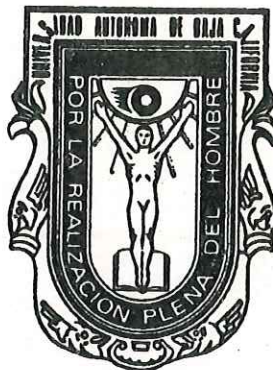
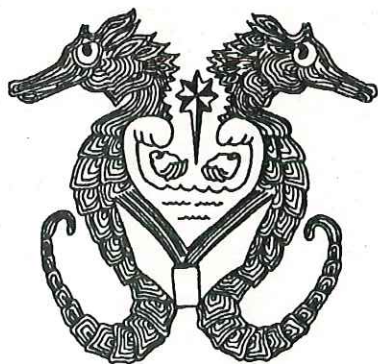


UNIVERSIDAD AUTONOMA
DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



EXTRACCION Y ANALISIS DE LOS
CARRAGENANOS DE Gigartina pectinata
DAWSON (RHODOPHYTA,
GIGARTINALES) CULTIVADA CON
FERTILIZANTES AGRICOLAS.



T E S I S
QUE PARA OBTENER EL
TITULO DE
OCEANOLOGO
PRESENTA
PEDRO ALVAREZ COLSA

PRIMAVERA DE 1993

EXTRACCION Y ANALISIS DE LOS
CARRAGENANOS DE *Gigartina pectinata*
DAWSON (RHODOPHYTA,
GIGARTINALES) CULTIVADA CON
FERTILIZANTES AGRICOLAS.

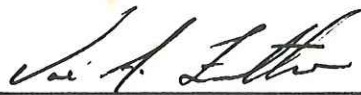
TESIS
QUE PRESENTA
PEDRO ALVAREZ COLSA

APROBADA POR



PRESIDENTE DEL JURADO

OC. FELIPE CORREA DIAZ



SINODAL PROPIETARIO

DR. JOSE A. ZERTUCHE GONZALEZ Q.F.B.



SINODAL PROPIETARIO

EDUARDO DURAZO BELTRAN

Resumen

Se cuantificaron los carragenanos de Gigartina pectinata cultivada con tres fertilizantes agrícolas (nitrato de amonio/pentóxido de fósforo, sulfato de amonio/pentóxido de fósforo y urea/pentóxido de fósforo), un testigo (nitrato de sodio/fosfato monosódico), y un control (sin nutrientes).

No se encontraron diferencias de rendimiento entre los diferentes tratamientos, pero sí entre el inicio y el final del experimento (37.1% y 40.4 - 42.7% en relación al peso seco respectivamente).

Se caracterizaron los carragenanos mediante espectros de infrarrojo, % de 3,6-anhídrido galactosa, % de carbohidratos totales, y % de sulfatos.

En los análisis químicos y los espectros de infrarrojo no se encontraron diferencias en cuanto a calidad, y se encontró que el carragenano extraído de Gigartina pectinata fué un híbrido tipos kappa/iota; presentando menor grado de sustitución en la muestra de alga cultivada sin ningún fertilizante.

Dedicatoria

A mi madre, por haber dedicado todo su ser para educar a mis hermanos y a mí.

A mi abuelo Don Roberto Colsa Rodríguez, que se sentiría muy orgulloso de mí ...Q.P.D.

A mi padre Pedro Alvarez Fuente y mis hermanos: Blanca Rosa, Roberto y Mariana.

A mi Abuela, Rosario Díaz Sillero.

A mis abuelos de España Don Pedro Alvarez Celorio y Francisca Fuente.

A mis tíos, Roberto, Rosario, Rocío, Ricardo y Amelia.

A Rosa, por ser un apoyo para mí, y darme tu confianza para seguir adelante ... te amo.

A Wolfgang, por ser mi compañero de siempre.

Agradecimientos

A Dios, por dejarme llegar hasta este momento.

A la U.A.B.C., por permitirme realizar los estudios profesionales.

A la F.C.M. y a mis maestros, por su apoyo y los conocimientos recibidos.

Al I.I.O. por permitirme utilizar sus instalaciones en la realización de los análisis.

Al Quim. Salvador Valera Lamas y al Quim. Rubén G. Sepúlveda Marques, por las facilidades proporcionadas para correr las películas de carragenano en el espectrofotómetro de infrarrojo en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Baja California Unidad Tijuana.

A Monsieur Rochas, por sus oportunas indicaciones para la utilización de los espectros de infrarrojo.

A mi director de tesis: Oc. Felipe Correa Díaz, por su paciencia, dedicación, y apoyo durante la realización de esta tesis.

A mis sinodales: Dr. José A. Zertuche González y Q.F.B. Eduardo Durazo Beltrán, por sus asesorías, consejos, y facilidades otorgadas.

A Rosa Eulalia Chávez Valdéz, por las facilidades proporcionadas y sus comentarios.

Indice

1	Introducción	1
2	Objetivo	9
3	Metodología	10
3.1	Cultivo	10
3.2	Rendimiento	11
3.3	Espectroscopía de infrarrojo	11
3.4	Análisis químicos	12
3.4.1	Cuantificación de 3,6-anhidro galactosa	12
3.4.2	Cuantificación de carbohidratos totales	13
3.4.3	Cuantificación de sulfatos	13
3.5	Análisis estadístico	14
4	Resultados y Discusiones	15
5	Conclusiones	25
6	Literatura citada	29

1 Introducción

Los carragenanos son coloides hidrofílicos (gomas solubles en agua) de importancia comercial, que se encuentran en la matriz celular de numerosas especies de algas rojas (Rhodophyta), especialmente miembros de las familias Gigartinaceae, Hypneaceae, y Solieriaceae, los cuales tienen una función estructural análoga a la celulosa en las plantas terrestres. Debido a sus grupos hemiéster sulfato, son polímeros fuertemente aniónicos. En este respecto difieren de los agares y alginatos, las otras dos clases de hidrocoloides algales comercialmente explotados (Stanley, 1987).

