

277.006

P. 22.675.-

GB 5060/BB, 4675

277008



283

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar

P A T E N T E     D E     I N V E N C I O N

e n

E S P A Ñ A

por VEINTE años

a nombre de AMERICAN VISCOSE CORPORATION, entidad norteamericana, establecida en 1617 Pennsylvania Boulevard, Filadelfia, Pensilvania, Estados Unidos de América, por:

"PROCEDIMIENTO PARA LA SEPARACION CROMATOGRAFICA DE UNA MEZCLA"

Este invento se refiere a cromatografía en columna, y particularmente a un material adsorbente mejorado para uso en la columna.

5 Como es sabido, la cromatografía en columna es de aplicación general para procedimientos tales como la separación de mezclas, la purificación de sustancias, la concentración de materiales de una solución. Por ejemplo, en el caso de una mezcla que tenga que ser separada en sus constituyentes individuales, puede disolverse primero dicha mezcla en un disolvente e introducir la solución resultante en la columna, pa-

10

277006

28



sando el disolvente hacia abajo y dejando una cierta cantidad de la mezcla en la porción superior. Luego se lava la columna con varias porciones de un disolvente o eluyente, con el fin de desarrollar o revelar el cromatograma; dicho con  
5 otras palabras, el efecto de las adiciones del disolvente es hacer descender por la columna la mezcla, o mejor dicho, sus constituyentes. La velocidad de recorrido a través de la columna es específica para cada constituyente, siendo conveniente, como es lógico, que las velocidades difieran lo más posible entre sí, ya que sólo sobre esta base es posible hacer una separación de los constituyentes. En un método preferido, las adiciones de disolvente se hacen de modo continuo en vez de por tandas sucesivas, y los efluentes de la columna se recogen en una serie de recipientes o fracciones,  
10 recogiendo cada fracción dentro de un período definido de tiempo y reemplazándose después por otro recipiente sucesivo.

Los constituyentes que forman la mezcla se encontrarán repartidas por las fracciones en mezcla con el disolvente.  
20 Así, por ejemplo, un constituyente puede encontrarse en una o en varias fracciones sucesivas; otro constituyente puede encontrarse en el grupo siguiente de fracciones que puede comprender una o varias fracciones sucesivas, y así sucesivamente. Los constituyentes pueden extraerse sencillamente por  
25 evaporación del disolvente.

Como se comprenderá evidentemente, la separación de la mezcla en sus constituyentes depende de varias condiciones, siendo una de las más importantes el material adsorbente contenido en la columna.

30 Un objeto principal del invento es proporcionar un ad-

277006



5 sorbente mejorado para cromatografía en columna en forma de agregados de cristallitos de celulosa, producto obtenido por la hidrólisis ácida de celulosa, formándose así una porción amorfa soluble en ácido y una porción no fibrosa, insoluble en ácido. Esta última es un residuo o resto cristalino. Se lava y se extrae. Recibe el nombre de agregados de cristallitos de celulosa o de G.P. (grado de polimerización) nivelado. Este producto, así como un método para su fabricación, se encuentran descritos en un artículo de O.A. Battista titulado "hidrólisis y cristalización de celulosa", Vol. 42, Industrial and Engineering Chemistry, páginas 502-7(1950). Los agregados de cristallitos de celulosa mecánicamente desintegrados o celulosa de G.P. nivelado, se describen en nuestra patente americana núm. 2.978.446, de 4 de Abril de 1961.

15 Entre otras ventajas, los agregados de cristallitos de celulosa presentan una capacidad especial para absorber y adsorber compuestos químicos. Es de particular interés el hecho de que los agregados de cristallitos tienen la propiedad de absorber selectivamente materiales hidrófobos u oleaginoso. Igualmente, es importante a este respecto la presencia de numerosas pequeñas grietas y fisuras sobre las superficies de los agregados de cristallitos. Estos agregados están caracterizados particularmente por su elevada pureza, en virtud de lo cual están notablemente libres de toda tendencia a contaminar los materiales con los que se ponen en contacto, particularmente los productos farmacéuticos y bioquímicos delicados, tal como enzimas. Otra ventaja más de los agregados reside en que puede controlarse su tamaño y la distribución del tamaño de partícula, es decir, el tamaño de partícula y la distribución de tamaño de partícula se pueden reproducir

20

25

30

277006



de un lote a otro y pueden variarse a voluntad dentro de amplios límites de tamaños y distribuciones de tamaño.

