water bath at 80°C with constant stirring at 800 rpm for 2 h. The paste obtained was diluted with hot water and vacuum filtered, using diatomaceous earth and Whatman filter paper No. 4. The clarified alginate solution was precipitated into calcium alginate with 10% calcium chloride, with constant stirring. The calcium alginate precipitated was filtered and fibers were suspended in 20 parts of water per 1 part of alga. The pH was adjusted to 2 with a 1N hydrochloric acid solution and stirred for 15 min. The sample was drained off and the acid washing was repeated two times, adjusting the pH to 1.8.

Effect of the volume of alcohol and alcohol-water proportion in the conversion of alginic acid to sodium alginate step

To determine the minimum volume of the alcohol-water mixture required to carry out the conversion of alginic acid to

1N, agitándose durante 15 minutos. La muestra se drenó y se repitió el lavado dos veces, ajustando el pH a 1.8.

Efecto del volumen de alcohol y la proporción alcohol-agua en la etapa de conversión de ácido alginico en alginato de sodio

Para determinar el volumen mínimo de la mezcla alcohol-agua que se requiere para llevar a cabo la conversión de ácido alginico a alginato de sodio, las fibras de ácido alginico se colocaron en la mezcla alcohol-agua (50:50), empleando los siguientes volúmenes: 9, 10, 11, 12, 13, 14 y 15 mL g⁻¹ de alga. En cada caso, se añadió una solución de carbonato de sodio al 10% hasta obtener un pH de 8, agitando durante una hora.

Para determinar la proporción mínima de alcohol-agua, las fibras de ácido alginico se colocaron en una mezcla de alcohol-agua, en un volumen de 15 mL g⁻¹ de alga, empleando las siguientes proporciones: 50:50, 47:53, 44:56, 40:60 y 37:63. Se añadió una solución de carbonato de sodio (10%) hasta obtener un pH de 8, agitando durante una hora.

El alginato de sodio obtenido se filtró y se prensó, las fibras se desmenuzaron y se secaron en un horno a 50°C hasta obtener un peso constante. El rendimiento de alginato de sodio se calculó en base al peso de la muestra inicial. Se determinó la viscosidad aparente del alginato obtenido, preparando una solución al 1% (p/v), ajustando la temperatura a 25°C y midiendo con un viscosímetro Brookfield LVT, a una velocidad de 60 rpm con la aguja adecuada. También se determinó la viscosidad aparente después de agregar 0.5% de hexametáfosfato de sodio a la solución, con el fin de secuestrar el calcio presente en la muestra y determinar la viscosidad asociada únicamente al peso molecular (o grado de polimerización) del alginato; esta viscosidad es la que se presenta en los resultados. En todas las determinaciones se empleó agua destilada y reactivos químicamente puros.

Efecto del pH y determinación del tiempo mínimo requerido para llevar a cabo la conversión de ácido alginico en alginato de sodio.

Para determinar el efecto del pH en la conversión, las fibras de ácido alginico se colocaron en un volumen de 15 mL g⁻¹ de alga de la mezcla alcohol-agua, en una proporción 50:50. Se añadió una solución de carbonato de sodio (10%) hasta alcanzar pHs de 6, 7, 8, 9 y 10, en la solución alcohólica, manteniéndose las muestras en agitación durante una hora. Las fibras de alginato de sodio se prensaron, desmenuzaron y se secaron al horno a 50°C. Se determinó el rendimiento y la viscosidad como se describió anteriormente, y se midió el pH de la solución de alginato de sodio al 1% con un potenciómetro.

Para determinar el tiempo mínimo requerido para la conversión, las fibras de alginato de sodio a pH de 8, se mantuvieron en agitación con diferentes tiempos: 20, 30, 40, 50 y 60 minutos. Las fibras de alginato de sodio se prensaron,

sodium alginate, the alginic acid fibers were placed in an alcohol-water mixture (50:50), using the following volumes: 9, 10, 11, 12, 13, 14 and 15 mL g⁻¹ alga. In each case, sodium carbonate solution (10%) was added until a pH of 8 was obtained, stirring during 1 h.

