

Trabajo del Laboratorio Químico Municipal  
Director: Dr. Prof. Antonio Peluffo.

---

## SOBRE UNA REACCIÓN DE FLOCULACIÓN DE LA MIEL DE ABEJAS

por

J. M. GUTIERREZ DIAZ

Entre los diversos componentes de la miel de abejas, las proteínas provenientes del néctar, del polen, de diversos exudados vegetales, y del tubo digestivo del ávido que la elabora, es la parte más interesante desde el punto de vista biológico, por radicar en ellas toda la especificidad de la miel.

Estas proteínas presentan, en conjunto o aisladamente, propiedades que son otras tantas reacciones de caracterización que pueden usarse para la identificación de las mieles.

Existen reacciones de floculación, relacionadas con la estructura físicoquímica de las proteínas, que no han sido usadas aún en la miel con el fin de investigarlas en ella, y menos con la intención de estudiar algunas de sus propiedades físicoquímicas y de conocer mejor su estructura.

El presente trabajo tiene, pues, por fin, contribuir al estudio de las proteínas de la miel, empleando las reacciones de floculación que se producen al poner en conflicto ésta con soluciones de colorantes (coloides) en ciertas condiciones.

*La miel desde el punto de vista físicoquímico* es un sistema polidisperso, constituido por coloides micelares,

coloides moleculares, coloides electrolíticos anfolitos, y electrolitos propiamente dichos.

En esta escala de dispersión son los coloides hidrófilos (coloides electrolíticos anfolitos), los que hacen de la miel, y de sus diluciones en agua destilada (una vez eliminadas las suspensiones groseras, por filtración; filtro Schleicher y Schüll N.º 597; dimensión del poro:  $2,9 \mu$ ) medios ópticamente llenos sin necesidad de recurrir al cono de Tyndall, a simple vista, y que juegan un rol preponderante en el mecanismo de las experiencias que estudiamos a continuación:

### PARTE EXPERIMENTAL

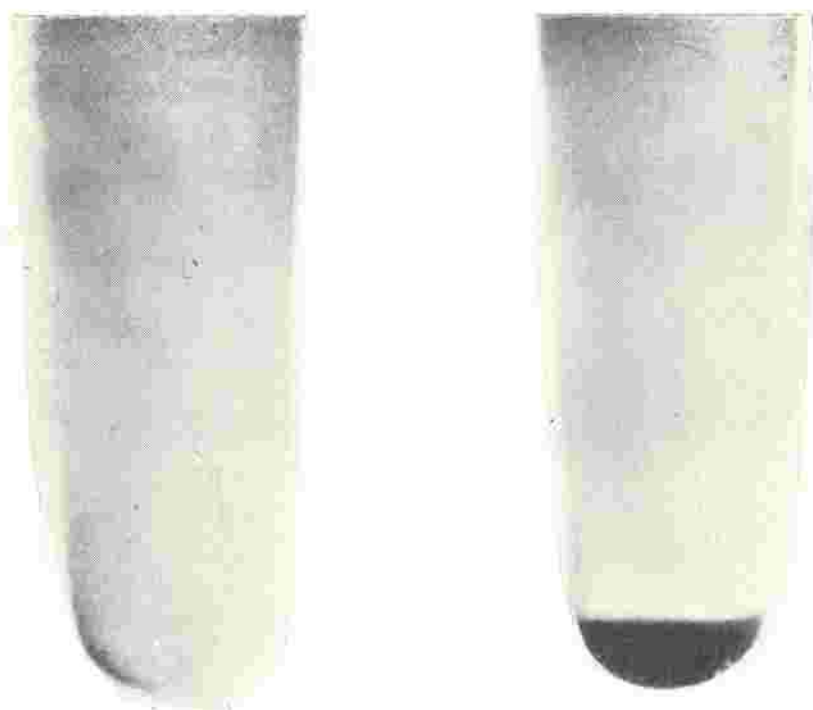
A fin de poder estudiar la acción mutua de las soluciones de colorantes (coloides) sobre las diluciones de miel, hemos efectuado diversos ensayos conducentes a fijar las condiciones de la experiencia.

1.º Los colorantes usados en estos ensayos han sido:

Nombre del colorante.	Procedencia.	Signo coloidal.
Rojo Congo.	Dr. Grübler.	+
Rojo Burdeos R.	Sociedad An. des Mat.	+
Punzó R 3.	Colorantes de St. Denis	+
Azul Lumière Dubosc.	Thibouméry y Dubosc.	+
Verde Janus.	—	—
Azul de Metileno.	Merek.	—

El signo eléctrico de estos diversos colorantes ha sido fijado por análisis electrocapilar, dando por resultado el expuesto en el cuadro N.º 1.

