

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

UN ESTUDIO QUIMICO DE LOS CARRAGENANOS DE CUATRO
ESPECIES DE Gigartina.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

OCEANOLOGO

PRESENTA

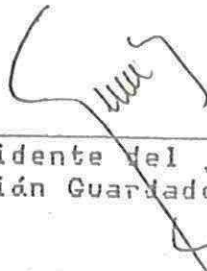
ELSA ZAZUETA GUTIERREZ

Ensenada, B. C., Mayo de 1968

"UN ESTUDIO QUÍMICO DE LOS CARRAGENANOS DE CUATRO ESPECIES
DE Gigartina".

T E S I S
que presenta:
ELSA ZAZUETA CUTIERREZ

Aprobada por:



Presidente del jurado
M. C. Julián Guardado Puentes



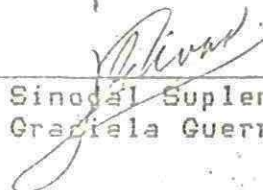
Sinodal Propietario
M. C. José A. Zertuche Glez.



Sinodal Propietario
Quím. Eduardo Durazo Beltrán.



Sinodal Suplente
Quím. Irma Soria Mercado



Sinodal Suplente
Quím. Graciela Guerra Rivas

DEDICATORIA

Con amor y respeto

a mis padres Humberto y Ma. Elena

por su apoyo y el cariño que

siempre me han demostrado.

Con todo cariño a

Tere y Oscar, Ma. Elena y Mario,

Jesus Ariel y Nora, por

estar junto a mi siempre.

A mis sobrinos

Engelberth

Irwin oswaldo

Mario Humberto

y a Jesus Ariel

por sus lindas sonrisas.

A mi hermoso tesoro

mi hija

Nirzhia Elena .

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Ocean. José Luis Granados Gallegos, Director del Centro Regional de Investigaciones Pesqueras (C.R.I.P) por el apoyo brindado en el uso de los laboratorios y del equipo con que cuenta este centro. Asimismo al personal del proyecto de tecnología de alimentos y de manera muy especial al Dr. Héctor Rivera Carre, quién con su apoyo y motivación hizo posible la realización de este trabajo., al M.C. Julián Guardado Puentes, Director de este trabajo por su apoyo., y al M.C. Enrique Hernández G. por su ayuda desinteresada, su crítica y guía sin la cuál éste trabajo no hubiera sido posible.

Un sincero agradecimiento a todos mis sinodales por su gran esfuerzo y crítica durante la revisión de este trabajo.

Agradezco al Uc. Fernando Miranda por la ayuda brindada en la elaboración de figuras.

De manera muy especial a todos mis compañeros de generación de quienes recibí siempre el apoyo y afecto durante toda mi carrera.

A mis amigos con quienes he convivido y recibido muchas demostraciones de apoyo y cariño, gracias.

INDICE

	Pagina
I. INTRODUCCION	1
II. MATERIALES Y METODOS	15
II.1 Colecta y Preparación de Muestras	
II.2 Análisis Proximal	
II.2.1 Cenizas	
II.2.2 Proteínas	
II.2.3 Grasas	
II.2.4 Fibra Cruda	
II.2.5 Carbohidratos	
II.3 Caracterización química de los carragenanos	
II.3.1 Extracción total de carragenano	
II.3.2 Carbohidratos	
II.3.3 3,6-anhidro- D-galactopiranososa	
II.3.4 Grupos con carga eléctrica	
II.4 Determinación de Propiedades Físicas	
II.4.1 Rigidez del gel	
II.4.2 Viscosidad	
III. RESULTADOS	23
III.1 Análisis Proximal	
III.2 Caracterización fisicoquímica	
III.3 Análisis de Infrarojo	
IV. DISCUSIONES	29
V. CONCLUSIONES	35
VI. RECOMENDACIONES	36
VII. LITERATURA	37

LISTA DE FIGURAS

	pagina
FIGURA 1.-Estructuras Idealizadas de Carragenano.....	2
FIGURA 2 - <u>Mapa de la zona de explotación comercial</u> <u>de la Costa Occidental de Baja California de</u> <u>1965 a 1984</u>	10
FIGURA 3.- Explotación de los recursos algales.....	11
FIGURA 4.- Localización de los sitios de colecta.....	16
FIGURA 5.- Espectros de infrarrojo.....	27

LISTA DE TABLAS

	pagina
TABLA I. - Composición química proximal.....	25
TABLA II. - Propiedades fisicoquímicas de los carragenanos.....	26
TABLA III. - Bandas de absorción características en aspectros de infrarrojo de carragenanos en especies de <u>Gigartinas</u>	28

RESUMEN

Se analizó la composición química de cuatro especies de algas rojas pertenecientes al orden de las Gigartinales, Gigartina pectinata, Gigartina papillata, Gigartina canaliculata, y Gigartina leptorhynchos, pertenecientes a distintas regiones geográficas de las costas de Baja California, México.

El análisis proximal en base seca presentó un contenido de cenizas de 19.00% a 40.77%, en grasas presentó valores de 0.17% a 0.42%, su contenido proteico con porcentajes de 13.08% a 33.26%, fibra cruda de 0.34% a 8.48%, y un contenido promedio de carbohidratos de 37.37% a 51.98%.

La extracción de carragenanos a cada una de las especies bajo condiciones ligeramente básicas, arrojó valores de rendimientos entre un 39.31% a 54.98% base seca.

Las propiedades fisicoquímicas de los carragenanos tales como 3,6-anhidrogalactosa presentaron valores de 22.38% a 27.64%, los grupos con carga eléctrica de 32.50% a 35.54%. Los carragenanos de todas las especies a excepción de G. papillata formaron geles consistentes a concentraciones de 1% y 2.5%, así mismo G. papillata presentó un valor de viscosidad relativa de 19.19, el cuál es el más elevado comparado con los obtenidos para las otras especies bajo estudio que fueron de 3.87 a 5.73 a una concentración del 1%.

El análisis de espectroscopía de infrarrojo de los carragenanos correspondientes a Gigartina pectinata, Gigartina papillata, y Gigartina leptorhynchos mostraron bandas de absorción fuertes a 930 cm^{-1} (3,6-Anhidrogalactosa) y a 845 cm^{-1} (Galactosa-4-Sulfato), así mismo se observa la presencia de una banda débil a 805 cm^{-1} (3,6-Anhidrogalactosa-2-Sulfato), estas bandas características indicaron que los carragenanos de estas especies están constituidos principalmente por un híbrido kappa-ioda carragenano. El análisis de infrarrojo para Gigartina canaliculata mostró bandas de absorción fuertes a los 930 cm^{-1} y 845 cm^{-1} características de 3,6-Anhidrogalactosa y Galactosa-4-Sulfato respectivamente, señalando que este carragenano está constituido esencialmente por carragenano tipo kappa.

En la actualidad el término carragenano se debe conceptualizar como una familia de polisacáridos sulfatados compuestos por unidades de galactosa que son extractables en agua caliente de ciertas rhodophytas, especialmente miembros de las Gigartinaceae, Phylloporaceae, Hypneaceae, y Solieriaceae (Hansen et al., 1981). Estos polisacáridos son de alto peso molecular (10^5 - 10^6 daltons) y tienen un alto contenido de sulfatos (20-50%), en forma de $^{-}OSO_3Na$ (Craigie y Leigh., 1978). Particularmente se encuentran en las paredes celulares y matriz intercelular, y constituyen una alta proporción del peso seco del alga, cercana al 60% (Stancioff y Reen., 1975). El esqueleto del polímero está formado por unidades dimeras repetitivas constituídas por residuos de β -D-galactopiranosas, enlazadas en las cadenas a través de las posiciones 1 y 3 (unidad B), y residuos de α -D-galactopiranosas unidos por enlaces glicosídicos a través de las posiciones 1 y 4 (unidad A), la secuencia de unidades se muestra en la fig. 1., las cuales difieren en el grado y localización de los grupos hemiester sulfato (Percival y McDowell, 1967). Además las unidades (A) de las estructuras disacáridas idealizadas del polímero son reemplazadas en ocasiones por unidades de 3,6-anhidro- α -D-galactopiranosas (3,6-AG). Así pues, de ésta manera son considerables las diferencias en los