To determine the minimum alcohol-water proportion, the alginic acid fibers were placed in a volume of 15 mL g⁻¹ alga of the mixture alcohol-water, using the following proportions: 50:50, 47:53, 44:56, 40:60 and 37:63. Sodium carbonate solution (10%) was added until a pH of 8 was obtained, stirring for 1 h.

The sodium alginate obtained in each of the experiments above was filtered and pressed. The fibers were loosed and dried to constant weight in an oven at 50°C. Yield of sodium alginate was calculated, based on the initial dry weight of the alga. Apparent viscosity of the alginate obtained was determined by preparing a 1% solution (w/v), adjusting the temperature at 25°C and measuring with a Brookfield LVT viscosimeter at 60 rpm with the appropriate spindle. The apparent viscosity was measured again, after the addition of 0.5% sodium hexametaphosphate into the solution in order to sequester the calcium present in the alginate. This second measurement was also to determine the viscosity associated only to alginates molecular weight (or degree of polymerization), this viscosity being the one shown in the results. In all determinations distilled water and pure chemicals were used.

Effect of pH and determination of the minimum time needed to carry out the conversion of alginic acid into sodium alginate

To determine the effect of pH in the conversion, the alginic acid fibers were placed in 15 mL g⁻¹ alga of a 50:50 alcohol-water mixture. Sodium carbonate solution (10%) was added until pHs of 6, 7, 8, 9 and 10 were reached, samples being stirred for 1h. Sodium alginate fibers were pressed, loosed and dried in a oven at 50°C. Yield and viscosity were determined as described above and the pH of 1% sodium alginate solution was measured with a pH-meter.

To determine the minimum time of treatment required for the conversion of alginic acid to sodium alginate, the alginic acid fibers were treated at pH 8 with constant stirring for 20, 30, 40, 50 and 60 min. Sodium alginate fibers were pressed, loosed and dried in a oven at 50°C. Yield and viscosity were determined as described above.

All experiments were conducted in triplicate. A one-way analysis of variance (ANOVA) was used to detect significant differences among treatments and a Tukey's test was used to determine the differences of means between treatments ($P < 0.05$) (Zar, 1984; StatSoft, 1995).

Results and discussion

The results obtained show that during the conversion of alginic acid to sodium alginate step, the different volumes of alcohol-water mixture did not have a significant effect on the

desmenuzaron y se secaron al horno a 50°C. Se determinó el rendimiento y la viscosidad como se describió anteriormente.

Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Se realizó un análisis de variancia de una vía (ANOVA) para detectar diferencias significativas entre tratamientos y se aplicó una prueba de Tukey para determinar la diferencia de medias entre tratamientos ($P < 0.05$) (Zar, 1984; StatSoft, 1995).

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos muestran que durante la etapa de conversión de ácido algínico a alginato de sodio, los diferentes volúmenes de mezcla alcohol-agua no tuvieron un efecto significativo sobre el rendimiento (24.4 a 25.9%), ni sobre la viscosidad del alginato (377 a 462 mPa s) (fig. 1). Esto significa que la conversión de ácido algínico a alginato de sodio fue completa en todos los tratamientos, sin embargo, con un volumen de 10 mL g⁻¹ de alga, la agitación fue un poco lenta pero suficiente, y con un volumen de 9 mL g⁻¹ de alga el agitador magnético no pudo mover la muestra, por lo que ésta se mezcló manualmente con una espátula. Este volumen corresponde a una concentración de 3.95 mL de la mezcla alcohol-agua por gramo de alginato obtenido. A este nivel, el ácido algínico que va a ser convertido en alginato de sodio, se encuentra en forma de pasta y no en suspensión, por lo que se requiere un equipo especial para el mezclado. El volumen de la mezcla alcohol-agua, se puede reducir de 15 mL g⁻¹ de alga hasta 9 mL g⁻¹ de alga, si se usa el equipo apropiado. A nivel industrial se puede emplear un mezclador de doble planetario, que está diseñado para pastas pesadas (McHugh, 1987). La ventaja de conocer el volumen de la mezcla alcohol-agua es que, conociendo el rendimiento del alginato de cada especie, se puede conocer de manera anticipada cual será el volumen necesario de alcohol. En este ejemplo, se emplearían 3.95 mL de la mezcla alcohol-agua por cada gramo de alginato a producir. Si la proporción empleada es de 50:50 alcohol-agua, la cantidad de alcohol corresponderá al volumen de agua que permanezca en las fibras de ácido algínico después de prensado. Generalmente, la humedad del ácido algínico es de 90%, por lo que 1 g de ácido algínico contendría 0.9 mL de agua y el volumen de alcohol a emplear sería de 0.9 mL. Durante esta etapa, el ácido algínico insoluble se convierte a la forma soluble de alginato de sodio, sin embargo, el alcohol impide la solubilización del alginato y se mantiene en forma de fibras. Por lo tanto, a nivel laboratorio, el volumen mínimo de la mezcla alcohol-agua necesario para llevar a cabo la conversión de ácido algínico a alginato de sodio fue de 10 mL g⁻¹ de alga. Este volumen ahorra un 33.3% de alcohol y agua con respecto al volumen testigo (15 mL g⁻¹ de alga).

