



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA

DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL CARRAGENANO DE
Chondracanthus harveyanus (KÜTZING) GUIRY (RHODOPHYTA) DE PUNTA
SAN ISIDRO, B. C.



TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
OCEANÓLOGO
PRESENTA:
ANGÉLICA BEATRIZ ALARCÓN ARAGÓN.

ENSENADA, B.C. AGOSTO DE 1995.

RESUMEN:

Uno de los principales obstáculos para el establecimiento de una industria extractora de carragenanos, es el abastecimiento continuo y suficiente de materia prima. En Baja California existen carragenofitas que representan recursos potenciales para este propósito, pero no son aprovechadas principalmente porque no se han realizado estudios suficientes sobre ellas.

Para contribuir al conocimiento de estos recursos potenciales, fueron extraídos los carragenanos nativos de plantas cistocárpicas, tetraspóricas, y vegetativa de Chondracanthus harveyanus de Punta San Isidro, Baja California. Se evaluó el rendimiento de los carragenanos, el contenido de los componentes químicos de los mismos, las propiedades mecánicas de sus geles y sus espectros de infrarrojo.

El rendimiento promedio de carragenanos fue de 47.29%, dentro de lo esperado para especies de gigartinas y para algunas especies de carragenofitas que son explotadas comercialmente.

Las características fisicoquímicas que presentaron, fueron similares a las de carragenanos nativos de algunas especies que son aprovechadas en la industria.

La muestra cistocárpica del mes de octubre presentó características intermedias de las plantas cistocárpicas y las tetraspóricas. Estas características y su espectro de infrarrojo indican que se trata de carragenano rico en precursores, probablemente predominando el tipo mu.

CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL CARRAGENANO DE
Chondracanthus harveyanus (KÜTZING) GUIRY (RHODOPHYTA) DE PUNTA
SAN ISIDRO, B. C.

TESIS

QUE PRESENTA:

ANGÉLICA BEATRIZ ALARCÓN ARAGÓN.

APROBADA POR:



PRESIDENTE DEL JURADO

DR. JOSÉ ANTONIO ZERTUCHE GONZÁLEZ.



SINODAL PROPIETARIO

M.C. FELIPE CORREA DÍAZ



SINODAL PROPIETARIO

OC. RAÚL AGUILAR ROSAS

AGRADECIMIENTOS:

Al Insituto de Investigaciones Oceanológicas, en donde se llevó a cabo este trabajo,

A la Facultad de Ciencias Marinas y a los almacenistas por facilitar material y equipo,

A la Facultad de Ciencias Químicas de Tijuana, donde se corrieron los espectros de infrarojo,

Al Dr. José Zertuche por el apoyo brindado y por alentarme a concluir este trabajo,

A los Oc. Raúl y Luis E. Aguilar Rosas quienes proporcionaron las muestras algales previamente seleccionadas,

Al M. C. Felipe Correa Díaz por su guía y por facilitar el analizador de textura,

A los sinodales quienes contribuyeron a mejorar este trabajo con sus acertados comentarios,

Al Biólogo Marino Fernando Garza Sánchez y a Alejandro Rodríguez Guido por sus comentarios y su enorme ayuda en el manejo de la computadora,

Al Oc. Marco Aurelio González Gómez por su ayuda, y

A las personas que de alguna manera tuvieron que ver con la realización de este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO:

	Página
I.- INTRODUCCION:.....	1
I.1.- Objetivo:.....	5
II.- MATERIALES Y METODOS:.....	7
II.1.- Descripción de la zona de colecta:	7
II.2.-Material algal:.....	7
II.3.- Extracción del carragenano:.....	9
II.4.- Cuantificación del carragenano:.....	10
II.5.- Análisis físico-químico del carragenano:.....	11
II.5.1.- Cuantificación de Carbohidratos:	11
II.5.2.- Cuantificación de 3,6-anhidrogalactosa:	11
II.5.3.- Cuantificación de sulfatos:	11
II.5.4.- Fuerza de gel y módulo de Young (E):.....	12
II.5.5.- Punto de fusión:	14
II.5.6.- Punto de gelificación:	14
II.5.7.- Espectros de infrarrojo:	15
III.- RESULTADOS:.....	17

