

19
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

“DETERMINACION Y CUANTIFICACION DE AGAR
Y CARRAGENINA EN CINCO ESPECIES DE ALGAS
ROJAS 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 :
MARTHA ALICIA HERNANDEZ HERNANDEZ



MEXICO, D. F.

1999.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

27 46 84



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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. Bernardo Lucas Florentino
Vocal	Prof. Francisca Iturbe Chinas
Secretario	Prof. Silvia Carrillo Domínguez
1er. Suplente	Prof. Lucía Cornejo Barrera
2o. Suplente	Prof. Ruth Villaseñor Gutiérrez

Sitio en donde se desarrolló el tema: Departamento de Nutrición Animal del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán".

Asesor del tema



M. en C. Silvia Carrillo Domínguez

Supervisor Técnico



M.V.Z. Felipe Ramos Ramos

Sustentante



Martha Alicia Hernández Hernández

DEDICATORIAS

A Dios por haberme otorgado el preciado don de la vida, y porque a lo largo de ella ha sabido guiarme tanto en los momentos difíciles como en los mejores.

A la memoria de mi Mamá, Alicia Hernández, por sembrar en mí ese espíritu de lucha que a pesar de todo te hace seguir adelante con entusiasmo.

A mi Papá, Alejandro Hernández, y a mi Abuelita, Ma. de la Luz Hernández, por su inmenso amor y aliento en todo momento.

A mis hermanos, Francisco y Carolina, por los momentos que hemos compartido y que esto los aliente a llegar a la alcanzar sus metas.

A mi Esposo, M en I.Q. Rodolfo Téllez Schmill, por su total e incondicional apoyo, dedicación y compañía durante todo el desarrollo de mi carrera profesional y por contagiarme del entusiasmo de su actividad profesional.

A mis amigas de la Facultad, por la amistad, apoyo y agradables momentos que hemos compartido juntas.

A Silvia Carrillo Domínguez por su confianza y apoyo siempre presentes para que este trabajo pudiera llegar a su fin.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Fernando Pérez-Gil, Jefe del Departamento de Nutrición Animal por la ayuda brindada.

Al personal del Departamento de Nutrición Animal que de alguna u otra forma contribuyeron a la realización de esta Tesis.

A la M. en C. Margarita Casas-Valdez, a Hector Villalobos y Andrés Abitia, del CICIMAR de La Paz, B:C:S: por su ayuda en la colecta de las algas.

Al CONACyT por el financiamiento parcial otorgado al desarrollo de esta Tesis.

Al Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán".

A la UNAM y en especial a la Facultad de Química, en donde tuve la oportunidad de recibir mi formación profesional.

ÍNDICE

I. INTRODUCCION.....	1
II. ANTECEDENTES.....	2
2.1. Generalidades de las algas marinas.....	2
2.2. Generalidades de las algas rojas.....	3
2.2.1. Composición química de las algas rojas.....	4
2.3. Polisacáridos de las algas rojas.....	9
2.3.1. Agar.....	10
2.3.1.1. Propiedades.....	11
2.3.1.2. Métodos de obtención.....	12
2.3.1.3. Aplicaciones.....	13
2.3.2. Carragenina.....	13
2.3.2.1. Propiedades.....	15
2.3.2.2. Métodos de obtención.....	16
2.3.2.3. Aplicaciones.....	17
2.3.3. Fibra dietética.....	17
III. JUSTIFICACIÓN.....	19
IV. OBJETIVOS.....	20
4.1. General.....	20
4.2. Particulares.....	20
V. MATERIAL Y METODO.....	21
5.1. Colecta de cada especie algal.....	21
5.2. Secado.....	21
5.3. Molienda.....	21
5.4. Análisis químico aproximado de las 5 especies de algas rojas.....	22
5.5. Extracción y cuantificación de agar.....	22
5.5.1. Puntos a considerar al aplicar el método de Matsuhiro.....	24
5.6. Extracción y cuantificación de carragenina.....	25
5.6.1. Puntos a considerar al aplicar el método de Fostier.....	25

5.6.2. Identificación de hidrocoloideos	26
5.7. Porcentaje de recuperación en la determinación de agar y carragenina.....	29
5.8. Análisis estadístico.....	29
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
6.1. Análisis químico aproximado	30
6.2 Porcentaje de recuperación de agar y carragenina empleando los métodos de Matsuhiro y Fostier respectivamente.....	31
6.3. Pruebas de identificación para carragenina en la especie <i>Hypnea</i> spp.....	33
6.4. Cuantificación de agar en las cinco algas rojas.....	35
6.5. Cuantificación de carragenina en las cinco algas rojas	36
VII. CONCLUSIONES.....	40
VIII. RECOMENDACIONES	41
BIBLIOGRAFIA	42

I. INTRODUCCION

México es un país que al contar con extensos territorios costeros, ofrece importantes posibilidades de desarrollo económico. A su vez, los recursos algales representan una abundante biomasa que prácticamente no es aprovechada en el país (Godínez, 1992; Guzmán del Proo, 1993).

Las algas rojas constituyen uno de los grupos algales de mayor importancia debido a su abundancia y distribución, y a que son fuente potencial de agar y carragenina, ficocoloides con importantes aplicaciones en la industria alimentaria (Craigie, 1978; Chapman, 1980).

Sin embargo, a pesar de los innumerables beneficios que las algas rojas pueden aportar, en México la mayoría no han sido explotadas y es poco el conocimiento que sobre su composición química se tiene. Por tanto, el presente trabajo tiene como objetivo determinar y cuantificar el agar y la carragenina en cinco especies de algas rojas de Baja California Sur, México. El estudio forma parte de la línea de investigación "Aprovechamiento de recursos marinos para la alimentación animal" del Departamento de Nutrición Animal del Instituto Nacional de la Nutrición, Salvador Zubirán.

De esta manera, se espera contribuir a un mayor conocimiento de los recursos algales del país y a su mejor aprovechamiento en la nutrición humana y animal.

II. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades de las algas marinas

Las algas son un grupo diverso de plantas criptógamas (eucariotas), autótrofas, las cuales morfológicamente se pueden encontrar como células individuales, como colonias de células fisiológicamente independientes, o como largos tallos complejos de hasta 60 metros de altura. Todas parten de características anatómicas comunes como la ausencia de un sistema vascular o sistema de transporte de alimentación (Wood, 1991).

Son fundamentalmente organismos marinos que pueden crecer en *habitats* salobres, a lo largo de las costas, con frecuencia adheridas a las rocas donde están expuestas a la marea baja y muchas de ellas crecen en aguas profundas de hasta 100 metros de profundidad y también las hay de agua dulce (Cronquist, 1982).

Las algas pueden ser clasificadas de una manera sencilla con base al pigmento mayoritario, de esta manera es común encontrar la clasificación señalada en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Clasificación de las algas

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>Macrocystis</i> <i>Laminaria</i>
ROJO	Clorofila a β-caroteno Ficoeritrina	Rodoficeas	<i>Porphyra</i> <i>Rodhymenia</i>

Fuente: Round, citado por Wood (1991).

2.2. Generalidades de las algas rojas

Las rodofíceas o algas rojas comprenden la única clase en la división de las Rodofitas y son probablemente, uno de los grupos más antiguos de algas eucarióticas (Dawson, 1966).

Son algas fundamentalmente marinas, de hábitat generalmente profundo y caracterizadas por su coloración roja debido principalmente a la presencia de ficoeritrina (pigmento fotosintético), la cual enmascara la presencia de clorofila a y probablemente la b y las ficocianinas b, c y r. Por lo anterior, este grupo de algas tiene la habilidad de desarrollarse en el océano a profundidades de hasta 200 m (Dawson, 1966; Lozano, 1978; Bold, 1985).

La sustancia de reserva de las algas rojas es el almidón de las florideas (Floridean Starch), nombre aplicado para distinguirlo de la amilopectina de las plantas superiores (Lozano, 1978; Lee, 1989).

Las paredes celulares están formadas por celulosa, peptonas y diversos mucílagos como el agar y la carragenina, los cuales pueden llegar a constituir el 70% del peso seco de la pared celular, además de xilanos y mananos (Dawson, 1966; Lozano, 1978).

Los géneros representativos dentro del grupo de las rodofíceas, por su utilidad en la industria de las gomas y mucílagos, se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Géneros representativos de las algas rojas productoras de agar y carragenina.

GENERO	ESPECIES	TIPO DE EXTRACTO
<i>Chondrus</i>	<i>crispus</i>	Carragenina
	<i>ocellatus</i>	
<i>Gigartina</i>	<i>stellata</i>	Carragenina
	<i>radula</i>	
<i>Porphyra</i>	<i>umbicallis</i>	Carragenina
	<i>capensis</i>	
	<i>crispata</i>	
<i>Gelidium</i>	<i>amansii</i>	Agar
	<i>cartilagineum</i>	
	<i>latifolium</i>	
<i>Hypnea</i>	<i>musciiformis</i>	Carragenina y Agar
<i>Gracilaria</i>	<i>foliifera</i>	Agar
	<i>verrucosa</i>	
<i>Acanthopeltis</i>	<i>japonica</i>	Agar
<i>Pterocladia</i>	<i>capillacea</i>	Agar
<i>Ahmfeltia</i>	<i>plicata</i>	Agar

Fuente: Glicksman (1969).

2.2.1. Composición química de las algas rojas.

La composición química de las algas sufre variaciones geográficas y estacionales (Hoppe, 1982), por lo que los valores de cada fracción química presentan un amplio rango de variación (Cuadro 3).

Cuadro 3. Composición química de las algas (base seca)

Fracción Química	Cloroficeae	Rodoficeae	Feoficeae
Carbohidratos (%)	50.6-46.2	40.1	42.0-58.1
Fibra (%)	0.2	3.55	2.0-7.7
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
Carotenos (mg)	0.02	0.03	1.00

Fuente: Chapman, Levring, Robinson, Lontoc, De León,
citados por Wood (1991).