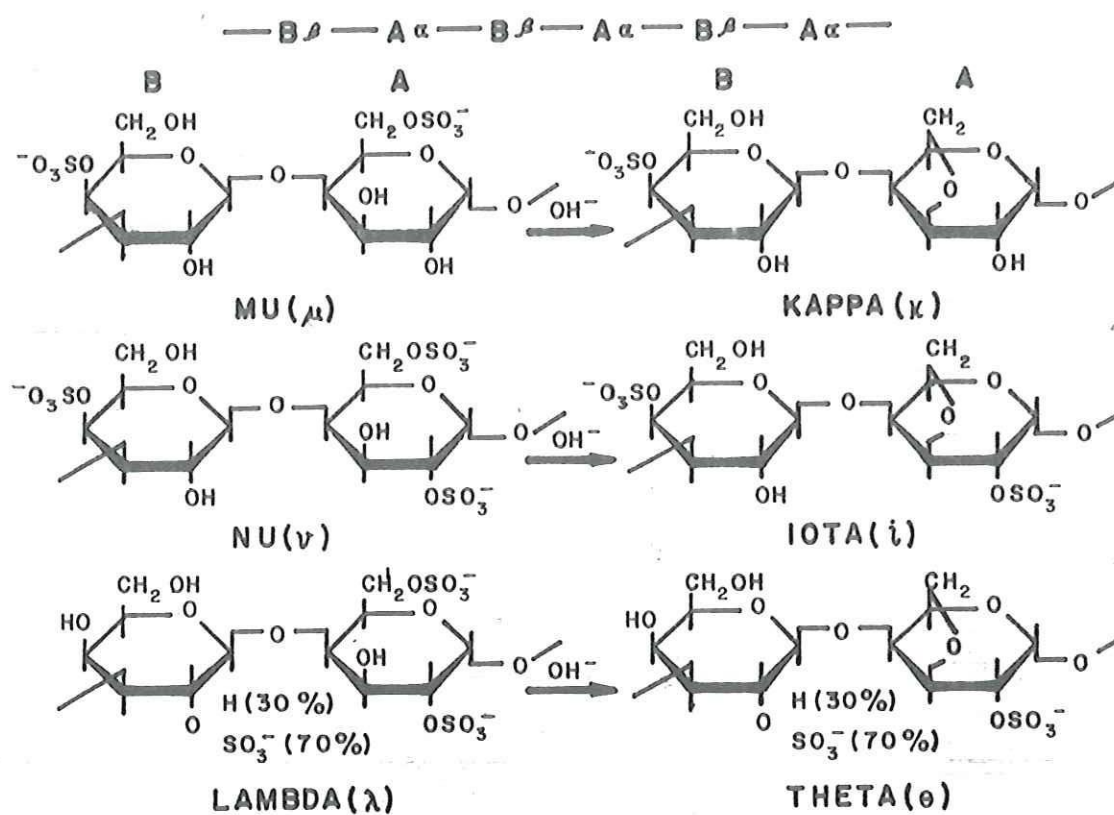


Fig.1 Representación de secuencias de unidades en la cadena del polímero y estructuras idealizadas de carragenano. (Rees, 1969.; Stancioff y Stanley, 1969).

patrones de sustitución en las unidades idealizadas propuestas para los carragenanos (Rees, 1972).

Las variaciones de sustitución en el patrón de los carragenanos de diferentes especies, así como de las diferentes fases del ciclo de vida, traen consigo diferencias en estructura y propiedades fisicoquímicas de los coloides, lo cual permite a los carragenanos cubrir una amplia gama de aplicaciones comerciales (Mc Candless et al., 1973). El carragenano es empleado generalmente por sus propiedades físicas, lo cual le da gran importancia comercial debido a la versatilidad de usos que puede encontrar en el campo del control de la textura y estabilidad de un gran número de productos en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica (Bixler, 1979).

El carragenano fue aislado inicialmente de Chondrus crispus por Schmidt en 1844, los primeros usos de este coloide fue en la elaboración de jaleas, natillas ó flanes (Hansen et al., 1981). El término "carrageenin", designado por E.C. Stanford, se deriva de un pueblo costero de Irlanda llamado Carrageen y es referido a la especie cosechada comercialmente en este lugar, Chondrus crispus, también llamada "Irish Moss" (Tseng, 1947). En 1930 se estableció una planta de extracción comercial en Nueva Inglaterra, produciendo carragenano para ser utilizado como

un estabilizador de chocolate en leche. El éxito de ésta planta y el déficit de agar durante la Segunda Guerra mundial, estimularon la búsqueda de nuevas aplicaciones para el carragenano. Debido a esto la producción creció significativamente de varios cientos de toneladas por año en 1945 hasta alrededor de 10,000 toneladas por año, en la década de los 70's (Whistler, 1973; y Moss, 1977).

En 1953, Smith y Cook aislaron dos fracciones del carragenano de Chondrus crispus, que se caracterizaron por sus diferencias de solubilidad en KCl 0.125M. Los términos de fracción lambda (λ) y fracción kappa (κ), fueron utilizados para designar las fracciones soluble, e insoluble, respectivamente.

La estructura de las fracciones kappa (κ) y lambda (λ) fué determinada por O'Neill (1955). El término de la familia kappa ó fracción gelificante es utilizado para definir la fracción que es insoluble en KCl 0.33 M de acuerdo con el método de Stancioff 1965 (citado por Peats, 1981). El término de la familia lambda, ó fracción no gelificante es utilizada para definir la fracción que permanece soluble en KCl 0.33 M. Rees y colaboradores (Rees, 1949; Anderson et al., 1966 y 1968; Dolan y Rees 1965; Rees, 1963), determinaron la presencia de otras fracciones en base a los diferentes patrones de sustitución de grupos

sulfato en los dímeros, elaborando un sistema de clasificación más complejo, tal como se muestra en la fig. 1.

En la fig. 1, las estructuras que se encuentran en el lado izquierdo son consideradas como precursoras de las estructuras del lado derecho, en el sentido que la 3,6-AG en estas últimas pueden ser obtenidas por una desulfatación enzimática in vivo ó por un tratamiento alcalino in vitro (Stancioff y Stanley 1969; Rees, 1969).

Pernas et al. (1967), cuestionaron la posibilidad de que el carragenano no se compone de sólo dos fracciones, lambda (λ) y kappa (k) carragenano en base a la solubilidad en KCl. Su punto de vista se basó en el hecho de que no observaron cambios abruptos en la solubilidad con KCl, sino que el cambio fué gradual, indicando ésto la presencia de más de dos tipos de fracciones.

Posteriormente Smidsrod et al., 1967 obtuvieron la separación de varias fracciones características después de un tratamiento del carragenano en alcalí.

Los carragenanos deben de considerarse como un grupo de compuestos heterogéneos, es decir, pueden contener fracciones en las que una o más de las estructuras

predomine, de lo cual dependerán las propiedades de los carragenanos, ya que, un alto contenido de 3,6-AG imparte una mayor capacidad gelificante, en contraste, a una mayor proporción de grupos sulfato la viscosidad se incrementa y disminuye la rigidez del gel (Pernas et al., 1967). La espectroscopía de Infrarrojo ha sido utilizada en la identificación de polisacáridos sulfatados, para caracterizar kappa-, iota-, lambda-carragenanos y agar (Stancioff y Stanley 1969; McCandless et al., 1973, Dawes et al., 1977; McCandless et al., 1982, Rochas et al., 1986; Correa, 1987). La absorbancia de las bandas en IR proveen información sobre la presencia de grupos sulfato en los polímeros a un número de onda de 1250 cm^{-1} y 1370 cm^{-1} (Lloyd et al., 1961; Zundel 1969; citados por Rochas, 1986), una banda de absorción a los 930 cm^{-1} generalmente se atribuye a 3,6-anhidro- α -D-galactosa (Stanley, 1963), pero una fuerte absorbancia en 920 cm^{-1} - 930 cm^{-1} es obtenida con la presencia de galactosa-4-Sulfato (Rochas et al., 1986), un pico a los $845\text{--}850\text{ cm}^{-1}$ es referido a la presencia del sulfato axial secundario de β -D-galactosa-4-Sulfato enlazada en la posición 1 y 3 (Lloyd et al., 1961), así como una banda en $800\text{--}805\text{ cm}^{-1}$ está relacionada con el contenido de 3,6-anhidro- α -D-galactosa-2-Sulfato (Anderson et al. 1968), en 830 cm^{-1} es indicativa de galactosa-2-Sulfato y 820 cm^{-1} esta relacionada con galactosa-6-Sulfato (Rochas, 1986).

Las relaciones entre bandas de absorción 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 et al., 1986). En general se ha demostrado que en el género de las gigartinales existen diferencias en el carragenano producido por las diferentes fases reproductivas, ocurriendo en gametofitos fracciones gelificantes de la familia kappa (κ) ó el híbrido kappa-iota $\kappa(\iota)$ carragenano, mientras que en los esporofitos las fracciones son no gelificantes del tipo lambda (λ), epsilon (ϵ), ó pi (π) (McCandless et al., 1983). En estudios de campo se ha observado que en muchas especies de carragenofitas, el estadio de vida gametofito es más común que el esporofito (Abbott, 1980).

