

33
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

OBTENCION DE ACIDO ALGINICO A PARTIR DE CINCO ESPECIES DE ALGAS CAFES DE BAJA CALIFORNIA SUR, MEXICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A :

MARCELA DE LA ROSA PEREZ



MEXICO, D. F.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

ESTADO DE CALIFORNIA
EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

270416

1999.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO


Presidente:	Prof. Sotelo López Angela	_____
Vocal:	Prof. Iturbe Chinas Francisca	_____
Secretario:	Prof. Carrillo Domínguez Silvia	_____
1er. Suplente	Prof. Villaseñor Gutiérrez Ruth	_____
2o. Suplente	Prof. Escobedo Olea Gabriela	_____

Sitio donde se desarrolló el Tema

Depto. Nutrición Animal
Subdirección de Nutrición Experimental y Tecnología de los Alimentos
del Instituto Nacional de la Nutrición
Salvador Zubirán
(INNSZ)

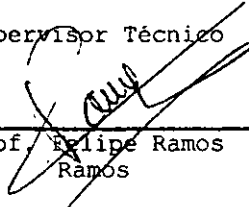
Asesor del Tema

Sustentante



Prof. Silvia Carrillo
Domínguez

Supervisor Técnico



Prof. Felipe Ramos
Ramos



Marcela de la Rosa
Pérez

DEDICATORIAS

A Dios por darme la vida, que con triunfos y fracasos siempre ha sabido cobijarme bajo sus alas

A mis padres (Dr. Luis A. de la Rosa y la Sra. Elba Pérez Cruz) por su inmenso e incondicionable amor y fe depositada en mí

A mis hermanos (Luis, Gladys, Elba y Daniel) por su ejemplo y desinteresado amor en todo momento

A los amigos y a todas aquellas personas siempre fieles, que con las experiencias mutuas hicieron posible esto.

A Silvia Carrillo Domínguez que con sus consejos y desinteresada ayuda, convirtió este trabajo de investigación en una bella amistad

Al sueño más sorprendente de mi vida. Siempre te llevare conmigo
Alberto Mena †

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Fernando Pérez-Gil, por su apoyo y ayuda siempre brindada

A la M.en C. Margarita Casas Valdéz por hacer posible este trabajo

A todo el personal en general del Departamento de Nutrición Animal por su inapreciable ayuda

Al Instituto Nacional de la Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento parcial de este trabajo

A las M. en C Angela Sotelo y Francisca Iturbe por el tiempo prestado a la revisión y acertados comentarios a esta tesis

A la respetable y honorable UNAM en especial a la Facultad de Química, donde orgullosamente obtuve mi formación

INDICE

	Página
Resumen	
1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
2.1 Generalidades de las algas cafés	2
2.1.1 Definición	2
2.1.2 Hábitat	3
2.1.3 Composición química	3
2.1.4 Usos	5
2.2 Polisacáridos	6
2.2.1 Definición	6
2.2.2 Clasificación	6
2.2.3 Aplicaciones de los polisacáridos	7
2.2.4 Polisacáridos de las algas cafés	7
2.3 Acido Algínico	10
2.3.1 Definición	11
2.3.2 Propiedades	12
2.3.3 Contenido en algas cafés	14
2.3.4 Métodos de obtención	16
2.3.5 Aplicaciones del ácido algínico	20
2.3.6 Producción de ácido algínico a nivel mundial	21
3. Justificación	23
4. Objetivos	24
5. Material y Método	25
5.1 Obtención y procesamiento de las algas	25
5.2 Análisis químico aproximado	25
5.3 Método empleado para la obtención de ácido algínico en las cinco especies de algas cafés	26
6. Resultados y Discusión	30
6.1 Análisis químico aproximado de las cinco algas cafés	30
6.2 Obtención de ácido algínico en las cinco especies algales	34
7. Conclusiones	42
8. Recomendaciones	43

RESUMEN

En comunidades que habitualmente consumen algas marinas, se ha visto que aumenta la longevidad de las personas. De hecho se ha visto que los carbohidratos complejos que las algas contienen, disminuyen las concentraciones de colesterol plasmático en humanos y animales de laboratorio. La República Mexicana cuenta con extensos litorales de diversos climas y hábitats donde se desarrolla una gran variedad de especies algales, presentándose las mayores concentraciones en la Península de Baja California Sur. Las algas cafés tienen particular importancia debido a que son una fuente potencial de ácido algínico, polisacárido de gran importancia en la industria de alimentos, farmacéutica, etc.

El objetivo de este trabajo fue cuantificar el ácido algínico en cinco especies de algas cafés de importancia comercial de Baja California Sur, México. El método empleado es el de Haug modificado por Casas ¹.

El contenido de este polisacárido en las algas fue de: 28.63% en *Macrocystis pyrifera*, 17.49% *Padina durvillaei*, 16.23% *Sargassum herporizum*, 15.83% *S. sinicola* y 15.30% *Colpomenia sinuosa*.

Se espera que los resultados obtenidos contribuyan a un mejor conocimiento de los recursos algales de México y a su mayor aprovechamiento en la alimentación humana y animal.

1. INTRODUCCIÓN

Las algas marinas constituyen un recurso muy importante en la alimentación humana debido a su valor nutrimental y a la presencia de metabolitos que pudieran ejercer efectos benéficos en la salud de los individuos que las consumen ². México cuenta con extensos litorales de diversos climas y hábitats donde se desarrollan un gran número de especies algales, presentándose las mayores concentraciones en la Península de Baja California Sur. Representando así una importante posibilidad de desarrollo económico para el país ^{3,4}.

Las algas pardas constituyen uno de los grupos algales de mayor importancia debido a su gran abundancia y a la presencia del ácido alginico, principal polisacárido de las algas cafés. Forma parte de la pared celular de estas algas, y tiene una amplia gama de aplicaciones en la industria textil, farmacéutica, dental y de alimentos, debido a las propiedades físico-químicas que posee y que imparte a los productos en que es incorporado ^{5,6,7}.

Sin embargo, excepto *M.pyrifera* el resto de las otras algas cafés no se explotan en forma alguna en México. De hecho es muy poca la información que sobre su composición química se tiene y menos aun sobre la cantidad de ácido alginico^{1,8}.

La presente investigación forma parte del programa "Aprovechamiento de recursos marinos para la alimentación animal" del Dpto.de Nutrición Animal, del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán.

2. ANTECEDENTES

Es común clasificar a las algas, en base a sus pigmentos, como se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. CLASIFICACIÓN DE LAS ALGAS MARINAS

COLOR VISIBLE	PIGMENTO MAYORITARIO	FAMILIA	GENERO RELEVANTE
VERDE	clorofila a clorofila b β -caroteno luteína	Cloroficeas	<i>Ulva</i> <i>Enteromorpha</i>
CAFE	clorofila a fucoxantina	Feoficeas	<i>Fucus</i> <i>Laminaria</i> <i>Ascophyllum</i> <i>Macrocystis</i>
ROJO	clorofila a β -caroteno ficoeritrina	Rodoficeas	<i>Porphyra</i> <i>Rodhymenia</i>

Fuente: Round, citado por Wood et al.^{9, 10}.

Las algas consideradas en el presente trabajo pertenecen al grupo de las algas cafés o pardas.

2.1. Generalidades de las algas cafés

2.1.1. Definición

Son algas pluricelulares, con el talo muy diferenciado exteriormente, hasta el extremo de presentar frecuentemente, el aspecto de una cromofita, y donde las raíces están representadas por

los rizoides, el talo por el estipe y las hojas por los frondes, que están frecuentemente escindidos de muy diversas formas ¹¹.

2.1.2.Habitat

Las 1500 especies de algas pardas son casi exclusivamente marinas, y sólo tres especies son de agua dulce. Las algas marinas más grandes, pertenecen a este grupo. Son especies de aguas frías, y forman grandes estratos de quelpos a lo largo de las costas del Atlántico Norte (*Laminaria*, *Alaria*) y del Pacífico Norte (*Macrocystis*, *Nereocystis*). El orden Fucales está especialmente bien representado en las aguas frías del hemisferio meridional (Australia meridional, Tasmania, Nueva Zelanda, Africa) con algunos géneros ampliamente distribuidos en las zonas intermareales de las aguas templadas. Varias algas pardas se encuentran también en aguas subtropicales y tropicales; los miembros de los Dyctyotales (*Dictyota*, *Padina*) y Fucales subtropicales (*Sargassum*, *Cystoseira*) son las más comunes. Géneros tales como *Sargassum*, son primariamente del litoral y sublitoral y están ausentes en mar abierto. El mar de los Sargazos, una gran área del Océano Atlántico situada entre las Indias Occidentales y Africa, que relativamente es poco afectada por las corrientes oceánicas, recibe su nombre por la abundancia de algas del género *Sargassum* ¹². La importancia de las grandes plantas bentónicas en el ambiente marino, radica en que proporcionan hábitat (bosques de quelpos, estratos de fucos) y alimento para los herbívoros ¹³.

2.1.3. Composición química

La composición química de las algas cafés sufre variaciones geográficas y estacionales, debido a la exposición al oleaje, corrientes, concentración de nutrimentos, profundidad, temperatura y

el estado de desarrollo de las algas y la porción vegetativa de la planta ^{2,14}.

Mientras el contenido de proteína de las Clorofíceas y de las Rodofíceas fluctúa entre 10.6% y un 27.5%, las Feofíceas sólo llegan a alcanzar contenidos de hasta un 7.8% (Cuadro 2). Y aunque el contenido de proteína de estas algas cafés, es semejante al de otros vegetales como las zanahorias (4%), es pertinente señalar que son deficientes en ciertos aminoácidos esenciales, especialmente de los azufrados¹⁰.

Generalmente, las algas acumulan pocas cantidades de lípidos y con muy pocas excepciones, esta fracción lipídica es muy similar en todos los grupos de algas. Predominando los ácidos grasos insaturados en las algas cafés ^{2,15}.

En cuanto al contenido de minerales y vitaminas, en general en las algas es elevado (Cuadro 2), reflejo de que estos organismos están creciendo en un ambiente marino¹⁴.