5 Puede observarse que el "cristalito", tal como aquí se usa, es un racimo de moléculas o cadenas de celulosa, estrechamente apretadas, dispuestas longitudinalmente, y que los "agregados" son racimos de cristalitos. Puede decirse también que los agregados comprenden grupos de cadenas lineales rectas, rígidas, relativamente no retorcibles. Según se indican los ensayos de difracción de rayos X, los cristalitos y los agregados de cristalitos tienen un diagrama de difracción neto, que indica una estructura sustancialmente cristalina. Aunque las cadenas de cristalitos son de longitudes muy uniformes, particularmente en comparación con las cadenas de celulosa originales, sí presentan, hablando estrictamente, alguna variación, y por esta razón, seprefiere hablar de longitud promedio, o de valores de G.P. nivelado promedios.

10 Los agregados de cristalitos de celulosa, o celulosa de G.P. nivelado, adecuados para uso en el invento, se caracterizan por un G.P. nivelado promedio de 15 a 375.

15 Asociado con las propiedades del G.P. nivelado anteriormente mencionadas de los agregados de cristalitos está el hecho de que su pureza química es muy considerable, conteniendo el material por lo menos 95% de unidades de poliglucosa o anhidroglucosa (preferiblemente por lo menos 97% o 99%), basado en el análisis cromatográfico. En cuanto el contenido de cenizas, los agregados contienen preferiblemente menos de 100 pp.m. (partes por millón), aunque la ceniza puede estar comprendida entre aproximadamente 10 y aproximadamente 400 o 500 o 600 p.p.,. A modo de comparación,

277006



puede indicarse que la celulosa fibrosa corriente puede tener de 1000 a 4000 p.p.m. de ceniza.

Los agregados de cristallitos de celulosa son generalmente útiles en procedimientos de separación basados en la adsorción cromatográfica. No solamente pueden desdoblarse las mezclas en sus componentes, sino que, además, puede separarse una sustancia de otra o de una pluralidad de sustancias, y, análogamente, dos o más sustancias pueden separarse de una sustancia o de una pluralidad de sustancias.

Los siguientes ejemplos pueden ilustrar el uso de los cristallitos para la separación de una mezcla en sus componentes:

#### Ejemplo 1

Se formó una papilla dispersando agregados de cristallitos de celulosa en un disolvente preparado a partir de 1 volumen de butanol, 2 volúmenes de isopropanol, y 1 volumen de HCl 1 N. Los agregados tenían un G.P. promedio nivelado de 220, una pureza superior a 96%, un contenido de humedad de 5%, aproximadamente, y un tamaño de partícula dentro de los límites generales de por debajo de 1 hasta 250 micrones, de los cuales aproximadamente el 10% tenían un tamaño por debajo de 44 micrones, aproximadamente el 40% tenían un tamaño entre 44 y 74 micrones, y de 40 a 50%, de más de 74 micrones. La papilla (que resultó una manera conveniente de colocar los agregados en la columna, aunque hubieran podido introducirse también en la misma en forma seca), se vertió luego cuidadosamente por el lado de una columna de vidrio de 46 cm. de largo que tenía un diámetro interno de 2,5 cm., procurando que no se formaran canales ni bolsas de aire en

277005 2



el material. Un disco de vidrio fritado, introducido previamente, sirvió para soportar los agregados en la columna. A medida que escurria disolvente de la columna, se añadieron cantidades adicionales por la parte superior para mantener  
5 exceso de disolvente arriba. Cuando ya no se sedimentaban nuevas cantidades de agregados, se dejaba escurrir el disolvente.

Luego se preparó una mezcla de aminoácidos que contenía 100 mg. de cada una de las tres sustancias siguientes:  
10 ácido aspártico, histidina y cisteína. Estas sustancias se disolvieron en agua y la solución resultante se completó hasta volumen de 100 ml. Esta solución se consideró como solución de reserva. Se añadieron unos 30 ml. de dicha solución de reserva por la parte superior de la columna, y al  
15 mismo tiempo, se colocó en posición un colector automático de fracciones conteniendo 50 tubos de ensayo de 10 ml., en el fondo de la columna, para recoger los efluentes. Se añadió la totalidad de la solución de reserva a la columna, en porciones de 30 ml., y después se dejó que el disolvente  
20 butanol-isopropanol-HCl goteara continuamente a la parte superior de la columna y pasase a través de la misma. El disolvente no disolvía los aminoácidos en las condiciones empleadas sino que sirvió para ayudar a que fluyeran a través de la columna a velocidades diferentes, desarrollando así el  
25 cromatograma. Al cabo de 4-5 horas, se recogieron todas las muestras y luego se hizo una reacción de manchas según Feigl, con el fin de apreciar la eficiencia de separación de los aminoácidos. Se roció papel de filtro Whatman nº 1, con una solución al 2% de ninhidrina (tricetohidrindeno), y luego  
30 se secó el papel en la estufa a 105°C durante 5 minutos. Dos