En general se puede decir que el contenido de proteína es semejante al de otros vegetales, como la col (13%) o las zanahorias (4%), aunque como en muchas de las proteínas de origen vegetal, también son deficientes en ciertos aminoácidos esenciales, especialmente de los azufrados (Cuadro 3). En el caso del grupo de las algas rojas, la cantidad de proteína que contienen regularmente es de entre 10% a 15% (peso seco), aunque hay casos extraordinarios en el género *Porphyra*, el cual presenta de 25% a 27% de proteína en peso seco. Las algas contienen suficientes cantidades de los elementos requeridos en la nutrición humana, tales como el yodo, sodio, potasio, magnesio, calcio, hierro, fósforo, entre otros. Además contienen β -caroteno, precursor de la vitamina A, varias vitaminas del complejo B, incluyendo tiamina, riboflavina, niacina y B12, así como la vitamina C, la cual se encuentra presente en concentraciones mayores a la de los cítricos; aunque existen otros elementos como el cobalto, vanadio, molibdeno, manganeso, boro, aluminio y cromo, que se encuentran en cantidades traza, pero suficiente para ser usados como suplemento en abonos y fertilizantes (ver Cuadro 4). Sin embargo la mayor fracción química la constituyen los carbohidratos (Volesky, 1970; Hansen, 1981; Wood, 1991).

Generalmente las algas acumulan pocas cantidades de lípidos (0.2 a 0.8 % peso seco) y con muy pocas excepciones, esta fracción es muy similar en todos los grupos de algas (Cuadro 3).

Cuadro 4. Contenido de vitaminas y minerales en algas marinas.

COMPONENTE	CLOROFICEAE	RODOFICEAE	FEOFICEAE
Vitamina A (UI)	100	26000	trazas-430
Vitamina B (mg / 100 g)	0.004-2.8	10.39	SD
Vitamina C (mg)	60	75	1.5-77
Niacina (mg / 100 g)	100-6300	3.8	1.8-3.5
Yodo (ppm)	6.0-42.5	9-271	18-4000
Plata (ppm)	0.04-1-18	306-2391	150-3000
Manganeso (ppm)	10-439	84-366	10-210
Cobre (ppm)	3.0-45	3.0-94	1.5-21
Zinc (ppm)	25-63	15-125	6.67-210
Potasio (%)	1.12-3.9	1.0-46	1.5-17.5
Fósforo (%)	0.13-0.2	0.03-0.15	0.18-0.8
Calcio (%)	2.1-2.7	0.7-3.9	1.0-11.1

SD = Sin Dato

Fuente: Chapman, Levring, Robinson, De León, citados por Wood (1991).

En lo que se refiere a los carbohidratos, ésta es una de las fracciones más abundantes en las algas (Cuadro 3). Dentro de los productos de reserva acumulables se encuentra el manitol, presente solo en la feoficeas y el cual se forma como resultado del proceso de asimilación, ocupando en el caso de las algas, el lugar de la glucosa. En las algas rojas los carbohidratos totales son, por una parte, los de reserva como el almidón (almidón de la florídea) y los estructurales, presentes en la pared celular como son la celulosa y la pectina. Sin embargo, hay otros constituyentes que difieren según la familia de algas a la que pertenezcan. Las feoficeas tienen una pared celular constituida además por ácido alginico y fucoídina, mientras que las cloroficeas contienen quitina y mananos. Pero las rodoficeas

presentan membranas celulares formadas además por peptonas y mucilagos de importancia comercial como el agar-agar y la carragenina, los cuales en ocasiones pueden llegar a constituir hasta más del 70% del peso seco de la pared celular (Figura 1) (Dawson, 1966; Volesky, 1970; Lozano, 1978; Hoppe, 1982).

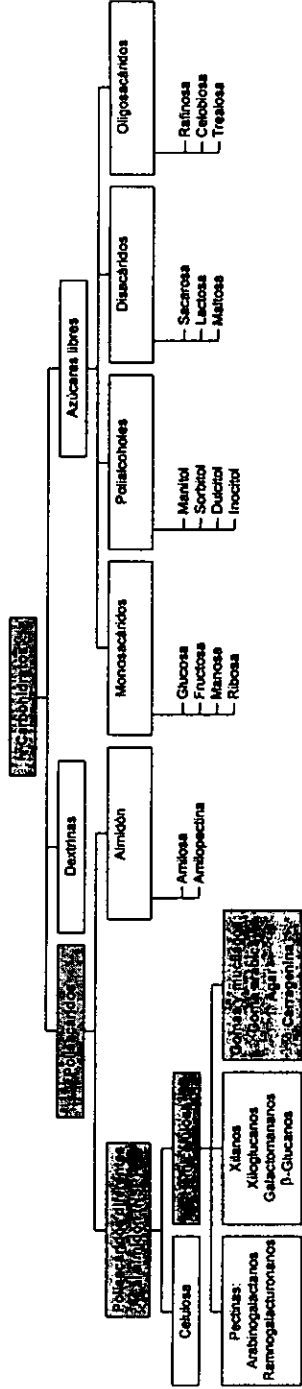


Figura 1. Clasificación de los carbohidratos

Fuente: Englyst, 1993.

2.3. Polisacáridos de las algas rojas

Las algas marinas son particularmente interesantes debido a la diversidad de polisacáridos presentes. De esta manera, el estudio de las algas ha ayudado a entender la estructura y propiedades de los polisacáridos, así como sus funciones (Mackie, 1974; Percival, 1990).

Éstos polisacáridos están presentes en las paredes celulares en forma de mucilagos, formando parte de la fracción soluble de la fibra dietaria (Nieman, 1990). Cuando son extraídos del tejido algal pueden llegar a constituir del 10-65% del peso seco, dependiendo del género y las condiciones de crecimiento, así como de factores ambientales, los cuales son determinantes en la síntesis de éstos polímeros (Volesky, 1970; Percival, 1990).

Cada uno de los tres principales grupos de algas sintetizan polisacáridos característicos. En las algas rojas, los principales son los galactanos sulfatados tales como agar, carragenina, porfirano, furcellarano y funorano, los cuales están conformados de unidades de galactosas sulfatadas y 3,6-anhidrogalactosa unidas alternadamente por enlaces β -1,3 y α -1,4. Las unidades con enlaces 1,3 generalmente tienen la configuración D-, mientras que las unidades con enlaces 1,4 pueden tener tanto la configuración D- como la L- (Mackie, 1974; Percival, 1990).

Los polisacáridos que contienen unidades alternadas tanto como D- como L-galactosa están ejemplificados por la agarosa y el porfirano, por lo que estructuras de este tipo es posible encontrarlas en géneros tales como *Gelidium*, *Gracilaria*, *Laurencia*, *Porphyra*, entre otros. Los polisacáridos que contienen unidades con configuración D- se encuentra ejemplificadas por la carragenina y el furcellarano, los cuales pueden encontrarse en géneros tales como: *Chondrus*, *Gigartina*, *Ahnfeltia*, *Hypnea*, *Laurencia*, *Fucellaria*, entre otras (Mackie 1974).

Un gran número de géneros y especies de algas rojas son usados como fuente de agar y carragenina (también llamados ficocoloides) y debido a las propiedades fisicoquímicas que presentan se les ha dado una gran variedad de aplicaciones prácticas: como materiales estructurales, recubrimientos, adhesivos, geles hidratados y soluciones viscosas y más recientemente en el laboratorio para cromatografía de intercambio iónico y filtración en gel (Mackie, 1974; Hansen, 1981; Percival, 1990).

Indudablemente, estas mismas propiedades son de gran importancia en algunas funciones biológicas, ya que se cree que estos polisacáridos complejos, presentan en el organismo un comportamiento similar al de la fibra, disminuyendo así, la concentración de colesterol plasmático en animales de laboratorio y en humanos (Davison; 1991). Este efecto ha sido explicado en términos del metabolismo de ácidos biliares o ciclo enterohepático. La fibra, se supone, interrumpe dicho ciclo evitando la reabsorción de ácidos biliares. 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 lipoproteínas (Englyst, 1993).

2.3.1. Agar

El agar es el ficocoloide más antiguo que se sabe fue el primero en comercializarse en el Oriente. La principal fuente de agar son las algas del género *Gelidium*, pero también algunas otras especies como *Gracilaria*, *Pterocladia*, *Ahnfeltia* e *Hypnea* dan rendimientos satisfactorios (Volesky, 1970; Percival, 1990). Volesky (1970) comenta que en general para las algas rojas puede obtenerse un rendimiento de 24-25% del peso seco del alga dependiendo de la fuente, mientras que Whyte y Englar (1980) han reportado rendimientos considerados como normales en las agarofitas de 17-25%.

Químicamente, el agar está conformado por diferentes proporciones de agarosa y agarpectina. La agarosa es la fracción no sulfatada compuesta por una cadena neutral de β -D-galactopiranosas unida a través de las posiciones β -1,3- y otra de 3,6-anhidro- α -L-galactopiranosas con enlaces en las posiciones α -1,4- y repetidas alternadamente (Figura 2).

La agarpectina es la fracción sulfatada y presenta la misma estructura que la agarosa, pero además contiene ésteres de sulfato, ácido D-glucurónico y pequeñas cantidades de ácido pirúvico (Hansen, 1981; Percival, 1990).

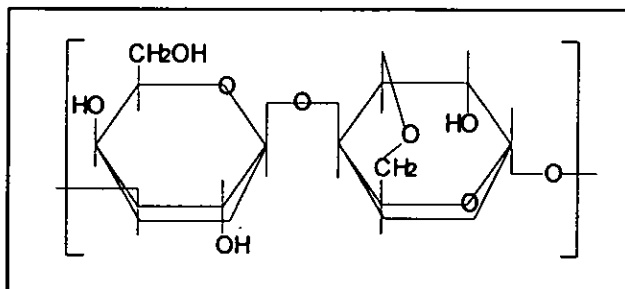
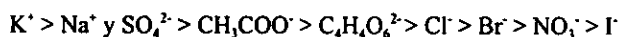


Figura 2. Agarosa

2.3.1.1. Propiedades

En el agar, la agarosa es el componente que proporciona las propiedades gelificantes, mientras que la agarpectina es el componente viscoso. Sin embargo, estas propiedades varían de una especie a otra, ya que el incremento en el contenido de sulfato reduce la capacidad gelificante (Volesky, 1970; Chapman, 1980).