Cuadro 2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS ALGAS (% Base seca)

Fracción Química	Cloroficeae	Rodoficeae	Feoficeae
Proteína cruda	12.4-19.3	10.6-27.5	5.9-7.8
Grasa	0.04-1.7	0.78-0.80	0.5-1.9
Cenizas	15.6-19.2	10.3-12.26	15.9-44.9
Fibra cruda	0.2	3.55	2.0-7.7
Carbohidratos	46.2-50.6	40.1	42-58.1
Carotenos (mg)	0.02	0.03	1.00

Fuente: Chapman, Levring, Robinson, Lontoc, De León, citados por Wood et al. ¹⁰.

Respecto a los carbohidratos, se puede decir que en las algas marinas esta fracción comprende a los de reserva y a los estructurales.

En lo que se refiere a los productos de reserva acumulables, los más comunes en las algas pardas son: la laminarina, producto de la fotosíntesis que en las plantas terrestres es el almidón, y el manitol que se forma como resultado del proceso de asimilación y que ocupa en las algas el lugar de la glucosa ^{2,11,12}.

La pared celular de las algas está constituida de celulosa y pectina. Sin embargo, hay otros constituyentes que difieren según la familia de algas a la que pertenezcan. Las feofíceas tienen una pared celular constituida además por ácido algínico o algina y la fucoídina ¹¹.

2.1.4 Usos

Las algas pardas tienen importancia industrial no sólo porque algunas especies son utilizadas como fuente importante de alimentos, sino porque son objeto de la industrialización de diversos productos ^{5,12}.

El descubrimiento de sustancias farmacológicas (fucoídina, laminarina y manitol) con efectos anticoagulantes e hipocolesterolémicos han creado gran interés para que sean utilizadas en dietas para la alimentación animal². Su elevado contenido en minerales, particularmente en yodo, ha ocasionado que también sean explotadas para la obtención de yodo y utilizadas

sistemáticamente en la agricultura, en fresco o incineradas para el abono de los campos ^{11,7}.

Pero en la actualidad, la verdadera utilidad de las algas pardas estriba en su empleo para la obtención de ácido algínico y de los alginatos, polisacáridos de gran importancia en la industria alimentaria ¹¹.

2.2 Polisacáridos

2.2.1 Definición

Los polisacáridos son cadenas largas de monosacáridos, unidos entre sí por enlaces glucosídicos, sintetizados por enzimas a partir de sólo unos pocos tipos de hexosas modificadas y pentosas. Si la cadena está constituida por más de 10 monosacáridos se puede considerar polisacárido. A pesar de esta distinción, la gran mayoría de los polisacáridos naturales, contienen cientos de monómeros, y en ocasiones, varios miles. Su peso molecular, que puede llegar a ser hasta de millones dalton es en realidad un promedio, puesto que las moléculas no son iguales ^{16,17,18}.

2.2.2 Clasificación

De acuerdo con su función biológica, a los polisacáridos se les ha dividido en dos grandes grupos (Fig.1) ^{16,19}: los que constituyen la estructura celular y le confieren rigidez a los tejidos (celulosa, pectinas, gomas, etc.) y los que representan la reserva energética de animales y vegetales (glucógeno, inulina y almidón); cada grupo tiene propiedades físicas y químicas muy distintas.

También se pueden clasificar de acuerdo a las características de los polisacáridos. Por ejemplo, los polisacáridos (glicanos) pueden estar formados por unidades de un solo azúcar (homoglicanos), como el almidón y la celulosa, o por diferentes (heteroglicanos), como es el caso de la mayoría de las gomas¹⁷.

2.2.3 Aplicaciones de los polisacáridos

Debido a las propiedades físicas que presentan los polisacáridos, se les ha dado una gran variedad de aplicaciones prácticas, por ejemplo como: materiales estructurales, recubrimientos adhesivos, geles hidratados, soluciones viscosas y en el laboratorio para cromatografía de intercambio iónico y filtración en gel. Indudablemente estas mismas propiedades son importantes en algunas funciones biológicas, ya que se cree que estos polisacáridos complejos presentan en el organismo un comportamiento similar al de la fibra, disminuyendo la concentración de colesterol plasmático en animales de laboratorio y en humanos²⁰. Una de las hipótesis para el mecanismo por el cual la fibra influye sobre el metabolismo de los lípidos es que ésta, interrumpe la circulación enterohepática al aglutinar a los ácidos biliares en el intestino, previniendo así su subsecuente reabsorción. De esta manera, un incremento en la proporción de colesterol producido por el hígado es convertido a ácidos biliares, por lo que se disminuye la producción de colesterol disponible para ser incorporado a las lipoproteínas²¹.

2.2.4 Polisacáridos de las algas cafés

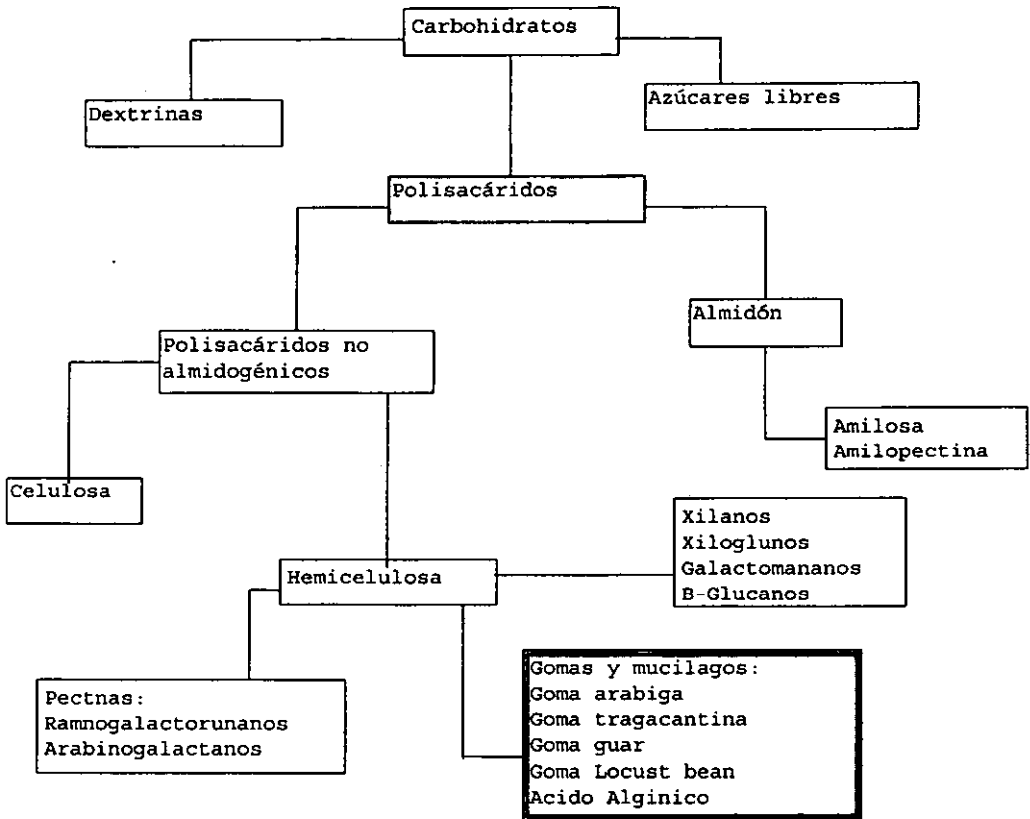
Los polisacáridos que han sido extraídos a partir del tejido algal pueden llegar a constituir un 10-65% del peso seco, dependiendo del género y condiciones de crecimiento⁷.

Debido a que estos materiales son coloides en la naturaleza, se les llama coloides hidrofílicos o hidrocoloides, y en este caso por tratarse de las algas, ficocoloides²².

En todas las algas pardas, el componente estructural es la celulosa, aunque puede representar sólo una pequeña porción de la pared por peso¹³. La celulosa es el carbohidrato más abundante en la naturaleza, fácilmente disponible y continuamente renovada por el proceso de la fotosíntesis. Es un homopolisacárido lineal formado por moléculas de glucosa unidas mediante enlaces $\beta(1-4)$ (β -D-1,4 Glucopiranosas). Su grado de polimerización es muy alto, lo cual hace que su peso molecular pueda llegar hasta algunos millones de Dalton¹⁶.

La laminarina es una mezcla de dos diferentes polisacáridos, uno determinado por una unidad de glucosa reducida y la otra por un polialcohol no reducido como el manitol. Se encuentra en pequeñas cantidades en las algas pardas. Su estructura consiste principalmente de una cadena compuesta y ramificada de 15 a 20 unidades de glucosa unidas mediante enlaces β -1,3. Existe evidencia de que contiene pequeñas proporciones de manitol y manosa unidos por enlaces 1,6^{5,7}.

FIGURA 1. CLASIFICACIÓN DE LOS POLISACÁRIDOS¹⁹.



El manitol es un alcohol polihídrico o azúcar hidroxilado que puede constituir de un 20-30% del peso seco de algunas algas feofíceas. Tiene un papel osmótico y también satisface de forma inmediata las necesidades metabólicas. Al igual que la laminarina, es uno de los principales productos de reserva de las algas cafés²⁰. Es usado en muchos alimentos dietéticos debido a que en el metabolismo humano, los polioles producen un menor número de calorías por gramo en comparación con cualquier otro carbohidrato.

Por sus propiedades físico-químicas puede ser usado como agente texturizante o como humectante ^{5,16}.

Otro tipo de polisacáridos presentes en las algas pardas, son los denominados fucanos (fucoidina), estos se encuentran en la pared celular junto al ácido alginico. Son heteropolisacáridos sulfatados que contienen principalmente moléculas de L-fucosa, D-xilosa y D-ácido glucurónico²³. En la fucoidina existen dos compuestos predominantes, el compuesto de mayor proporción es un glucoranoxilofucano sulfatado denominado ascofilan, el segundo compuesto es una L-fucosa sulfatada denominada fucoidina. En especies de *Ascophylum* se han encontrado además residuos de galactosa, manosa y ácido manurónico, entre otros. Las unidades de L-fucosa están unidas con sulfatos C-4 mediante enlaces 1,2 y 1,3. El ácido glucurónico y unidades de xilosa no están sulfatadas y parecen estar en la periferia de las moléculas. No se han reportado aplicaciones comerciales de los fucanos ^{20,23}.