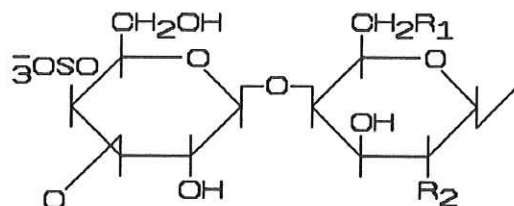
Estos polisacáridos son de un alto peso molecular (10^5 - 10^6 daltons) y son altamente sulfatados (20-50 % como NaSO_3^-). La cadena de polímeros esta formada por unidades D-galactopiranososa alternadas por enlaces α -(1+3) y β -(1+4), las cuales difieren en el grado y sitio de sulfatación (Craigie y Leigh, 1978; McCandless, 1981; Guiseley et al., 1980).

Smith y Cook en 1953 fueron los primeros en clasificar a los carragenanos en los tipos kappa y lambda, dependiendo de su solubilidad con el cloruro de potasio. Actualmente se clasifican los carragenanos según su estructura en tres familias principales: kappa, beta y lambda (ver figura 1).

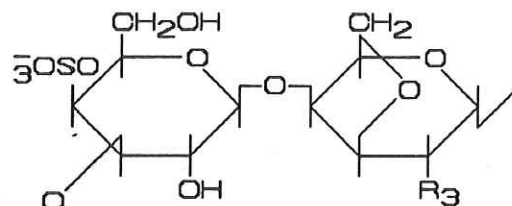
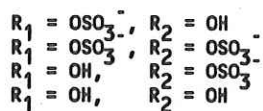
Las relaciones entre bandas de absorción en el infrarrojo son una herramienta importante para establecer la identidad de los carragenanos, así como para la determinación cuantitativa de los componentes principales de estos coloides (Rochas, 1986).

Los carragenanos se emplean principalmente en la industria alimenticia, donde se utilizan como agentes espesantes, suspensores y gelificantes, también se usan en la estabilización de emulsiones, y para dar cuerpo, ligar y dispersar soluciones acuosas o lácteas (Guiseley et al., 1980; Stanley, 1987).

FAMILIA KAPPA:



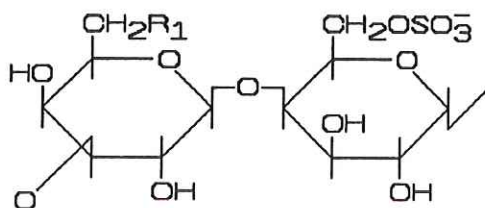
mu
nu
omicron
*



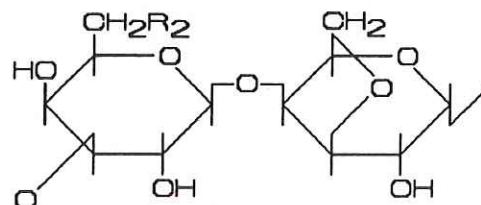
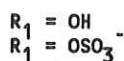
kappa $R_3 = \text{OH}$
 iota $R_3 = \text{OSO}_3^-$

* = SIN NOMBRE

FAMILIA BETA:

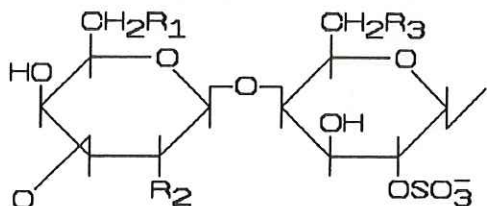


gamma
psi

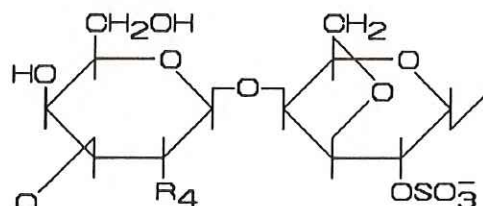
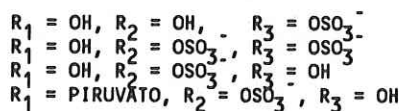


beta $R_2 = \text{OH}$
 omega $R_2 = \text{OSO}_3^-$

FAMILIA LAMBDA:



delta
lambda
xi
pi



alpha $R_4 = \text{OH}$
 theta $R_4 = \text{OSO}_3^-$

Figura 1 Unidades repetitivas de los carragenanos
(tomado de McCandless, 1981; Greer y Yaphe, 1984).

La calidad de los hidrocoloides extraídos de varias algas varia en función de la composición genética de las especies, los factores ambientales (Fuller y Mathieson, 1972 en McCandless y Craigie, 1979; DeBoer, 1979), los métodos involucrados en la extracción, y de la naturaleza química de los polisacáridos (Dawes et al., 1974; Mathieson y Tveter, 1975 en DeBoer, 1979; Santos, 1980).

Las cosechas de algas de mantos naturales en muchos casos es baja, inestable, o la especie es difícil de extraer. Es por ello que se hace necesario desarrollar nuevas técnicas de cultivo que permitan una menor dependencia de las poblaciones naturales (Hansen, 1980).

El cultivo de algas rojas destinadas a la extracción de agar y carragenanos es una idea económicamente viable cuando existe un suministro estable de materia prima de alta calidad, la cual es demandada tanto por la industria como por los consumidores pequeños (Hansen, 1980).