En un estudio preliminar, Abbott (1980) mostró que algunos κ -carragenanos pueden ser utilizados como sustitutos de agar para preparación de medios microbiológicos.

Un estudio de algas rojas de California mostró que las especies más disponibles estacionalmente fueron Rhodoglossum affine, Gigartina leptorhynchos y Gigartina canaliculata, las tres especies son productoras de kappa-carragenano con calidad más apropiada para medio

microbiológico (Abbott, 1980).

Comercialmente los carragenanos, tienen una gran demanda a nivel mundial, siendo los principales productores de carragenano Estados Unidos de América, Dinamarca, España, Japón, Noruega, Inglaterra, y Francia (FAO/INFOFISH, 1983).

México cuenta con un gran potencial de recursos algales los cuales se localizan principalmente en las Costas de Baja California. La explotación de algas marinas se lleva a cabo desde hace más de 40 años. Entre las especies de mayor importancia desde el punto de vista económico se encuentran Celidium robustum, Macrocystis purifera y Gigartina canaliculata, las cuales se distribuyen a lo largo de la Costa Occidental de Baja California (Molina, 1986).

De las especies de vegetales marinos explotadas comercialmente Gigartina canaliculata es la menos estudiada. No se conoce el potencial disponible de esta especie ni su papel ecológico específico en las Costas de Baja California. La explotación de esta especie empezó en el año de 1966, destinándose totalmente a la exportación como materia prima para abastecer a la industria de carragenanos de los E. U. A., eventualmente se ha exportado a países orientales y Europeos (Guzmán del Proó, 1969). La

industria nacional no ha desarrollado tecnología para la extracción de carragenanos, por lo cual se sigue dependiendo de la importación de este producto. La cosecha máxima de G. canaliculata alcanzó niveles de hasta mil toneladas en peso seco en 1977 y 1979, el inicio del descenso de los niveles de producción (fig.2), se debió al establecimiento de campos turísticos sobre la Zona Federal Marítima y la negativa de dar acceso a las playas a los pescadores gigartineros (Molina, 1986).

El conocimiento de los recursos algales en nuestro país en general es muy limitado, no obstante la abundancia de especies de algas marinas comercialmente importantes que se da en las costas mexicanas. Por otra parte, la demanda de este producto marino tanto externa como interna va en aumento, es por eso que se hace necesario realizar estudios de carácter químico, biológico y socioeconómico, con el fin de obtener la mayor información posible que sirva como base para el aprovechamiento integral de los recursos algales que se presentan en nuestras costas fig.3. (Blanco et al., 1980).

Actualmente en Ensenada, B.C., se están realizando proyectos de investigación sobre algunos recursos algales y su aprovechamiento, principalmente sobre especies productoras de carragenanos, pudiendo enlistar entre otros,

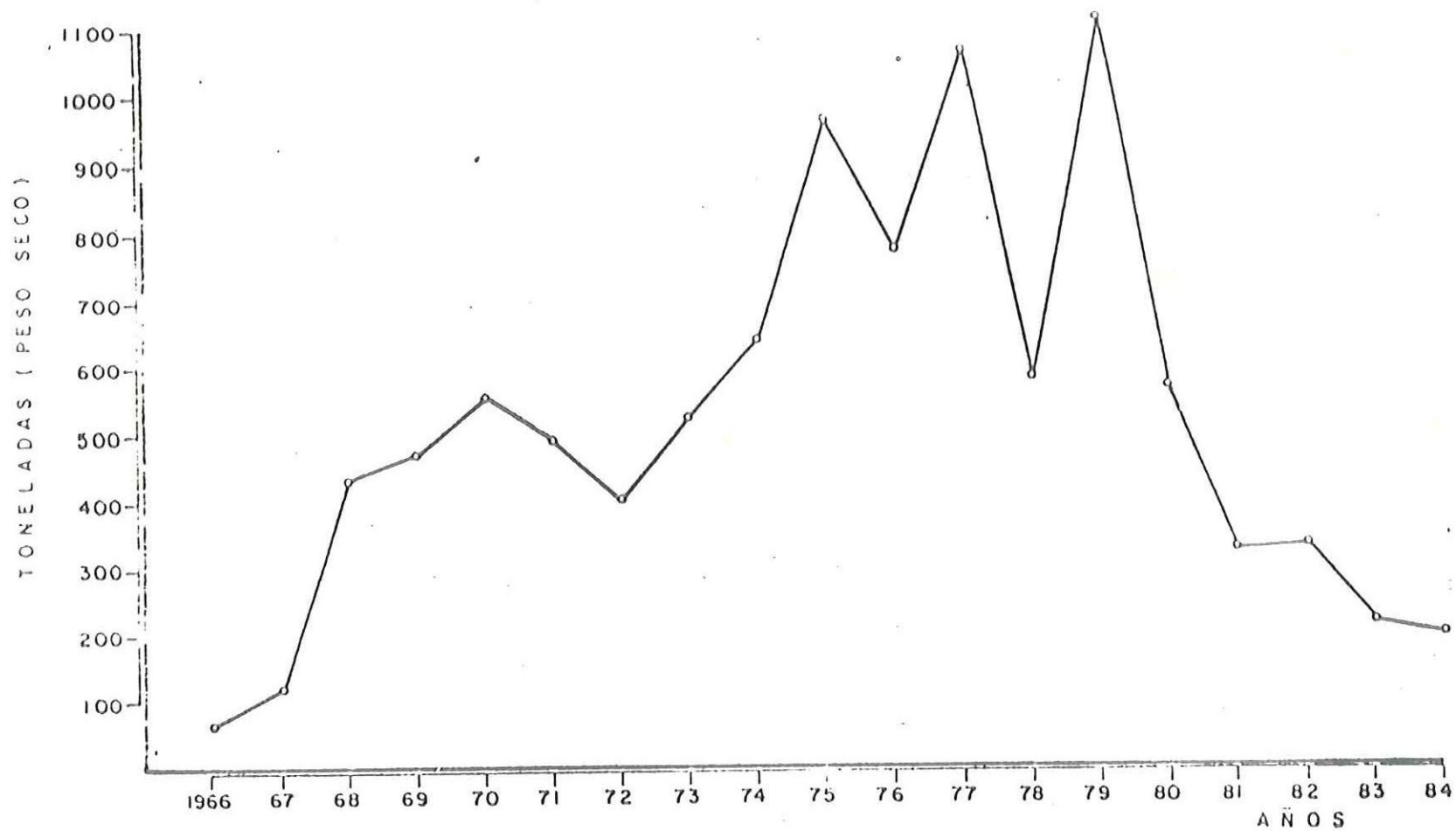
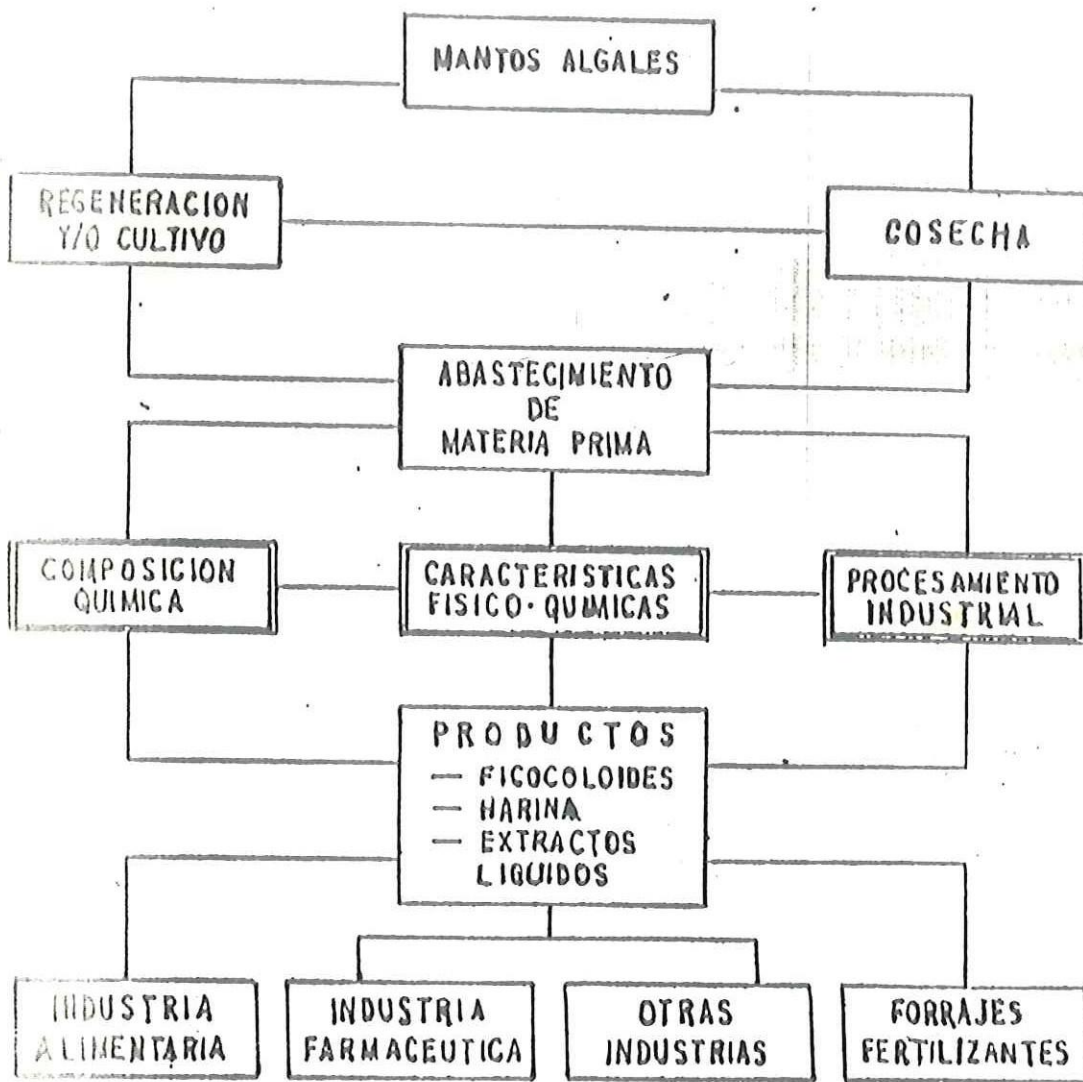