2.º Si se hacen diluciones de miel de abeja en agua destilada (soluciones de diversas concentraciones 10 %, 20 %, etc.) luego de eliminar las suspensiones groseras (cera, polen, resinas o esencias precipitadas), se obtiene un líquido turbio cuya opalescencia es variable para cada miel en ensayo, y dependiente de la cantidad de proteínas existentes en la solución.



**Reacción de Floculación de la miel de abejas.**

A. — Recientemen-  
te mezclados  
los reactivos.

B. — Después de  
12 horas.

Fototécnica  
Moreno-Gómez

La miel es naturalmente ácida, y se obtiene, para estas diluciones, una concentración de hidrogenión entre números bastantes próximos, dando naturalmente a estas diluciones un pH entre 3,5 — 4,5.

Siempre que se mantenga el pH en esa zona, aun cuando se varíe la temperatura hasta 100° C (aun por espacio de varios días), persiste su opalescencia, y se mantiene el coloide en perfecto equilibrio sin notar que haya llegado a la floculación, no obstante encontrarse el pH del medio en la zona en que están generalmente comprendidos los puntos isoelectricos de las diversas proteínas.

Por el contrario, cuando se mezclan esas diluciones (miel al 10 % ; dilución en agua destilada) con soluciones acuosas de los diversos colorantes (concentración 0.0120 %) en volúmenes iguales, se nota que, siempre que se trate de colorantes positivos, se producen modificaciones en el estado físico de la suspensión; los gránulos se sueldan entre sí, formando micelas cada vez mayores que, sobrepasando el umbral (seuil) de la floculación, llegan a enturbiar cada vez más el dispersante, antes de separarse de él.

Si la temperatura se mantiene muy vecina a la normal (temp. 15° C. isoterma óptima), al cabo de 6 a 12 horas (tiempo de floculación lenta), se produce la floculación de las proteínas, por adsorción entre las micelas del colorante y las gigantescas moléculas de las proteínas (enorme volumen que le da a éstas todas sus propiedades coloidales).

Fijadas las condiciones de la experiencia, la adsorción seguida de la floculación es segura en el tiempo establecido. En otras condiciones, puede resultar que no se produzca o que se produzca en un tiempo mucho más breve.

La falta de acidez o la acidez muy alta puede impedir la floculación; la disminución de concentración de los reactivos, lo mismo.

La temperatura acelera la reacción: a 80° C. puede producirse en 2 horas.

## MECANISMO DE LA REACCION

### SUS FUNDAMENTOS FISICOQUIMICOS

La naturaleza coloidal de la miel nos suministra una base firme para los fundamentos de estas reacciones, pues sabemos que, frente a los colorantes también coloides, debe producir su acción mutua de descarga y floculación.

Los trabajos conocidos de Biltz, Raehlmann, Michaelis, Haber, etc., sobre la naturaleza coloidal de los colorantes, sus reacciones entre sí, y con los electrólitos y coloides orgánicos e inorgánicos, cargados positiva o negativamente, no dejan lugar a duda acerca de la naturaleza de la reacción que estudiamos.

Raehlmann observó, en otras ocasiones, la reunión de submicrones, añadiendo colorantes a soluciones de albúminas.

Ahora bien; en general, fuera de los casos de floculación espontánea o por envejecimiento, los coloides flocculan porque estando sus micelas cargadas de electricidad, se llegue por un procedimiento cualquiera a descargarlos.

El punto isoeléctrico donde la descarga es total o, por lo menos, máxima, corresponde al mínimo de solubilidad, el máximo de floculación. Un sistema de partículas en estado de pseudosolución o suspensión coloidal poseyendo carga eléctrica, floccula cuando la diferencia de potencial entre las partículas y el medio externo cae por debajo de cierto límite: el potencial crítico de floculación.

La floculación propiamente dicha, se sabe, es caracterizada por la formación de nubes o copos en el seno de la fase dispersante, visibles a simple vista, tal como se presenta en la experiencia; demorando un tiempo largo en producirse (6 a 12 horas), llegando, al cabo de 24 horas, a la sedimentación: estado último del fenómeno.

Tal es el desarrollo del mismo en experiencia. Puede verse en la fotografía la floculación efectuada (24 horas)

y completamente sedimentada en una dilución de miel genuina.