En muchas partes del mundo, se utilizan fertilizantes inorgánicos en el maricultivo de algas, tal como son utilizados en la agricultura (DeBoer, 1981).

La disponibilidad de nutrientes es uno de los factores primarios que regulan el crecimiento, reproducción y bioquímica de las algas, siendo el nitrógeno y el fósforo los macronutrientes más importantes, y el hierro, manganeso y zinc los micronutrientes que limitan el crecimiento de la mayoría de las algas marinas (DeBoer, 1981).

Neish y Sackolck en 1977 mencionan que las condiciones óptimas de crecimiento no son las mismas que para la producción de carragenano en Chondrus crispus. Una posible explicación dada por Fogg en 1964 sugiere que durante el crecimiento exponencial del alga, predomina la síntesis de proteínas y otros constituyentes protoplasmáticos. A consecuencia de esto hay poca acumulación de material en la pared celular y de productos de reserva, y cuando el nitrógeno es limitante, intermediarios del ciclo fotosintético del carbón son desviados a la síntesis de carbohidratos (Fogg, 1964, en Dawes et al., 1974).

De acuerdo a los estudios señalados, existe una relación inversa entre el contenido protéico y la cantidad de carbohidratos en las algas (Dawes et al., 1974). Sin embargo, han sido reportadas excepciones a esta correlación (Penniman, 1983, en Penniman y Mathieson, 1987). Soria-Mercado (1992) reporta que en Euclima uncinatum, las condiciones en las que se obtiene un mayor rendimiento de carragenano también se obtiene el mayor crecimiento del alga.

Se han realizado numerosos cultivos de diferentes especies de algas productoras de carragenano en Baja California con el fin de establecer los efectos que producen los factores ambientales y las condiciones de nutrientes en el crecimiento de las plantas y la producción de carragenano (Zertuche-González, 1990, en González-Gómez et al., 1992).

Gigartina pectinata es una especie endémica de la parte central y norte del Golfo de California. Se encuentra desde la zona de entremareas hasta los 7.5 m. de profundidad, sobre substrato rocoso o arenoso (Dawson, 1961; Norris, 1975, en Pacheco-Ruiz et al., en prensa).

En su hábitat natural, Gigartina pectinata es una planta estacional, ya que en verano cuando las aguas del Golfo de California aumentan su temperatura a más de 28° C, la planta adulta muere (Norris, 1975, en Pacheco-Ruiz et al., en prensa).

No obstante, en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Oceanológicas, se ha logrado mantener una misma cepa de Gigartina pectinata durante más de un año en condiciones semi controladas (Zertuche-González, 1990). De ésta cepa se realizaron cultivos en tanques exteriores probando diferentes fertilizantes agrícolas para evaluar su crecimiento (Chávez-Valdéz, en prensa).

En el presente trabajo, se tomarán muestras de éste cultivo para evaluar los efectos de los fertilizantes agrícolas en el rendimiento y la calidad de los carragenanos. Se espera que la calidad del carragenano extraído de Gigartina pectinata no varíe al ser cultivada con diferentes fertilizantes agrícolas, ya que se trata de la misma concentración de nitrógeno y fósforo, de una misma cepa (mismo estadio reproductivo y misma edad del tejido), así como misma estación del año (misma temperatura e intensidad de luz). Además el rendimiento puede variar entre los tratamientos, debido a que se trata de diferentes fuentes nitrógeno, y la planta tiene afinidades distintas por éstos.

2 **Objetivo**

 Evaluar la calidad y el rendimiento de los carragenanos extraídos de Gigartina pectinata cultivada con fertilizantes agrícolas.

3 Metodología

3.1 Cultivo

Las muestras analizadas fueron colectadas al inicio y al final de un cultivo semi-cerrado de Gigartina pectinata realizado en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Oceanológicas en Febrero de 1992. El cultivo se realizó por triplicado en tanques de 100 l con una biomasa de 500 g; semanalmente se realizaron cosechas del exceso de biomasa, y se cambió el agua de los tanques. Las fertilizaciones fueron dos veces por semana con concentraciones totales de $1.95 \text{ mg N l}^{-1} \text{ sem}^{-1}$ y $0.195 \text{ mg P l}^{-1} \text{ sem}^{-1}$, utilizando tres fertilizantes nitrogenados: nitrato de amonio (en adelante NP), sulfato de amonio (en adelante SP) y Urea (en adelante UP); junto con un fertilizante fosfatado: superfosfato (20% de pentóxido de fósforo). Estos tratamientos, fueron comparados con un testigo: nitrato de sodio y fosfato monosódico (en adelante T), y con un control (sin nutrientes adicionales, en adelante C). Además se tomó una muestra del lote inicial (en adelante I), para tener una referencia al término de las cuatro semanas de cultivo (Chávez-Valdéz, en prensa).

3.2 Rendimiento

Las extracciones de carragenano fueron realizadas por triplicado a una muestra de cada tanque con el método de Craigie y Leigh (1978), en una solución de bicarbonato de sodio 0.5 M, utilizando 1 g de alga seca y molida, despigmentada varias veces con acetona, acetona al 90 %, etanol al 80 % y etanol al 100 %; la solución fué filtrada y precipitada con bromuro de cetil-metil-amonio, centrifugando y lavando el carragenano con agua, acetato de sodio en etanol al 95 % varias veces y con etanol al 95 %; posteriormente la muestra se dejó secar toda la noche a 60°C y se registró su peso final (ver anexo A).