El segundo factor estudiado en esta etapa del proceso fue la proporción que se debe mantener en la mezcla alcohol-agua y su efecto sobre el rendimiento y la viscosidad del alginato obtenido. El rendimiento disminuyó constantemente conforme

yield (24.4 to 25.9%), neither on the viscosity of the alginato (377 to 462 mPa s) (fig.1). This means that the conversion of alginate to sodium alginate was completed in all treatments. However, with a volume of 10 mL g⁻¹ alga, the stirring was a bit slow but sufficient and with a volume of 9 mL g⁻¹ alga, the magnetic stirrer was not able to move the sample, therefore, it was manually mixed with a spatula. This volume corresponds to a concentration of 3.95 mL of the alcohol-water mixture per gram of alginato obtained. At this level, the alginate is converted to sodium alginate in a paste but not in suspension form, therefore a special equipment for mixing is required. The volume of the alcohol-water mixture could be reduced from 15 mL g⁻¹ alga to 9 mL g⁻¹ alga if the appropriate equipment is used. At industrial level a double planetary mixer may be used, which is designed for heavy pastes (McHugh, 1987). The advantage of knowing the volume of the alcohol-water mixture is that determining the yield of alginato in each species, it is possible to know in advance the volume of alcohol necessary. In this example, 3.95 mL of the alcohol-water mixture would be required for each gram of alginato to be obtained. If the 50:50 alcohol-water proportion is used, the amount of alcohol will correspond to the volume of water that remains in the alginate fibers after pressing. Generally, the moisture of the alginate is 90%, therefore 1 g of alginate contains 0.9 mL of water, and 0.9 mL of alcohol should be used. During this step, the insoluble alginate is converted to the soluble sodium alginate form, however, the alcohol avoids the solubilization of the alginate and it remains as fibers. Therefore, at the laboratory level, the minimum volume of mixture alcohol-water needed to carry out the conversion of alginate into sodium alginate was 10 mL g⁻¹ alga. This volume saves a 33.3% of alcohol and water in respect to the control volume (15 mL g⁻¹ alga).

The proportion that should be maintained in the alcohol-water mixture and its effect on the yield and viscosity of the obtained alginate was the second factor studied in this step of the process. The yield decreased constantly as the volume of alcohol in the mixture was reduced. The initial yield with a 50:50 alcohol-water proportion was 25.5% and it decreased to 20.5% with less alcohol proportion (37:63) (fig. 2). Differences were significant in proportions further 50:50. The reduction in yield was because when the alcohol proportion decreased to less than 50%, part of the alginate becomes soluble in the water. This alginate may be lost during the pressing applied to reduce the water in the product before proceeding to dry it. The appropriate proportion of alcohol is important, because it allows to maintain the fibrous form of the product, losses are avoided and the pressing is facilitated. At industrial level screw presses could be used to reduce the moisture of the alginate to 25%. In some factories, the conversion of alginate into sodium alginate is carried out without using alcohol, however, this makes the pressing step difficult and the alginate has to be recovered by extrusion (McHugh, 1987), increasing the