IV.- DISCUSIONES:26

VI.- LITERATURA CITADA:38

VII.- ANEXO.....43

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla I.- Rendimiento de carragenano de <u>Chondracanthus harveyanus</u> de Punta San Isidro, B.C. , basado en el peso seco del alga (n=3).....	19
Tabla II.- Caracterización química del carragenano de <u>Chondracanthus harveyanus</u> de Punta San Isidro, B.C., (n=3).....	20
Tabla III- Caracterización física de los carragenanos de <u>Chondracanthus harveyanus</u> de Punta San Isidro, B.C.	21

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1.- Morfología de <u>Chondracanthus harveyanus</u> (Kützting) Guiry (=Gigartina harveyana (Kützting) Setchell et Gardner, tomado de Abbott y Hollenberg, 1976.....	6
Figura 2.- Localización de la zona de colecta.....	8
Figura 3.- Ejemplo de gráfica a partir de las cual se calculó la fuerza de gel y el módulo de Young.....	16
Figura 4.- Espectros de infrarrojo de muestras cistocárpicas de <u>Chondracanthus harveyanus</u> de enero a mayo.....	23
Figura 5.- Espectros de infrarrojo de muestras cistocárpica y vegetativa de <u>Ch. harveyanus</u> de octubre.....	24
Figura 6.- Espectros de infrarrojo de muestras tetraspóricas de <u>Ch. harveyanus</u> de enero a mayo.....	25

I.- INTRODUCCION:

La importancia comercial de las algas marinas radica principalmente en su uso como alimento y como fuente de hidrocoloides, entre los que destacan los carragenanos (Indergaard y Jensen, 1991 *in*: Jensen, 1993), los cuales son polímeros de galactanos sulfatados que se pueden extraer con agua caliente de ciertas rodofitas, especialmente de miembros de las Gigartinaceae, Hypneaceae , Phyllophoraceae y Solieriaceae (Percival y McDowell, 1967, *in* Craigie y Leigh, 1978; McCandless *et al.*, 1982). Los carragenanos tienen amplia aplicación en la industria, principalmente en la alimenticia, en la que encuentran usos como agentes suspensores, espesantes y gelificantes. Tienen también aplicación en productos como cosméticos, dentífricos y aromatizantes sólidos (INFOFISH, 1983).

Existen principalmente tres tipos comerciales de carragenanos con distinta capacidad para espesar soluciones y formar geles: lambda, kappa e iota. El tipo lambda forma soluciones viscosas, los tipos kappa e iota forman geles (McCandless, *et al.*, 1983.). Ya que la proporción de cada uno en las algas que los producen puede diferir de una especie a otra, los fabricantes frecuentemente utilizan más de una especie para obtener la

variedad de productos con propiedades que se ajusten a las necesidades de cada aplicación (INFOFISH, op. cit.).

Estos polímeros están formados por unidades de D-galactopiranosas unidas por enlaces glicosídicos $\alpha,1\rightarrow3$ y $\beta,1\rightarrow4$ alternados, que difieren en el grado y sitio de sulfatación, además, la unidad α -D-galactopiranosas enlazada en 4, puede estar en la forma de 3,6-anhidrogalactosa (Percival y McDowell, 1967, in Craigie y Leigh, op. cit.). Hay considerable variación en los patrones de sustitución de los carragenanos extraídos de diferentes especies e incluso dentro de la misma especie, en individuos que pertenecen a distinta fase de la historia de vida (McCandless et al., 1982). En las Gigartinaceae los gametofitos contienen carragenanos con alto contenido de 3,6-anhidrogalactosa, capaces de gelificar, comprenden a la familia kappa, caracterizados por estar sulfatados en la posición 4 de la unidad beta; mientras que los tetrasporofitos contienen carragenanos ricos en sulfatos, que forman soluciones viscosas, asociados a la familia lambda caracterizados por estar sulfatados en la posición 2 de la unidad beta (Peats, 1981; McCandless, et al., op. cit.).

En México, donde se importan más de diez millones de dólares al año

de carragenanos, no se ha instalado una planta de extracción, principalmente por la incertidumbre de contar con abasto suficiente de materia prima local (Zertuche-González, 1993), por tanto, resulta importante evaluar la calidad y rendimiento de las especies de carragenofitas que podrían ser una alternativa que asegure el abasto de materia prima para la extracción de este producto.