El agar seco es insoluble en frío, pero soluble en agua caliente. El gel de agar ebulle en el rango de 90-100°C. Tiene la posibilidad de formar geles a muy bajas concentraciones, por lo que la medida de la viscosidad debe hacerse en soluciones de agar al encontrarse por debajo de su temperatura de gelificación (<40°C). La presencia de iones tiende a reducir la viscosidad de una solución de agar, por lo que la magnitud de este efecto depende del nivel y tipo de ión usado. Por ejemplo, el efecto de aceleración de gelificación de agar de algunos iones aparecen en el siguiente orden:



donde Br^- , NO_3^- y I^- retardan la velocidad de gelificación (Volesky, 1970; Matsushashi 1992).

Debido a su alto contenido de agua (98-99% o más), el punto de congelación de los geles de agar en general es muy cercano a 0°C.

2.3.1.2. Métodos de obtención

Generalmente, la extracción del agar se realiza en agua hirviendo, seguida de un proceso de purificación el cual consiste en congelamiento del gel y su drenado para separar impurezas. Sin embargo, la cantidad de agar obtenida varía según el método de extracción y la época del año en que se colecta el alga (Volesky, 1970; Chapman, 1980). Por ejemplo, a partir del género *Gracilaria*, se han llegado a obtener rendimientos de 10.8% hasta un 43% en diferentes épocas del año (Matsuhiro, 1990; Hurtado-Ponce, 1992; Murano, 1993; Pickering, 1993).

Las diversas técnicas de extracción y cuantificación de agar, se pueden agrupar como sigue:

- a) El procedimiento tradicional, originario de Japón, que se basa en la extracción del ficocoloide con agua a ebullición e incluye diversas adaptaciones propias de un laboratorio experimental (Matsuhiro, 1990; Volesky, 1970; Glicksman, 1969)
- b) El procedimiento con extracción alcalina empleando NaOH/NaBH₄ o buffer de fosfato, que tiene como principal objetivo convertir los residuos de L-galactosa 6-sulfato, que forman parte del polímero de agar, a su correspondiente residuo 3,6-anhidro-L-galactosa, modificando así las características reológicas del producto final al incrementarse la fuerza del gel (Pickering, 1993; Craigie and Leigh, 1978; Hurtado-Ponce, 1992)
- c) La explosión al vapor, que es un procedimiento considerado innovador, enfocado al mejoramiento de la eficiencia de extracción industrial de agar. Esta técnica involucra temperaturas altas que suavizan el tejido algal destruyendo así las uniones entre el agar y otros componentes de la pared celular (Murano, 1993; Foher, 1991).

2.3.1.3. Aplicaciones

El agar tiene una gran variedad de aplicaciones, pero la más importante es en laboratorios de estudios microbiológicos al usarse como soporte en medio de cultivo. Sin embargo, debido a que el agar es una sustancia casi inócua, se ha ampliado su uso a la industria alimentaria donde se usa como agente gelificante y espesante que dan cierto cuerpo y volúmen, así como agente estabilizante, llegando a reemplazar a otros hidrocoloides como el almidón y la pectina, entre otros. De esta manera se ha llegado a usar en carne y pescado enlatados y en pequeñas cantidades en algunos otros alimentos enlatados y en cereales. Por otro lado, el agar tiene la propiedad de pasar por el estómago sin ser digerido, liberando su contenido de agua, provocando así un efecto laxante. El agar es usado también en cosméticos, en la industria textil y de la piel, de manera análoga a los alginatos y carragenina, proporcionando firmeza y rigidez al material (Volesky, 1970; Harris, 1990).

2.3.2. Carragenina

Las principales fuentes de carragenina son *Chondrus crispus* ("Musgo Irlandés") y *Gigartina stellata*, que representan a la verdadera carragenina. En México, este polisacárido es obtenido a partir de las especies *Gigartina canaliculata* y *Gigartina radula*. Existen otras especies como fuentes potenciales tales como *Endocladia*, *Polchymenia* y *Tichocarpus crinitus*, entre otras. La cantidad de carragenina informada para estas especies es de un 19% a un 37% (base seca) y varía según el método de extracción que se utilice (Chapman, 1980; Harris, 1990; Fostier, 1992).

La carragenina es un polisacárido complejo que forma parte de la pared celular de las rodofceas. Consiste en unidades de D-galactosa unidas por enlaces glucosídicos α (1-3) y β (1-4) en forma alternada (Figura 3). Dichas unidades se diferencian entre sí por la cantidad de moléculas de los azúcares anhidro 3,6-anhidro-D-galactosa que contenga y por la posición en que los grupos sulfato se encuentran en la molécula de D-galactosa. Sin embargo, la carragenina, en contraste con el agar, se encuentra altamente sulfatada en un

18% o más. El grado de sulfatación depende de la etapa de reproducción del alga (Craigie, 1978; Chapman, 1980; Badui, 1981).

Hasta la fecha se han identificado diferentes fracciones de carragenina, de las cuales las más importantes son las denominadas κ , λ , ι , μ y ν . De éstas, κ - y λ -carragenina son las de mayor importancia en alimentos, debido a que la típica carragenina comercial es un extracto de la especie *Chondrus crispus*, que contiene alrededor de 60% de la fracción de κ -carragenina (gelificante) y 40% de la fracción λ -carragenina (no gelificante). Sin embargo, la proporción de cada una de estas fracciones depende de la especie y de la etapa de reproducción del alga. Se ha identificado a la especie *Eucheuma cottonii* como fuente de κ -carragenina y *Eucheuma spinosum* de ι -carragenina. Otros trabajos han demostrado que tanto ν como α -carragenina son precursores para la síntesis de ι - y θ -carragenina respectivamente, mientras que μ -carragenina es el posible precursor de κ -carragenina (Chapman, 1980; Harris, 1990; Percival, 1990).

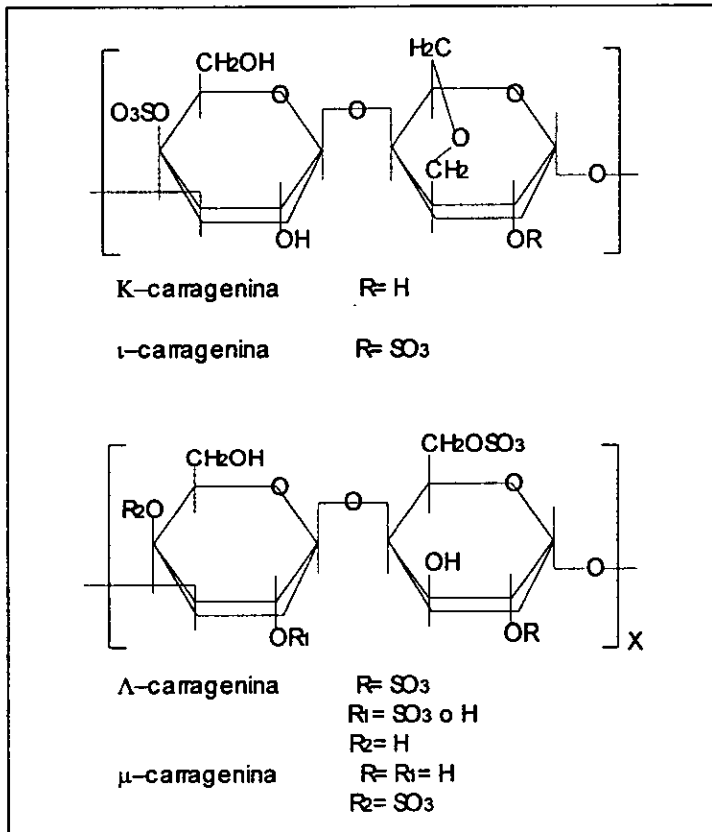


Figura 3. Estructura química de las fracciones κ, ι, λ y μ de carragenina

2.3.2.1. Propiedades

A diferencia del agar, el cual es considerado como un polímero neutral, la carragenina posee una alta densidad de grupos sulfatados, los cuales son fuertemente aniónicos. El ácido libre es inestable, por lo que generalmente son convertidos a sales de sodio, potasio y calcio. Sin embargo, los cationes asociados, junto con la conformación de los azúcares en la cadena polimérica, determinan las propiedades de las soluciones y geles de carragenina (Matsushashi 1992).

Los pesos moleculares de la carragenina varían de 500,000 en forma nativa en la planta, hasta 100,000 en la forma comercial más usada en alimentos. Al dispersarse en el agua, la carragenina se hincha, requiriéndose de un calentamiento ligero para que se disuelva. La solución resultante tiene una baja viscosidad a temperaturas mayores de 60°C, pero al enfriarse forma geles cuya calidad y rigidez dependen de la concentración del coloide y de la cantidad de iones K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Sr^{2+} y Ba^{2+} que contengan. Los geles de carragenina son térmicamente reversibles y requieren de altas temperaturas. Las propiedades gelantes de la κ -carragenina son más efectivas que la α -carragenina, por lo que se debe especificar la proporción en la que están presentes en el alga (Chapman, 1980; Badui, 1981).

2.3.2.2. Métodos de obtención

La extracción comercial de la carragenina es similar a la del agar, aunque ésta no es purificada mediante el proceso de congelación y drenado descrito anteriormente. El alga seca se hierve durante algunas horas, y para que el extracto se purifique se filtra a través de sílica porosa o carbón activado, separando de esta manera la carragenina soluble del residuo insoluble. La operación final para aislar la carragenina se obtiene mediante la evaporación del agua o por precipitación con alcohol isopropílico. Otros procesos comunes son mediante congelación o presión (Dawson, 1966; Harris, 1990; Zablackis, 1993).