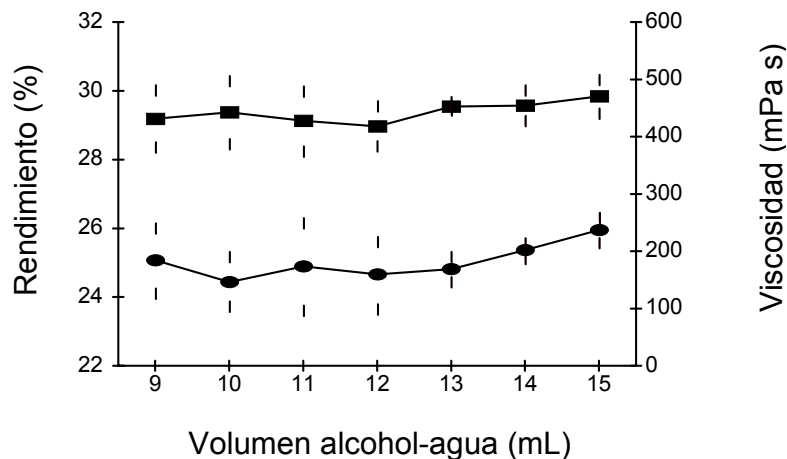


Figura 1. Rendimiento (●) y viscosidad (■) del alginato de sodio obtenido, empleando diferentes volúmenes de mezcla alcohol-agua (50:50) por gramo de alga seca, en la etapa de conversión de ácido alginico a alginato de sodio. Las barras verticales indican un error estándar (EE) de ± 1 .
Figure 1. Yield (●) and viscosity (■) of sodium alginate obtained, using different volumes of the mixture alcohol-water (50:50) per gram of dry alga, in the conversion of alginic acid into sodium alginate step. Vertical bars mean ± 1 standard error (SE).

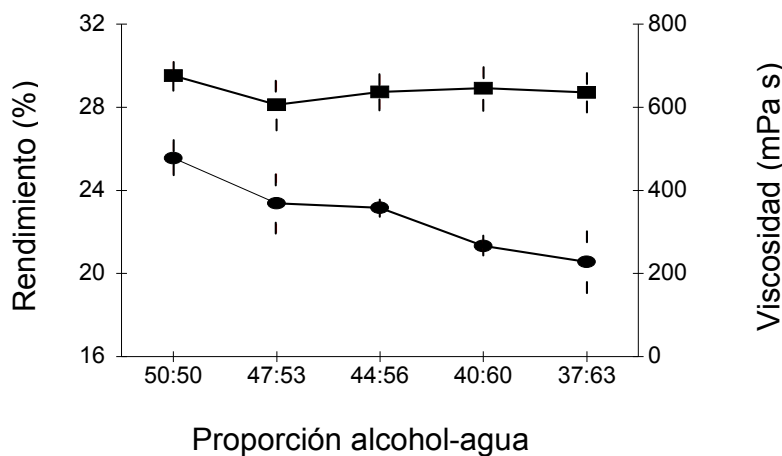


Figura 2. Rendimiento (●) y viscosidad (■) del alginato de sodio obtenido, empleando diferentes proporciones de alcohol-agua en un volumen de mezcla de 15 mL g⁻¹ de alga, en la etapa de conversión de ácido alginico a alginato de sodio. Las barras verticales indican un EE de ± 1 .
Figure 2. Yield (●) and viscosity (■) of sodium alginate obtained, using different proportions alcohol-water in a mixture volume of 15 mL g⁻¹ alga, in the conversion of alginic acid into sodium alginate step. Vertical bars mean ± 1 SE.

disminuyó el volumen de alcohol en la mezcla. El rendimiento inicial con la proporción alcohol-agua 50:50 fue de 25.5% y se redujo a 20.5% con la proporción con menos alcohol (37:63) (fig. 2). Las diferencias fueron significativas después de la proporción 50:50. La reducción en rendimiento se debió a que al disminuir la proporción de alcohol a menos del 50%, parte del alginato se vuelve soluble en el agua. Este alginato se pierde durante el prensado que se aplica al terminar la reacción, para reducir el agua del producto y proceder a secarlo. La proporción adecuada de alcohol es importante, ya que permite mantener la forma fibrosa del producto, evitando pérdidas y

production equipment required. If a good system to recover the alcohol is available, it is possible to carry out this conversion with the proportion 50:50 alcohol-water mixture. The amount of alcohol to be used is proportional to the amount of water (moisture) remaining in the alginic acid, therefore, it is important to reduce the moisture to its minimum in order to use the minimum volume of alcohol. Using a higher proportion of alcohol would imply an excessive production cost.