Baja California cuenta con un gran potencial de recursos marinos en lo que respecta a macroalgas, no obstante, sólo tres especies, Gelidium robustum, Gigartina canaliculata y Macrocystis pyrifera, se han explotado en forma ininterrumpida desde 1956 y a partir de los ochenta en forma esporádica Egregia, Porphyra y Euclima uncinatum (Guzmán del Proó, et al. 1986; Zertuche-González, op. cit.). Sin embargo, Aguilar-Rosas y colaboradores (1982), reportan 24 especies más de algas de importancia económica en varias localidades de Baja California y comentan que "...no se está llevando a cabo la explotación de este recurso a su nivel óptimo, dada la carencia de estudios específicos sobre aquellas otras especies de importancia económica".

Chondracanthus harveyanus (Kützinger) Guiry (= Gigartina harveyana

(Kützing) Setchell et Gardner), es una rodofita del orden de las Gigartinales que pertenece a la familia Gigartinaceae, la cual representa un recurso potencial de gran importancia económica por ser productora de carragenano. Es un alga perenne que presenta talo rojo-café de láminas anchas y largas que comúnmente crecen entre 25 a 30 cm, pero puede alcanzar hasta 90 cm (figura 1). Habita en áreas rocosas cubiertas de arena fina en la zona mesolitoral inferior, ocasionalmente en la zona submareal hasta los 7.5 m y se distribuye desde Washington E. U. A. hasta Punta María, Baja California (Abbott, et al., 1976; Aguilar-Rosas, 1981; Pacheco-Ruíz y Aguilar-Rosas, 1984; García-González, 1989; Hommersand, et al., 1993). Es una especie poco estudiada, se carece, entre otras cosas, de estudios sobre la abundancia de este recurso potencial y en general, de la información suficiente para saber si podría ser utilizada como materia prima para la extracción de carragenanos.

Entre los trabajos realizados sobre esta especie se cuenta con el de Peats, (1981), quien llevó a cabo análisis de espectros de infrarrojo de carragenanos extraídos alcalinamente de varias algas, incluyendo algas de la familia Gigartinaceae, entre las que figura Chondracanthus harveyanus (Kützing) Guiry (= Gigartina harveyana (Kützing) Setchell et Gardner).

Reportó que la mayoría de las especies de Gigartina analizadas presentaron una banda aguda a los 825 cm^{-1} , característica del carragenano tipo xi. Correa-Díaz et al., (1990), reportaron espectros de infrarrojo de carragenano nativo de Ch. harveyanus (= G. harveyana), de plantas cistocárpica, tetraspórica y estéril, procedentes de muestras colectadas en el mes de octubre en Santo Tomás, B. C.

En este trabajo se comparará la calidad y contenido de los carragenanos de Chondracanthus harveyanus de tres estaciones del año, invierno-primavera y otoño, de 1989, con los de especies carragenofitas reportados en la literatura.

I.1.- Objetivo:

Evaluar la calidad y rendimiento del carragenano producido por Chondracanthus harveyanus (Kützing) Guiry de plantas cistocárpicas, tetraspóricas y vegetativas, colectada en Punta San Isidro, Baja California, en enero, marzo, mayo y octubre de 1989.