De la misma forma que en el caso de agar, es posible agrupar todas las técnicas en dos grupos:

- a) Los primeros trabajos de Schmidt en 1844 (citado por Glicksman, 1969) y más tarde la patente de Bourgade en 1871 (citado por Glicksman, 1969), se basan en la precipitación del ficocoloide con alcohol y que puede o no combinarse con una extracción alcalina (Fostier, 1992; Zablackis, 1993; Glicksman, 1969)

- b) El procedimiento de precipitación con CTAB (bromuro de cetiltrimetilamonio "Cetavlon") que también puede o no combinarse con una extracción alcalina (Chopin, 1991; Craigie and Leigh, 1978).

2.3.2.3. Aplicaciones

Los usos de la carragenina son muy amplios y variados debido a que la fuerza del gel y la viscosidad que proporcionan están altamente influenciadas por el peso molecular, pH y la adición de sales (K^+ , Ca^{2+} , NH_4^+), llegando a obtener así, geles muy firmes o muy suaves e incluso elásticos. La carragenina se ha empleado en la manufactura de leches infantiles y evaporadas, por su propiedad de reaccionar con las proteínas de la leche; se ha visto que la κ -carragenina tiene la capacidad de estabilizar las caseína α y β evitando la precipitación por iones calcio. Además se usa en bebidas a base de chocolate, en helados estabilizando el suero, y en pudines y flanes. Participa en la elaboración de productos dietéticos como emulsificante y espesante. Inclusive en la industria textil es usada para proporcionar rigidez y firmeza al material. Finalmente, se ha descubierto que tiene efectos anticoagulantes y antiulcerantes. Y como ya se mencionó, este carbohidrato junto con el agar forman parte de la fibra dietética y como tales, aportan beneficios adicionales a la salud (Glisckman, 1969; Chapman, 1980; Hansen, 1981; Harris, 1990).

2.3.3. Fibra dietética

El concepto de su definición es específico dependiendo del área de estudio. Por lo que en su sentido botánico, el término fibra se refiere al componente rígido y fibroso de la pared celular de las plantas, mientras que químicamente, la fibra dietética está constituida por los carbohidratos resistentes a la hidrólisis enzimática de las secreciones endógenas del tracto digestivo de los humanos más la lignina. Y desde el punto de vista clínico/fisiológico, es el grupo de componentes en la dieta cuya resistencia a la digestión produce un aumento en el bolo fecal, retiene agua, actúa como sitio para intercambio de iones y se une a moléculas orgánicas (Rosado, 1989).

Es posible clasificar a los componentes de la fibra dietética principalmente en 3 fracciones (Janssen, 1989; Nieman, 1990):

- a) **polisacáridos estructurales** (fibras insolubles) que se encuentran asociados a la pared celular (celulosa, hemicelulosa y algunas pectinas);
- b) **componentes estructurales no-polisacáridos** (fibras insolubles) principalmente las ligninas;
- c) **polisacáridos no estructurales** (fibras solubles) como las gomas y mucílagos secretados por las células de las plantas y algunos otros polisacáridos como la carragenina y el agar.

En los últimos años se han generado un gran número de investigaciones sobre la importancia de la ingestión de la fibra dietética en la nutrición y en la salud, debido a que está asociada con una variedad de efectos fisiológicos, los cuales dependen de las propiedades fisicoquímicas de los diferentes tipos de fibra y a la región del tracto digestivo. Estos efectos incluyen el incremento en el peso y volumen del bolo fecal, disminución en los niveles plasmáticos de colesterol, disminución en la respuesta glicémica a los alimentos, efecto variable en el riesgo de cáncer de colon y recto y la disminución en la disponibilidad biológica de nutrimentos (Rosado, 1989). Por ejemplo, una propiedad muy específica de las gomas y mucílagos es su capacidad de retención de agua, produciendo cambios en el tiempo de tránsito intestinal y el vaciamiento gástrico siendo causantes del aumento en el peso del bolo fecal. Asimismo, al ser fibras solubles, se fermentan en mayor grado que las fibras insolubles, produciendo ácidos grasos volátiles que son absorbidos en el colon, modificando el metabolismo de los lípidos al disminuir la síntesis de lipoproteínas de baja densidad (Rosado, 1989; Englyst, 1993).

III. JUSTIFICACIÓN

Las algas rojas son una fuente importante de los ficocoloides agar y carragenina, los cuales, por las propiedades reológicas que presentan, son de gran importancia en la industria alimentaria. Además, este tipo de polisacáridos forman parte de los componentes de la fibra dietaria y dados los innumerables beneficios que ésta aporta a la nutrición humana y animal, es de gran interés conocer el contenido de los mismos en especies algales consideradas abundantes y de amplia distribución en el país.

IV. OBJETIVOS

4.1. General

Determinar y cuantificar agar y carragenina en cinco especies de algas rojas de importancia económica colectadas en las costas de Baja California Sur, México.

4.2. Particulares

4.2.1. Determinar la presencia de agar y/o carragenina en las especies *Laurencia johnstonii*, *Spyridia filamentosa*, *Gracilaria lemaneiformis*, *Hypnea musciformis* e *Hypnea spp.*

4.2.2. Cuantificar el contenido de agar en las especies *Laurencia johnstonii*, *Spyridia filamentosa*, *Gracilaria lemaneiformis*, *Hypnea musciformis* e *Hypnea spp.*

4.2.3. Cuantificar el contenido de carragenina en las especies *Laurencia johnstonii*, *Spyridia filamentosa*, *Gracilaria lemaneiformis*, *Hypnea musciformis* e *Hypnea spp.*

V. MATERIAL Y METODO

Para el presente trabajo fue necesario llevar a cabo una serie de operaciones que se detallan a continuación:

5.1. Colecta de cada especie algal

Con la colaboración del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) del IPN en La Paz, B.C.S. así como de personal del Departamento de Nutrición Animal del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, se colectaron en forma manual 5 especies de algas rojas en la costas de Baja California Sur, en las siguientes localidades:

ESPECIE	FECHA	LOCALIDAD
<i>Hypnea spp.</i>	Junio, 1995.	Bahía Tortugas, B.C.S
<i>Hypnea musciformis</i>	Abril, 1997	Bahía de la Paz, B.C.S.
<i>Laurencia johnstonii</i>	Abril, 1993	Bahía de la Paz, B.C.S.
<i>Spyridia filamentosa</i>	Abril, 1993	Bahía Concepción, B.C.S.
<i>Gracilaria lemaneiformis</i>	Agosto, 1992	Laguna San Ignacio, B.C.S.

5.2. Secado

Después de enjuagar las algas con agua de mar, para eliminar epífitas y material extraño, se llevó a cabo el secado extendiéndolas sobre una superficie de cemento expuestas al sol y al aire, reduciendo el contenido de humedad a un 10% como máximo.

5.3. Molienda

Se realizó para obtener un producto homogéneo y tener un mejor manejo del alga molida durante el análisis y asimismo facilitar la suspensión de las partículas pequeñas (alga molida) y obtener mayor superficie de contacto con la solución de extracción de los constituyentes a determinar. Dicha operación se realizó primeramente con un molino de martillos y luego con un molino de cuchillas obteniéndose así partículas muy finas de 2

mm. Después, cada especie algal molida se empacó en bolsas de polietileno y se almacenaron a temperatura ambiente y en ausencia de luz.

5.4. Análisis químico aproximado de las 5 especies de algas rojas

Este análisis se llevó a cabo con el fin de tener una idea general del contenido de carbohidratos en cada una de las especies en estudio, y constó de las siguientes determinaciones: Humedad (método 934.01, AOAC, 1990), proteína cruda (método de Kjeldahl 976.05, AOAC, 1990), cenizas (método 942.05, AOAC, 1990), extracto etéreo (método 920.39, AOAC, 1990), fibra cruda (método 962.09, AOAC, 1990) y los carbohidratos fueron calculados por diferencia.

5.5. Extracción y cuantificación de agar

El procedimiento a seguir es el que se muestra en el siguiente diagrama de flujo de la Figura 4 y esta basado en el método de Matsuhira (1990).

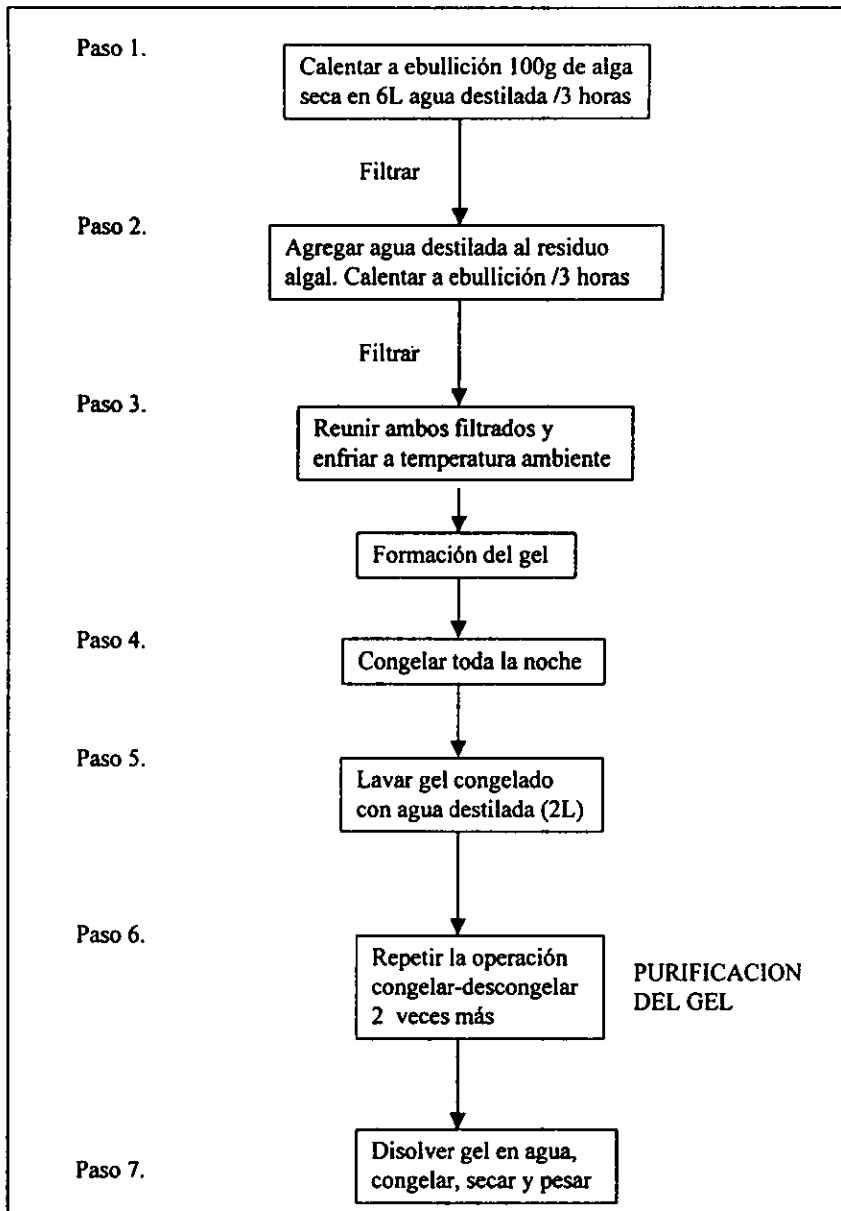


Figura 4. Método para la determinación y cuantificación de agar según Matsuhiro (1990)