The viscosity of the 1% solution of the alginates obtained showed no significant differences among the treatments (606 to 676 mPa s) (fig. 2). This was because the conditions used

facilitando el prensado. A nivel industrial se pueden emplear prensas de tornillo para reducir la humedad del ácido algínico al 25%. En algunas fábricas, la conversión de ácido algínico a alginato de sodio se realiza sin el uso de alcohol, sin embargo, esto dificulta la etapa de prensado y el producto se tiene que recuperar por extrusión (McHugh, 1987), incrementando el número de equipos de producción. Si se tiene un buen sistema de recuperación de alcohol, es factible realizar esta conversión con la proporción de la mezcla alcohol-agua al 50:50. La cantidad de alcohol a emplear es proporcional a la cantidad de agua (humedad) que permanezca en el ácido algínico, por lo tanto, es importante reducir la humedad al mínimo para usar el volumen mínimo de alcohol. Usar una proporción de alcohol mas alta implicaría un costo de producción excesivo.

La viscosidad de los alginatos obtenidos en solución al 1% no presentó diferencias significativas entre los tratamientos (606 a 676 mPa s) (fig. 2). Esto se debió a que durante la reacción de conversión se mantienen condiciones de operación que evitan la despolimerización del producto.

Estos resultados muestran que la proporción mínima de la mezcla alcohol-agua para llevar a cabo la conversión de ácido algínico a alginato de sodio, a nivel laboratorio, fue de 50:50, proporción que es igual a la proporción testigo.

El tercer factor estudiado en esta misma etapa fue el pH óptimo. El rendimiento obtenido para valores de pH entre 6 y 10 no fue significativamente diferente (25.0 a 25.7%), sin embargo, la viscosidad del alginato obtenido si presentó variaciones significativamente diferentes (fig. 3a). Las menores viscosidades se presentaron cuando la conversión se realizó a valores de pH de 6 y 10. La máxima viscosidad en la solución de alginato se obtuvo a pH de 8 (694 mPa s), sin embargo, entre los valores de 7 y 9 no hubo diferencia significativa. Esto significa que a valores de pH menores o mayores se produce una despolimerización de la molécula de alginato. En el caso de valores menores de 5 se produce un rompimiento de las cadenas por las condiciones que tienden a la acidez, mientras que a valores mayores de 10 ocurre una degradación por un mecanismo de β -eliminación (Haug *et al.*, 1963; Haug, 1964; McDowell, 1977; King, 1983; Clare, 1993).

Un factor importante a considerar en esta etapa del proceso de producción de alginatos, es el pH al cual se realiza la conversión. En este estudio se midió el pH de la solución alcohólica de la suspensión con el alginato de sodio, y también se midió el pH del alginato de sodio en solución (1%). El valor de pH se redujo en una unidad en la solución de alginato comparado con el pH de la suspensión (fig. 3b). Por lo tanto, para obtener un alginato con un pH de 7, la reacción de conversión se debe realizar a un pH de 8 en la suspensión. Esto explica porqué un pH 8 en la solución alcohólica dio un producto con pH 7, obteniéndose la máxima viscosidad.

avoided the depolymerization of the product during the conversion reaction.

These results show that the minimum proportion of alcohol-water mixture needed to carry out the conversion of alginic acid into sodium alginate at laboratory level was 50:50, being this proportion the same as the control one.

The optimum pH was the third factor studied in this step. The yield obtained using pH values between 6 and 10 were not significantly different (25.0 to 25.7%), however, the viscosity of the alginate obtained showed significant variations (fig. 3a). The lowest viscosity was shown when the conversion was carried out at pH values of 6 and 10. The maximum viscosity of the alginate solution was obtained at pH 8 (694 mPa s), however, between the values of 7 to 9 there were not significant differences. This means that using low or high pH values, a depolymerization of the alginate molecule occurs. In the case of pH values lower than 5, a break of the chains occurs because of the acidity conditions, while pH values above 10, a degradation by a mechanism of β -elimination occurs (Haug *et al.*, 1963; Haug, 1964; McDowell, 1977; King, 1983; Clare, 1993).