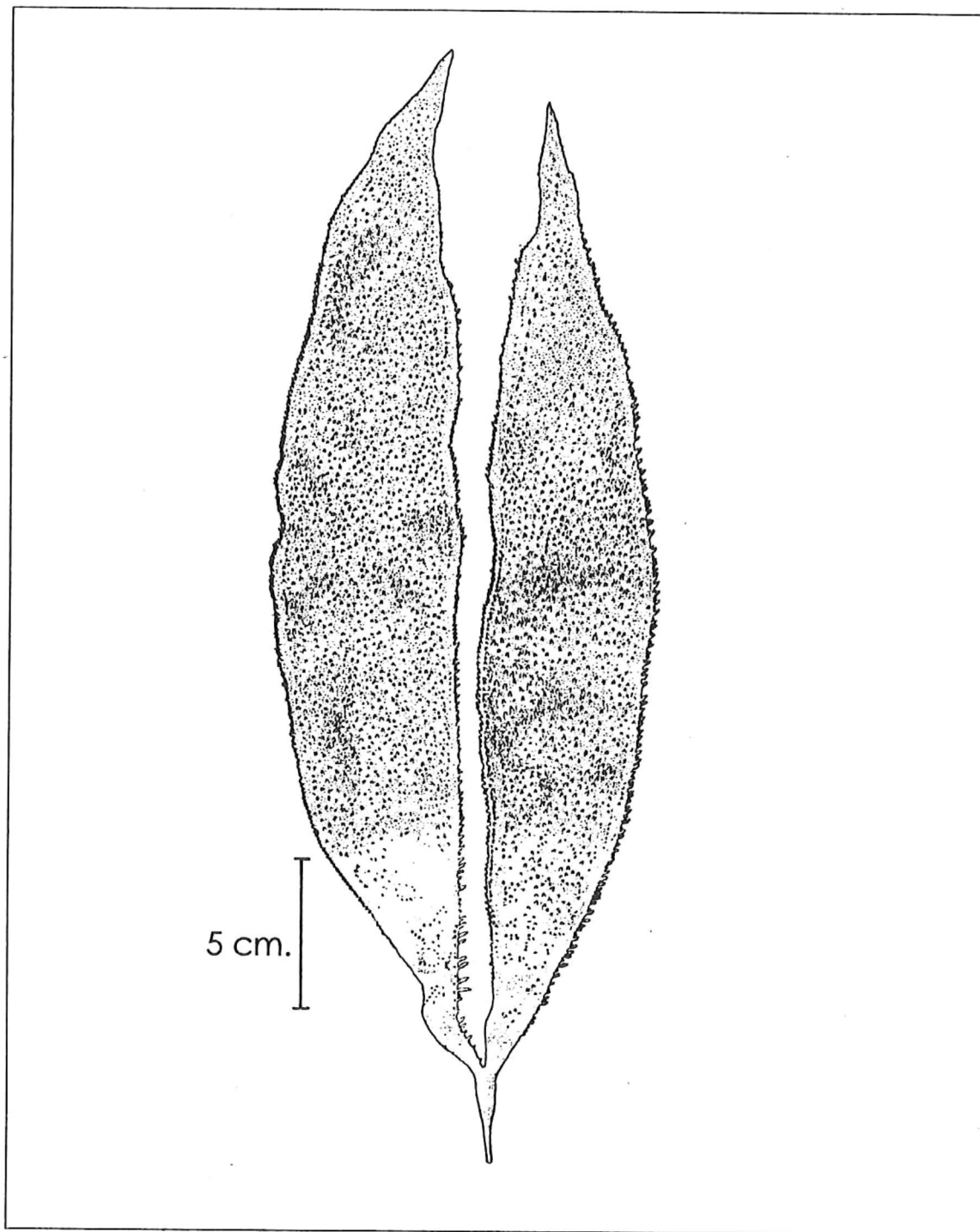


Figura 1.- Morfología de *Chondracanthus harveyanus* (Kützing) Guiry (= *Gigartina harveyana* (Kützing) Setchell et Gardner, tomado de Abbott y Hollenberg, 1976.

II.- MATERIALES Y METODOS:

II.1.- Descripción de la zona de colecta:

Punta San Isidro se encuentra localizada aproximadamente a 80 Km al sur de la ciudad de Ensenada, entre los 31° 17' 30'' de latitud norte y 116° 24' 50'' de longitud oeste, (figura 2). Esta zona se caracteriza por presentar oleaje de alta energía y fenómenos de surgencias, que bañan la franja litoral de aguas frías ricas en nutrientes (Fernández-Mejía y Aldeco-Ramírez, 1981).

II.2.-Material algal:

Las muestras utilizadas en el presente trabajo, fueron colectadas por R. Aguilar-Rosas y L. E. Aguilar-Rosas en enero, marzo, mayo y octubre de 1989 en Punta San Isidro, Baja California, México, (figura 2). Las plantas se colectaron al azar de la zona intermareal, mismas que fueron separadas bajo el microscopio estereoscópico y compuesto en plantas cistocárpicas, plantas tetraspóricas y aquéllas en las que no se evidenció estar en