Por último, el ácido alginico que desempeña una función estructural junto con la celulosa en las algas pardas, es el polisacárido más abundante en las mismas y el que mayor importancia comercial e industrial posee ^{8,14}. Enseguida se describen con mas detalle sus características y propiedades.

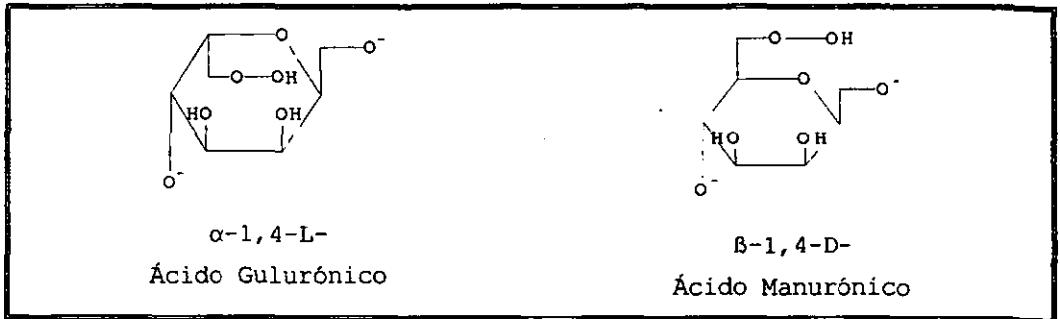
2.3. Ácido alginico

El ácido alginico fue extraído y aislado por vez primera a partir de algas cafés, por el químico británico E.C.C Stanford en el año 1881. En 1883 llevó a cabo un proceso para la obtención de alginatos utilizando como materia prima *Laminaria* ^{23,24,25}.

En contraste con la celulosa, la cual es un homopolisacárido por que solo contiene un tipo de azúcar, el ácido algínico es un polisacárido constituido por un polímero lineal basado en dos unidades monoméricas, el ácido β -D-manurónico (M) y α -L-gulurónico (G) unidos por enlaces 1-4 (fig.2). La estructura básica de cada monómero es el anillo tetrahidropiranosico y tiene dos posibles formas de silla ²⁶.

Se pueden encontrar bloques de segmentos M-M-M, G-G-G o segmentos alternados M-G-M, la proporción de estos varía dependiendo del tipo y de la edad del alga ^{8,15,20,26,27,28}.

FIGURA 2. ESTRUCTURA DE LOS ÁCIDOS MANURÓNICO Y GULURÓNICO ⁷.



En *Macrocystis pyrifera* de la costa americana se ha encontrado el ácido manurónico y el ácido gulurónico en una proporción de 61% y 39% respectivamente dando una relacion de 1.5 ²⁶.

2.3.1 Definición

El alginato es la sal del ácido algínico que se encuentra en la planta como una mezcla de sales de calcio, magnesio y sodio

principalmente, cationes presentes en el agua de mar. Estas sales reciben el nombre genérico de alginatos⁸.

Las sales de ácido algínico se encuentran en las regiones intercelulares y paredes celulares y se considera que su función biológica es básicamente del tipo estructural y de intercambio iónico ^{7,20,23}.

2.3.2 Propiedades

El ácido algínico es un coloide hidrofílico, con una solubilidad limitada en el agua, pero posee una alta capacidad para absorberla. Sus sales de Na, K, NH₄, Fe²⁺ son solubles en agua caliente o fría y dan altas viscosidades, mientras que sus sales de Ca, Al, Zn, Cu, Cr, Fe³⁺ y Ag producen compuestos insolubles. El ácido algínico es muy estable en forma libre ^{7,26}.

Con respecto a la viscosidad, ésta aumenta con el incremento del grado de polimerización y de la concentración. El aumento de la temperatura disminuye la viscosidad, incluso puede ser degradado si se aplican altas temperaturas, pero recupera su viscosidad original en frío. Por otro lado a partir de un pH menor a 4.5 la viscosidad se incrementa, y la precipitación ocurre a un pH menor de 3. La capacidad del ácido algínico para reaccionar con iones metálicos polivalentes es una importante propiedad, ya que forma geles con una elevada viscosidad ^{5,22,23}.

La formación de geles está dada por la asociación cooperativa ya sea, de segmentos de ácido polimanurónico o de segmentos de ácido poligulurónico. Siendo el tamaño y proporción de los bloques

G(secuencia de dos o más unidades)en particular los que determinan la formación y resistencia de los geles formados con el calcio. Los bloques G tienen una fuerte afinidad por los iones de calcio, los cuales llevan a la agregación o formación de cadenas de alginatos y formación del gel ^{29,30}.Gliscksman, citado por Dehrer ³¹, señala que los alginatos con una porción grande de segmentos de ácido gulurónico tienden a la forma rígida, formando geles quebradizos que están sujetos a la sineresis (pérdida de la capacidad de retención de agua)mientras que aquellos en los que predominan las unidades de ácido manurónico forman geles más elásticos, menos quebradizos y no muestran mucha sineresis ^{22,29}.

Los geles son usualmente formados por la liberación gradual de iones calcio o hidrógeno, o ambos, y puede ser controlada por la presencia de un secuestrante, como un fosfato o polifosfato ²².

Se ha demostrado que las propiedades físicas dependen de la proporción relativa de los tres tipos de bloques(M, G y MG) ²⁶.

Las propiedades de los alginatos varían de una especie a otra. Las propiedades fisico-químicas del alginato comercial de sodio grado alimenticio son las siguientes ⁵:

Contenido de Humedad 13%
Cenizas 23%
Gravedad específica 1.59%
Densidad 54.6 lbft³(874kgm⁻³)
Color hueso
Temperatura de ignición 480°C

2.3.3 Contenido en algas cafés

La cantidad de alginatos en las algas no permanece constante, experimenta variaciones estacionales, las cuales pueden diferir de un lugar a otro debido a que están relacionadas con diversos factores como son: la exposición al oleaje, las corrientes, los nutrimentos, su estado de desarrollo, la profundidad y la temperatura, siendo este último al parecer el de mayor importancia, ya que los alginatos son elaborados como un producto del metabolismo⁸. Rodríguez y Hernández¹⁴, observaron que las estaciones en las cuales se obtienen los mas altos rendimientos (invierno y otoño) no coinciden con las épocas de mayor biomasa (verano y primavera).

En México, en las costas de la Península de Baja California Sur, hay varios géneros de feofíceas como: *Macrocystis*, *Pelagophycious*, *Eisenia*, *Cystoseira*, *Alidry*, *Egregia*, *Laminaria*, *Sargassum*, *Colpomenia*, *Hydroclathrus*, *Dyctiota*, *Padina*, etc, en los que la cantidad de ácido alginico varia de una especie a otra. Hasta ahora sólo se han cuantificado los alginatos en *M. pyrifera*, *Sargassum sinicola* y *Eisenia arbórea*¹⁴. Siendo *M. pyrifera* la especie de mayor rendimiento además de ser la especie feofícea más abundante en los mares adyacentes a la Península de Baja California^{1,14,32}.

Cuando las especies mencionadas se colectaron en la Península de Baja California, Hernández⁸ encontró el ácido alginico en cantidades que van desde, un 24.65% para *E. arborea* hasta 35.90% para *S. sinicola*. Rodríguez y Hernández¹⁴ encontraron para *M.*

pyrifera una variación de 18.88 a 26.50%, todos estos datos calculados en base seca del alga.

A nivel mundial las especies de algas cafés más empleadas para la obtención de alginatos se mencionan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. ESPECIES DE MAYOR IMPORTANCIA COMO FUENTE DE ALGINATOS

Género	Especie
<i>Macrocystis</i>	<i>pyrifera</i>
	<i>integrifolia</i>
<i>Laminaria</i>	<i>digitata</i>
	<i>cjoustori</i>
	<i>saccharina</i>
	<i>flexicaulis</i>
	<i>stenophylla</i>
<i>Ascophylum</i>	<i>nodosum</i>
<i>Nereocystis</i>	<i>luetkeana</i>
<i>Fucus</i>	<i>vesiculosus</i>
	<i>serratus</i>
	<i>spiralis</i>
<i>Eklonia</i>	<i>maxima</i>
<i>Pelvetia</i>	<i>canaliculata</i>

Fuente: Glicksman ³³.

Por otro lado, Dantanarayana et al. ³⁴ informaron valores de ácido alginico en *Cystoseira* que van desde un 14% hasta un 33%. Mientras que Larsen ²⁸, cita que Haug en 1964 encontró para *Laminaria digitata* una variación de 25 a 47% de ácido alginico, también calculados en base seca del alga.

2.3.4 Métodos de obtención

En 1883, Standford llevó a cabo un proceso para la obtención de alginatos. El alga se trataba previamente con agua para disolver todo material soluble, enseguida se maceraba y se sometía a una digestión alcalina, la masa se filtraba y al filtrado se le adicionaba un ácido mineral fuerte para precipitar a ácido algínico, el cual era lavado, prensado y secado ²⁵. En su afán de desarrollar aplicaciones para dicho alginato, Standford fracasó con la compañía que él había formado.

Krefting en 1886, logró la comercialización de este producto, sin embargo, la producción a gran escala empezó en 1929 por la compañía Kelco de San Diego California, E.U.A. ³⁵.

Clark y Green en 1936, citados por Glicksman ³³ patentaron para la Compañía Kelco, un proceso de obtención de ácido algínico y alginato de sodio, mediante el cual el alga fresca se somete a un tratamiento con agua fría y ácido clorhídrico. Después de separada se muele y se digiere con una solución de carbonato de sodio, calentando la solución hasta reducir el alga a una pulpa rugosa la cual es tratada con agua y filtrada para obtener una solución clara de alginato de sodio, que es puesta en contacto con una solución de CaCl_2 al 10%, manteniendo agitación constante para obtener un precipitado de alginato de calcio. Posteriormente el precipitado se trata con un blanqueador y se hace reaccionar con HCl al 5% para convertirlo a ácido algínico que después se transforma en alginato de sodio con una solución de Na_2CO_3 al 10%.

Green en 1936, hizo una mejora al proceso patentado por Clark y Green, considerando básicamente la diferencia en las temperaturas empleadas, principalmente en las etapas de digestión y clarificación, donde empleó una temperatura de 10°C, mientras que en el proceso de Clark y Green se mantienen en 82° y 49°C respectivamente ^{26,33,36}.