An important factor to consider in this step of the alginates production process is the pH at which the conversion is carried out. In this study the pH was measured in the alcoholic solution in which the sodium alginate was suspended, and it was also measured in the sodium alginate solution (1%). The pH value decreased one unit in the alginate solution compared to the pH of the suspension (fig. 3b). Therefore, in order to obtain a pH 7 alginate, the conversion reaction should be carried out at pH 8 in the suspension. This explains why a pH 8 in the alcoholic solution yields a pH 7 product, obtaining also the maximum viscosity.

Clark and Steiner (1949), quoted that pH of the liquid was about 7.4, and it was the same as that for the alginate fibers. However, McHugh (1987) mentioned that the pH of alcoholic solution is not a measure of the degree of conversion, for when the sodium alginate has a pH 6, the suspension can be filtered or centrifuged.

The reaction time was the fourth factor analyzed. In this case there were not significant differences in the yield obtained (25.0 to 25.5%) neither in the viscosity (667 to 697 mPa s), for the interval of time studied (fig. 4). This means that after the first 20 minutes of treatment the reaction had concluded. However, this is possible only if an efficient paste mixer is used. According with McHugh (1987), 10 to 15 minutes are necessary to complete the reaction; at industrial level, a paste mixer may be used.

In this experiment, at laboratory level, 30 minutes are enough to complete the reaction. Clark and Steiner (1949) found that after 10 minutes of stirring, the liquid phase had a neutral pH, indicating the end of the conversion.

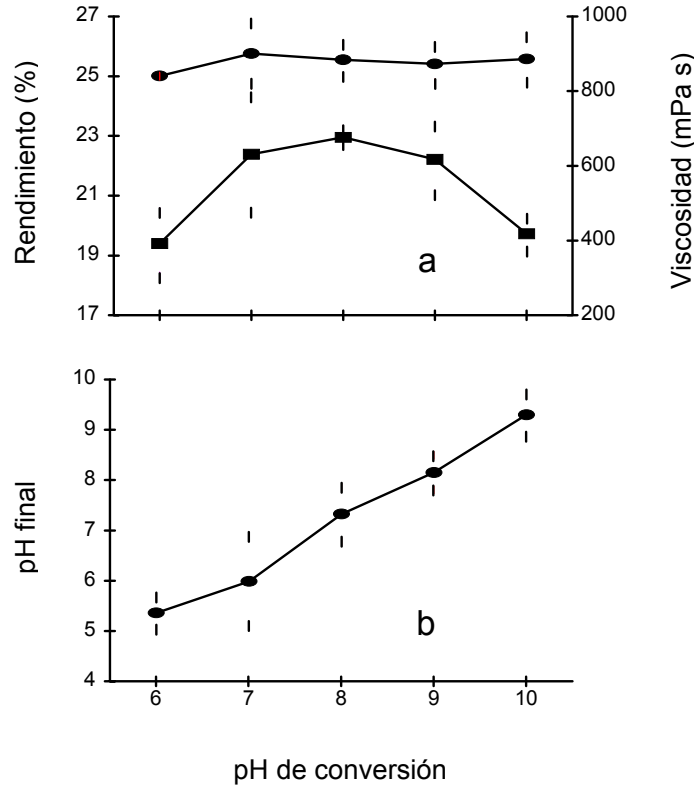


Figura 3. (a) Rendimiento (●) y viscosidad (■) del alginato de sodio obtenido. **(b)** pH del producto final (alginato en solución al 1%), empleando diferentes valores de pH en la etapa de conversión de ácido algínico a alginato de sodio. Las barras verticales indican un EE de ± 1 .

Figure 3. (a) Yield (●) and viscosity (■) of the sodium alginate obtained, **(b)** pH of the final product (1% alginate solution) using different pH values in the conversion of alginic acid to sodium alginate step. Vertical bars mean ± 1 SE.