Sin embargo, se realizaron algunas variaciones al método, señaladas a continuación.

5.5.1. Puntos a considerar al aplicar el método de Matsuhira

En el paso 1 se recomienda implementar la agitación constante, con el fin de mantener toda la muestra en contacto con el agua y a un calentamiento homogéneo, para evitar que todo el material algal se quede asentado y poder realizar una extracción del polisacárido con mayor eficiencia.

Para evitar la pérdida de agar durante la filtración (pasos 1 y 2), es importante que el residuo algal quede lo más posible libre de agua, debido a que el agar se encuentra solubilizado en el agua. Por lo tanto, se debe exprimir la muselina o gasa para recuperar la mayor cantidad de líquido filtrado posible.

En el paso 5 el gel no se lavó con los 2L de agua, ya que se considera innecesario acelerar el proceso de descongelación, ahorrando agua y previniendo alguna pérdida que pudiera afectar el contenido durante el lavado.

En el paso 6 se considera no repetir la operación de congelar-descongelar dos veces más, ya que es posible observar que con solo repetir el ciclo una vez es suficiente para drenar las impurezas (por ejemplo arena) junto con el exceso de agua, facilitando de esta manera el secado del agar obtenido. Con el fin de evitar la pérdida de gel durante la descongelación, ésta se realiza colocando el bloque de hielo sobre muselina o filtro de tela para facilitar así el drenado del exceso de agua del gel.

En el paso 7 el gel no se disolvió en agua porque a este producto no se le realizarán posteriormente pruebas reológicas. Por lo tanto, la matriz de gel obtenida únicamente se seca en estufa de 35°C-40°C durante 24-36 horas y se pesa. Durante el secado es importante que la temperatura no exceda los 45°C, debido a que a temperaturas mayores, el gel se derrite y puede llegar a quemarse, afectando de alguna manera el contenido.

5.6. Extracción y cuantificación de carragenina

El procedimiento a seguir es el que se muestra en el diagrama de flujo de la Figura 5, fue el citado por Fostier (1992).

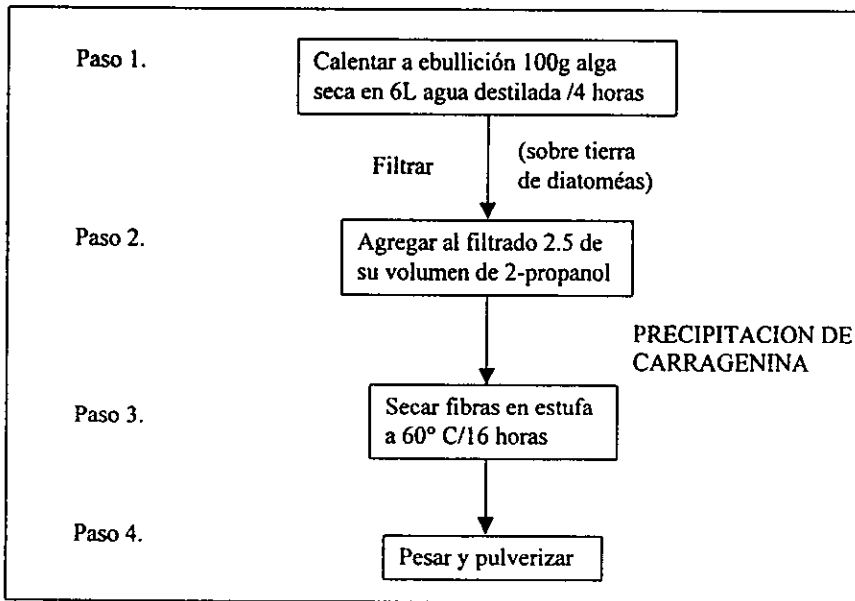


Figura 5. Método para la determinación y cuantificación de carragenina, según Fostier (1992)

A partir de éste método se realizaron algunas variaciones hasta que la técnica quedó adaptada a las condiciones del laboratorio.

5.6.1. Puntos a considerar al aplicar el método de Fostier

En el paso 1 también se recomienda implementar la agitación constante con el fin de mantener toda la muestra en contacto con el agua y con un calentamiento homogéneo, evitando que todo el material algal se quede asentado, y realizar la extracción del polisacárido con mayor eficiencia. Además de que se propone el uso de la centrifugación (800 rpm) debido a que una pequeña cantidad de tierra de diatoméas logra pasarse al filtrado.

En el paso 2, después de adicionar el 2-propanol, se propone dejar en reposo durante 24 horas hasta que precipite. Después de este tiempo, decantar y centrifugar el sobrenadante para recuperar el total de las fibras de carragenina precipitadas.

Además, es importante que después de decantar el residuo algal, se recuperen todos los remanentes de fibras de carragenina que se adhieren a las paredes del recipiente enjuagando con un poco de alcohol y centrifugando para evitar pérdidas y por consiguiente no se modifique el contenido.

5.6.2. Identificación de hidrocoloides

Se realizaron una serie de pruebas (cuadro 5) utilizando estándares de agar-agar y κ -carragenina, así como los productos extraídos (tanto de agar como de carragenina) de la especie *Laurencia johnstonii*. Dicha especie se seleccionó debido a que las especies *Spyridia filamentosa* y *Gracilaria lemaneiformis* tienen un contenido de carragenina bajo en comparación con el resto de las especies, mientras que *L. johnstonii* presenta un contenido tanto de agar como de carragenina mayor a las especies antes mencionadas. Además, las características físicas de los geles de agar y carragenina de esta especie son bien conocidas.

A. Solubilidad en agua

Primero se humedecieron 0.25-0.50g del gel obtenido a partir de las algas y de los estándares agar-agar y κ -carragenina, con 2 mL de etanol al 95% y se agregaron 50 mL de agua destilada. El material sólido suspendido en el agua se agitó. Posteriormente se calentó cada suspensión y se agitó constantemente sobre una parrilla caliente o a la flama (Solución A*). Cuando la muestra se disolvía, se interrumpía el calentamiento inmediatamente. Si no, se mantenía a 85-95°C por 15 minutos.

B. Características de la precipitación con alcohol

El procedimiento consistió en preparar 20 mL de una solución del gel obtenido de las algas así como de los estándares de agar-agar y κ -carragenina al 1 %. A cada solución anterior, se le agregaron 70 mL de etanol al 95%, gota a gota y con agitación constante hasta que la precipitación fuera completa. Finalmente se comparó la textura y características del precipitado, según las mencionadas en el cuadro 5.

C. Identificación con $\text{Ba}(\text{OH})_2$ y KOH

La identificación con $\text{Ba}(\text{OH})_2$ (solución saturada) se realizó mezclando 5 mL de la Solución A* con 0.1 volumen de hidróxido de bario saturado. En seguida se calentó la solución en un baño de agua a ebullición por 10 minutos. La formación en frío de un precipitado gelatinoso y casi opaco, indicaba la presencia de carragenina. El cambio de color durante el calentamiento a amarillo, luego a verde y finalmente a gris, indicaba la presencia de agar.

Para la identificación con KOH al 10% se tomaron 5 mL de la Solución A*, agregándole 2-3 gotas de KOH al 10%. Si la solución se gelificaba al instante, se trataba de carragenina, mientras que si la solución únicamente se clarificaba, entonces se trataba de agar.

D. Pruebas confirmatorias

1. Carragenina: A 1 mL de la Solución A*, se agregaron 2-3 gotas de azul de metileno al 0.5% en agua. La precipitación de fibras teñidas de azul, confirmó la presencia de carragenina.

2. Agar: Se precipitó el ficocoloide de 5 mL de la Solución A* con un poco de alcohol. Se agregaron unas gotas de tintura de yodo para teñir el precipitado. La coloración azul o negra indicó la presencia de agar. El almidón también es teñido de azul con el reactivo (Ewart y Chapman, 1952, citados por Glisckman, 1969).

Cuadro 5. Pruebas de identificación de los hidrocoloides agar y carragenina

PRUEBA	AGAR	CARRAGENINA
Dispersión de la goma en agua ^(a)	Se hincha en agua fría, se disuelve al calentar y al enfriar se forma un gel	Se disuelve lentamente en agua fría, rápidamente al calentar forma una solución viscosa
Características de la precipitación con alcohol ^(b)	Formación de precipitado floculento que se adhiere a la pared del recipiente que lo contiene	Formación de precipitado en forma de coágulo, translúcido, firme y adherente
Identificación con Ba(OH) ₂ (solución saturada) ^(a)	Cambio de color durante el calentamiento a amarillo, luego verde y finalmente gris.	Formación en frío de un precipitado gelatinoso y un poco opaco
Identificación con KOH (solución al 10%) ^(c)	La solución se clarifica	La solución se gelifica
Pruebas confirmatorias ^(a)	Da una tinción azul o negra con la tintura de yodo.	Precipitación de fibras de color azul al añadir azul de metileno

Fuente: (a) Ewart y Chapman, 1952; (b) Weinberger y Jacobs, 1929; (c) Walder, 1949; citados por Glicksman, 1969.