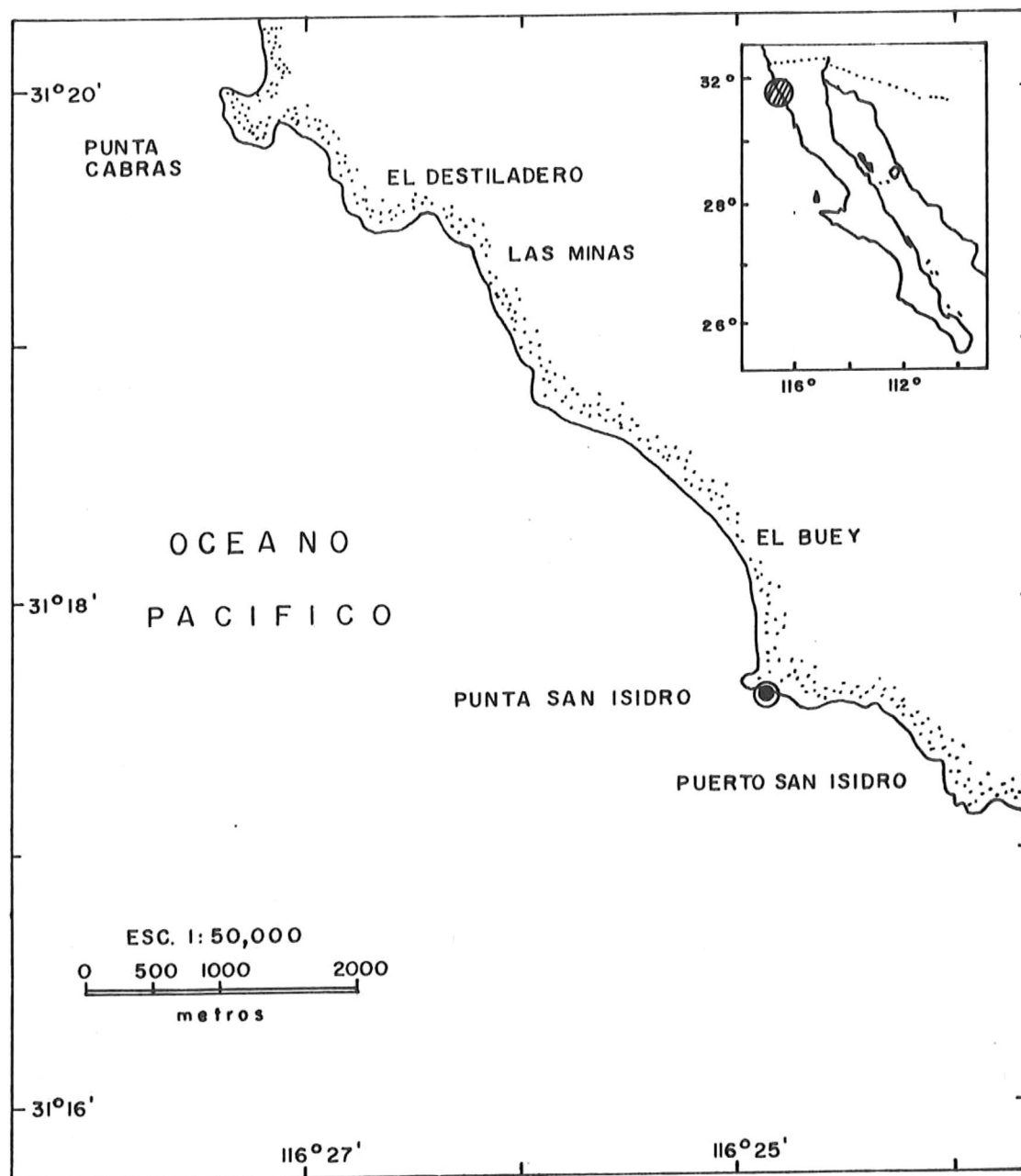


Figura 2.- Localización de la zona de colecta.

reproducción (vegetativas). Una vez seleccionadas fueron secadas a 60 ° C y molidas a un tamaño de partícula de 2 mm, para preservación y posterior análisis de laboratorio. Se obtuvieron las siguientes muestras:

19 de enero:	Cistocárpica, tetraspórica.
16 de marzo:	Cistocárpica, tetraspórica.
4 de mayo:	Cistocárpica, tetraspórica.
18 de octubre:	Cistocárpica, vegetativa.