FIG. Nº 2 = PRODUCCION ANUAL DE Gigartina canaliculata EN LA COSTA OCCIDENTAL DE BAJA CALIFORNIA DE 1966 A 1984. (Molina 1986)



LOCALIZACION GEDGRAFICA
EVALUACION DE BIOMASA

ESTUDIOS ECOLOGICOS

AREA DE BIOLOGO

VARIACION ESTACIONAL Y GEOGRAFICA DE ACIDO ALGINICO, CARRAGENANO Y AGAR
DETERMINACION DE LOS PARAMETROS DE EXTRACCION A NIVEL LABORATORIO DE ACIDO ALGINICO, CARRAGENANO Y AGAR
PRUEBAS CON AGUA DE MAR PARA LA EXTRACCION DE LOS FICOCOLOIDES
ESTUDIOS DE LA EXTRACCION A NIVEL SEMIPILOTO, PILOTO Y COMERCIAL
USO DE LAS ALGAS EN AGRICULTURA Y GANADERIA.

AREA DE QUIMICA

ANALISIS SOCIOECONOMICO DE LA PESQUERIA ALGAL

AREA DE SOCIOECONOMIA

FORMACION DE UNA MASA CRITICA DE CIENTIFICOS PARA EL APROVECHAMIENTO DE LOS RECURSOS MARINOS.

DIAGRAMA GENERAL DEL USO RACIONAL DE LOS RECURSOS ALGALES

OBJETIVOS

AREAS

Fig.3 LA EXPLOTACION DE LOS RECURSOS ALGALES. (Bianco et al 1980)

los siguientes proyectos:

- Aprovechamiento Integral de los Recursos Algales de las Costas de Baja California. Estudios sistemáticos de las 3 especies comerciales más importantes tales como Macrocystis purifera, Calidium cartilagineum, y Gigartina canaliculata que se desarrolla en el Centro Regional de Investigaciones Pesqueras, I.N.P. Ensenada, Baja California, México.

- "Maricultura y Extracción de coloides de Algas de Interés Comercial en Baja California". tienen bajo estudio a Eucheuma uncinatum principalmente, Gigartina canaliculata, y Gigartina pectinata entre otras. Instituto de Investigaciones Oceanológicas, U. A. B. C. Ensenada, Baja California, México.

- Estimación de abundancia, fenología y análisis de carragenanos del alga G. canaliculata, Harv. (Rhodophyceae Gigartinales) en Bahía San Quintín B. C. Facultad de Ciencias Marinas, U. A. B. C. Ensenada, B. C., México.

- "Caracterización Fisicoquímica de Carragenanos
Extraídos de el Alga Roja Gigartina canaliculata.
VII Congreso Nacional de Oceanografía.
Centro Regional de Investigaciones Pesqueras (C.R.I.P.).
Instituto Nacional de la Pesca (I.N.P.)
Ensenada B. C., México.

Estos estudios llevan como fin contribuir a un mejor aprovechamiento de los Recursos algales en Baja California.

Actualmente, G. canaliculata y E. uncinatum, son las únicas especies productoras de carragenano que están bajo investigación, sin embargo se cuenta con otros recursos algales que podrían ser adecuadas para explotarse comercialmente, como es el caso de G. pectinata (Pasini, 1988), G. papillata y G. leptorhynchus (Rivera et al., 1988) por lo cual es conveniente realizar estudios que sirvan como base para obtener un conocimiento general de estas especies, así como de la composición de los carragenanos que estas contienen.

OBJETIVO

Determinar la composición química de G. pectinata, G. papillata, G. leptorhynchus, y G. canaliculata, y la caracterización fisicoquímica de sus respectivos carragenanos.

MATERIALES Y METODOS

1 Colecta y Preparación de Muestras:

En éste estudio se utilizarón cuatro especies de Gigartina, extraídas de tres localidades de las costas de Baja California, México. G. pectinata, fué colectada en el mes de febrero de 1986 en Bahía de los Angeles entre "Punta gringa" y el "poblado" en el Golfo de California, localizada entre la latitud $29^{\circ} 01'N$ y longitud $113^{\circ} 33'W$. G. papillata y G. leptorhynchus fueron colectadas en el mes de agosto de 1986 en El Rosario "Punta Baja" que se localiza entre la latitud $29^{\circ} 57'N$ y longitud $115^{\circ} 48'W$ y, por último G. canaliculata se colectó en el mes de febrero de 1986 en la zona de "Popotla" Rosarito B.C. que se localiza entre la latitud $32^{\circ} 17'N$ y longitud $117^{\circ} 2'W$ (fig. 4).

Los muestreos de las 4 especies fueron efectuados al azar en los mantos de algas tratando de tener como mínimo 60 organismos de cada especie. Las muestras colectadas fueron secadas al sol durante 24 horas, posteriormente los ejemplares fueron puestos en estufa a temperaturas de $37^{\circ}C-40^{\circ}C$. La muestra seca fué molida en licuadora y tamizada con una malla de 0.5 mm. Se realizó un análisis proximal a cada una de las especies bajo estudio, éste