5.7. Porcentaje de recuperación en la determinación de agar y carragenina

Esta prueba se realizó con el objeto de observar la exactitud de las técnicas de extracción tanto para agar como para carragenina. Para ello se utilizaron como estándares externos agar-agar (grado bacteriológico) y *kappa*-carragenina (grado alimenticio, Helm), siguiendo el procedimiento de las técnicas ya descritas para cada ficocoloide (Matsuhira, 1990; Foster, 1992).

5.8. Análisis estadístico

A los resultados obtenidos sobre el contenido de agar y carragenina en las cinco especies algales se le aplicaron la media y desviación estándar.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1. Análisis químico aproximado

Es posible apreciar que en las especies analizadas, las principales fracciones que sobresalen, por la cantidad de las mismas, fueron las cenizas y los carbohidratos. Ésto, aunque es algo típico en las algas marinas, resulta muy interesante.

Cuadro 6. Análisis químico aproximado de harinas de las cinco especies de algas rojas (%), los resultados presentados son medias de tres repeticiones.

Especie	Humedad	Proteína Cruda	Extracto Etéreo	Cenizas	Fibra cruda	Carbohidratos*
<i>Spyridia filamentosa</i>	8.39	6.9	0.41	35.84	3.89	44.57
<i>Laurencia johnstonii</i>	10.39	17.67	2.56	38.36	6.14	24.88
<i>Gracilaria lemanaeformis</i>	10.74	11.03	0.57	7.72	6.64	63.30
<i>Hypnea musciformis</i>	4.80	5.31	0.19	42.94	4.19	42.57
<i>Hypnea spp.</i>	4.21	5.80	0.56	46.47	3.97	38.99

*Carbohidratos solubles calculados por diferencia

Por un lado, el alto contenido de cenizas, con valores desde 7.72% de *Gracilaria lemanaeformis* hasta 46.47% de *Hypnea spp.*, se debe en gran parte a que éstas plantas marinas son capaces de captar y almacenar elementos inorgánicos del medio marino. De ahí la importancia de emplearlos como fertilizantes (Chapman, 1980; Hoppe, 1982; Dawes, 1991).

El contenido de proteína cruda determinado en las especies algales (desde 5.31% de *Hypnea musciformis* hasta 17.67% de *Laurencia johnstonii*) es similar al reportado por Wood (1991) (Cuadro 3).

El contenido de extracto etéreo, al igual que en la mayoría de los vegetales, es bajo (0.19% en *Hypnea musciformis* hasta 2.56% en *Laurencia johnstonii*), y son similares a los informados por Wood (1991). Sin embargo, aunque el contenido lipídico es bajo, los ácidos grasos existentes son principalmente insaturados (Chapman, 1980; Hansen, 1981).

En cuanto al contenido de fibra cruda, éste oscila entre 3.9% de *Spyridia filamentosa* y 6.6% de *Gracilaria lemaneiformis*, y es similar al señalado por Wood (1991) (Cuadro 3). Sin embargo, es importante mencionar que éste tipo de determinación sólo indica el contenido aproximado de celulosa y lignina y no determina los polisacáridos no-celulósicos, en este caso, correspondientes a las gomas, mucilagos, pectinas, entre otros (correspondientes a los carbohidratos solubles calculados por diferencia dentro de un análisis químico aproximado), los cuales son de gran interés para el presente trabajo.

También se observa un intervalo muy amplio en los carbohidratos solubles (desde 24.9% de *Laurencia johnstonii* hasta 63.3% de *Gracilaria lemaneiformis*), ya que Wood (1991) (Cuadro 3) menciona un contenido aproximado de 40% en carbohidratos para el grupo de las algas rojas. En el caso de *L. Johnstonii* los carbohidratos calculados son muy bajos debido a que la proporción de proteína cruda es elevada, mientras que para *G. lemaneiformis* los carbohidratos calculados son muy elevados al encontrarse la proporción de cenizas muy baja. Dado que dentro de los carbohidratos solubles se encuentran los componentes no-celulósicos, el agar y la carragenina de cada especie, están incluidos en esta fracción.

6.2 Porcentaje de recuperación de agar y carragenina empleando los métodos de Matsuhiro y Fostier respectivamente.

Para la técnica de extracción de agar se obtuvo una recuperación promedio de 88.87% (cuadro 7), mientras que para la carragenina fue del 88.29% (cuadro 8). Sin embargo, aunque la recuperación del ficocoloide en cada caso no es cercana al 100%, este porcentaje se considera adecuado, tomando en cuenta que estos procedimientos pudieran estar afectados por las propiedades físicas del mismo ficocoloide, específicamente la gelificación al enfriarse. Es decir

que, como el ficocoloide se recupera en caliente, directamente de la solución que queda de la extracción; si ésta se enfría o no tiene la temperatura adecuada, el ficocoloide puede quedar adherido a las paredes del recipiente que contiene la solución de extracción o bien, queda adherido en la misma malla de la tela donde se recupera, por lo tanto, es posible que una parte de éste se haya perdido de esta manera.

Cuadro 7. Porcentaje de recuperación de agar-agar (grado bacteriológico)

Repetición	Peso agar (g)	Peso agar Recuperado (g)	Recuperación (%)
1	2.0074	1.7818	88.76
2	2.0022	1.7763	88.71
3	2.0042	1.7805	88.83
4	2.0049	1.7832	88.94
5	2.0074	1.7863	88.98
6	2.0123	1.7914	88.02
X			88.87
σ			0.12

Cuadro 8. Porcentaje de recuperación de carragenina (Helm , grado alimenticio)

Repetición	Peso Carragenina (g)	Peso carragenina Recuperada (g)	Recuperación (%)
1	1.0053	0.8873	88.26
2	1.0029	0.8859	88.33
3	1.0041	0.8867	88.30
4	1.0036	0.8861	88.29
5	1.0049	0.8865	88.21
6	1.0051	0.8879	88.33
X			88.29
σ			0.04

6.3. Pruebas de identificación para carragenina en la especie *Hypnea* spp

Debido a que en algunas ocasiones durante la obtención de la carragenina, las características físicas del gel varían de una especie a otra, es decir, en las especies *Spyridia filamentosa*, *Laurencia johnstonii* y *Gracilaria lemaneiformis*, el gel de carragenina presentaba una consistencia de coágulo de color hueso, diferenciándose perfectamente una separación de fibras durante la precipitación (identificada totalmente como carragenina), mientras que por el contrario, en las dos especies de *Hypnea*, ya no se obtuvo un coágulo, sino un gel translúcido abundante y floculento, además de algunos remanentes en forma de fibras color hueso que se depositaban en el fondo del recipiente que las contenía, causando así confusión entre las características de la carragenina que ya se tenía identificada. Por lo anterior, se procedió a hacer la identificación de carragenina mediante una serie de pruebas de identificación de hidrocoloides con el propósito de confirmar que el producto obtenido fuera en realidad carragenina y no agar.

Por lo anterior, la muestra del ficocoloide obtenida se sometió al esquema de identificación planteado (cuadro 9), obteniéndose características bien diferenciadas que se compararon contra muestras de agar (estándar y del obtenido de una de las especies) así como de carragenina (estándar y el obtenido de una de las especies). De tal forma que de acuerdo con las pruebas de identificación realizadas y comparadas con los estándares correspondientes, se demuestra que la especie *Laurencia johnstonii* sí contiene agar y carragenina. Finalmente se demuestra que el "gel desconocido" se identifica como gel de carragenina en la muestra de *Hypnea* spp.

Cuadro 9. Resultados de las pruebas de identificación de agar y carragenina con varios reactivos

PRUEBA	AGAR			CARRAGENINA		GEL DESCONOCIDO
	Agar-Agar (estándar)	Agar (<i>Laurencia Johnstonii</i>)	k-carragenina (estándar)	Carragenina (<i>Laurencia Johnstonii</i>)		
Solubilidad de la goma en agua	En frío se hinchó y no se disolvió. En caliente se disolvió. Al enfriarse, gelificó rápidamente tanto la solución como el gel fueron transparentes	En frío se hinchó ligeramente y no se disolvió. En caliente se disolvió. Al enfriarse sólo formó una solución espesa	En frío se disolvió ligeramente. En caliente se disolvió. Al enfriarse formó solución viscosa y un poco más opaca	En frío se disolvió ligeramente. En caliente se disolvió inmediatamente. Al enfriarse y después de varias horas, formó una solución opaca y viscosa		En frío se hinchó y no se disolvió. En caliente se disolvió inmediatamente. Al enfriarse formó solución translúcida y muy espesa después de varias horas.
Precipitación con alcohol	Formación de un precipitado blanquisco y flocculento.	Formación de un precipitado abundante, flocculento, amarillento.	Formación de precipitado translúcido, muy firme y compacto (como un coágulo)	Formación de un precipitado escaso pero firme en forma de coágulo opaco.		Formación de un gel espeso, translúcido, no definido y muy flocculento.
Identificación con Ba(OH) ₂ saturado	En frío: negativo. En caliente: cambio de color en la solución, amarillo, luego verdoso y finalmente grisáceo	En frío: negativo. En caliente: cambio de color de la solución, amarillento y luego grisáceo opaco.	En frío formó un gel opaco y gelatinoso.	En frío: solución viscosa. En caliente (solo con calentamiento prolongado): precipitado escaso, flocculento.		En frío: formación de un gel opaco y gelatinoso.
Identificación con KOH al 10%	La solución se clarificó y perdió bastante viscosidad.	La solución se clarificó ligeramente y perdió un poco de viscosidad.	Formación al instante de un gel.	Formación de una solución muy viscosa.		Formación al instante de un gel.
Pruebas confirmatorias	Azul de metileno: negativo. Tintura de yodo: positivo.	Azul de metileno: negativo. Tintura de yodo: positivo.	Azul de metileno: positivo. Tintura de yodo: negativo.	Azul de metileno: positivo. Tintura de yodo: negativo.		Azul de metileno: positivo. Tintura de yodo: negativo.