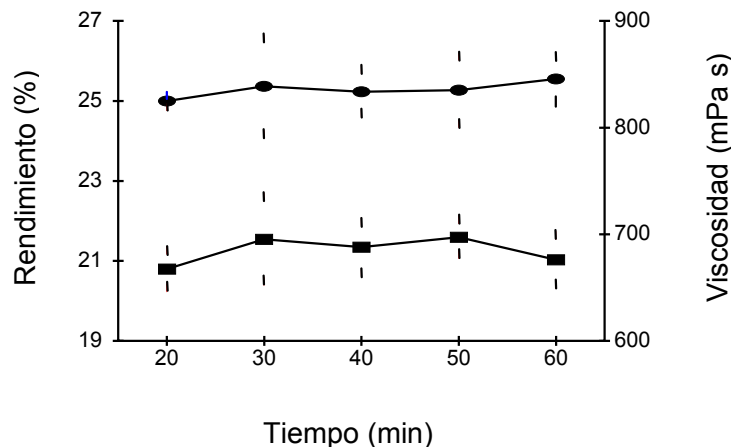


Figura 4. Rendimiento (●) y viscosidad (■) del alginato de sodio obtenido, empleando diferentes tiempos de tratamiento en la etapa de conversión de ácido algínico a alginato de sodio. Las barras verticales indican un EE de ± 1 .

Figure 4. Yield (●) and viscosity (■) of the sodium alginate obtained, using different treatment times in the conversion of alginic acid to sodium alginate step. Vertical bars mean ± 1 SE.

Clark y Steiner (1949), citaron que el pH del líquido era alrededor de 7.4 y era el mismo que el de las fibras de alginato. Sin embargo, McHugh (1987) mencionó que el pH de la solución alcohólica no es una medida del grado de conversión. Cuando el alginato tiene un pH de 6 la suspensión puede filtrarse o centrifugarse.

El cuarto factor analizado en esta etapa fue el tiempo de reacción. En este caso no se encontraron diferencias significativas en el rendimiento obtenido (25.0 a 25.5%) ni en la viscosidad (667 a 697 mPa s), en el intervalo de tiempo estudiado (fig. 4). Esto significa que desde los primeros 20 minutos de tratamiento la reacción ha concluido. Sin embargo, esto solo es posible si se tiene un mezclador de pastas eficiente. De acuerdo con McHugh (1987), se requieren de 10 a 15 minutos para completar la reacción. A nivel industrial se puede emplear un mezclador de pastas.

Para que la reacción sea completa en este experimento, a nivel laboratorio, es suficiente un tiempo de 30 minutos. Clark y Steiner (1949) encontraron que después de 10 minutos de agitación, la fase líquida tenía un pH neutro, indicando el final de la conversión.

Considerando los resultados obtenidos en este estudio a partir del alga *M. pyrifera*, se propone el siguiente proceso para convertir el ácido alginico en alginato de sodio: las fibras de ácido alginico se colocan en una mezcla de alcohol-agua en proporción 50:50, en un volumen de 10 mL g⁻¹ del peso inicial del alga; se añade carbonato de sodio (10%) hasta obtener un pH de 8 en la suspensión y se mantiene ésta en agitación por 30 minutos; las fibras se prensan y se secan a 50°C.

Conclusiones

De todos los factores experimentados en este trabajo, el único que afecta significativamente el rendimiento de alginato es la proporción de alcohol en la mezcla alcohol-agua. Esta variación fue directamente proporcional a la reducción de alcohol. La pérdida de producto se debió probablemente al manejo del alginato en la etapa de prensado, debido al cambio de consistencia que presentan las fibras de alginato de sodio. La viscosidad se vio afectada por el pH empleado en la conversión, encontrando que el efecto fue significativo a valores de pH de 6 y 10.

Referencias

Arvizu-Higuera, D.L., Hernández-Carmona, G. y Rodríguez-Montesinos, Y.E. (1995). Sistemas en carga y en flujo continuo durante la etapa de preextracción ácida en el proceso de extracción de alginatos. *Ciencias Marinas* 21(1): 25–37.

Considering the results obtained in this study from the alga *Macrocystis pyrifera*, the following process to convert the alginic acid to sodium alginate is proposed: the alginic acid fibers should be put in a 50:50 alcohol-water mixture, in a volume of mixture of 10 mL g⁻¹ of the initial weight of the alga. Sodium carbonate (10%) is added until a pH 8 in the suspension is reached and stirring is maintained during 30 minutes. Then, fibers are pressed and dried at 50°C.

Conclusions

From all of the factors experimented in this work, the proportion of alcohol in the alcohol-water mixture was the only one that significantly affected the alginate yield. This variation was directly proportional to the alcohol reduction. The product loss was probably due to the alginate handling in the pressing step, given the consistency change shown in the sodium alginate fibers. The viscosity was affected by the pH used in the conversion, finding that the effect was significant at pH values of 6 and 10.