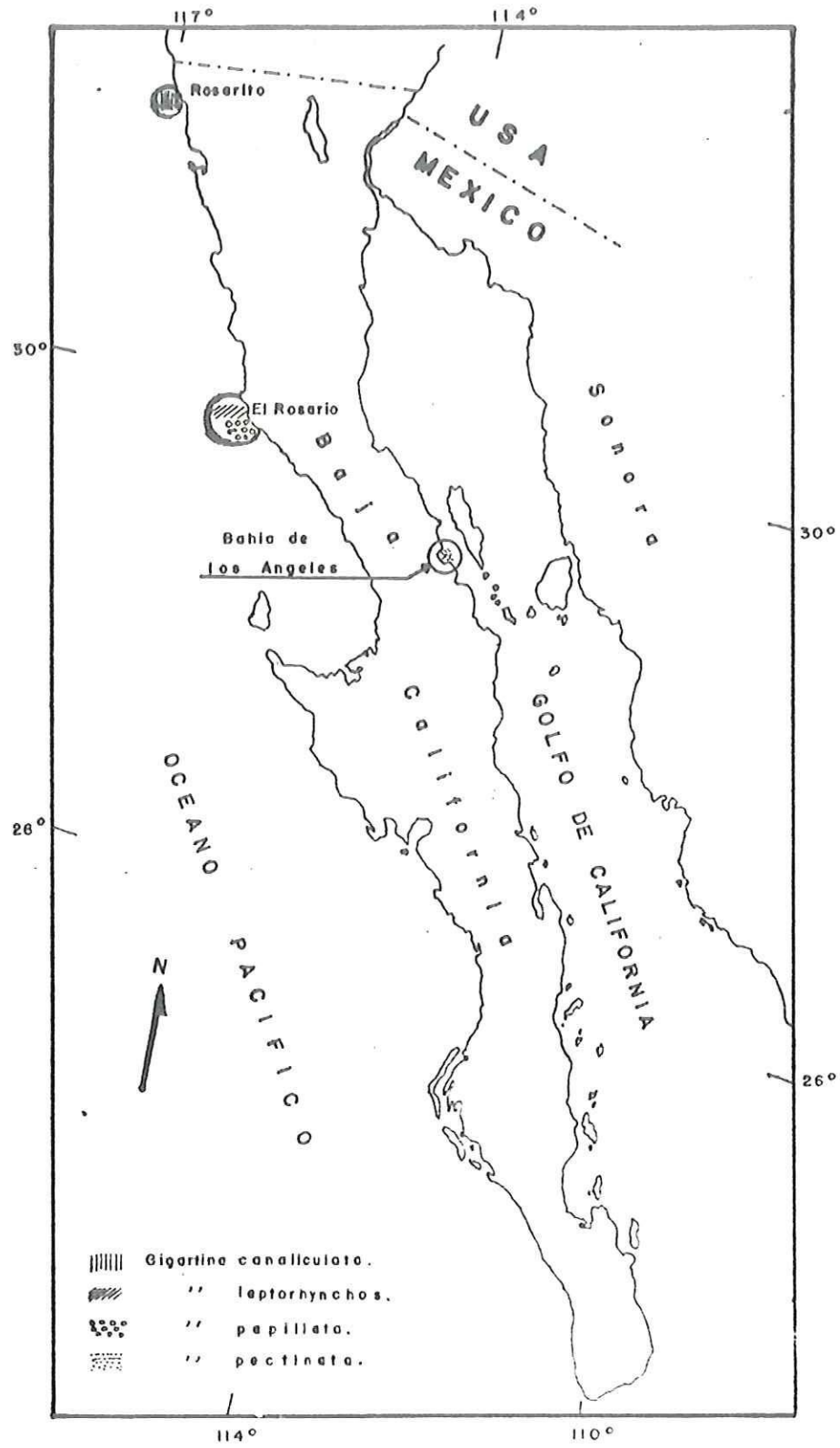


Fig. 4 Localización de los sitios de colecta

análisis se efectuó de acuerdo a los métodos planteados por la A. D. A. C., (1970). Complementario de éste análisis se hizo la extracción del carragenano a cada uno de los ejemplares algales siguiendo el método de Craigie and Leigh., (1978), así como su caracterización fisicoquímica de acuerdo a los métodos de Smidsrod y Micklestad (1980) y Pernas et al. (1967)

2 ANALISIS PROXIMAL

2.1 Humedad

La determinación de humedad se efectuó según el Método (A. O. A. C., 1970), a 105 °C hasta peso constante (aproximadamente 12 horas) realizando la cuantificación por gravimetría.

2.2 Cenizas

Se analizó el contenido de minerales presentes en el alga según el Método A. O. A. C., (1970) mediante la ignición de la materia orgánica a una temperatura de 500 °C durante 12 horas, se realiza la cuantificación de cenizas por gravimetría.

2.3 Grasas

Se determinó realizando la extracción en soxhlet durante un tiempo de 8 horas continuas, utilizando éter como solvente (Larsen, 1978).

2.4 Proteínas

El contenido de proteína fué estimada en forma indirecta por la cantidad de nitrógeno orgánico presente por el (Método de Microkjedahl), multiplicando el valor resultante por 6.25 (A. O. A. C., 1970).

2.5 Fibra cruda

El método utilizado fué el de Larsen, (1978) que se basa en la remoción de materiales solubles en ácido y alcalí por degradación y extracción a altas temperaturas (550 °C) y donde la parte orgánica se determina como la diferencia de

pesos entre el residuo seco y el peso residual de su combustión.

3 ANALISIS QUIMICO

3.1 Extracción de Carragenano

La obtención del carragenano se realizó siguiendo el método de Craigie and Leigh., (1978), utilizando 2 g. de muestra, en 150 ml de solución de Bicarbonato de sodio 0.05M a un pH=8.2. la extracción se realizó bajo una agitación constante aproximada de 600 r.p.m. y a una temperatura de 85-90°C. Para obtener el carragenano seco, el extracto total fue congelado y colocado en un liofilizador (modelo Labconco 2100) por un tiempo de 24 horas. Finalmente por gravimetría se determinó el rendimiento de carragenano.

3.2 Carbohidratos Reductores

Se determinó la concentración de carbohidratos en los extractos

por el método de Dubois et al. (1956). Esta determinación hace uso de la espectrofotometría usando galactosa como estándar para la curva de calibración a concentraciones de 15-75 μ g/ml. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro UV visible (Spectronic 20 B & L) a 485 nm.

3.3 3.4 anhidrogalactosa

Se determinó empleando el método de Yaphe y Arsenault, (1965). Se utilizó fructosa como estandar para la curva de calibración, a concentraciones de 8.1 $\mu\text{g/ml}$ - 54 $\mu\text{g/ml}$, la acción de una mezcla de acetal, resorcinol y ácido clorhídrico concentrado hacen que el polisacárido se hidrolize dando un color rosado fuerte, el cuál fué leído en el espectrofotómetro UV visible (Spectronic 20 B & L) a 555 nm. Para los carragenanos extraídos se utilizarón 100 mg de muestra en 250 ml de H_2O destilada (400 $\mu\text{g/ml}$), y se hizo una dilución 1/10 (40 $\mu\text{g/ml}$) empleando 2 ml para su análisis, se utilizó el factor 1.087 para los datos experimentales.

3.4 Análisis de Infrarrojo

El procedimiento consistió en disolver 0.15 gr de carragenano en agua destilada caliente aforando a 10 ml (1.5%), se tomaron 2 ml de la solución que fueron extendidos en una navecilla de poliestireno, se dejó reposar 30 minutos y posteriormente se secó la muestra por espacio de 12 horas a 45 °C, la película formada se desprendió cuidadosamente y se colocó en un bastidor para el análisis de infrarrojo con un Espectrofotómetro Perkin Elmer 1330 (Correa, 1987).

4 PROPIEDADES FISICAS

4.1 Rigidez del Gel

Se realizó efectuando una modificación al método de Parnas et al., (1967), utilizando solución de carragenano a concentraciones de carbohidratos reductores al 1% y 2.5%, la formación de los geles fué en cápsulas de plástipack cerradas de los extremos con bolsas de diálisis, dializándo contra KCl 0.2 % a temperatura ambiente, por un tiempo de 24 horas. La consistencia del gel fué determinada mediante una balanza granataria de 2 platos. Las dimensiones de los geles fueron de 1.12 cm de diámetro X 1 cm de altura, el área de la varilla utilizada para romper los geles fué de 1.05 cm².

4.2 Viscosidad relativa

Se midieron los tiempos de flujo de la solución de carragenano al 1% en un viscosímetro capilar y se correlacionó contra agua destilada empleando el método de Smidsrod, 1980. Se utilizó la siguiente relación para determinar la viscosidad relativa:

$$\text{Viscosidad Relativa } \eta_r = \frac{\text{Tiempo flujo de la Solución}}{\text{tiempo flujo del Solvente}} = \frac{\eta_s}{\eta_0}$$

4.3 Grupos con carga eléctrica

Se realizó siguiendo el método de Smidsrod (1980), en el cual se disuelven 10 mg de carragenano en 10 ml de H₂O, se colocan en bolsas de diálisis, dializándo por un período de

2 horas en 3 ocasiones contra una solución de $MgCl_2$, posteriormente se elimina el exceso de Mg^{++} dializándolo contra H_2O destilada con períodos mínimos de 2 horas para desprender los iones de Mg^{++} que se encuentran unidos a los grupos con carga eléctrica de la molécula de carragenano. Se dializa 3 veces contra HCl con períodos mínimos de 2 horas, el Mg^{++} en la solución es cuantificado por titulación complejométrica empleando Na_2EDTA 0.01 M.

RESULTADOS

Los datos obtenidos de la composición química de las distintas especies de Gigartina bajo estudio están representados en la Tabla I, donde se observa un porcentaje mínimo en G. papillata con 19.00% y el máximo correspondió a G. pectinata. El contenido de grasas dió un mínimo en G. papillata de 0.16% y el máximo en G. canaliculata con 0.42%. En el contenido proteico el valor mínimo lo presentó G. pectinata con 13.08% y el máximo fue obtenido de G. papillata con 33.26%. Fibra cruda presentó un valor mínimo en G. papillata de 0.33% y un máximo para G. pectinata con 8.49%. Carbohidratos presentó un valor mínimo en G. pectinata de 37.37% y un máximo en G. leptorhynchos de 51.98%.

Los rendimientos de carragenano por extracción presentaron un mínimo en G. pectinata de 39.31% y un máximo en G. leptorhynchos de 54.98% (Tabla II).