6.4. Cuantificación de agar en las cinco algas rojas

Es posible observar (Cuadro 10) que el menor contenido de agar fue el de la especie *Spyridia filamentosa* (12.80%), mientras que el más alto se obtuvo con la especie *Gracilaria lemaneiformis* (32.15%). En *Hypnea musciformis*, *Hypnea spp.* y *Laurencia johnstonii* el contenido fue similar entre ellas (22.61, 21.03 y 21.36% respectivamente).

Whyte y Englar (1980) señalan un contenido general de agar del 17-25%, el cual consideran como normal para las agarofitas, mientras que Volesky (1970) comenta que en general, en ellas puede obtenerse un contenido de 24-45% del peso seco del alga dependiendo de la fuente. En el caso del género *Gracilaria*, se han informado contenidos desde 11% hasta 58.15%, considerando que el contenido depende de la especie y las variaciones estacionales y geográficas (Anglo, 1973; Craigie, 1984; Furneaux, 1990). Además este género es considerado como una fuente alternativa de agar por su contenido (Hansen, 1981), por lo que ya se esperaba un contenido más elevado que en el resto de las especies, lo cual se observa más claramente en la Figura 6. Aunque en la literatura no se encontraron datos sobre el contenido de agar en las cuatro especies restantes, se observa que al menos *Laurencia johnstonii*, *Hypnea spp.* e *Hypnea musciformis* se encuentran dentro del intervalo de contenido de agar que señalan Whyte y Englar (1980). En lo que se refiere a *Spyridia filamentosa* se podría considerar una especie no potencial productora de agar.

Cuadro 10. Contenido de agar en las cinco especies de algas rojas

ESPECIE	g / 100 g*
<i>Spyridia filamentosa</i>	12.80 ± 0.07
<i>Laurencia johnstonii</i>	21.36 ± 0.20
<i>Gracilaria lemaneiformis</i>	32.15 ± 0.15
<i>Hypnea musciformis</i>	22.61 ± 0.13
<i>Hypnea spp.</i>	21.03 ± 0.12

*Media y desviación estándar de 3 repeticiones

6.5. Cuantificación de carragenina en las cinco algas rojas

Respecto al contenido de carragenina en estas mismas cinco especies, se observa también un amplio intervalo que va de 11.66% en *Gracilaria lemaneiformis* a 26.94% en *Hypnea spp* (Cuadro 11).

En comparación con el contenido de agar, la especie *G. lemaneiformis* presentó un contenido de carragenina mucho más bajo, lo cual justifica a esta especie más bien como fuente de agar. Por el contrario, el género *Hypnea* resulta ser una mejor fuente de carragenina, en comparación con el resto de las especies estudiadas. Esto concuerda con lo señalado por Yang (1985) quien confirma contenidos de carragenina de 27-30% en varias especies de *Hypnea* y Saito (1990) de 32% para *H. musciformis*, valores superiores a los obtenidos en las especies consideradas en el presente trabajo.

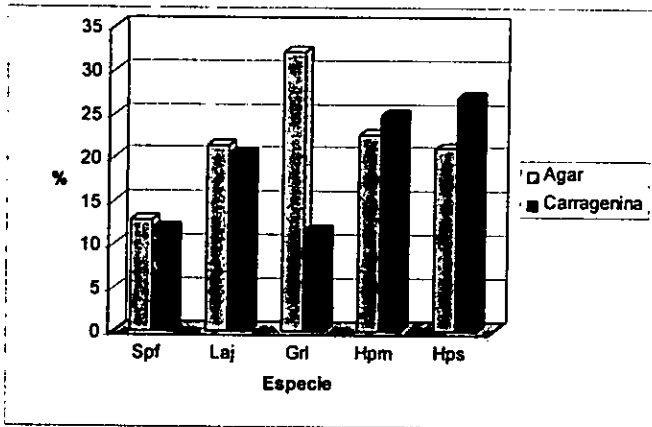
Cuadro 11. Contenido de carragenina en las cinco especies de algas rojas

ESPECIE	g / 100 g *
<i>Spyridia filamentosa</i>	11.81 ± 0.21
<i>Laurencia johnstonii</i>	20.38 ± 0.20
<i>Gracilaria lemaneiformis</i>	11.66 ± 0.11
<i>Hypnea musciformis</i>	24.88 ± 0.01
<i>Hypnea spp.</i>	26.94 ± 0.15

*Media y desviación estándar de 3 repeticiones

En la Figura 6, es posible apreciar en forma comparativa los contenidos de agar y carragenina en cada una de las especies estudiadas. Se observa que las especies *Spyridia filamentosa* y *Laurencia johnstonii* presentaron contenidos de agar y carragenina muy cercanos, siendo mayor el de agar. Mientras que, en las especies *Hypnea spp.* e *H. musciformis* se aprecia un comportamiento similar, solo que en este caso, el producto que repunta en su contenido es la carragenina. Esto quizás indicando que *S. filamentosa* y *L. johnstonii* pudieran considerarse como productoras de agar más que de carragenina, mientras que *Hypnea spp.* e *H. musciformis* pueden identificarse como productoras de carragenina más que de agar. En el caso de *Gracilaria lemaneiformis*, claramente se le observa como buena productora de agar, aunque también produce carragenina.

Figura 6. Contenido de agar y carragenina en cada especie algal



Spf = *Spyridia filamentosa*
Laj = *Laurencia johnstonii*
Grl = *Gracilaria lemaneiformis*
Hpm = *Hypnea musciformis*
Hps = *Hypnea spp.*

La industria de las algas en América Latina aporta el 17% de las algas marinas que se industrializan a nivel mundial para la producción de ficoloides. Las algas rojas contribuyen aproximadamente con el 37% de la biomasa, siendo Chile el principal aportador con el 13% de las algas que se procesan a nivel mundial. Sin embargo, Argentina, Brasil y México contribuyen con cantidades importantes de algas productoras de carragenanos y alginatos (Zertuche, 1993).

La explotación de algas rojas en México comenzó en los años cuarenta, pero no fue hasta 1960 que se estableció en nuestro país la empresa AGARMEX, produciendo primero a pequeña escala, y a partir de 1970 con una capacidad de procesamiento de 1,200 TM de alga seca para producir agar bacteriológico y de grado alimenticio. Actualmente esta empresa dejó de operar en esta década. La estrategia que seguía AGARMEX para comercializar sus productos en nuestro país y en el mundo era la de importar agar para combinarlo con el agar obtenido en dicha planta y obtener así formulaciones de alta calidad. Lo anterior implicaba una importación con un volumen 42,500 kg en 1992 y una exportación de 170,702 kg en el mismo año. El costo de las

importaciones era muy alto para obtener ganancias atractivas en la comercialización de estos productos, dichas ganancias disminuían marcadamente con el transcurso de los años (Zertuche, 1993).

Por otro lado, hasta la fecha no se ha logrado consolidar una empresa productora de carragenina en México, principalmente por la incertidumbre de contar con suficiente materia prima local. La especie *Gigartina canaliculata* es la única especie en nuestro país que ha sido comercializada en forma continua desde 1966, exportándose a E.U.A. y Francia para ser utilizada como fuente de carragenanos. En nuestro país se han importado grandes cantidades de carragenanos, aproximadamente un millón de kilogramos en 1992, que implican un costo de aproximadamente 12.5 millones de dólares. Sólo se han explotado a nivel de planta piloto las especies *Euclima uncinatum* y *Gigartina pectinata* (Zertuche, 1993).

El trabajo de esta tesis se puede emplear para identificar, tanto cualitativa como cuantitativamente, nuevas fuentes de agar y carragenina que puedan permitir a la iniciativa privada una atractiva oportunidad para reactivar este tipo de empresas en nuestro país, y así cubrir los requerimientos de la industria en México, incluyendo la alimentaria.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

VII. CONCLUSIONES

Con los métodos empleados en este trabajo para la cuantificación de agar y carragenina y bajo las condiciones de laboratorio señaladas, se puede decir que:

- 1) La especie *Gracilaria lemaneiformis* resulta ser una excelente fuente de agar.
- 2) Las algas del género *Hypnea* mostraron un mayor contenido de carragenina
- 3) La especie *Laurencia johnstonii* puede ser una buena fuente tanto de agar como de carragenina
- 4) La especie *Spyridia filamentosa* resulta no ser una buena fuente de agar ni de carragenina.
- 5) Con la técnica empleada para la cuantificación de agar y carragenina se obtuvo un porcentaje de recuperación de 88.87% y 88.29%, respectivamente.

VIII. RECOMENDACIONES

Evaluar la calidad del agar obtenido de cada una de las especies estudiadas (ya que en la bibliografía es muy común encontrar como principal objetivo el estudio de la calidad y específicamente en el género *Gracilaria*) y determinar así la posible utilidad en la industria alimentaria.