Le Gloahec y Herter en 1938, citados por Glicksman ³³, patentaron un proceso para la obtención de ácido algínico y alginatos para la Algin Corporation of American de Dover, Delaware, E.U.A. Este proceso fue desarrollado utilizando como materia prima las algas pardas del género *Laminaria* ³⁷. En este proceso, las algas frescas o secas son tratadas con una solución de cloruro de calcio frío o caliente para remover el laminarín, manitol y otras sales; se separa la solución, se lava con agua dulce y se tratan las algas con ácido clorhídrico para disolver los residuos de sales alcalinas; se lavan nuevamente con agua dulce y después se digieren con una solución de sosa al 4% durante dos horas a 40°C y al mismo tiempo se maceran para obtener una pasta que se trata con agua, se agita hasta tener una suspensión homogénea y se aérea vigorosamente. Se centrifuga y el líquido pasa a un tanque de clarificación y después de 10 horas se separa el líquido de la capa de partículas de celulosa que flotan, el líquido se decolora con un gel absorbente y posteriormente se separa por centrifugación. El ácido algínico se obtiene precipitando con ácido clorhídrico a un pH de 2.8-3.2, se coloca en canastas, se drena y finalmente es purificado con solventes como el alcohol y posteriormente se seca²⁵.

Haug ³⁸, planteó la transformación del ácido algínico insoluble a alginato soluble mediante el empleo de dos etapas de intercambio iónico. Durante la primera etapa de pre-extracción, el alginato insoluble es transformado en ácido algínico insoluble; en la segunda etapa se transforma a su forma soluble de alginato de sodio con solución de carbonato de sodio al 1%. La solución viscosa resultante puede ser precipitada mediante la adición de un ácido mineral, cloruro de calcio o etanol.

Existen otros métodos en los cuales se mejoran o modifican algunas etapas. Con la ayuda de un sistema de flujo continuo también se puede cuantificar el alginato e incluso obtener altos rendimientos. Anderson en 1958, citado por Larsen ²⁸, propuso cuantificar el ácido algínico mediante la descarboxilación de los ácidos urónicos que lo componen; el tiempo que requiere la reacción para llevarse a cabo es de 2.5h lo que hace que el método sea relativamente rápido. La desventaja de dicho método es que probablemente se sobrestime el contenido de ácido algínico, ya que el alga contiene carbonatos inorgánicos y ácidos urónicos que no provienen del ácido algínico.

Dantarayana et al. ³⁴ presentan en su trabajo una variación al método con los principios básicos citados por Hernández ⁸, ya que omiten la precipitación con etanol y solo filtran el extracto obtenido, lo lavan y lo secan.

Entre los trabajos que se han realizado en México, Casas ¹ basándose en la técnica de Haug ³⁹ propuso algunas modificaciones a este método, considerando la poca disponibilidad de agua dulce en

Baja California Sur. En este, propone una manera de aprovechamiento de las algas feofíceas directamente en las zonas costeras y una alternativa para su industrialización. Dicho autor propone la utilización de ácido clorhídrico 0.2N como lo mas adecuado para la pre-extracción ácida, pudiéndose utilizar agua de mar en esta etapa.

Hernández y Vilchis ⁴⁰ durante la etapa de pretratamiento ácido del proceso de extracción de alginatos en *M. pyrifera* encontraron que la reacción sigue una cinética de primer orden; el porcentaje de alginatos obtenido se incrementa al aumentar el tiempo de tratamiento en función del porcentaje de iones calcio intercambiados. La velocidad de la reacción depende de la velocidad de flujo empleado en un sistema continuo, logrando reducir el tiempo de tratamiento a pocos minutos. Determinaron que la concentración de HCl 0.2N es la mas apropiada en esta etapa.

Arvizu et al. ²⁴ experimentaron sistemas de carga y de flujo continuo durante la etapa de pre-extracción ácida en el proceso de extracción de alginatos. Encontrando que en el sistema de flujo continuo es posible emplear una concentración mínima de ácido clorhídrico de 0.05N sin afectar el rendimiento de alginatos, sin embargo en el sistema de carga, se reduce el consumo de ácido clorhídrico en 85.9% y el consumo de agua en 25%, con la consecuente disminución de costos de producción.

Estos mismos autores ⁴¹ probaron posteriormente, para la producción de alginato de sodio dos métodos. El primero es el método de alginato de calcio, donde la precipitación se lleva a cabo con una solución de cloruro de calcio para obtener un precipitado de

alginato de calcio. El segundo método es el de ácido algínico, en el cual se emplea una solución de ácido fuerte (HCl o H₂SO₄) para obtener ácido algínico. Encontraron que en ambos procesos, el rendimiento del producto final fue estadísticamente igual. Aunque señalan que durante el proceso de alginato de calcio hay una reducción de un 90.8% en el consumo de ácido clorhídrico y 53.1% en el consumo de alcohol, lo que ocasiona que el costo total de reactivos sea menor que el costo por el método de ácido algínico ⁴².

En resumen, en todos los métodos descritos los principios básicos para la obtención de ácido algínico consisten en una pre-extracción con ácido diluido, con el fin de sustituir los metales alcalino-térreos por el ión H⁺, formándose así el ácido algínico insoluble el cual permanece así dentro de la estructura algal. La extracción se realiza mediante la conversión del ácido algínico, con una sal alcalina de sodio, formándose así el alginato de sodio soluble. La precipitación del alginato presente se lleva a cabo con etanol para que finalmente los resultados se expresan en porcentaje en base al peso seco del alga⁸.

Tal como lo señalan Hernández et al. ⁴³ a pesar de que se han publicado los principios generales de los procesos ninguno revela los secretos a nivel industrial.

2.3.5 Aplicaciones del Ácido algínico

La amplia variedad de propiedades que tienen las sales del ácido algínico hacen que tengan a su vez una amplia aplicación en la industria⁷.

De la demanda mundial total de alginatos el 50% se usa en las impresiones textiles, como espesante de la pasta que contiene la tinta. En esta área también se ha visto otro uso importante y potencial en la producción de una fibra artificial, por ejemplo en seda y rayones de alta resistencia⁵.

En la industria farmacéutica, los alginatos tienen aplicación. Como estabilizantes de preparaciones farmacéuticas y como material que envuelve a la cápsula la cual se disuelve en el intestino, protegiendo así al estómago. Particularmente en la odontología es muy empleado en las impresiones dentales ^{5,7}.

El ácido algínico y sus sales no son tóxicas. A su vez las propiedades coloidales que presenta este ficocoloide, hace que tenga un amplio uso en la industria alimentaria; proporciona consistencia y buen aspecto a productos lácteos, geles, postres y productos enlatados. En alimentos congelados las propiedades de los alginatos aseguran la textura suave y el descongelado uniforme. La estabilización de la espuma en cervezas es una de las funciones más usuales de los alginatos. También inhibe o enmascara sabores. En esta industria su uso abarca un 30% de la demanda mundial ^{6,33,44}.

2.3.6 Producción de ácido algínico a nivel mundial

La producción de ácido algínico y sus derivados (alginato de sodio, potasio, calcio y de propilenglicol) es controlada por países como: Estados Unidos, Reino Unido, Francia, Bélgica, Canadá, España, Alemania, Japón y Noruega. México importa todos estos productos principalmente para la industria alimenticia, farmacéutica, textil, de papel, cervecera y de pintura ^{23,33,45}.

La producción de alginato no se limita al obtenido por las algas sino que se ha encontrado ahora que ciertas bacterias lo sintetizan extracelularmente. El microorganismo más utilizado es *Azotobacter vinelandii*^{5,20}.

3. JUSTIFICACION

El ácido algínico es un carbohidrato que posee una amplia variedad de aplicaciones en la industria y por consiguiente es de gran interés comercial, y aunque en México, se cuenta con abundante cantidad de algas cafés, es poca la información que sobre la composición química se tiene y menos aun sobre la cantidad de ácido algínico presente en estos recursos.

Se espera que los resultados presentados en este trabajo contribuyan a un mejor conocimiento de los recursos algales de México y a su mayor aprovechamiento en la industria de alimentos para consumo humano y animal.

4. OBJETIVOS

4.1 General

Realizar la extracción del ácido algínico en cinco especies de algas cafés de Baja California Sur, México para contribuir a un mejor conocimiento y aprovechamiento de los recursos algales del país.

4.2 Particulares

4.2.1. Determinar el análisis proximal en las algas cafés: *Padina durvillaei*, *Colpomenia sinuosa*, *Sargassum herporizum*, *S. sinicola* y *Macrocystis pyrifera*.

4.2.2. Realizar la extracción de ácido algínico en las algas cafés: *Padina durvillaei*, *Colpomenia sinuosa*, *Sargassum herporizum*, *S. sinicola* y *Macrocystis pyrifera*.

5. MATERIAL Y MÉTODO

5.1 Obtención y procesamiento de las algas

Para la obtención de las algas se contó con la colaboración del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) del IPN en La Paz, Baja California Sur. La colecta se realizó en las costas de Baja California, Sur, México, las especies seleccionadas son las siguientes:

<u>Especie</u>	<u>Fecha de colecta</u>	<u>Localidad</u>
<i>Padina durvillaei</i>	Abril 1993	Bahía Concepción B.C.S
<i>Colpomenia sinuosa</i>	Abril 1993	Bahía Concepción B.C.S
<i>Sargassum herporizum</i>	Marzo 1993	Bahía Concepción B.C.S
<i>Sargassum sinicola</i>	Junio 1993	Bahía de la Paz B.C.S
<i>Macrocystis pyrifera</i>	Febrero 1996	Bahía Tortugas B.C.S

Las algas se secaron al sol, se molieron en un molino de martillos y se empacaron para su transporte a la Ciudad de México. En el laboratorio las muestras fueron molidas con un molino de cuchillas, empleando una criba de 2mm, se almacenaron y se etiquetaron perfectamente en frascos bien cerrados.

5.2 Análisis Químico Aproximado

El análisis químico aproximado es un proceso analítico sencillo que logra cuantificar de manera aproximada los macronutrientes de una muestra⁴⁶. Consta de las siguientes determinaciones:

Humedad. Determinada mediante el método 934.01 del AOAC⁴⁷ como la pérdida de humedad de una muestra al ser sometida a temperaturas entre 70 y 130°C.