3.3 Espectroscopía de infrarrojo

Se elaboraron películas de carragenano según el método descrito por Correa-Díaz et al. (1990), utilizando 2 ml de una solución al 0.5 %. Estas se corrieron en un espectrofotómetro de infrarrojo Perkin-Elmer 1330.

Las absorbancias de las bandas se calcularon según la fórmula de Rochas et al. (1986)

$$A = \log \frac{T_b}{T_p}$$

Donde T_b es la transmitancia de la línea base de la banda marcada por los puntos de inflexión y T_p es la transmitancia del pico.

3.4 Análisis químicos

Los análisis químicos fueron por triplicado después de mezclar las tres fracciones de carragenano de cada tanque.

3.4.1 Cuantificación de 3,6-anhidro galactosa

Se determinó el contenido de 3,6-anhidro galactosa mediante el método de Yaphe y Arsenault (1965) modificado por Craigie y Leigh (1978), utilizando β -D-fructosa como estándar.

3.4.2 Cuantificación de carbohidratos totales

Los carbohidratos totales se cuantificaron por el método del fenol-sulfúrico propuesto por Dubois et al. (1956), utilizando D-galactosa como estándar.

3.4.3 Cuantificación de sulfatos

Se cuantificó el contenido de sulfatos con el método turbidimétrico de Tabatabai (1974) modificado por Craigie et al. (1984), utilizando alrededor de 5 mg de muestra para la hidrólisis y diluyendo a 50 ml para efectuar las lecturas, utilizando sulfato dipotásico como estándar.

En base al contenido de sulfatos, se determinó el grado de sustitución (GS) propuesto por Peats (1981) mediante la fórmula:

$$GS = \frac{(\% \text{ NaSO}_3^- / 103.055)}{(\% \text{ CHOS} / 306.1422)}$$

Donde 103.055 es el peso molecular de NaSO_3^- , y 306.1422 el de la unidad disacárida tomada de la familia kappa.

Además, se obtuvo una correlación entre el grado de sustitución (GS) y el índice entre las bandas mencionados por Peats (1981), Rochas et al. (1986) y Correa-Díaz et al. (1990).

3.5 Análisis estadístico

A los resultados obtenidos de las muestras finales, se les aplicó la prueba de normalidad de Kolmogorow-Smirnov, la prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett, y pruebas paramétricas de comparación de varianzas (ANOVA) de un solo factor a $\alpha = 0.05$ (Zar, 1984).

Posteriormente, se realizaron pruebas t de Student con el resultado al inicio del experimento y los promedios al final de éste (op. cit.).

4 Resultados y Discusiones

El rendimiento encontrado en Gigartina pectinata de 37.1 a 42.7 % (ver tabla 1), fué similar al de 39.21 % reportado por Zazueta-Gutierrez (1988) para esta misma alga. Sin embargo, López-Acuña (1990) haciendo lavados previos (eliminación de sales y pigmentos), reporta rendimientos de 57 - 72 % para G. pectinata en muestras de campo y de cultivo.

En los resultados de rendimiento de carragenano se observó que hubo diferencias entre la muestra I (al inicio del experimento) y las muestras finales SP y T, cultivadas con fertilizante agrícola nitrato de amonio/pentóxido de fósforo y con nutrientes grado reactivo, respectivamente.

Esta diferencia puede deberse a que las condiciones de luz, nutrientes y edad del tejido fueron diferentes antes y durante el experimento, observando que su efecto fué más evidente en las muestras antes mencionadas (Craigie y Wen, 1984; Soria-Mercado, 1992).

Con respecto a la edad del tejido, la muestra inicial fué principalmente de tejido maduro y al término del experimento se obtuvo tejido joven, ya que durante el experimento se eliminaron las partes viejas (Chávez-Valdéz, en prensa). También Soria-Mercado (1992) reportó que en tejido joven el contenido de carragenano es mayor que en tejido maduro para muestras de Eucheuma uncinatum. Sin embargo, Craigie y Wen (1984) publicaron que el rendimiento de agar en Gracilaria tikvahiae es mayor en muestras de tejido maduro con respecto al joven, 19 - 23 % vs. 9 - 11 %, respectivamente.

Tabla I Rendimiento de carragenano

Tratamiento	Réplicas			Media	D.Std.
NP	41.2772	42.7117	44.1869	42.7253	± 1.1879
SP	40.9245	41.3209	42.5616	41.6023	± 0.6973
UP	41.9915	39.3334	41.5979	40.9743	± 1.1713
T	41.3582	42.5049	42.8034	42.2221	± 0.6229
C	41.7666	39.5092	39.9636	40.4131	± 0.9749
I	37.1008			37.1008	

No se encontraron diferencias entre las muestras tratadas con fertilizantes y el control, por lo que no se comprobó el efecto **Neish**, que se describe como la relación inversa entre el contenido de polisacáridos en la planta y la concentración de nitrógeno en el medio bajo condiciones óptimas de luz y temperatura (Neish et al., 1977). Sin embargo González-Gómez (1992) reporta este efecto para Gigartina canaliculata al ser cultivada en condiciones semejantes que G. pectinata (Chávez-Valdéz, en prensa).

Los espectros de infrarrojo de todas las muestras, presentaron bandas características para carbohidratos sulfatados, banda fuerte a 1225 cm^{-1} y débil a 1370 cm^{-1} ; para galactosa-4-sulfato y 3,6-anhidro galactosa, banda media a 930 cm^{-1} ; para galactosa-4-sulfato, banda media a 845 cm^{-1} ; y para 3,6-anhidro galactosa-2-sulfato, banda débil a 805 cm^{-1} . (ver figura 2).