277008



gotas procedentes de cada fracción formaron manchas sobre el  
papel secado en orden numérico a lo largo de una serie de posi-  
ciones separadas, después de lo cual se secó otra vez el papel  
en estufa a 105° C durante 5 minutos. Se encontró que el primer  
aminoácido salía generalmente de la columna después de haber  
recogido varios tubos de ensayo. Cada uno de los aminoácidos dió  
un color distintivo sobre el papel de filtro Whatman, estando  
separados perfectamente entre sí los colores a lo largo del pa-  
pel. Como se comprenderá, los colores se forman por la reacción  
entre la ninhidrina y el aminoácido. Los tubos de ensayo que con-  
tenían los aminoácidos se pusieron aparte, haciéndose un aná-  
lisis de nitrógeno de su contenido. Los resultados fueron los  
siguientes:

Muestra N° según ensayo de mancha	Aminoácido	% nitrógeno.
6	Acido aspártico	0,06
25	Histidina	0,05
35	Cisteína	0,04
Control	Ninguno	0,00

El reactivo ninhidrina se preparó disolviendo 2 gramos  
de la misma en 50 ml. de agua y añadiendo luego sobre la solu-  
ción resultante una mezcla de 80 mg. de cloruro estannoso en  
50 ml. de agua. La mezcla se dejó en reposo en la oscuridad  
durante 24 horas, después de lo cual se separó el precipitado  
por filtración, dejando la solución de reserva de ninhidrina.

#### Ejemplo 2

Se hidrolizó a azúcares, pulpa de madera secada al aire,  
en una cantidad de 0,3 gr., por medio de ácido sulfúrico, según

277006 20



el procedimiento corriente descrito en "Manual de Métodos Cromatográficos. Análisis de Pulpas Purificadas por Cromatografía en Papel Cuantitativa (25 de marzo, 1957)", de J. F. Saenan, Forest Products Laboratory, U.S. Dept. of Agriculture, Madison 5, Wisconsin. Después de neutralización y concentración, se obtuvieron 15 ml. de una solución acuosa de azúcar cuyo contenido azucarado era el siguiente: 95,66% en peso de glucosa; 2,86% de manosa; y 1,48% de xilosa.

Se preparó una columna de agregados de cristallitos de celulosa usando los agregados y el procedimiento descritos en el Ejemplo 1, a excepción de que los agregados tenían un tamaño de partícula entre los límites de 40 y 250 o 300 micrones. La solución de los azúcares se vertió por la parte superior de la columna y se dejó que descendiera por la misma. Mientras quedaba todavía algo de la solución de azúcar aproximadamente al nivel del adsorbente, se añadieron varias porciones de un eluyente que comprendía una mezcla 9:1:1 (relación en volumen) de acetato de etilo, ácido acético y agua. Posteriormente se dejó gotear continuamente el eluyente en la columna. Se recogieron un total de 45 fracciones de 10 ml. cada una. Se detectó azúcar en las fracciones números 13, 14 y 15, por medio de la reacción corriente de manchas según Vogel. La fracción número 14 se evaporó hasta reducirla a 1 ml., aproximadamente, y se identificó la xilosa por un método de ensayo corriente de cromatografía en papel para la identificación cuantitativa de azúcares, según se describe en la referencia de Saenan citada arriba. Se encontró que ninguna de las otras 45 fracciones contenían azúcar de ninguna especie, deduciéndose, pues, como evidente que la glucosa y la manosa habían quedado retenidas en la columna. Igualmente, se

277038



dedujo evidentemente que la columna había separado el azúcar presente en la mínima concentración de los otros dos.