Cenizas. Determinada mediante el método 942.05 del AOAC ⁴⁷ como el residuo inorgánico que queda después de la incineración de una muestra a temperatura de 550°C.

Extracto etéreo. Determinada por el método 920.39 del AOAC ⁴⁷ extracción con equipo soxhlet y cuantificada como la fracción soluble en éter etílico.

Proteína cruda. Determinada mediante el método de Kjeldahl 976.05 del AOAC ⁴⁷. Mediante este método se determina la cantidad de nitrógeno presente en la muestra, el dato es multiplicado por el factor 6.25 proporcionando el porcentaje de proteína en la muestra.

Fibra cruda. Determinada mediante el método 962.09 del AOAC ⁴⁷, como la fracción orgánica de la muestra que resiste un tratamiento de ácido sulfúrico al 1.25% y sosa hirviente al 1.25%.

Extracto Libre de Nitrógeno. Obtenido por diferencia después de sumar los porcentajes de humedad, cenizas, proteína cruda, extracto etéreo y fibra cruda.

5.3 Método empleado para la extracción de ácido algínico en las cinco especies de algas cafés

De toda la información recabada, se hizo una primera selección, reuniendo las técnicas de extracción del ácido algínico de Casas ¹, Hernández ⁸, Rodríguez y Hernández ¹⁴, Hernández et al ⁴⁸ y Dantanarayana ³⁴, debido a que estas tenían en común, el mismo principio químico para la extracción del ficocoloide y se basaban en el método de Haug ³⁹, el cual consiste en lo siguiente:

10g de muestra seca y molida se hidrolizan durante 8-12h con 500mL de ácido sulfúrico 0.2N en agitación constante. Se filtra y el residuo se lava con 100mL de agua destilada, el filtrado es desechado. El residuo se trata con 500mL de solución de carbonato de sodio al 1% en agitación constante durante 8-12h. Para hacer más rápida la filtración se diluye a 1 ó 2 L con agua destilada, dependiendo de la viscosidad del alginato

en solución. La mezcla se filtra, el residuo se desecha y el filtrado es mezclado con un volumen igual de etanol al 96%, agitando con una varilla de vidrio. El precipitado viscoso generalmente se adhiere a la varilla de vidrio. El precipitado se lava dos veces con etanol y dos veces con éter, secándolo posteriormente.

Sin embargo, Casas¹, mas tarde realizó algunas modificaciones a este método, tales como emplear HCL en lugar de H₂SO₄ durante la hidrólisis, asimismo probó que el tiempo de permanencia en este ácido puede ser de 12 o 24 h sin que se afecte la cantidad extraída de ácido algínico. También empleó HCL en lugar de etanol para precipitar al ficocoloide.

Tomando en consideración las modificaciones realizadas por otros autores ^{1,8,14,34,48} como se menciona en los antecedentes, se decidió emplear el método de Haug, modificado por Casas¹ (Figura 3); sin embargo, para confirmar que las modificaciones realizadas por la autora antes citada, eran igualmente aplicables a las condiciones del laboratorio de la Subdirección de Nutrición, del INNSZ se corrieron pruebas par determinar sí efectivamente: a) el tiempo de permanencia de la muestra en HCl era indistinto a las 12, 15 o 24 h b) el tiempo de permanencia del alga en Na₂CO₃ durante 12 o 24 h no afectaba los resultados c) al emplear HCl en lugar de etanol al 96% para precipitar el ácido algínico los resultados eran iguales.

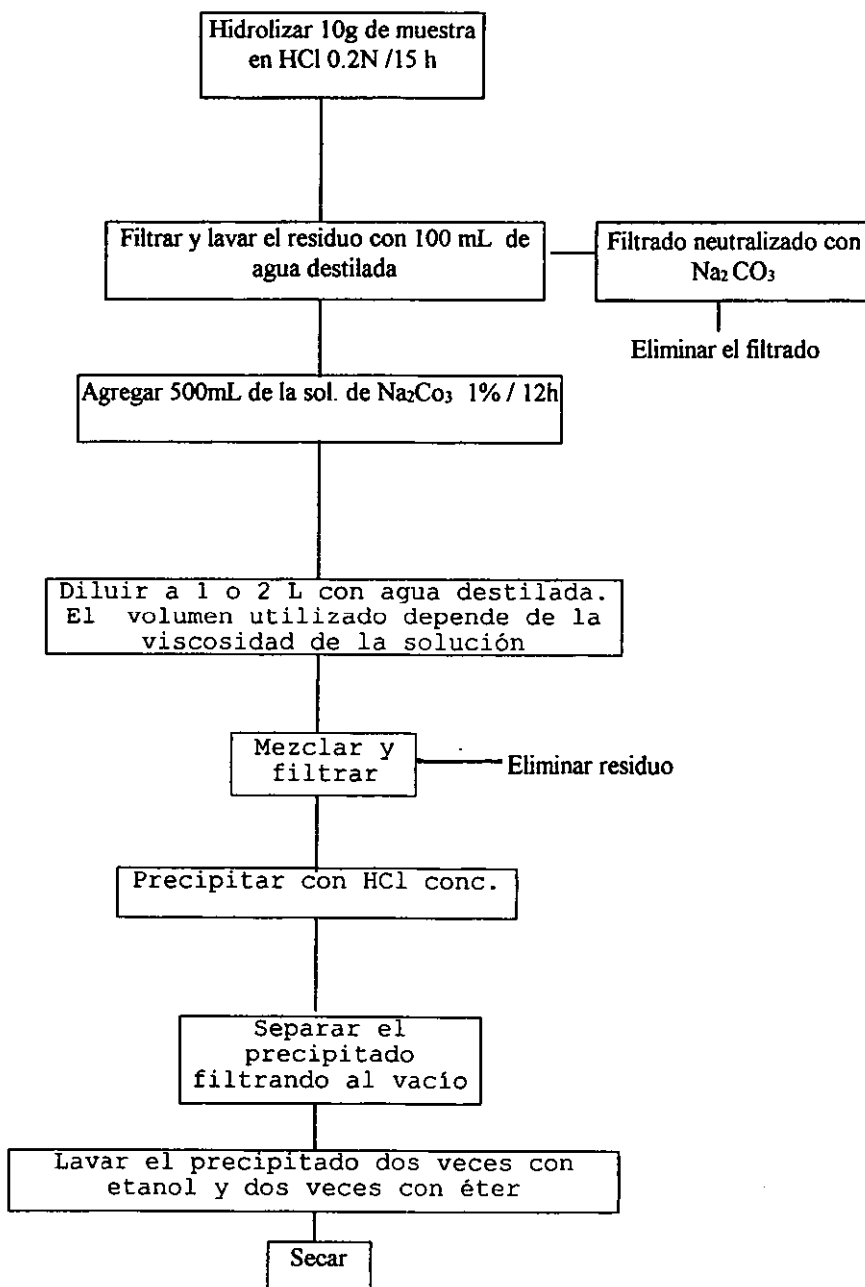
Al aplicar el método de Haug modificado por Casas¹, para la obtención de ácido algínico en las cinco especies algales, se hizo por triplicado, proporcionando la media y desviación estándar de cada especie.

Análisis estadísticos

En la primera prueba se utilizó un análisis de varianza de una

sola vía ($P < 0.05$), mientras que en la segunda y tercera se utilizó la prueba de T de Student ($P < 0.05$)⁴⁹.

Figura 3. Método de Arne Haug para la obtención de ácido algínico³⁹, modificado por Casas



6.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Análisis Químico Aproximado de las cinco algas cafés

Cuadro 4. ANALISIS QUIMICO APROXIMADO DE LAS ALGAS CAFÉS (G/100G)

Alga	Humedad	Proteína Cruda	Extracto Etéreo	Cenizas	Fibra Cruda	E.L.N
<i>Padina durvillaei</i>	7.8±0.01	5.2±0.04	0.69±0.03	34.43±0.07	7.5±0.11	44.10
<i>Colpomenia sinuosa</i>	5.48±0.01	3.13±0.02	0.60±0.04	32.57±0.01	6.6±0.04	51.62
<i>Sargassum herporizum</i>	8.18±0.03	5.12±0.06	0.63±0.04	36.70±0.05	5.82±0.19	43.55
<i>Sargassum sinicola</i>	9.34±0.17	6.97±0.02	0.63±0.04	38.63±0.01	6.46±0.28	38.27
<i>Macrocystis pyrifera</i>	4.81±0.10	8.35±0.02	0.41±0.06	41.64±0.2	6.54±0.07	38.25

E.L.N = Extracto Libre de Nitrógeno

En cada columna se presenta la media y desviación estándar de 2 repeticiones.

Los valores de humedad representan un importante dato desde el punto de vista de conservación de las algas, y se relaciona con la técnica de secado. Los valores promedio del contenido de humedad de las algas deshidratadas, fluctuaron de un mínimo de 5.48% a un máximo de 9.34% (Cuadro 4) por lo tanto se puede considerar que con la técnica de secado (directo al sol) que se empleó se obtuvo un producto de baja humedad, lo cual permite que las algas se puedan almacenar por un tiempo prolongado sin que se presente desarrollo microbiano que pueda alterar su calidad o que las descomponga ¹⁴.

De acuerdo a los resultados obtenidos (Cuadro 4) se observa que las algas cafés consideradas en este estudio, presentan valores en su composición química, similares a los informados en la literatura ¹⁴, ¹⁰, salvo pequeñas diferencias, que como se sabe se pueden deber a la variación geográfica y estacional que sufre la composición química de las algas². En general, las cinco algas cafés estudiadas se caracterizaron por tener un bajo contenido de proteína (3.13-8.35%) en comparación a otros grupos algales (Rodofíceas 10.6-27.5%)¹⁰, debiéndose quizá a que las feofíceas acumulan más carbohidratos que a su vez disminuye la proporción de proteína cruda ¹⁰. En el caso particular de *M.pyrifera* el contenido de proteína cruda presentó el valor más alto (8.35%), e incluso como lo señalan Rodríguez y Hernández ¹⁴ y Castro et al.⁵⁰ este contenido puede llegar a elevarse a un 12.72% o 10.70%, respectivamente. Porcentaje similar al de otras algas como *Ulva lactuca* (10.8%) y *Pelvetia Canaliculata* (10.8%)⁵¹, lo que la hace muy atractiva para su uso como complemento alimenticio.