Estas bandas sugieren que se trata de un carragenano kappa (ver figura 1), aunque también se observó la existencia de la banda a 805 cm^{-1} , característica del carragenano iota, sin embargo no fué muy fuerte y podemos asumir que se encuentra en menor proporción.

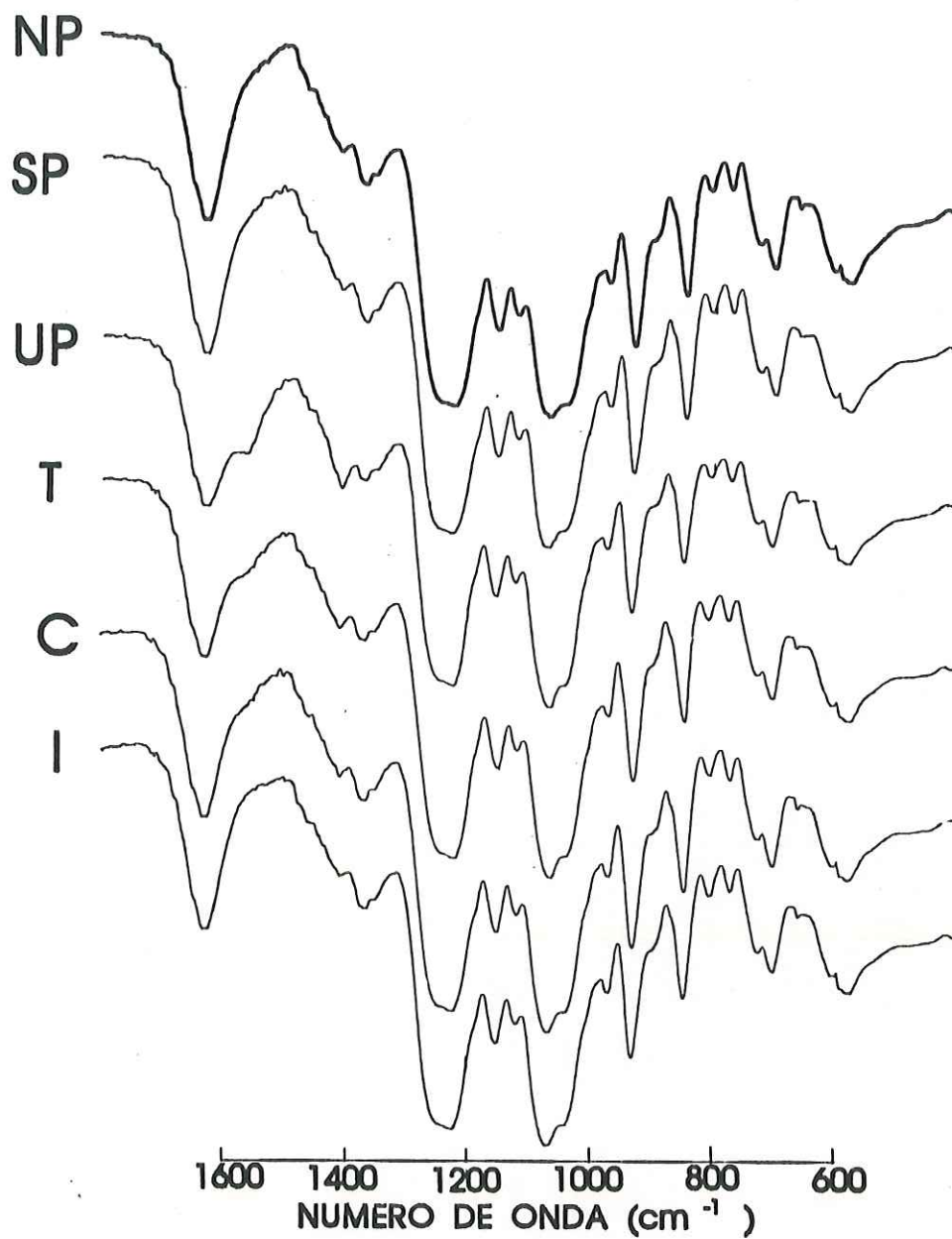


Figura 2 Espectros de infrarrojo de los carragenanos.

Todos los espectros de infrarrojo fueron similares, a excepción del carragenano obtenido en el tratamiento con UP, ya que presenta una banda adicional a 1570 cm^{-1} , y la banda a 1410 cm^{-1} es más fuerte que en las otras muestras. McCandles et al. (1973) publican que en esta región aparecen señales debidas a la adsorción de agua en la muestra y/o la presencia de grupos carboxilo provenientes de residuos de ácido pirúvico.

Se observó que el contenido de 3,6-anhído galactosa fué un poco mayor en el carragenano obtenido del testigo y el control, aunque no existieron diferencias significativas (ver tabla II). Los valores reportados son muy altos al compararlos con los reportados por Zazueta-Gutierrez (1988) y López-Acuña (1990). Sin embargo, muestran una relación 1 a 2 con respecto a los carbohidratos totales, lo que corresponde a un carragenano compuesto por unidades disacáridas de α -(1 \rightarrow 3) galactosa β -(1 \rightarrow 4) 3,6-anhído galactosa (ver estructuras de la derecha en la figura 1).

Es necesario recalcar que las desviaciones estandar fueron altas en el análisis de 3,6-anhído galactosa, esto debido a que el color en esta prueba no es tan estable (10 minutos) como en el análisis de carbohidratos (varias horas).