La caracterización de los carragenanos mostrada en la Tabla II presentó un mínimo de 3,6-AG en G. papillata de 22.38% y el máximo fue para G. leptorhynchos con 27.64%. Los grupos con carga eléctrica tuvieron un valor mínimo en G. leptorhynchos con 32.52% y un máximo correspondiente a

Q. pectinata con 35.54%. En cuanto a los valores de rigidez del gel se obtuvo un máximo en Q. leptorhynchus de 68.60 g/cm a una concentración de 2.5% de carragenano, el mínimo fué para Q. papillata la cual no formó gel. Viscosidad relativa presentó un mínimo en Q. pectinata de 3.87 con un máximo para Q. papillata con 19.19.

La espectroscopía de infrarrojo (Tabla III) fig. 5., señaló en Q. pectinata, Q. papillata, y Q. leptorhynchus bandas de absorción a los 805 cm^{-1} , 845 cm^{-1} , y a 930 cm^{-1} . Q. canaliculata presentó bandas de absorción a los 845 cm^{-1} y 930 cm^{-1} .

TABLA I COMPOSICION QUIMICA PROXIMAL

ESPECIE	% CENIZAS	% GRASAS	% PROTEINAS	% FIBRA CRUDA	% CARBOHIDRATOS
<u>G. pectinata</u>	40.77 ± 0.11	0.29 ± 0.01	13.08 ± 0.06	8.48 ± 0.17	37.37
<u>G. papillata</u>	19.00 ± 0.12	0.16 ± 0.02	33.26 ± 0.05	0.33 ± 0.01	47.23
<u>G. canaliculata</u>	29.47 ± 0.09	0.42 ± 0.02	18.71 ± 0.02	2.14 ± 0.04	49.25
<u>G. leptorhynchus</u>	22.47 ± 0.05	0.35 ± 0.01	24.80 ± 0.03	0.40 ± 0.02	51.98

TABLA II PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE LOS CARRAGENANOS

E S P E C I E	% RENDIMIENTO DE EXTRACCION CARRAGENANO	% 3.6-A G	% GRUPOS CON CARGA ELECTRICA	RIGIDEZ DEL GEL gr/cm ²		VISCOSIDAD RELATIVA SOLUCION 1%
				SOLUCION 1%	SOLUCION 2%	
<u>G. pectinato</u>	39.31	27.11	35.54	2.98	8.28	3.87
<u>G. papillata</u>	41.13	22.38	34.50	No gelifico	No gelifico	19.19
<u>G. canaliculata</u>	42.60	23.69	33	2.38	42.87	5.44
<u>G. leptorhynchos</u>	54.98	27.64	32.50	5.14	68.60	5.73

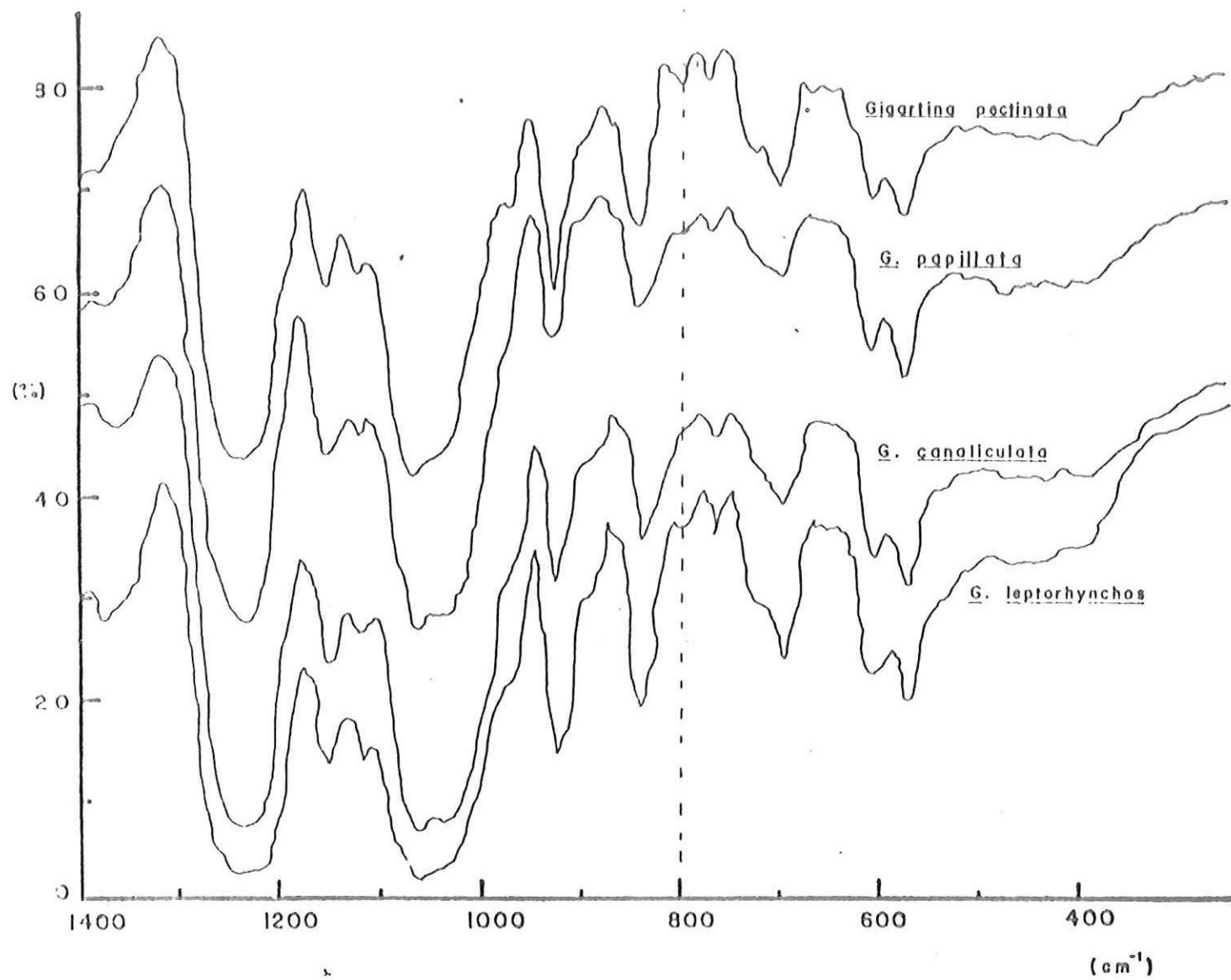


Fig. 5 Espectros de Infrarrojo

Tabla (III): Bandas de absorción características en espectros de IR de carragenanos de especies de Gigartinas.

Especie	Cm ⁻¹	Grupo característico	Tipo de carragenano
<u>G. leptorhynchos</u>	805* d	3,6-AG-2-Sulfato	híbrido # kappa-iota
	845& f	Galactosa-4-Sulfato	
	930@ f	3,6-AG	
<u>G. pectinata</u>	805* d	3,6-AG-2-Sulfato	híbrido # kappa-iota
	845& f	Galactosa-4-Sulfato	
	930@ f	3,6-AG	
<u>G. papillata</u>	805* t	3,6-AG-2-Sulfato	híbrido # kappa-iota
	845& f	Galactosa-4-Sulfato	
	930@ f	3,6-AG	
<u>G. canaliculata</u>	845& f	Galactosa-4-Sulfato	kappa
	930@ f	3,6-AG	

d= débil f= fuerte t= traza

* Anderson et al., (1968).

& Lloyd et al., (1961).

@ Stanley (1963)

Mc Candless et al., (1982)

DISCUSIONES

-El análisis proximal realizado a las especies algales de G. pectinata (febrero 1986), G. papillata (agosto 1986), G. canaliculata (febrero 1986), y G. leptorhynchos (agosto 1986), nos da una idea general de la composición química de cada una de ellas. Los resultados obtenidos en cenizas (Tabla 1) fueron de 40.77% para G. pectinata, 19.00% en G. papillata, 29.47% en G. canaliculata, y 22.47% en G. leptorhynchos, valores en base seca reportados para otras algas marinas muestran que los porcentajes para este componente varían de 15% a 40% (Hirao, 1972). Se reporta para otras algas productoras de coloides tales como Gracilaria verrucosa un 39.42%, Pterocladia capillacea con 20.35% en muestra seca (Chang-Lee, 1983), y G. canaliculata con 26% (Durazo, 1986), se observó que estos valores son comparativamente similares a los resultados obtenidos en las 4 especies bajo estudio.