Por otro lado, las algas en general se caracterizan por tener un bajo contenido de grasa, esto se puede constatar en los resultados obtenidos (0.41-0.69%) en el presente trabajo, siendo las feofíceas las especies que mayor cantidad de grasa acumulan (Cuadro 2)¹⁰.

En cuanto a las cenizas, hubo mucha variabilidad entre cada una de las especies, *C. sinuosa* presentó el valor máximo de 62.57%, mientras que el mínimo lo tuvo *P.durvillae* (34.43%). Como se puede observar, estos valores están dentro de los valores informados para las feofíceas (15.9 -44.9%)^{10,52}. Estas diferencias se deben principalmente a la variación estacional y geográfica². De hecho, es común el alto contenido de materia inorgánica en las algas, ya que los minerales son captados en grandes cantidades, debido al medio

marino donde se desarrollan las algas, por tanto estas son usadas también como una fuente importante de minerales ^{5,7}.

Se comprueba el elevado contenido de fibra cruda en las algas cafés (5.82-7.57%) cuando este se compara con otras algas (algas verdes: 0.04-1.7%)¹⁰. Es importante su determinación cuando se piensa en el uso de las algas como un complemento alimenticio ¹⁴.

Es importante señalar que el ácido alginico no está incluido en esta fracción química, ya que este polisacárido pertenece al grupo de las hemicelulosas (Figura 1) y es un carbohidrato soluble ^{53,55}. El termino fibra cruda se refiere al residuo que permanece después de someter el alimento a una extracción ácida y luego a una alcalina ^{53,54}. Este procedimiento destruye solo parte de la fibra no digerible por el aparato digestivo humano y no distingue entre las distintas estructuras químicas que componen las paredes celulares de la planta. De modo que, los valores de fibra cruda subestiman el contenido total de hemicelulosa en un 80%, el de lignina de 50 a 90% y el de celulosa de 20 a 50%. En consecuencia, actualmente en muchos estudios se ha sustituido este método por el de fibra dietaria ⁵³.

De cualquier manera, se puede decir que el ácido alginico es una fuente de fibra presente en las algas cafés y en alimentos industrializados que cuando es incorporado actúa como agente espesante para mejorar la textura y consistencia de los productos⁵³. A un cuando, es ingerido en cantidades muy bajas, también brinda a los consumidores los beneficios comunes de la fibra, tales como: a) ayuda al manejo y control de la obesidad ya que a medida que la fibra recorre el tracto digestivo absorbe agua, contribuyendo a dar una sensación de saciedad o llenado b) se sabe que las gomas y pectinas

son los tipos de fibra más efectivos para mantener la glicemia dentro de los valores normales en pacientes diabéticos, ya que debido a su viscosidad retardan la absorción de azúcares y lípidos y c) se sabe que la fibra puede reducir de manera importante, las concentraciones séricas de colesterol. Se cree que esto es como resultado de la unión de la fibra con las sales biliares, que disminuyen de este manera su reabsorción. Esto significa que una mayor cantidad de colesterol se puede convertir en ácidos biliares, disminuyendo la concentración de colesterol plasmático ^{53,56}.

El extracto libre de Nitrógeno junto con las cenizas resultaron ser los constituyentes principales de las algas en cualquier época de recolección (Cuadro 4). Dentro de esta fracción sólo se incluyen a los carbohidratos solubles (fucoídina, laminarina, manitol y ácido algínico) ^{19,46}. Debido a las propiedades fisico-químicas que poseen estos carbohidratos complejos, hacen que las algas sean aptas al medio marino donde se desarrollan ^{14,7}.

M.pyrifera fue la que menor contenido de extracto libre de nitrógeno tuvo, con respecto a las otras especies. Esto coincide con la cantidad menor de biomasa que presentan en estas épocas de recolección, sin embargo al mismo tiempo se obtienen los más altos rendimientos de alginatos por lo que Rodríguez y Hernández ⁴⁸ recomiendan establecer que el período de cosecha no se debe realizar solo cuando el alga presenta sus mayores concentraciones de biomasa.

6.2 Obtención de ácido algínico en las cinco especies algales

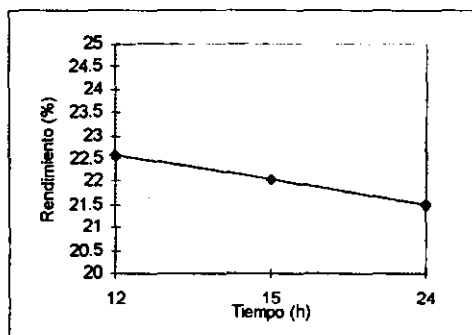
Los resultados obtenidos en las pruebas que se corrieron, para confirmar que las modificaciones realizadas por Casas ¹ eran aplicables a las condiciones del laboratorio de la Subdirección de Nutrición, indicaron lo siguiente:

En la prueba 1 se observó un ligero decremento en la obtención de ácido algínico (Cuadro 5) conforme se incrementa el tiempo de permanencia del alga en el HCl. Sin embargo, al aplicar el análisis de varianza (Anexo 1) no se detectó diferencia estadística alguna ($P > 0.05$). Esto confirmó los resultados obtenidos por Casas ¹ y resulta de gran utilidad pues se reducen los costos, ya que el HCl es 30% menos costoso que el H_2SO_4 . El precio por litro de éste último es de \$ 110.44 vs \$76.62/L del primero ⁵⁷.

Cuadro 5. CONTENIDO DE ACIDO ALGINICO EN EL ALGA *M. PYRIFERA* EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE EXTRACCIÓN EN HCL 0.2N

Tiempo de permanencia en HCl (h)	Contenido de ác. algínico (g/100g)	Desviación estándar	Error estándar	Coefficiente de variación
12	22.589	0.188	0.133	0.834
15	22.040	0.056	0.040	0.261
24	21.487	0.174	0.123	0.813

n= 2



En la prueba 2 se pudo apreciar que al variar el tiempo de permanencia del alga en Na_2CO_3 al 1% se redujo notablemente la extracción de ácido algínico a las 24h (Cuadro 6). En esta prueba se esperaba que el intercambio de H^+/Na^+ con el tratamiento alcalino seguiría una cinética de reacción de primer orden similar a la señalada por Hernández et al.⁴⁸, en el cual la velocidad de intercambio H^+/Na^+ es proporcional al logaritmo de la concentración del HCl y que dicha reacción puede ser reversible. Sin embargo, el análisis estadístico confirmó lo observado en la Cuadro 6 y efectivamente la cantidad extraída de ácido algínico fue significativamente menor ($P < 0.05$) cuando el alga permaneció 24 h en la solución alcalina.

En la prueba 3 se confirmó lo señalado por Casas¹, en el sentido de que precipitar el ácido algínico con etanol o HCl es indistinto. Y efectivamente en este caso se pudo apreciar que la cantidad obtenida de este ficocoloide después de precipitarlo con cada uno de estos reactivos no mostró diferencia alguna ($P > 0.05$) (Cuadro 7). Sin embargo, representa una gran ventaja al hacerlo con éste último, ya que el volumen utilizado para precipitar el ficocoloide con HCl es de 10mL mientras que con etanol se necesitan grandes volúmenes. Además el precio por litro de cada uno de ellos es de \$ 74.62 vs 133.17,

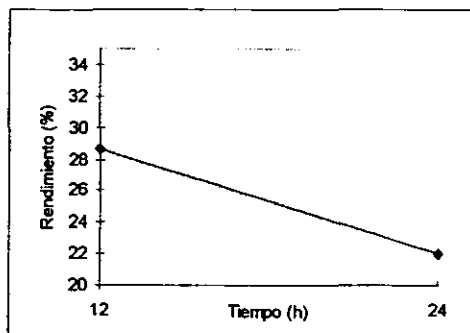
respectivamente⁵⁷. Además, al emplear etanol se obtiene el ácido algínico en forma de sales(alginato).

De manera que, considerando estas evidencias se decidió utilizar un tiempo de 15h de permanencia de cada alga en HCl 0.2N, y en la solución de Na₂CO₃ al 1% por 12h, así como precipitar el ácido algínico con HCl.

Cuadro 6. CONTENIDO DE ACIDO ALGINICO EN EL ALGA *M. PYRIFERA* EN FUNCION DEL TIEMPO DE EXTRACCION EN LA SOLUCION DE Na₂CO₃ AL 1%

Tiempo de permanencia en Na ₂ CO ₃ (h)	Contenido de ácido algínico (g/100g)	Desviación estándar	Error estándar	Coefficiente de variación
24	22.04	0.05	0.04	0.26
12	28.63	0.09	0.06	0.34

n= 2



Cuadro 7. CONTENIDO DE ACIDO ALGÍNICO DEL ALGA *M. PYRIFERA* SECA AL PRECIPITAR CON DIFERENTES REACTIVOS

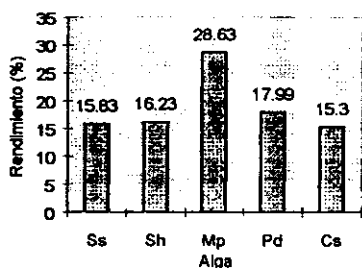
Reactivo	Contenido de ac.algínico (g/100g)	Desviación estándar	Error estándar	Coefficiente de variación
HCl conc.	28.63	0.09	0.06	0.34
EtOH al 96%	28.11	0.15	0.06	0.53

Una vez aplicado el método a las cinco especies algales para la obtención de ácido algínico se obtuvieron los resultados mostrados en la Figura 4, donde es posible observar que *Macrocystis pyrifera* resultó por excelencia la mejor fuente de este ficocoloide. En las otras cuatro especies no hubo mucha variación en la cantidad extraída, aun así se pueden considerar como una alternativa para la obtención de este copolímero. Dantanarayana ³⁴ informó cantidades de ácido algínico que van de 4 a 10% en *Padina* y 12 a 24% en algas del género *Sargassum*. Por otra parte, Larsen ²⁸, menciona valores de 17 a 33% en *Laminariales* y de 16 a 21% en las del orden *Fucales*.