Tabla II Contenido de 3,6-anhído galactosa

Tratamiento	Réplicas			Media	D.Std.
NP	22.3759	27.9132	36.6993	28.9961	± 5.8974
SP	24.1716	32.2126	42.4952	32.9598	± 7.4992
UP	25.5922	37.1421	50.1610	37.6318	± 10.0362
T	34.9004	39.8346	52.0938	42.2763	± 7.2284
C	36.0673	36.5856	51.1936	41.2822	± 7.0117
I	35.4001			35.4001	

Se observó un contenido similar de carbohidratos totales (ver tabla III), lo que concuerda con un resultado también similar para los sulfatos (ver tabla IV), los cuales fueron referidos como NaSO_3^- , para que el total de carragenano extraído sea la suma de los carbohidratos totales y los sulfatos; ya que durante la extracción y los lavados del precipitado se utilizó bicarbonato de sodio y acetato de sodio respectivamente (ver anexo A), dando como resultado carragenano de sodio.

Tabla III Contenido de carbohidratos totales

Tratamiento	Réplicas			Media	D.Std.
NP	64.6249	56.1779	57.6193	59.4740	± 3.6895
SP	65.1350	59.8784	62.9697	62.6611	± 2.1570
UP	63.8655	65.1958	65.5205	64.8606	± 0.7160
T	62.3579	64.9265	68.0238	65.1028	± 2.3164
C	74.4021	60.2967	64.3722	66.3570	± 5.9271
I	63.5790			63.5790	

Tabla IV Contenido de sulfatos

Tratamiento	Réplicas			Media	D.Std.
NP	25.1390	22.9533	23.1953	23.7625	± 0.9783
SP	25.7650	21.6135	26.4813	24.6199	± 2.1459
UP	28.0639	23.6085	26.0161	25.8962	± 1.8209
T	22.8750	24.0701	27.1011	24.6821	± 1.7787
C	21.7168	22.4713	25.8541	23.3474	± 1.7991
I	25.0043			25.0043	

La relación que existe entre el contenido de carbohidratos totales y de hemiéster sulfato puede ser apreciada en el grado de sustitución, el cual se refiere al número de moles de hemiéster sulfato por cada mol de unidad disacárida. A este respecto, los carragenanos presentan grados de sustitución característicos, el carragenano kappa tiene un GS = 1, el iota GS = 2, el lambda GS = 3, etc. (ver figura 1).

A partir de los resultados obtenidos, se observó que en promedio las muestras presentaron un GS = 1.2, lo que aunado a los resultados de 3,6-anhídrido galactosa encontrados, se puede decir que el carragenano que en su mayoría presentó una cadena compuesta por unidades disacáridas de α -(1 \rightarrow 3) galactosa β -(1 \rightarrow 4) 3,6-anhídrido galactosa, las cuales tienen entre 1 y dos moles de hemiéster sulfato, pudiendo ser un híbrido kappa/iota.

En las muestras del testigo y del control, se observó un grado de sustitución menor a las demás, aunque no fueron significativamente diferentes (ver tabla V).

Tabla V **Grado de substitución**

Tratamiento	Réplicas			Media	D.Std.
NP	1.1727	1.2143	1.1952	1.1941	± 0.0170
SP	1.2770	1.0747	1.2582	1.2033	± 0.0912
UP	1.3853	1.0743	1.1827	1.2141	± 0.1289
T	1.1772	1.1116	1.1913	1.1600	± 0.0347
C	0.9025	1.1083	1.1936	1.0681	± 0.1222
I	1.2095			1.2095	

Peats en 1981 establece un índice entre las bandas 805 y 845 cm^{-1} , que permite establecer el grado de hibridación del carragenano tipo kappa/iota (McCandless et al., 1983 en Correa-Díaz et al., 1990).

Existió una correlación muy baja (máximo de 25 %) entre el grado de substitución (GS) y los índices 805/845 cm^{-1} (Peats, 1981) y 805/970 cm^{-1} (Correa-Díaz et al., 1990).

Lo mismo sucedió en la correlación entre el grado de substitución (GS) y los índices 1225/2895 cm^{-1} y 1370/2895 cm^{-1} (Rochas et al., 1986).

Debido a las bajas correlaciones, no fué posible establecer una comparación entre los resultados de los análisis químicos y los espectros de infrarrojo.

Estos resultados pueden deberse a que la molécula de carragenano, presenta diferentes tipos de carragenano a lo largo de la cadena, y en los espectros de infrarrojo caracterizan los compuestos predominantes. Para demostrar esto, se requeriría de una extracción alcalina con hidróxido de calcio y una fraccionación con cloruro de potasio que asegure una homogeneidad en el carragenano obtenido (Correa-Díaz et al., 1990; López-Acuña, 1990).

En resumen, se observó que no existen diferencias de rendimiento y calidad de los carragenanos extraídos de Gigartina pectinata en relación a los diferentes fertilizantes agrícolas y al nutriente grado reactivo empleados. Además, el crecimiento de G. pectinata tampoco es modificado por este factor (Chávez-Valdéz, en prensa), por lo que es indiferente la fuente de nitrógeno empleada, y la elección debe de ser enfocada al costo y a la disponibilidad de la misma.

5 Conclusiones

No se observó variación en el rendimiento y la calidad del carragenano al utilizar diferentes fuentes de nitrógeno en el cultivo de Gigartina pectinata.

El carragenano obtenido fue un híbrido tipo kappa/iota.