II.3.- Extracción del carragenano:

Se realizó por triplicado siguiendo la metodología descrita por Craigie y Leigh (1978). Aproximadamente tres gramos de alga seca y molida fueron despigmentados con lavados sucesivos de acetona, etanol al 80% y etanol absoluto. Se realizó la extracción del alga despigmentada en 500 ml de solución 0.5 M de bicarbonato de sodio por dos horas a $90 \pm 3^{\circ}\text{C}$. La solución fue filtrada en caliente en papel Whatman no. 1, el residuo se reextrajo en 200 ml más de solución de bicarbonato por media hora. Después de filtrar en caliente, ambos extractos se juntaron y la solución

resultante fue concentrada en un rotavapor hasta aproximadamente un tercio de su volúmen. Posteriormente fue precipitada con solución de cetavión al 2% (bromuro de hexadeciltrimetilamonio). El precipitado fue sedimentado por centrifugación y lavado con agua, acetato de sodio en etanol al 90% siete veces, etanol al 70% hasta eliminar exceso de sales, etanol al 80% hasta eliminar las sales (prueba negativa con nitrato de plata) y finalmente con etanol al 95%. Se dejó evaporar el exceso de etanol a temperatura ambiente y posteriormente se puso a secar en estufa de vacío a 65 °C hasta obtener peso constante.

II.4.- Cuantificación del carragenano:

Se realizó gravimétricamente, una vez que se obtuvo el carragenano, se secó en estufa de vacío sobre sulfato de calcio anhidro a 65 °C hasta obtener peso constante. Con este peso final se calculó el rendimiento del carragenano.

II.5.- Análisis físico-químico del carragenano:

II.5.1.- Cuantificación de Carbohidratos:

Se cuantificó el contenido total de carbohidratos por el método colorimétrico del fenol-ácido sulfúrico, propuesto por Dubois y colaboradores (1956), usando D-galactosa como estándar.

II.5.2.- Cuantificación de 3,6-anhidrogalactosa:

Se realizó mediante el método colorimétrico con resorcinol-acetal, propuesto por Yaphe y Arsenault (1965), descrito por Craigie y Leigh (1978), usando D-fructosa como estándar.

II.5.3.- Cuantificación de sulfatos:

Se cuantificó el contenido de sulfatos por el método turbidimétrico de Tabatabai (1974), modificado por Craigie *et al.*, (1984), en el que se utiliza cloruro de bario para precipitar los sulfatos y sulfato de potasio como estándar.

Se calculó el grado de sulfatación, que se refiere al número de moles de sulfato presentes por cada mol de unidad disacárida, a partir del contenido promedio de sulfato, 3,6-anhidrogalactosa y carbohidratos. El peso molecular de la unidad disacárida se tomó como el peso molecular proporcional para cada caso respecto al contenido promedio de carbohidratos y 3,6-anhidrogalactosa. Para sulfato se consideró el peso molecular del ión sulfato ($\text{SO}_4^{2-}=96.06$).

II.5.4.- Fuerza de gel y módulo de Young (E):

Se midió la fuerza de gel usando un analizador de textura. La fuerza requerida para romper los geles fue registrada por un graficador previamente calibrado y ajustado a cero con el gel colocado sobre la balanza antes de hacer las mediciones. El émbolo utilizado, de 6.34 mm de diámetro avanzaba a una velocidad constante de 0.252 mm/s. El papel en el graficador avanzaba a una velocidad de 2 mm/s, (Correa-Díaz, com. pers*). A partir de las gráficas obtenidas (ver figura 3), se calcularon la penetración, la fuerza de gel y el módulo de Young, en base al siguiente razonamiento:

* Correa-Díaz, Felipe. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California.

Penetración: Distancia que el émbolo penetra en el gel justo antes de la ruptura.

Distancia en X mm/velocidad de avance del papel $\text{mm s}^{-1} = \text{tiempo s}$

Tiempo s * velocidad de avance del émbolo $\text{mm s}^{-1} = \text{penetración mm}$

Fuerza de gel (esfuerzo o fatiga): Medida de la fuerza aplicada por unidad de superficie, que produce la ruptura del gel.