De hecho sería interesante repetir el estudio colectando las algas en diferentes épocas del año, ya que se sabe que la presencia de ácido algínico en las algas cafés tiende a variar de acuerdo a la localidad y época del año en que es colectada. Por lo tanto, es posible que en esta ocasión *M.pyrifera* haya mostrado el valor mostrado debido a que fue colectada durante el invierno, época en la que, según varios autores ^{8,14}, presenta los valores máximos.

Es importante señalar que en este estudio se asume que el extracto obtenido es ácido algínico, ya que al emplear agua durante el proceso se disuelve todo el material soluble, con la solución de Na_2CO_3 se remueven del alga carbohidratos tales como la laminarina y manitol además de otras sales; y después al lavar nuevamente con agua y con HCL se disuelven los residuos de las sales alcalinas, sustituyendo los metales alcalino-térreos por el ión H^+ y se precipita el ácido algínico con el HCL y con el etanol se purifica el ficocoloide ^{8,25,38,39,45}. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que después del proceso de extracción del ácido algínico aun permanecen asociados a él, compuestos como CO_2 , y elementos como el arsénico, metales pesados como el plomo y cenizas por lo que sería recomendable realizar, en otro trabajo, pruebas de identificación de este ficocoloide para poder cuantificarlo y una vez cuantificado evaluar la calidad del extracto obtenido de cada alga ⁵⁸. El Food Chemicals Codex⁵⁸ señala que el contenido de CO_2 en un extracto de ácido algínico de buena calidad, no debe exceder del 23%, As no más de 3 ppm, cenizas no más del 4%, metales pesados no más de 0.004%, Pb no más de 10 ppm.

Figura 4. CONTENIDO DE ÁCIDO ALGÍNICO (G/100G DE MUESTRA SECA) EN CINCO ESPECIES DE ALGAS DE BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO.



Ss	<i>Sargassum sinicola</i>
Sh	<i>Sargassum herporazum</i>
Mp	<i>Macrocystis pyrifera</i>
Pd	<i>Padina durvillaei</i>
Cs	<i>Colpomenia sinuosa</i>

Muestra	Contenido de ac.algínico (%)	Desviación estándar	Error estándar	Coefficiente de variación
<i>Sargassum sinicola</i>	15.839	0.030	0.017	0.190
<i>Sargassum herporazum</i>	16.233	0.048	0.027	0.296
<i>Macrocystis pyrifera</i>	28.635	0.098	0.069	0.736
<i>Padina durvillaei</i>	17.997	0.161	0.092	0.894
<i>Colpomenia sinuosa</i>	15.303	0.076	0.044	0.499

Los resultados obtenidos en el presente trabajo constituyen una modesta contribución al conocimiento de las algas en México; sin embargo, se espera sea de utilidad dado que actualmente la explotación de algas productoras de ácido algínico en México está restringida a una sola especie, *M.pyrifera*.

Tal como se señaló en un principio, este ficocoloide tiene muchas aplicaciones, las principales están relacionadas con la industria textil (42%), de alimentos (34%), del papel (9.4%), la industria farmacéutica y dental (5.3%), la fabricación de electrodos de soldadura (5.6%) y otros misceláneos (3.2%)⁵⁹. Además, durante los últimos años la aplicación de este ficocoloide se ha expandido hacia otros usos como la elaboración de champagne, la producción de semillas artificiales y en el tratamiento de la diabetes⁶⁰.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

De acuerdo con el estado actual de la industria de alginatos a nivel mundial y de acuerdo a lo señalado por Zertuche ⁵⁹, hoy en día las investigaciones deberían ir encaminadas hacia la búsqueda de poblaciones (naturales o experimentalmente inducidas) productoras de este ficocoloides. Esto permitiría cubrir las necesidades del país para exportación o para estimular el desarrollo científico y tecnológico que permita nuevos usos y destinos de las algas cafés.

Es necesario que la comunidad científica aumente los esfuerzos en la investigación e intensifique los estudios en la búsqueda de otros usos para los ficocoloides. El uso de copolímeros de alginatos en el control experimental de la diabetes, de infecciones virales, de la actividad antitumoral, etc. ejemplifican nuevas vías de desarrollo para la industria de alginatos ^{61,62,63,64}.

En un análisis reciente del estado actual y futuro de la industria de ficocoloides, Jensen ⁶⁵ señala que el aumento creciente en el uso de autoadhesivos, de alimento para mascotas, de alimento para humanos más elaborado y comida preparada, deberían generar a corto plazo divisas equivalentes a un cuarto de billón de dólares. De igual manera, la tendencia actual de rechazo a productos sintéticos en la dieta de las personas de países desarrollados, debería favorecer la demanda de biopolímeros y de alginatos en el futuro inmediato.

Los ingresos en México, por exportación de algas fueron de 1.6, 1.5 y 2.6 millones de dólares durante 1990, 1991 y 1992 respectivamente. Por otra parte, las importaciones fueron por aproximadamente \$US 1 500 000 al año de alginatos y derivados. La disponibilidad de materia prima en México podría reducir significativamente este déficit. De concretarse los proyectos que

actualmente promueve la iniciativa privada, México podría convertirse de exportador a productor de alginatos a corto plazo ⁵⁹.

7. CONCLUSIONES

- ◆ El método de Haug, modificado por Casas¹ para la obtención de ácido algínico a partir de algas cafés es aplicable a las condiciones del Laboratorio de la Subdirección de Nutrición del INNSZ.

- ◆ Con el método empleado y bajo las condiciones descritas se puede decir que *M.pyrifera* (28.63%) resultó ser la principal fuente de ácido algínico.

- ◆ Aunque la cantidad extraída de este ficocoloide en las otras cuatro especies fue menor a la de *M.pyrifera*, se pueden considerar una buena alternativa para la obtención de este copolímero.

8. RECOMENDACIONES

◆ Antes de eliminar el filtrado obtenido, cuando el alga permanece en HCl por 15 h, es recomendable tratarlo con carbonato de sodio en polvo, para neutralizarlo, ya que el exceso de ácido se suma el efecto corrosivo del agua y se pueden dañar las tuberías.

◆ Se debe de tener cuidado con el volumen de agua que se emplea par diluir el alginato de sodio, una vez que permaneció en la solución de Na_2CO_3 al 1%, ya que el precipitado que se forma posteriormente hace más lentas las filtraciones. Por lo tanto se recomienda observar qué tan viscosa esta la solución par así utilizar un volumen de agua adecuado

◆ Se debe estudiar la calidad del ácido alginico de las distintas especies de algas café aquí estudiadas para proponer su uso ó ver si se puede substituir adecuadamente al ácido alginico comercial actual.

Anexo 1
Análisis Estadístico
Evaluación de los Diferentes Tratamientos

1)Tiempo de permanencia del alga *M.Pyrrifera* en HCl (0.2N)

Análisis de Varianza de una vía:

$$\begin{aligned}
 FC &= GT^2/Tr & SCe &= SCT - SCm \\
 SCm &= (\sum Tm^2 / Nm) - FC & gle &= glt - glm \\
 glm &= Nm - 1 & CMm &= SCm / glm \\
 SCT &= \sum C^2 - FC & Cme &= SCe / gle \\
 glt &= Tr - 1 & Fm &= CMm / CMe
 \end{aligned}$$

Donde:

FC =	2914.35	(Factor de Corrección)
SCm =	1.2224	(Suma de cuadrados para muestras)
glm =	2	(Grados de libertad para muestras)
SCT =	1.9435	(Suma de cuadrados totales)
glt =	5	(Grados de libertad totales)
SCe =	0.7211	(Suma de cuadrados del error)
gle =	3	(Grados de libertad del error)
CMm =	0.611	(Cuadrados medios para muestras)
Cme =	0.2403	(Cuadrados medios del error)
Fm =	2.5427	(Relación de variación para muestras)

Con los datos obtenidos se estructuró el siguiente cuadro:

Fuente de la variación	g l	SC	CM	F
Muestras	2	1.22	0.61	2.54
Error	3	0.72	0.24	
Total				

Por lo tanto

Nivel de Significancia	F calculado	F tabla	Diferencia significativa
0.05	2.54	< 19	No

2) Tiempo de permanencia del alga *M.pyrifera* en Na₂CO₃ 1% y precipitación de ácido algínico con diferentes reactivos

"t" de Student para variables dependientes

$$t = \frac{\sum D}{\sqrt{[n \sum D^2 - (\sum D)^2] / n - 1}}$$

Con los grados de libertad (g. l.) = n - 1

g. Donde: D = X - Y (Diferencia de los resultados de dos muestras)

n = Número de muestras

Calculo	Tiempo de permanencia en Na ₂ CO ₃ (1%)	Precipitación de ác. algínico con diferentes reactivos
$\sum D =$	13.19	1.03
$\sum D^2 =$	87.01	0.53
t calc=	59.89	0.96
g.l.=	1	1

Por lo tanto

Fuente de variación	t calculado	t tabla	Diferencia significativa
Tiempo de permanencia en Na ₂ CO ₃ (1%)	59.89	> 12.70	Si
Cambio de reactivo para la precipitación	0.96	< 12.70	No

Los valores calculados de la relación de variación "t" se compararon con los valores críticos para "t" con un nivel de significancia de 0.05%

BIBLIOGRAFÍA

1. Casas Váldez, M.1982. Avance para la industrialización de los alginatos en México. CICIMAR. Serie Técnica No.1.México.30p.
2. Hoppe, H.A. 1979. Marine Algae in Pharmaceutical Science. Vol. 2. Walter Gruyter and Co. Germany.pp 3-28.
3. Agenda de Pesca.1985. Secretaría de Pesca.
4. Guzmán del Proo, S.A. 1993. Desarrollo y perspectivas de la explotación de algas marinas en México. Ciencias Pesqueras.9: 129-136.
5. Chapman, V.J. & Chapman, D.J. 1980. Seaweeds and their Uses. Chapman and Hall, 3rd. Edition, London.
6. McPeack, R. & D. Glantz.1984. Harvesting California's Kelp forestets.Oceanus.27(1):401.
7. Volesky, B., Zajic, J.E., Knettig, E.1970. Algal Products. In: Properties and Products of Algae. Zajic, J.E.,. Plenum Press, New York, 49-77.
8. Hernández Carmona, G.1985. Variación estacional del contenido de alginatos en tres especies de feofitas de Baja California Sur, México.Inv.Mar.CICIMAR.2(1):29-45.
9. Proensa Andrés. 1991. Algas ¿Para que os quiero?.Natura 96:56-60.
10. Wood, A., Toerien, D.F., Robinson, R.K 1991. The algae-recent developments in cultivation and utilisation. In: Developments in Food Proteins. Ed. B.J.F. Hudson, Elsevier Applied Science, London. pp. 79-123.
11. Lozano Cabo, F. 1978. Oceanografía, Biología Marina y Pesca. Vol. 2.Ed. Paraninfo. Madrid, España. pp.42-65.
12. Cronquist, A. 1982. Botánica Básica.CECSA.México.pp195,219-226.
13. Dawes,C.J. 1991.Botánica Marina.Noriega-Limusa.México.153-159pp.