El contenido proteico mostró los siguientes resultados (Tabla 1) 13.08% en G. pectinata, 33.26% en G. papillata, 18.71% en G. canaliculata, y 24.8% en G. leptorhynchos, en comparación con valores protéicos en base seca obtenidos en algas productoras de coloides como G. canaliculata con 18.09% (Durazo, 1986), Gracilaria verrucosa con 13.53% en muestra seca y Pterocladia

capillacea con 16.81% en muestra seca (Chang-Lee, 1983), fueron similares a estos porcentajes obtenidos en Q. pectinata y Q. canaliculata, en tanto Q. papillata y Q. leptorhynchos presentaron un mayor contenido de proteínas ésta diferencia pudiera ser debida a que fueron colectadas en distinta época del año.

En el contenido de grasas se obtuvieron valores de 0.16%-0.42% (tabla 1) mostrando un rango similar al presentado por lípidos en base seca de Q. canaliculata de Popotla y Erendira B. Cfa., con 0.11%-0.52% (Durazo, 1986), valores inferiores al 1% de contenido de lípidos son también presentados por Hirao (1972) en diversas algas marinas.

Para fibra cruda (Tabla 1) se obtuvieron valores que van de 0.335% a 8.48% siendo similar para Q. canaliculata, los valores reportados en Q. canaliculata de Popotla y Erendira B. Cfa., con un rango en fibra de 0.58%-3.31% en base seca (Durazo, 1986).

Los carbohidratos ocuparon la mayor proporción del material algal, los resultados (Tabla 1) fueron obtenidos por diferencia porcentual de todos los componentes analizados anteriormente y arrojaron valores en base seca de 37.37% en Q. pectinata, 47.23% para Q. papillata, 49.25%

en G. canaliculata, y 51.98% en G. leptorhynchos, valores de carbohidratos en Eucheuma isiforme de 59.9%, y 31.9% en E. nudum se reportan por Dawes et al., 1974, y para G. canaliculata se reporta 52% (Durazo, 1986), teniéndose un rango similar al obtenido en las especies bajo estudio.

-Extracción de Carragenano

El contenido de carragenano dió rendimientos (tabla 11) en G. pectinata de 39.31%, G. papillata de 41.13%, G. canaliculata de 42.40%, y G. leptorhynchos de 54.93%. Abbott (1980) reportó rendimientos de carragenano en gacetofitos de G. canaliculata con un promedio de 56.30% y para G. leptorhynchos 49.25%. Siendo estos valores similares a los obtenidos para estas mismas especies de nuestro estudio.

Se observa un contenido ligeramente mayor de carragenano en G. leptorhynchos y G. pectinata respecto a su contenido de carbohidratos, pudiéndose deber esto a la presencia de fibra cruda o bien a la presencia de sales en el extracto.

-Caracterización físicoquímica y Espectroscopía de IR de carragenanos.

La caracterización físicoquímica mostró que el contenido

de grupos con carga eléctrica (tabla II) fué alto, exhibiendo Q. pectinata un 35.24%, Q. papillata 34.50%, Q. canaliculata 33%, y Q. leptorhynchos 32.50%. Estos valores indicaron que en todas las especies analizadas tienen aproximadamente 3 grupos con carga eléctrica por cada 4 unidades monoméricas del polisacárido. En general, los valores obtenidos no corresponden a ninguna de las estructuras de carragenano kappa, iota ó lambda que idealmente tienen un patrón de sulfatación de 25.24%, 40.40%, y 39.00% respectivamente (Rees 1969, Stancioff y Stanley 1969), se muestra entonces que el carragenano es una mezcla heterogénea de carragenanos.

Los porcentajes de 3,6-AG (tabla II) obtenidos para cada especie fueron también altos mostrando Q. pectinata un 27.11%, Q. papillata 22.38%, Q. canaliculata 23.69%, y Q. leptorhynchos 27.64%, y son similares a valores reportados para Q. crispus con 23.5%, Q. stellata con 23.5%, y Q. skottsbergii con 20.90% (Pernas et al., 1967). Otros valores comparativamente similares son los de Q. stellata con 24%, Q. stiriata con 23% y Q. tenella con 24.2% (Smidsrod et al., 1967). Los valores obtenidos de 3,6-AG tienen una relación directamente proporcional a la rigidez del gel e inversamente proporcional al contenido de grupos con carga eléctrica, por ejemplo en el caso de Q. papillata cuyo carragenano no formó gel fué la especie que tuvo el

porcentaje menor de 3,6-AG 23.38% y presentó un valor de grupos con carga eléctrica relativamente alto 34.50%. En el caso contrario C. leptorhynchos que tuvo el contenido de 3,6-AG 27.64% más alto, presentó el gel más rígido 68.60 g/cm y el contenido de grupos con carga eléctrica fue el más pequeño que en todas las especies estudiadas.

El análisis de viscosidad arrojó valores bajos para las especies que presentaron una mayor rigidez de sus geles, en el caso de C. papillata cuyo carragenano no formó un gel pero presentó una viscosidad más elevada, esto se explica porque el carragenano de esta especie posee el más bajo contenido de 3,6-AG encontrado y un valor de grupos con carga eléctrica alto respecto a las otras especies.

En el análisis de espectros de infrarrojo se encontró que todas las especies presentaron bandas de absorción fuertes a los 845 cm^{-1} y a los 930 cm^{-1} atribuidas a galactosa-4-Sulfato (Lloyd y Dodgson, 1961) y a 3,6-AG (Stanley 1963) respectivamente, y son características de un carragenano tipo kappa. En las especies de C. pectinata, C. papillata, y C. leptorhynchos se observó una banda de absorción débil a los 805 cm^{-1} , indicando la presencia de residuos de 3,6-AG-2-Sulfato que es característica de un carragenano tipo iota. Siguiendo el criterio descrito por Mc Candless., (1982) se puede decir que el carragenano de

estas tres especies podría estar formado principalmente por un híbrido tipo kappa-iota carragenano, mientras que en G. canaliculata se presentó el tipo kappa-carragenano. Se tuvo en todas las especies excepto para G. papillata la presencia de carragenanos con fracciones gelificantes que se asocian a un estadio gametofito y conociendo que estas especies presentan alternancia de generaciones y que se debiera tener la presencia de la fase esporofita (tetrasporofita) en el carragenano, la ausencia de las bandas de absorción características para lambda carragenano ($820-830\text{cm}^{-1}$), puede deberse principalmente al hecho de que en la época de colecta estuviese predominantemente el estado gametofito y que la banda a 845 cm^{-1} (galactosa-4-Sulfato) oculte la absorción provocada por el lambda-carragenano ($820-830\text{ cm}^{-1}$). G. pectinata tuvo dominancia de gametofitos en su época de colecta (Pacheco y Zertuche, 1988), así como G. canaliculata y G. leptorhunchos han mostrado en el campo la dominancia de gametofitos durante todo el año (Pacheco, 1988, Abbott, 1980). En G. papillata que tiene un ciclo de vida complicado ocurre la apogamia, por lo cuál resultan generaciones sucesivas de gametofitos que son dominantes en el medio dando origen a fracciones kappa-iota (Mc Candless et al., 1983), en esta especie a pesar de que las evidencias por infrarrojo indican que el carragenano presente puede corresponder a un híbrido kappa-iota las propiedades del carragenano

extraído no corresponden a esa estructura por lo que se sugiere se hagan estudios más a fondo para determinar que tipo de carragenano posee.

El análisis proximal reveló que carbohidratos fué el componente mayoritario en todas las especies bajo estudio.

Las 4 especies mostraron un contenido de carragenano mayor al 39%, por lo cual se puede considerar a estas especies como una buena fuente de ficocoloides.

Las especies Q. pectinata, Q. papillata, y Q. leptorhynchos, mostraron que sus carragenanos están constituidos de un híbrido kappa-iota, en tanto que el carragenano de Q. canaliculata presentó el tipo kappa.

Carragenanos de Q. leptorhynchos, Q. canaliculata, y Q. pectinata, tienen la característica de formar geles. El carragenano de Q. papillata no formó gel.

RECOMENDACIONES

En virtud de que el presente trabajo es representativo de un solo punto y de diferentes épocas del año, es conveniente hacer una estimación de la biomasa de estos recursos en sus áreas correspondientes de cosecha, así como también se recomienda se lleven a cabo estudios sobre las variaciones estacionales y geográficas tanto del recurso algal como de la composición química de sus carragenanos, con fin de conocer la época del año en que se podría obtener la mejor calidad del carragenano.