Encontrándose las proteínas en un medio cuya reacción actual, si no corresponde, es por lo menos muy vecina al punto isoeléctrico, su diferencia de potencial con el dispersante se encuentra muy cercana, o corresponde, al potencial crítico de floculación, pero las proteínas pueden aún en ese estado permanecer en equilibrio. Nosotros pensamos que tal es el estado en que se encuentran las proteínas en la miel, muy cercano al punto isoeléctrico, dada la acidez del medio, pero no coincidiendo con él. Esto explicaría el hecho de no producirse la floculación con adsorción cuando se disminuye el pH. Aquí también como en la mayoría de los casos, la carga de las partículas coloidales de los albuminoides es negativa, pero muy pequeña. Es un hecho general de acuerdo con las teorías de Lœb, Bugarszky, Liebermann, etc.

En estas condiciones, en que la disociación se hace en iones complejos de proteína, negativos, las micelas coloidales de los colorantes (algunos moleculares dispersos como el Rojo Congo), ácidos (positivos), neutralizan sus cargas, produciendo una adsorción recíproca que tiene todas las apariencias de una reacción química, adsorción que hace desaparecer la diferencia de potencial con el dispersante, con el natural desenlace: la floculación.

## CONSIDERACIONES SOBRE LOS RESULTADOS

*Rojo Congo.* — Este molecular disperso vira, en presencia de la miel, al violeta rojizo, floculando en copos rojos con una marcada acción de descarga.

*Burdeos R.* — Coloide menos sensible a los electrólitos, en presencia de la miel no vira, pero produce, por la acción mutua del coloide colorante con las proteínas de la miel, una acción de descarga recíproca en la zona de contacto, que lleva a ambos a sobrepasar el umbral con formación de copos perfectamente visibles a simple vista.

*Punzó R 3.* — Igual comportamiento que el anterior.

*Azul Lumière Dubosq.* — Igual comportamiento que los anteriores.

*Verde Janus.* — Coloide perfecto, pero colorante básico presenta, frente a la miel, las siguientes reacciones:

Cambio de coloración (acción de hidrogeniones); después de 48 horas de observación no se nota floculación.

*Azul de Metileno.* — Presenta, en idénticas condiciones, un ligero viraje (pH) sin floculación.

---

Es evidente que el hidrogenión es el que provoca en todos los casos el viraje del color, que es el cambio de magnitud de los ultramicrones.

Como se habrá podido notar no hay floculación en presencia de colorantes como el verde de Janus y el azul de metileno (colorantes básicos), y la hay frente al rojo Congo, rojo Burdeos R, Punzó R 3, y Azul Dubosq (colorantes ácidos; positivos).

La eliminación de las proteínas de la miel hace desaparecer la reacción; por otra parte, los otros diversos componentes corrientes eventuales de la miel no intervienen en la reacción, siendo incapaces por sí de producirla.

### CONCLUSIONES

1.º Que las proteínas de la miel se encuentran muy cercanas al punto isoeléctrico, pero no coincidiendo con él, en las condiciones de la experiencia.

2.º Que dada la reacción del medio (en las diluciones ensayadas) la carga de las partículas es negativa.

3.º Que puesta en conflicto con coloides de signo contrario se produce la floculación por adsorción, debido a una acción de descarga o neutralización con semejanza a una reacción química.

4.º Que dado que son las proteínas las que frente a los colorantes floculan, este fenómeno fundamenta la reacción de investigación de las mismas en la miel de abejas.

5.º Que podría también utilizarse, para la eliminación de las proteínas, del medio que las contenga.

#### BIBLIOGRAFIA

- Boutaric A.** Sur la possibilité de modifier á volonté le signe électrique des colloïdes. *Revue gen. des colloïdes*, N.º 44. Juin 1927.
- Boutaric A.** La floculation des solutions colloïdales. *Journ. de Pharm. et de Chimie*, N.º 8. 1928.
- De Layens G.** y **Bennier Gastón.** *Apicultura*. (Notas de Langstroth, Dadant, Collin.) Traducción española. E. de Mercader-Belloch. Barcelona, 1907.
- Duclaux.** *Les Colloïdes*.
- Hommell.** *Apicultura* (traduc. española de la cuarta edic. francesa). Barcelona. Edit. Salvat, 1924.
- Kopaczewski W.** *Traité de Biocolloïdologie*. 1930.
- Lumière A.** *Les modalités de la floculation des colloïdes*. Presse Med. 1930.
- Leeb Jacques.** *Les Protéines* (traduit de l'Anglais par H. Mouton), año 1924.
- Michaelis L.** *Técnicas de Físicoquímica* (traducción española). J. Mur y Sancho. Barcelona, 1925.
- Zsigmondy R.** *Coloidequímica* (traducción de la tercera edición alemana). E. Moles. Edit. Calpe.
- 
- Codex Alimentarius Sudamericano.** *Actas del Congreso de Química* Montevideo. 1930.
- Chimical Abstratt.** Año 1934.
- Anales de la Sociedad Química Argentina.** Año 1918.

Agosto 20 de 1936.