Distancia en Y al punto de ruptura * peso de calibración g/distancia en Y al punto de calibración = fuerza requerida para romper el gel g

Fuerza requerida para romper el gel g/área del émbolo $\text{cm}^2 = \text{fuerza de gel gcm}^{-2}$

Módulo de Young (E): Módulo de elasticidad longitudinal, es la relación entre la fuerza de gel y la penetración, es decir, la fuerza de gel y la deformación que sufre el gel justo antes de la ruptura.

Fuerza de gel $\text{g cm}^{-2} * 981 = \text{fuerza de gel dinas cm}^{-2}$

Fuerza de gel $\text{dinas cm}^{-2} / \text{penetración (cm)} = E \text{ dinas cm}^{-2}$

Los geles se prepararon así: 5 ml de una solución de carragenano al 2% (w/v) en KCl 0.2 M, fueron transferidos a vasos de precipitado de 10 ml, y se dejaron reposar por 24 horas en refrigeración. Las mediciones se realizaron a 23 ° C.

II.5.5.- Punto de fusión:

El punto de fusión se determinó como la temperatura a la cual, un balín de acero de 1.108 cm de diámetro y de 5.59 g de peso colocado sobre la superficie del gel, de 11 cm de alto, llegaba al fondo del tubo de ensaye que lo contenía. El tubo medía 18X150 mm, con tapa de rosca y lleno hasta los 25 ml. El incremento de la temperatura fue de aproximadamente 0.5 ° C/min (Armisen, 1993).

II.5.6.- Punto de gelificación:

El punto de gelificación se determinó como la temperatura a la cual, el mismo balín de acero de 1.108 cm de diámetro, que se encontraba en el fondo del gel, y la superficie del gel mismo, quedaban inmóviles al invertir el tubo que los contenía.

II.5.7.- Espectros de infrarrojo:

Se obtuvieron los espectros de infrarrojo de películas de carragenano, formadas al dejar evaporar alicuotas de 0.5 ml de solución de carragenano al 1.5% en navecillas de poliestireno de 37.56 mm X 37.56 mm y 10 ml de capacidad por 12 horas a 60 ° C (Correa-Díaz, et al., 1990). Los espectros fueron registrados por un espectrofotómetro de infrarrojo Perkin Elmer 1330.