LITERATURA CITADA

- Abbot, I. A., 1980. Some field and laboratory studies on colloid-producing red algae in central California. Aquat. Bot., 8: 255-266.
- Anderson, N. S., Dolan, T. C. S., Lawson, C. J., Penman, A. and Rees, D. A., 1968. The masked repeating structures of -and- carrageenans. Carrageenans. Part V. Carbohydr. Res. 7: 468-478.
- A. O. A. C., 1975. Methods of Analysis. 12 th. ed., Washington D. C.
- Blanco G. A., Zaragoza G. O., Hernández E. y González J. (1982). Segundo informe de avance del proyecto "La explotación de los recursos algales de Baja Cfa." I. I. O. UABC Ensenada, B. C. Méx. (no publicado)
- Bixler, H. J. 1979. Manufacturing and marketing of carrageenan in: Actas I. Algas Mar. Chilenas. B. Santelices, ed. Santiago, Chile pp. 259-274.
- Chang Lee, Ma. V., 1983. Análisis Químico y Propiedades Físicas de los Agares de Gracilaria verrucosa y Pterocladia capillacea. Tesis de Licenciatura E. S. C. M. U. A. B. C. Ensenada, B. C., México.
- Correa, F., 1987. "Variación Estacional del Rendimiento de Carragenano Extraído de Eucheuma uncinatum, Setchell & Gardner (Rhodophyta) de Bahía de los Angeles, B. C." Tesis de Licenciatura F. C. M. U. A. B. C. Ensenada, B. C., México.
- Craigie J. S. and C. Leigh., 1978. Carrageenans and Agars. In: "Handbook of physiological and Biochemical Method". Hellebust and Craigie (Ed). Cambridge Univ. Press. pp. 110-123
- Dawes, C. J., J. M. Laurence., D. P. Cheney and A. C. Mathieson 1974. Ecological Studie of Floridian Eucheuma (Rodophyta, Gigartinales). iii. Seasonal Variation of carrageenan, total carbohydrate, protein, and lipid. Bull. mar. Sci., 24(2): 286-299.
- Doty M. S. and G. A. Santos 1978. Carrageenans from tetrasporic and cystocarpic Eucheuma species Aquat. Bot., 4: 143-149.

- Durazo, E. 1986. Informes de Avance, Proyecto "Alternativas de nutrición en el cultivo de organismos acuáticos", Sección Química Facultad de Ciencias Marinas U. A. B. C., Ensenada, B. C. (no publicado).
- Durazo, E. 1988. Comunicación personal. Facultad de Ciencias Marinas. U. A. B. C.
- FAO/INFOFISH, 1983. Seaweeds-Products and Markets INFOFISH Marketing Digest No. 4 PO Box 899 pp. 19-26 Kuala Lumpur 01-02, Malaysia.
- Goring, D. A. I. and Young Gordon, E., 1956. Studies on carrageenan: Comparison of fractions obtained with potassium chloride and by successive extraction at elevated temperatures. Canadian Journal of Chemistry. Vol. 33
- Guzmán del Prío, S., 1969. Los Recursos Vegetales Marinos de Baja California, México. Proc. Int. Seaweed Symp 6. pp. 685-690 Santiago de Compostela, Madrid.
- Hansen J. E., J. E. Packard and W. T. Doyle 1981. Mariculture of Red Seaweeds A California Sea Grant College Program Publication pp. 7-13
- Rivera H., Hernández E. y Guardado J. 1988. Comunicación personal C. R. I. P. INP Ensenada, B. C., Méx.
- Hiras, S., 1972 Utilization of Marine Products Overseas Technical Cooperation Agency, Government of Japan. XV Seaweed, pp. 125-134.
- Larsen, B., 1978. Brown Seaweeds: Analysis of ash, fiber, iodine and mannitol in handbook of phycological methods. Cambridge University Press, New York.
- Lloyd, A. G., K. S. Dodgson, R. G. Price and F. A. Rose., 1961. Infrared studies on sulphate esters. I. Polysaccharide Sulphates. Biochim Biophys. Acta 46: 108-115.
- McCandless, E. L., J. S. Craigie, and J. A. Walter 1973. Carrageenans in the gametophytic and sporophytic stages of Chondrus crispus. Planta (Berlin) 112: 201-212.
- McCandless, E. L., J. A. West and M. D. Guiry 1982. Carrageenan Patterns in the Phaeophyceae. Biochem Systematics and Ecology Vol. 10 No. 4 pp. 275-284.
- McCandless, E. L., et al 1985. Carrageenan Patterns in the Rhodospirillaceae. Biochem Systematics and Ecology vol. 11

pp. 175-182.

- Molina, J. 1986. Notas sobre tres especies de algas marinas: Macrocystis purifera, Gelidium robustum y Gigartina canaliculata de interés comercial en la Costa Occidental de B. C., Méx. Documento Informativo No. 3 pp. 16-39 Secretaría de Pesca I. N. P. CRIP. Ensenada, B. C.
- Moss, J. 1977. Essential considerations for establishing seaweed extraction factories. In: R. W. Krauss (editor), The Marine Plant Biomass of The Pacific Northwest Coast. Oregon State University Press. Corvallis, O., pp. 301-304.
- O'Neill, A. M., 1955. Derivates of 4-O- -D-galactopyranosyl -3,6-anhydro-D-galactose from k-carrageenan. J. Am. Chem. Soc. 77: 6324-6326.
- Pacheco, I. 1988. Comunicación personal I. I. D. Ensenada, B. C., Méx.
- Pacheco, I. y Zertuche, J. A. 1988. Comunicación personal I. I. D. Ensenada, B. Cfa., Méx.
- Pasini, A., 1988. Fotosíntesis, respiración y crecimiento in situ de Gigartina pectinata (Dawson) en Bahía de los Angeles 1988. Tesis de Maestría F. C. M. UABC Ensenada, B. C.
- Peats S., (1981). The Infrared Spectra of Carrageenans Extracted from Various Algae. In: "Proc. Int. Seaweed Symp." 10. 595-605
- Percival, E., and Mc Dowell, H., 1967. Chemistry and enzymology of marine algae polisaccharides. Academic Press London. pp. 127-155
- Pernas, A. J., Smidsrod, O., Larsen, B. and Haug, A., 1967. Chemical heterogeneity of carrageenans as shown by fractional precipitation with potassium chloride. Acta Chem Scand. pp. 98-110.
- Pickmore, S. E., Parsons, M. J. and Bailey, R. W., 1975. Variations in carrageenans levels and composition in three New Zealand species of Gigartina. N. Z. J. Sci., 18: 585-595.
- Rees, D. A., 1963. The relation between the kappa and lambda components. The carrageenan system of polysaccharides. Part 1. J. Chem. Soc. 821-832.

- Rees, D. A., 1969. Alternating copolymers of the agar-carrageenan-chondroitin type by model building the computers with calculation of helical parameters. Conformational analysis of polysaccharides. Part II. J. Chem. Soc. 13: 217-226.
- Rees D. A., 1972. Shapely Polysaccharides. Biochem. J. 126, 257-273.
- Rochas' C., M. Lahaye & W. Yaphe 1986. Sulfate Content of Carrageenan and Agar Determined by Infrared Spectroscopy Bot. Mar. Vol. XXIX pp. 335-340.
- Smidsrod, D., B. Larsen, A. J. Pernas and A. Haug, 1967. The effect of alkali treatment on the chemical heterogeneity and physical properties of some carrageenans. Acta Chem. Scand., 21: 2588-2598.
- Smidsrod, D. and Kiklestad, H. 1980. Curso Química de Algas Marinas (no publicado). E. S. C. M. UABC Ensenada, B. C.
- Smith, D. B. and Cook, W. H., 1953. Fractionation of carrageenin. Arch. Biochem. Biophys., 45: 232-233.
- Stancioff D. J. and N. F. Stanley, 1969. Infrared, and chemical studies on algae polysaccharides. With International Seaweed Symposium. pp 595-609.
- Stancioff D. J. and D. W. Reen 1975. Physiological effects of food carbohydrates Am. Chem. Soc. 18: 282-295.
- Stanley, N. F., 1963. Process for treating a polysaccharide of the Gigartinales and Solieriaceae families U.S. patent. 3: 094, 577.
- Tseng C. K. 1947. Seaweed resources of North America and their utilization. Econ. Bot., 1: 69-97.
- Waaland, J. R. 1973. Experimental studies on propagation of Iridaceae and Gigartina. J. Phycol. (Suppl), 9: 12
- Waaland, J. R., 1975. Differences in carrageenans in gametophytes and tetrasporophytes of red algae 4: 1359-1362.
- West J. A. & M. H. Hommersand 1981. The Biology of Seaweeds Botanical Monographs Vol. 17 Chapter 4 pp. 162-167.
- Whistler R. L. 1973. Industrial gums, polysaccharides and their derivatives. 2nd. edn. Academic press. London & New York.

Yaphe, W. and G. P. Arsenault, 1965. Improved resorcinol reagent for the determination of fructose and of 3,6-AG, in polysaccharides. Analyt. Biochem. 13: 143-148.