Así mismo, analizar de qué fracciones está compuesta la carragenina obtenida de cada una de las cinco especies estudiadas, ya que las dos especies del género *Hypnea* resultaron con características en el gel diferentes a las del resto de las especies, lo cual posiblemente sea atribuible al tipo de fracción de carragenina contenido en este género.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Anglo, P.G., Baens-Arcega, L., Arguelles, A.L., Sarabia, N. 1973. Alginic acid, agar and carrageenan contents of some Philippine marine algae. *Philippine Journal of Science*. 102(1/2):162-167.
- 2.- A.O.A.C. 1990. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis. 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- 3.- Badui, D.S. 1981, Química de los alimentos. Alhambra Mexicana. 1a. edición, P. 78-80, México
- 4.- Bold, H.C. y Wynne, M.J. 1985. Introduction to the Algae. Structure and reproduction. Second Edition. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, p. 513, N.J.
- 5.- Chapman, V.J. y Chapman, D.J. 1980. Seaweeds and their uses. Chapman and Hall, 3rd. Edition, London.
- 6.- Chopin, T.; Hanisak, M.D.; Koehn, F.E.; Mollion, J. y Moreau, S. 1990. Studies on carrageenans and effects of seawater phosphorus concentration on carrageenan content and growth of *Agardhiella subulata* (C.Agardh) Kraft and Wynne (Rhodophyceae, Solieriaceae). *Journal Applied Phycology* 2:3-16.
- 7.- Chopin, T.; Hanisak, M.P. y Koehn, F.E. 1991. Effects of Seawater Phosphorus Concentration on Floridean Starch Content in *Agardhiella subulata* (C. Agardh) Kraft et Wynne (Rhodophyceae). *Botanica Marina*. 34: 369-373.
- 8.- Cosson, J., Deslandes, E., Braud, J.P. 1990. Preliminary approach to the characterization and seasonal variation of carrageenans from four Rhodophyceae on the Normandy coast (France). En: *Proceedings of the Thirteenth International Seaweed Symposium*, pp: 539-544, Vancouver.
- 9.- Craigie, J.S. & Leigh, C. 1978. Carrageenans and agars. In: *Handbook of Phycological Methods. Physiological and Biochemical Methods*. J.A. Hellebust & J.S. Craigie. Cambridge University Press, P. 110-131, London.
- 10.- Craigie, J.S., Wen, Z.C. 1984. Effects of temperature and tissue age on gel strength and composition of agar from *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). *Canadian Journal of Botany*. 62 (8): 1665-1670.
- 11.- Cronquist, A. 1982. *Botánica Básica*. CECSA, pp. 195,219-226, México.

- 12.- Davison, M.H., Dugan, L.D., Burns, J.H., Bova, J., Story, K. y Drennan, K.B. 1991. The hypocholesterolemic effects of β -glucan in oatmeal and oat bran. *Journal of American Medical Association*, 265:1833-1839.
- 13.- Dawes, C. J. 1991. *Botánica Marina*. Ed. Limusa, pp. 191-205, México D.F.
- 14.- Dawson, E.Y. 1966. *Marine Botany*. Holt, Rinehart and Winston, p. 245-278, New York.
- 15.- Englyst, H.N. y Kingman, S.M. 1993. Carbohydrates. En: *Human Nutrition and Dietetics*. J.S. Garrow y W.P.T. James. Ninth edition. Churchill Livingstone. p.38, 43, 53.
- 16.- Focher, B., Murano, E., Zanetti, F., Paoletti, S., Rizzo, R. 1991. Agar extraction from *Gracilaria verrucosa* by steam explosion treatment. En: *Steam Explosion Techniques. Fundamentals and Industrial Applications*. Focher, B, Marzetti, A., Crecenzi, V. Gordon and Breach Science Publishers, P. 375-386, Amsterdam.
- 17.- Fostier, A.H.; Kornprobst, J.M. y Combaut, G. 1992. Chemical Composition and Rheological Properties of Carrageenans from Two Senegalese Solieriaceae *Anatheca montagnei* Schmitz and *Meristotheca senegalensis* Feldmann. *Botanica Marina*. 35: 351-355.
- 18.- Furneaux, R.H., Miller, I.J., Stevenson, T.T. 1990. Agaroids from New Zealand members of the *Gracilariaceae* (Gracilariales, Rhodophyta)- a novel dimethylated agar. En: Lindstrom, S.C., Gabrielson, P.W. (eds), *Thirteenth International Seaweed Symposium*. pp: 645-654.
- 19.- Glicksman, M. 1969. *Gum Technology in the Food Industry*. Academic Press, p. 199-273, 509-553, New York.
- 20.- Godínez, J.L. 1992. Las algas en México, un recurso poco conocido (I). *Folium* 1 (2):3.
- 21.- Guzmán del Proo, S.A. 1993. Desarrollo y perspectivas de la explotación de algas marinas en México. *Ciencias Pesqueras*. 9:129-136.
- 22.- Hansen, J.E.; Packard, J.E. y Doyle, W.T. 1981. *Mariculture of Red Seaweeds*. A California Sea Grant College Program Publication.
- 23.- Harris, P. 1990. *Food Gels*. Elsevier Applied Science, p.79-84.

- 24.- Hoppe, H.A. 1982. Marine algae and their products and constituents in pharmacy. En: Marine Algae in Pharmaceutical Science. Vol. 2. Hoppe,H.A.; Leving, T. y Tanaka, Y. Walter Gruyter and Co. Germany.
- 25.- Hurtado-Ponce, A.Q. 1992. Influence of Extraction Time on the Theological Properties of Agar from Some *Gracilaria* Species from the Philippines. *Botanica Marina*. 35: 441-445.
- 26.- Janssen, W.M. y Carré, B. 1989. Influence of fibre on digestibility of poultry feeds. En: Recent development in Poultry Nutrition. D.J.A. Cole y W. Idaresing. Ed. Butlerworths, U.K.
- 27.- Lee, R.E. 1989. Phycology. Second edition. Cambridge University Press. p. 3-10.
- 28.- Lewin, R.A. 1962. Physiology and Biochemistry of Algae. Academic Press, p.289. London..
- 29.- Lobban, C.S. y Wynne, M.J. 1981. The Biology of Seaweeds. Botanical Monographs. Vol. 17, Blackwell Scientific Publications, P. 589-625, London.
- 30.- Lozano Cabo, F. 1978. Oceanografía, Biología Marina y Pesca. Vol. 2. Ed. Paraninfo, pp.42-65, Madrid.
- 31.- Mackie, W. y Preston, R.D. 1974. Cell wall and intercellular region polysaccharides. En: Modern methods of food analysis. K.K. Stewart y J.R. Whitaker. Avi Publishing Company, p.40-76.
- 32.- Matsushashi, T. (1992). Agar. Carragenina. In: Food Gels. P. Harris. Elsevier Applied Science, p.1-43,79-113. London.
- 33.- Matsuhira, B. & Urzúa, C.C. 1990. Agars from *Gracilaria chilensis* (Gracilariales). *Journal of Applied Phycology*. 2:273-279.
- 34.- Morrison, T.R. y Boyd, R.N. 1985. Organic Chemistry. McGraw Hill. pp. 245-246.
- 35.- Murano, E.; Toffanin, R. ; Knutsen, S.H.; Foher, B.; Rizzo, R. y Paoletti, S. 1993. Evaluation of steam explosion as pretreatment in agar extraction from *Gracilaria dura* (C. Agardh) J. Agardh (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*. 5: 417-424.
- 36.- Nieman, D.C.; Butterworth, D.E. y Nieman, C.N. 1990. Nutrition. Wm.C. Brown Publishers. p. 110-112.
- 37.- Ortega, M. 1992. Las algas en México, un recurso poco conocido (II). *Folium* 1. (2):5.

- 38.- Pak, N., Arayana, H. 1994. Algas marinas comestibles de Chile. Estudio del efecto fisiológico de su fibra dietética. Suplemento SLAN. p.32.
- 39.- Peat, S.; Turvey, R. y Evans, J.M. 1959a. The structure of floriden starch. Linkage analysis by parcial acid hydrolisis. Journal of Chemical Society. p. 3223-3227.
- 40.- Percival, E. y McDowell, R.H. 1990. Algal polysaccharides. En: Methods in plant biochemistry. Vol. 2. Carbohydrates. P.M. Dey y J.S. Harborne. Academic Press, p. 524, 537-540.
- 41.- Pickering, T.D.; Sladdien, V.H.; Furneaux, R.H.; Hemmingson, J.A. y Redfeam, P. 1993. Comparison of growth rate in culture, dry matter content, agar content and agar quality of two New Zealand red seaweeds, *Gracilaria chilensis* Bird, McLachlan *et* Oliveira and *Gracilaria truncata* Kraft. Journal of Applied Phycology. 5:85-91.
- 42.- Pine, L. Hendrickson, J.B. Cram, D.J. Hammona, G.S. 1982. Química Orgánica. Cuarta edición. McGraw Hill. pp.874-883, México.
- 43.- Rosado, J.L. 1989. Fibra dietética: Definición, propiedades fisicoquímicas y fisiológicas, y sus implicaciones en la salud. Suplemento INNSZ.
- 44.- Saito, R.M.; Oliveira, E.C. 1990. Chemical screening of Brazilian marine algae producing carrageenans. En: Proceedings of the Thirteenth International Seaweed Symposium, pp: 585-588, Vancouver.
- 45.- SIGMA (Catálogo). 1997. México. Reactivos y productos bioquímicos para investigación en ciencias de la vida.
- 46.- South, G.R. & Whittick, A. 1987. Introduction to Phycology. Blackwell Scientific Publications, New York.
- 47.- Stewart, W.O.P. 1974. Algal physiology and biochemistry. Blackwell Scientific Publications. London.
- 48.- Volesky, B., Zajic, J.E., Knettig, E.1970. Algal products. En: Properties and Products of Algae. J. E. Zajic. Plenum Press, p. 49-77, New York.
- 49.- Whyte, J.N.C., Englar, J.R. 1980. Chemical composition and quality of agar in the morphotypes of *Gracilaria* from British Columbia. Botanica Marina. 23:277-283.
- 50.- 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, pp. 79-123, London.

- 51.- Yang, S.S., Swee, W.J. 1985. Extraction of carrageenan from *Hypnea*. Journal of the Chinese Agricultural Chemical Society. 23(1/2):162-167.
- 52.- Zabackis, E. ; West, J.A.; Liao, M.-L. y Back, A. 1993. Reproductive Biology and Polysaccharide Chemistry of the Red Alga *Catenella* (Caulacanthaceae, Gigartinales). Botanica Marina. 36:195-202.
- 53.- Zertuche, José A., 1993. Situación Actual de la Industria de Macroalgas Productoras de Ficocoloides en América Latina y el Caribe. F.A.O.