Ejemplo 3

5           Se prepararon las siguientes columnas de materiales adsorbentes: (1) agregados de cristalitas de celulosa de la clase empleada en el ejemplo 1; (2) agregados de cristalitas de celulosa de la clase empleada en el Ejemplo 1, a excepción de que tenían un tamaño menor de 44 micrones; (3) un material adsorbente comercial que contenía celulosa fibrosa corriente que se había molido hasta un tamaño de partícula promedio que era mayor de 200 mallas y que tenía un contenido de humedad comprendido entre los límites de 6 y 7 % en peso; (4) un adsorbente empleado en el comercio que contenía fibras de acetato de celulosa corrientes cuyo diámetro correspondía al de una fibra de acetato de 8 deniers por filamento (unos 30 micrones de diámetro). Luego se preparó una mezcla añadiendo aproximadamente 0,5 gramos de tinta negra soluble en aceite sobre 100 gramos de aceite de semilla de algodón. La mezcla de aceite-tinta se añadió por la parte superior de cada una de las 4 columnas y se dejó que se moviera en sentido descendente por gravedad. Se añadió 1 ml. de la mezcla a cada una de las columnas, a excepción de la columna (1), que presentaba una penetración tan lenta de la mezcla que solamente pudieron añadirse inicialmente 0,1 ml. Sin embargo, al cabo de 1 y 3/4 de hora, se añadió un total de 0,8 ml: a la columna (1). A medida que continuaba el ensayo, se puso de manifiesto que la columna (1) tenía el movimiento descendente más lento, con mucha diferencia, de la mezcla de aceite. Esto se atribuyó a la ad-

10

15

20

25

30

27700-20



sorción muy elevada de la mezcla sobre el material adsorbente. La columna (1) presentaba también la separación de reparto más uniforme de los componentes de la mezcla, habiendo presente un cierto número de bandas comprendidas entre gris claro en la parte inferior de la columna, y negro, en la parte superior de la misma. La columna (2) presentaba una penetración más rápida por la mezcla aceitosa que en el caso de la columna (1), y la separación en bandas era completamente uniforme. En el caso de las columnas (3) y (4), se produjo acanalamiento, y se consideró que la eficiencia de separación era netamente inferior a la observada con cualquiera de las columnas (1) o (2).

#### Ejemplo 4

Se prepararon 3 columnas de materiales adsorbentes: Las números 1 y 2, que eran las mismas que los números 1 y 2 del ejemplo anterior, y la número 5, que contenía celulosa fibrosa corriente, que era la misma que en el número 3 del ejemplo anterior, a excepción de que se había molido para que pasase a través de un tamiz de malla 325. Se añadió una tinta de escribir azul comercial por la parte superior de cada columna en cantidades iguales y se dejó percolar a su través durante unas 72 horas. Sometidas a examen, las columnas 1 y 2 mostraron ambas separación de los componentes de la tinta, habiendo presentes un cierto número de bandas comprendidas entre azul claro en el fondo de la columna, y azul oscuro, en la parte superior. Tanto el número 1 como el 2 presentaban bordes nivelados y muy netos entre las diversas bandas y no mostraban señales de acanalamiento. La columna número 3 presentaba un acanalamiento marcado y, aun-

277006



que había una cierta separación de la tinta en bandas, éstas no estaban netamente definidas, y los bordes entre bandas estaban deformados, extendiéndose parte de cada banda dentro de las situadas por encima y por debajo.

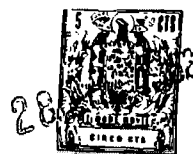
5

Ejemplo 5

Se prepararon las 4 columnas siguientes de materiales adsorbentes: la número 6, que contenía el mismo material que la número 1 del ejemplo anterior, a excepción de que se le había dado un lavado con etanol y se había secado al aire; la número 7, que era la misma que la número 1, a excepción de que contenía partículas que no pasaban a través de un tamiz de malla 200, es decir, que las partículas tenían un tamaño de 74 micrones y mayor, subiendo hasta 250 micrones; la número 8, que era también igual que la número 1, a excepción de que contenía partículas que pasaban a través de un tamiz de malla 200, es decir, partículas de un tamaño por debajo de 74 micrones; y la número 9, que era la celulosa fibrosa corriente de la número 3 teniendo partículas mayores de malla 200.