ANEXO A

EXTRACCION DE CARRAGENANO

DESPIGMENTACION

PULVERIZAR LAS MUESTRAS SECAS EN UN MOLINO POR 2 - 3 MINUTOS

DEJAR LAS MUESTRAS EN ESTUFA AL VACIO A 60° C
HASTA PESO CONSTANTE

PESAR 1 g DE LA MUESTRA

TRANSFERIR LA MUESTRA A UN MATRAZ CON 100 ml DE ACETONA
AGITAR Y DEJAR QUE SE ASIENTE.
REMOVER EL SOBRENADANTE POR DECANTACION O
FILTRACION AL VACIO

REPETIR ESTE PASO DOS VECES CON ACETONA AL 90 %

REEXTRAER CON ETANOL HIRVIENDO AL 80 % TRES VECES
O HASTA QUE EL DISOLVENTE SALGA CLARO

REEXTRAER CON ETANOL HIRVIENDO AL 100 %

EXTRACCION

AGREGAR LA MUESTRA A UN VASO DE PRECIPITADO DE 600 ml
CONTENIENDO 450 ml DE BICARBONATO DE SODIO 0.5 M

EXTRAER EN UN BAÑO DE ACEITE A 90° C AGITANDO
VIGOROSAMENTE POR 2 HORAS

FILTRAR Y REEXTRAER EL FILTRO POR OTROS 30 MINUTOS
UTILIZANDO 150 ml MAS DE BICARBONATO DE SODIO 0.5 M

SE DEBE OBTENER UN FILTRADO
LIBRE DE COLOR Y TURBIDEZ

PRECIPITACION

PRECIPITAR EL CARRAGENANO ADICIONANDO LENTAMENTE Y CON AGITACION 60 ml DE SOLUCION ACUOSA AL 2 % DE BROMURO DE CETIL-METIL-AMONIO (CETAVLON)

DEJAR QUE PRECIPITE Y COLECTAR POR CENTRIFUGACION LENTA EN BOTELLAS DE POLYPROPILENO DE 250 ml.

LAVAR EL PRECIPITADO DOS VECES CON AGUA DESTILADA

DECANTAR EL SOBRENADANTE Y LAVAR 7 VECES CON AGITACION Y EN BAÑO MARIA CON UNA SOLUCION SEMISATURADA DE ACETATO DE SODIO EN ETANOL AL 95 % POR 5 MINUTOS, CENTRIFUGANDO Y ELIMINANDO EL SOBRENADANTE

LAVAR TRES VECES CON ETANOL AL 95 % CALENTANDO EN BAÑO MARIA PARA REMOVER EL ACETATO DE SODIO

SECAR LA MUESTRA EN ESTUFA AL VACIO TODA LA NOCHE

PESAR EL CARRAGENANO TOTAL

6 **Literatura citada**

- Correa-Díaz F., R. Aguilar-Rosas, L.E. Aguilar-Rosas. 1990. INFRARED ANALYSIS OF ELEVEN CARRAGEENOPHYTES FROM BAJA CALIFORNIA, MEXICO. *Hydrobiologia* 204/205: 609-614.
- Craigie J.S., C. Leigh. 1978. 12: CARRAGEENANS AND AGARS. En HANDBOOK OF PHYCOLOGICAL METHODS, PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL METHODS, Hellebust J.A., J.S. Craigie (eds.). Cambridge University Press. pp. 109-131.
- Craigie J.S., Z.C. Wen. 1984. EFFECTS OF TEMPERATURE AND TISSUE AGE ON GEL STRENGTH AND COMPOSITION OF AGAR FROM Gracilaria tikvahiae (RHODOPHYCEAE). *Can. J. Bot.* 62: 1665-1670.
- Chávez-Valdéz R.E.. En prensa. CULTIVO DE Gigartina pectinata DAWSON (RHODOPHYTA, GIGARTINALES) CULTIVADA CON FERTILIZANTES AGRICOLAS. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California.
- Dawes C.J., J.M. Lawrence, D.P. Cheney, A.C. Mathieson. 1974. ECOLOGICAL STUDIES OF FLORIDIAN Eucheuma (RHODOPHYTA, GIGARTINALES). III. SEASONAL VARIATION OF CARRAGEENAN, TOTAL CARBOHYDRATE, PROTEIN, AND LIPID. *Bull. Mar. Sci.* 24(2): 286-299.

- Dawson E.Y.. 1961. MARINE RED ALGAE OF PACIFIC MEXICO, PART 4, GIGARTINALES. *Pacific Nat.* 2(4): 187-343.
- DeBoer J.A.. 1979. EFFECTS OF NITROGEN ENRICHMENT ON GROWTH RATE AND PHYCOCOLLOID CONTENT IN Gracilaria foliifera AND Neogardhiella baileyi (FLORIDEOPHYCEAE). *Proc. Intl. Seaweed Symp.* 9: 263-271.
- DeBoer J.A.. 1981. NUTRIENTS. En THE BIOLOGY OF SEAWEEEDS, Lobban C.S., M.J. Wynne (eds.). University of California Press. pp. 356-391.
- Dubois M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Robers, F. Smith. 1956. COLORIMETRIC METHOD FOR DETERMINATION OF SUGARS AND RELATED SUBSTANCES. *Anal. Chem.* 28: 350-355.
- González-Gómez M.A., J.A. Zertuche-González, I. Pacheco-Ruiz. 1992. EFECTO DEL NITROGENO EN EL CRECIMIENTO Y CONTENIDO DE CARRAGENANO EN Gigartina canaliculata HARV. (RHODOPHYTA, GIGARTINALES), EN TANQUES EXTERIORES DE CULTIVO. *Ciencias Marinas* 18(4): 75-83.
- Greer C.W., W. Yaphe. 1984. CHARACTERIZATION OF HYBRID (BETA-KAPPA-GAMMA) CARRAGEENAN FROM Eucheuma gelatinae J. AGARDH (RHODOPHYTA, SOLIERIACEAE) USING CARRAGEENASES, INFRARED AND ¹³C-NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY. *Bot. Mar.* 27: 473-478.