English translation by the authors.

-
- Arvizu-Higuera, D.L., Hernández-Carmona, G. y Rodríguez-Montesinos, Y.E. (1996). Efecto de la temperatura y el tiempo de extracción en el proceso de obtención de alginato de sodio a partir de *Macrocystis pyrifera*. *Ciencias Marinas*, 22(4): 511–521.
- Baranov, V.S., Locev, V.N., Guernet, N.A., Kuchumova, R.P. and Kuchumov, A.M. (1980). Method to obtain sodium alginate. Patent 707, 561, USSR.
- Clare, K. (1993). Algin. In: *Industrial Gums*. R.L. Whistler and J.N. BeMiller (eds.) Academic Press, Inc., pp 105–143.
- Clark D.E. and Steiner A.B. (1949). Production of fibrous water-soluble alginates. US Patent 2, 277, 861.
- Haug, A., Larsen B. and Smidsrod O. (1963). The degradation of alginates at different pH values. *Acta Chem. Scand.*, 17(5): 1466–1468.
- Haug, A. (1964). Composition and properties of alginates. Report 30. Norwegian Institute of Seaweed, Trondheim, Norway, 123 pp.
- Hernández-Carmona, G. y Aguirre-Vilchis, M. (1987). Propiedades de intercambio iónico de *Macrocystis pyrifera* durante la pre-extracción ácida, para la extracción de alginatos. *Inv. Mar. CICIMAR*. 3(2): 53–64.
- Hernández-Carmona, G. y Casas-Valdez, M.M. (1985). Precipitación del ácido alginico y su conversión a alginato de sodio en muestras de *Macrocystis pyrifera*. *Inv. Mar. CICIMAR*. 2(1): 18–28.
- Hernández-Carmona, G., McHugh, D.J., Arvizu-Higuera, D.L. and Rodríguez-Montesinos, Y.E. (1999a). Pilot plant scale extraction of alginate from *Macrocystis pyrifera*. 1. Effect of pre-extraction

- treatments on yield and quality of alginate. *J. of App. Phycology*, 10: 507–513.
- Hernández-Carmona, G., McHugh, D.J. and López-Gutiérrez, F. (1999b). Pilot plant scale extraction of alginate from *Macrocystis pyrifera*. 2. Studies on extraction conditions and methods of separating the alkaline-insoluble residue. *J. of App. Phycology*, 11: 493–502.
- Kelco (1986). Kelco algin hydrophilic derivatives of alginic acid for scientific water control. San Diego, Kelco Division of Merck and Co. Inc., 56 pp.
- King, A.H. (1983). Brown seaweed extracts (alginates). In: M. Glicksman (ed.) *Food Hydrocolloids*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 115–188.
- LeGloahec, V.C.E. and J.R. Herter (1938). Method of treating seaweeds. US Patent 2, 128, 551.
- Lukachyov, O.P. y Pochkalov, V.K. (1965). Method to obtain alginate from brown algae. Patent 200, 416, USSR.
- McDowell, R.H. (1977). *Properties of Alginates*. 4th ed., Alginat industries. Ltd., London, 67 pp.
- McNeely, W.H. (1959). Polysaccharides and their derivatives. In: R.L. Whistler (ed.) *Industrial Gums*. Academic Press, New York and London, pp. 61–79.
- McHugh, D.J. (1987). Production, properties and uses of alginates. In: D.J. McHugh (ed.) *Production and utilization of products from commercial seaweeds*. FAO. Fish. Tech. Pap., (288): pp. 58–115.
- Smidsrød O. and Draget K.I. (1996). Chemistry and physical properties of alginates. *Carbohydrates in Europe* 14: 6–13.
- StatSoft (1995). 2325 East 13th Street, Tulsa, OK 74104. 1878 pp.
- Zar, J.H. (1984). *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, 718 pp.
- Zvered, D.I., Afonin, B.P., Sendzimerzh, A.L., Andrievskiy, Y.P., Petzakova, T.N. and Andrievskaya, V.V. (1969). Recovery of alginates from brown algae. Patent 229, 213. USSR.