Luego se tomaron 4 ml. del colorante adimentario rojo de Burnett, y se diluyeron con agua hasta 20 ml; análogamente, se tomaron 4 ml. de colorante amarillo de Burnett y otros tantos de colorante azul y cada uno de éstos se diluyó hasta 20 ml. Luego se mezclaron los 3 colorantes diluidos y se completaron hasta un total de 100 ml., formando una mezcla compuesta de los colorantes. Se añadieron por la parte superior de cada columna 20 ml. de la mezcla. Después de 96 horas, las columnas números 6, 7 y 8 habían separado todas ellas la mezcla colorante en una banda inferior de color azul, una banda verde por encima de la azul, y una banda parduzca por encima de la ver-

277006



de. La columna número 6 presentaba también una banda rojiza por encima de la parda, y una banda todavía más oscura por encima de la roja. Resultó evidente que los colorantes amarillo y azul primitivos se habían combinado formando el color verde. En la columna número 9 se produjo acanalamiento y, aunque tuvo lugar una separación de los colores, la eficiencia de separación fué peor que la de las otras columnas, siendo menos netos los límites entre bandas.

#### Ejemplo 6

Se preparó una solución al 0,5% en peso de un colorante amarillo liposoluble, amarillo Parakeet nº 6, en aceite de semilla de algodón, y la solución resultante se añadió por la parte superior de una columna que contenía agregados de cristallitos del tipo utilizado en la columna Nº 1 del ejemplo 1. Una vez que la solución había descendido por la columna, se observaron dos bandas: una banda inferior muy ancha sustancialmente del color del aceite de semilla de algodón, y una banda amarilla superior más estrecha en la que se había concentrado el colorante amarillo. La separación entre las dos bandas apareció completamente neta y perfecta. Resultó claro, por simple observación visual, que los agregados habían adsorbido el aceite separándole del colorante, a pesar de que este último era soluble en el aceite, o dicho de otra forma se demostró que los agregados eran efectivos para decolorar el aceite.

#### Ejemplo 7

Se prepararon las siguientes columnas de materiales adsorbentes: 3 columnas de los agregados de cristallitos usados



277006 20

en la columna nº 1, una columna de los agregados usados en el Nº 2, una columna de la celulosa fibrosa molida corriente usada en la columna nº 3, y una columna identificada aquí como número 10 que contenía gel de sílice comprendiendo partículas que eran retenidas sobre un tamiz de malla 200. Se preparó una mezcla acuosa de colorantes vegetales acuosolubles de Burnett, conteniendo verde, amarillo y rojo Parakeet, y se añadió por la parte superior de cada una de las columnas. La concentración de cada uno de los 3 colorantes en la solución acuosa fue de 0,5% en peso, aproximadamente. Después de que la solución colorante había percolado a través de cada columna, se observaron las siguientes bandas en el caso de las 4 columnas que contenían los agregados de cristallitos: la banda más inferior era amarilla, de poca anchura; encima había una banda roja ligeramente más ancha; por encima del rojo había una banda rosa aproximadamente de la misma anchura; por encima del rosa había una banda muy ancha de color verde-gris; luego venía una banda muy ancha de color verde oscuro y, en la parte superior de la columna, había una banda negra estrecha. La separación entre las bandas anteriores era completamente neta. En cambio, las columnas de celulosa fibrosa corriente y gel de sílice acusaron muy poca separación de los colorantes en bandas distintas y se observó acanalamiento.

En otros métodos preferidos, en lugar de separar materiales adsorbidos de la columna, haciendo fluir un disolvente o un eluyente a través de la misma, pueden eliminarse por separado cada banda o zona de material adsorbido y adsorbente, de la columna, con el fin de extraer el material adsorbido de la misma, mediante un disolvente adecuado, filtrando luego las soluciones resultantes para separar adsorbente só-

277006



lido y eliminando el disolvente por evaporación, dejando el material separado. O también, el material adsorbente con material adsorbido sobre el mismo, puede separarse de la columna en forma de un cilindro húmedo y cortarse en secciones, correspondiendo cada sección a una banda de material adsorbente más material adsorbido, y después puede separarse este último por medio de un disolvente, según se ha descrito.

Son ilustrativas de otras separaciones que entran dentro del invento, el aislamiento de hormonas, tal como estilbestrol, a partir de fuentes naturales que las contienen; la separación de ácidos grasos insaturados, tal como se presentan, p. ej. en el aceite de maíz o en el aceite de semilla de algodón, de ácidos grasos saturados; p. ej., puede separarse ácido esteárico de ácido oléico; o bien, la separación de ácidos grasos insaturados individuales entre sí. Es de particular importancia la separación de aminoácidos, ya sea que estén contenidos en varias mezclas naturales o que se hayan obtenido por la degradación de caseína, colágeno, gelatina y otros materiales proteínicos, p. ej., por hidrólisis con ácido diluido o enzimas proteolíticos. Entre otras separaciones figuran las siguientes: alcaloides de las plantas; colorantes a partir de fuentes naturales y entre sí; esteroides y compuestos afines, a partir de productos naturales; y la separación de isótopos. La sangre puede separarse por lo menos en algunos de sus constituyentes. También se incluye aquí la recuperación de vitaminas a partir de mezclas naturales en las que se encuentran presentes: p. ej. una mezcla de este tipo, después de tratamiento preliminar apropiado, puede disolverse, p. ej. en éter de petróleo, agregarse a la columna, después de lo cual puede utilizarse éter de petróleo o metanol u otro disolvente adecuado para eluir la vitamina. Por este pro-