- Guiseley K.B., N.F. Stanley, P.A. Whitehouse. 1980. CARRAGEENAN. En HANDBOOK OF WATER-SOLUBLE GUMS AND RESINS, Davidson R.L. (ed.). McGraw-Hill Book Company. Cap. 5.
- Hansen J.E.. 1980. PHYSIOLOGICAL CONSIDERATIONS IN THE MARICULTURE OF RED ALGAE. En PACIFIC SEAWEED AQUACULTURE, Abbott I.A., M.S. Foster, L.F. Eklund (eds.). California Sea Grant College Program. pp. 80-91.
- López-Acuña L.M.. 1990. CUANTIFICACION Y CARACTERIZACION ESTACIONAL DEL LOS CARRAGENANOS DE Gigartina pectinata DAWSON (RHODOPHYTA, GIGARTINALES) EN MUESTRAS DE CAMPO Y DE CULTIVO. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. 28 pp.
- McCandless E.L.. 1981. POLYSACCHARIDES OF THE SEAWEEDS. En THE BIOLOGY OF SEAWEEDS, Botanical Monographs, Volume 17, Lobban C.S., M.J. Wynne (eds.). University of California Press. pp. 559-588.
- McCandless E.L., J.S. Craigie. 1979. SULFATED POLYSACCHARIDES IN RED AND BROWN ALGAE. Ann. Rev. Plant Physiol. 30: 41-53.
- McCandless E.L., J.S. Craigie, J.A. Walter. 1973. CARRAGEENANS IN THE GAMETOPHYTIC AND SPOROPHYTIC STAGES OF Chondrus crispus. Planta (Berl.) 112: 201-212.

- Neish A.C., P.F. Shacklock, C.H. Fox, F.J. Simpson. 1977. THE CULTIVATION OF Chondrus crispus. FACTORS AFFECTING GROWTH UNDER GREENHOUSE CONDITIONS. Can. J. Bot. 55: 2263-2271.
- Pacheco-Ruiz I., J.A. Zertuche-Gonzalez, A. Cabello-Pasini, B.H. Brinkhuis. En prensa. GROWTH STRATEGIES AND SEASONAL BIOMASS VARIATION OF Gigartina pectinata (RHODOPHYTA) IN THE GULF OF CALIFORNIA. Bot. Mar.
- Peats S.. 1981. THE INFRARED SPECTRA OF CARRAGEENANS EXTRACTED FROM VARIOUS ALGAE. Proc. Intl. Seaweed Symp. 10: 495-502.
- Penniman C.A., A.C. Mathieson. 1987. VARIATION IN CHEMICAL COMPOSITION OF Gracilaria tikvahiae McLACHLAN (GIGARTINALES, RHODOPHYTA) IN THE GREAT BAY ESTUARY, NEW HAMPSHIRE. Bot. Mar. 30: 525-534.
- Rochas C., M. Lahaye, W. Yaphe. 1986. SULFATE CONTENT OF CARRAGEENAN AND AGAR DETERMINED BY INFRARED SPECTROSCOPY. Bot. Mar. 29: 335-340.
- Santos G.A.. 1980. QUALITY OF CARRAGEENAN AND AGAR. En PACIFIC SEAWEED AQUACULTURE, Abbott I.A., M.S. Foster, L.F. Eklund (eds.). California Sea Grant College Program. pp. 123-129.
- Smith D.B., W.H. Cook. 1953. FRACTIONATION OF CARRAGEENIN. Arch. Biochem. Biophys. 45: 232-233.

- Soria-Mercado I.E.. 1992. EFECTO DE LA TEMPERATURA DEL AGUA Y LA EDAD DEL TEJIDO EN EL RENDIMIENTO Y LA CALIDAD DE LOS CARRAGENANOS EXTRAIDOS DE Eucheuma uncinatum SETCHELL Y GARDNER (RHODOPHYTA, GIGARTINALES). Tesis de Maestria, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. 43 pp.
- Stanley N.. 1987. PRODUCTION, PROPERTIES AND USES OF CARRAGEENAN. En PRODUCTION AND UTILIZATION OF PRODUCTS FROM COMMERCIAL SEAWEEDS, McHugh D.J. (ed.). FAO Fisheries Technical Paper # 288. pp. 116-146.
- Yaphe W., G.P. Arsenault. 1965. IMPROVED RESORCINOL REAGENT FOR THE DETERMINATION OF FRUCTOSE AND 3,6-ANHYDROGALACTOSE IN POLYSACCHARIDES. Anal. Biochem. 13: 143-148.
- Zar J.H.. 1984. BIostatistical ANALYSIS, Second Edition. Prentice-Hall, Inc.. 718 pp.
- Zazueta-Gutierrez E.. 1988. UN ESTUDIO QUIMICO DE CUATRO ESPECIES DE Gigartina. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. 42 pp.
- Zertuche-González J.A.. 1990. MACROALGAS Y EL DESARROLLO DE SU CULTIVO. En TEMAS DE OCEANOGRAFIA BIOLOGICA EN MEXICO, De la Rosa-Vélez J., F. González-Farias (eds.). Universidad Autónoma de Baja California. pp. 319-337.

*Lo que puede el sentimiento
no lo ha podido el saber
ni el más claro proceder
ni el más ancho pensamiento.*

*Todo lo cambia el cariño
cual mago condescendiente...*

*...sólo el amor con su ciencia
nos vuelve tan inocentes.*

Violeta Parra.