14. Rodríguez-Montesinos, Y.E., Hernández-Carmona, G. 1991. Variación estacional y geográfica de la composición química de *Macrocystis pyrifera* en la costa occidental de Baja California. Ciencias Marinas. 17(3), pp. 91-107.
15. Lobpan, C.S. & Wynne, M.J. (1981). The Biology of Seaweeds. Botanical Monographs. Vol. 17. Blackwell Scientific Publications. London, Gran Bretaña. pp.589-590.
16. Badui, D.S. 1995. Química de los Alimentos. Alhambra Mexicana. 1a.edición. México. 78-80pp.
17. Belitz, H.D. & Grosos, W.H.D. 1988. Química de los Alimentos. Acribia. España. 241p.
18. Fennema, O. 1985. Food Chemistry. Second edition. Marcel Dekker. USA. pp129-130.
19. Englyst, H.N. & Kigman, S.M. 1993. Carbohydrates In: Human Nutrition and Dietetics. Garrow J.G. y James W.P.T. Ninth edition. Churchill Livingstone. U.K. pp38-55.
20. Mackie, M. & Preston, R.D. (1974). Cell wall and intercellular region polysaccharides. En: Algal physiology and biochemistry. Stewart, W.B. Blackwell Scientific Publications. Great Britain, pp.40-41.
21. Davison, M.H., Dugan, L.D., Burns, J.H., Bova, J., Story, K. y Drennan, K.B. 1991. The hypocholesterolemic effects of b-glucan in oatmeal and oat bran. J. Am. Med. Assoc. 265:1833-1838
22. Klose R.E. & Glicksman M. 1975 Gums. In: Furia T.E Handbook of Food Aditives. CRC Press. Great Britain pp 295-313.
23. Percival E. & R.H. McDowell 1990. Algal Polysaccharides In : Methods in plant Biochemistry. Vol.2 Dey P.M & Harborne J.S. Carbohydrates Academic Press. U.S.A. pp.530-535.
24. Arvizu Higuera D.L., Carmona H.G., Rodríguez M.E. 1995. Sistemas de carga y de flujo continuo durante la etapa de pre-extracción

- ácida en el proceso de extracción de alginatos. Ciencias Marinas, 21(1):25-37.
25. Tseng, C.K., 1945. Algina.En : Enciclopedia de la Tecnología Química.I., 1961.De.UTEHA. México, 899-909.
26. Arvizu Higuera, D.L. 1993. Proceso de extracción de alginato de sodio a partir del alga café *Macrocystis pyrifera*. IPN-CICIMAR pp. 1-9.
27. Harris, P. 1990. Food Gels. Elsevier Applied Science. USA. 79-84pp.
28. Larsen B. 1978. Alginic acid. In:Handbook of Phycological Methods. Hellebust J.A. & Craigie J.S., Cambridge University Press.London.pp 144-149.
29. Lineback D.R. & Inglett G.E. 1982. Food Carbohydrates. Avi Publishing Co.Inc.pp 281-282
30. Robinson D.S. 1987. The Chemical basis of albumen quality.In: Egg Quality Egg Current Problems and Recent advances. R.G.Wells & Belyavin C.G. De Butterworths. London.pp 179-191.
31. Dreher M.L. 1987. Handbook of Dietary Fiber. An Applied Approach, Marcel Dekker, Inc.,Inc,New York, USA
32. Calvo Carrillo M., 1997. Propuesta de Validación de Técnicas Cromatograficas en Alimentos. Tesis de Maestria. I.P.N. 53-55,87-195.
33. Glicksman Martin. 1969. Seaweed Extracts In: Gum Technology in the Food Industry. Academic Press, London, 199-205, 239-263.
34. Dantanarayana,A.P.,Savitri-Kumal,N.& Suntankawa,M.U.1981. Carbohydrates constituents of the marine algae Sri Lanka Part.I.Some physico-chemical porperies of phycocoloids from eight species of red algae.J.Nutri.Sci.Comn SriLanka.9(1):1-9

35. Mena Mullerid, M.A., 1971. Alginato de sodio. Estudio técnico económico y anteproyecto de una planta. Tesis profesional. Facultad de Química. UNAM., 100p
36. Green, H.C., 1936. Process for making alginic acid and product. U.S. Patent 2, 036,934.
37. LeGloahec, V.C.E. & J.R Herter, 1938. Method of treating seaweeds. u.s. Patent 2, 128,551.
38. Haug, A., 1964. Composition and properties of alginates. rept.30 Norwegian Inst of seaweed Res. N.T.H., Trondheim, Norway, 123p.
39. Haug, A., 1965. Alginic acid. In: Methods in carbohydrate chemistry, V. analysis and preparation of sugar, Whistle Roy L. and M.L. Wolfrom, Academic Press, London, 69-73.
40. Hernández, C.G. & M.A Vilchis. 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.
41. Arvizu Higuera D.L., Carmona H.G., Rodríguez M.E. 1997. Efecto del tipo de precipitado en el proceso de obtención de alginato de sodio: método de alginato de Calcio y método de ácido algínico. Ciencias Marinas, 23(2):195-207.
42. McHugh, D.J., 1987. Production, properties and uses of alginate. En: Production and utilization of productos from commercial seaweeds. FAO. Fish. Tech. pap., (288):189pp
43. Hernández C., M. Aguirre., E. Rodríguez M. y C. García P. 1987 Anteproyecto constructivo :Planta piloto de producción de alginato de sodio. CICIMAR-IPN, 80p.
44. CCI (Centro de Comercio Internacional). 1981. Estudio piloto sobre la industria y comercio mundiales de algas. Ginebra UNCTAD/GATT, p 116.

45. Guzmán del Proo, S.A., M. Casas V., A. Díaz L., J. Pineda B. y M.E. Sánchez R., 1986. Diagnóstico sobre las investigaciones y explotación de las algas marinas en México. Inv. Mar. CICIMAR. 3(II): 1-63.
46. Stewart K.K. & Whitaker J.R. 1984. Modern methods of food Analysis. Avi Publishing Company .USA. pp33-42.
47. AOAC. 1990 Official Methods of Analysis of the Association Official Analytical Chemists 14Ed. Washington D.C
48. Hernández, C.G., M.A. Vilchis y Y.E. Rodríguez M. 1991. Recirculación del ácido residual de la etapa de pre-extracción en el proceso de obtención de alginato de sodio. Ciencias Marinas, 18(1):125-137.
49. Steel G.D. y Torrie H.J. 1985: Bioestadística. Principios y procedimientos. Mc Graw-Hill. México.
50. Castro, G.M.I., Carrillo D.S, Pérez-Gil F. 1994. Composición química de *M. Pyrifera* (Sargazo Gigante) recolectada en verano en invierno y su posible empleo en la alimentación animal. Ciencias marinas. 20(1): 33-40
51. Larsen, B. 1975 Brown seaweeds: analysis of ash, fiber, iodine and manitol. In: Handbook of phycological methods. pp.181-188.
52. Carrillo D.S Castro, G.M.I., Pérez-Gil F., Rosales E. y Manzano R.E. 1992. El alga marina (*Sargassum sinicola* Setchel & Gardner) como alternativa en la alimentación animal. Rev. Cubana Cienc. Agric. 26:179
53. Kaufer H.M. 1985. La fibra y su aporte a la salud. Cuadernos de Nutrición 8(5):17-32
54. McLaren D.S 1993. La Nutrición y sus transtornos. Manual Moderno. México D.F. 32-33pp
55. Klasing K.C. 1998. Comparative Avian Nutrition. CAB International London, UK. 850pp

56. Rosado J.L. Fibra dietética: Definición, Propiedades Fisicoquímicas y fisiológicas, y sus implicaciones en la salud. Educación Comunidad y salud Publica
57. Sigma-Aldrich Chemical Company.1994.pp 901.
58. F.C.C 1981.Food Chemical Codex. National Academic Press. Washington D.C. pp.13,14.
59. Zertuche G.J.1993.Situación actual de la Industria de Macroalgas Productoras de Ficocoloides en América Latina y el Caribe. FAO, México D.F. 56 pp.
60. Indergaard M.1991.From ice cream to champagne: New applications for alginates. Applied Phycology Forum 8(1):2-4
61. Mayer A., Panick B., Bonfil R., Espeche M., Fraile E., Díaz A., Pesce A., Criscuolo M., Groisman J.& Lederkremer R.1986. Screening of antitumor, cytotoxic, inmunologic, antimicrobial and antiviral activity in *Macrocystis pyrifera*, a patagonian marine algae of economic importance, Actas II Congr. Algas Mar. Chilenas. pp.177-183.
62. Mayer A., Krotz Y., Bonfil R., Bustuobad O., Groisman J., Lederkremer R. & Stierle D. 1987.a. Biological Activity in *Macrocystis pyrifera* from Argentina: sodium alginate, fucoidan and laminaran. I Antitumor cytotoxicity and humoral in immune response. Hydrobiología 151/152:483-489.
63. Mayer A., Krotz Y., Díaz A., Pesce A., Criscuolo M., Groisman J.& Lederkremer R. 1987.b. Biological activity in *Macrocystis pyrifera* from Argentina: sodium alginate, fucoidan and laminaran.III. Antibiral activity Hydrobiología 151/152: 497-500.
64. Larripa I.b., Mudry M.M., Labal M.& Mayer A.1987. Biological activity in *Macrocystis pyrifera* from Argentina: sodium alginate, fucoïdan and laminaran. II. Genotoxicity. Hydrobiología 151/152: 491-496

65. Jensen A. 1993 Present and future needs for algal and algal products. Hydrobiologia 260/261:15-23