277006

28



cedimiento general, puede extraerse vitamina A a partir de fuentes tales como hígados de animales; la vitamina D, a partir de aceites de hígado de pescado; tocoferoles, a partir de aceite de germen de cereales; vitamina B<sub>2</sub> partiendo de productos lácteos, etc. Las vitaminas, no solamente pueden aislarse sino también purificarse, lo mismo que, de una manera general, los compuestos farmacéuticos y químicos. Los agregados de cristallitos de celulosa son convenientes además para desodorar y/o decolorar una multitud de productos comerciales entre los que se incluyen alimentos e ingredientes de los alimentos.

Se sobrentenderá que las diversas separaciones se logran mediante la intervención de los mecanismos de adsorción y/o absorción que, por razones de conveniencia, se denominarán aquí acciones o mecanismos de sorción, y que, como es natural, dependen de los disolventes y eluyentes que se empleen. En general, suele ser conveniente que la mezcla que haya que separar esté disuelta en un hidrocarburo saturado del tipo del hexano, heptano, éter de petróleo, etc. Otros de los disolventes son los hidrocarburos cíclicos del tipo del ciclohexano y los hidrocarburos aromáticos, ésteres, hidrocarburos clorados, alcoholes, ácidos y bases.

Los constituyentes de la mezcla desdoblable deben ser fácilmente solubles en el eluyente. Como es natural, este último no ha de reaccionar con los agregados de cristallitos ni tampoco con los constituyentes de la mezcla. En términos generales, se consideran como eluyentes adecuados los alcoholes, éteres, hidrocarburos clorados e hidrocarburos aromáticos. En general, además, los líquidos más polares que los constituyentes adsorbidos desalojarán a estos últimos de los agregados de cristallitos. El eluyente comprende, preferiblemente, una mezcla de dos disolventes,

2770000



por lo menos, de potencia disolvente distinta para los materiales adsorbidos, siendo por lo menos uno de los disolventes menos enérgico que los otros, es decir que tiene un menor poder disolvente para los materiales adsorbidos que los otros.

5 Aunque la descripción precedente se refiere a la separación de soluciones, se sobreentenderá que éstas pueden abarcar soluciones verdaderas, o soluciones o dispersiones coloidales que no acusen materia en partículas cuando se examinan al microscopio. La denominación "materia en partículas" se refiere a la presencia de partículas separadas en la solución. En un sentido más amplio, el invento es también aplicable a dispersiones coloidales que si muestran materia en partículas bajo el microscopio, y a la separación de emulsiones, sean o no estables.

15

- N O T A -

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invencion en España, por VEINTE años, son los siguientes:

1.º.- Procedimiento para la separación cromatográfica de una mezcla en el que dicha mezcla se pone en contacto con un adsorbente, caracterizado porque se emplean como dicho adsorbente, agregados de cristalitas de celulosa que tienen grado de polimerización nivelado.

2.º.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque dichos agregados se distinguen por la uniformidad de las longitudes de sus cadenas constituyentes y el grado de polimerización nivelado promedio está compren-

30

277006 20



dido entre los límites de 15 y 375 unidades de anhidroglucosa.

3º.- Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque los agregados están compuestos de cadenas constituyentes, las cadenas constituyentes de cada agregado están separadas de las de los agregados próximos, y libres de éstas, y dichos agregados tienen un diagrama de difracción de rayos x neto que indica una estructura sustancialmente cristalina.

4º.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizado porque los agregados tienen una pureza química de 95%, por lo menos, y un contenido de cenizas de menos de 100 p.p.m., comprendiendo dichos agregados grupos de cadenas lineales rectas, rígidas, relativamente no retorcibles.

5º.- Procedimiento para la separación cromatográfica de una mezcla.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y con los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de diecisiete hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 20 JUL 1962

P.A.  
Alberto de Elche  
Por Fodas