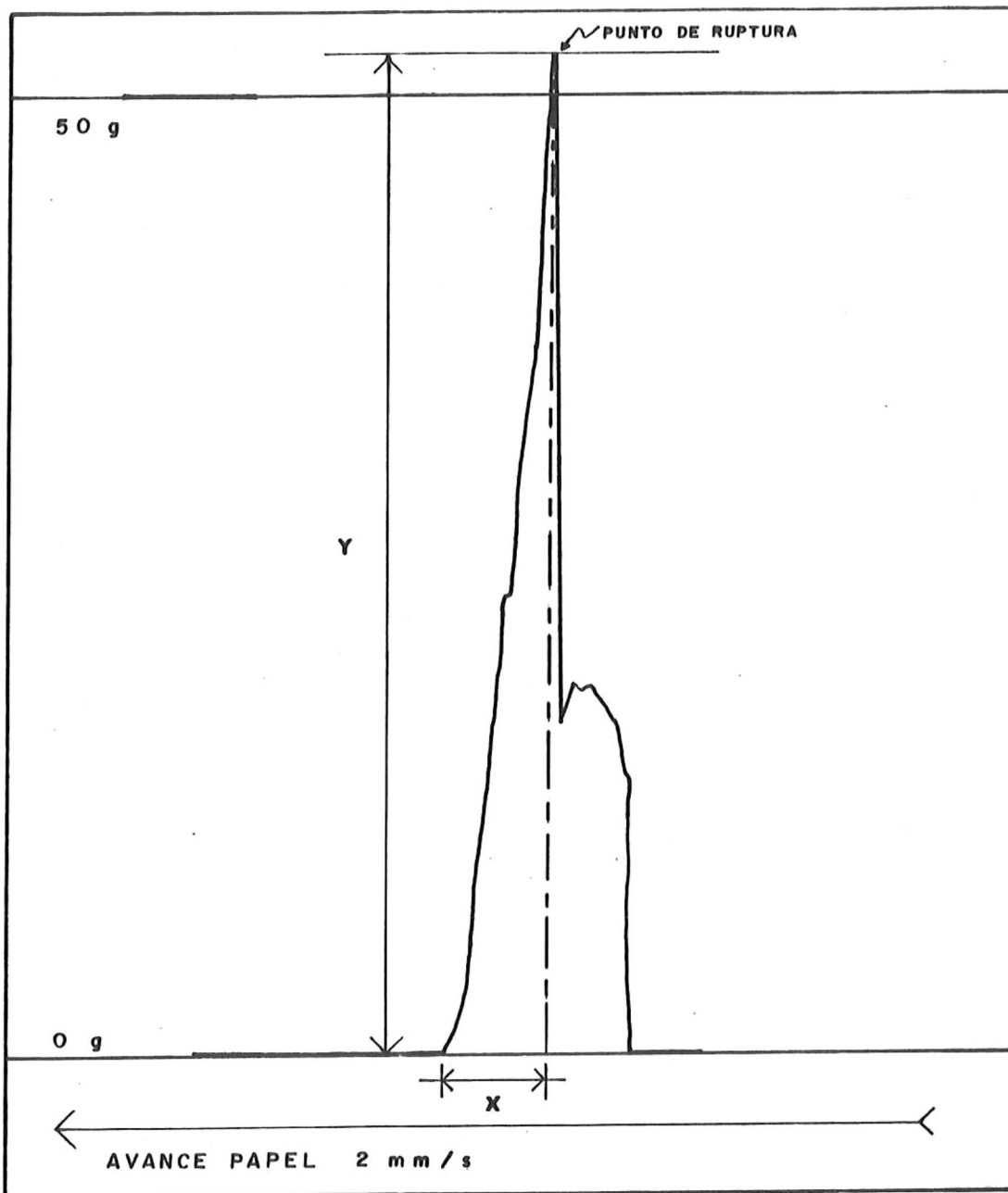


Figura 3.- Ejemplo de gráfica a partir de la cual se calculó la fuerza de gel y el módulo de Young.

III.- RESULTADOS:

El mayor rendimiento de carrgenano fue de 56.76% para la muestra tetraspórica del mes de enero y el menor de 42.74% para la cistocárpica del mismo mes (tabla I). Los rendimientos promedio para las plantas cistocárpica y tetraspórica fueron 45.49 y 49.70% respectivamente. No hubo diferencia de rendimiento entre los dos tipos de plantas ni entre las diferentes muestras (tabla I). No fue posible calcular el rendimiento de la muestra vegetativa de octubre, ya que la muestra fue parcialmente depolimerizada durante el pretratamiento.

El contenido de carbohidratos fluctuó de 56.01 a 71.37% (cistocárpicas de octubre y de enero respectivamente), como se observa en la tabla II. El contenido promedio de las plantas cistocárpicas, sin considerar la muestra de octubre, fue 70.09% y de las tetraspóricas 58.40%.

El contenido de 3,6-anhidrogalactosa fluctuó de 3.85 (tetraspórica de mayo) a 22.38% (vegetativa de octubre), tabla II. Excepto la muestra de octubre, el contenido promedio de las plantas cistocárpicas, 21.79%, fue

mayor al de las tetraspóricas, (4.26%). No hubo diferencia entre muestras del mismo estado reproductivo para los meses de enero a mayo.

El contenido de sulfatos estuvo en el intervalo de 22.28 a 31.95% (cistocárpica de enero y tetraspórica de marzo). Excluyendo las muestras de octubre, el contenido promedio de las plantas cistocárpicas, fue de 23.78% y el de las tetraspóricas de 30.28%. En cuanto a muestras del mismo estado reproductivo (enero a mayo), no hubo diferencia. La muestra cistocárpica de octubre tuvo un contenido de sulfatos de 28.96% (tabla II).

El grado de sulfatación promedio para las plantas cistocárpicas y tetraspóricas de enero a mayo fue 1.10 y 1.72, mientras que el valor para la cistocárpica de octubre fue 1.87 y para la vegetativa 1.13 (tabla II).

La fuerza de gel presentó el valor mínimo para la muestra de enero (80.19 g/cm²) y el máximo para la de mayo (169.19 g/cm²), la muestra cistocárpica de octubre no gelificó (tabla III).

Tabla I.- Rendimiento de carragenano de Chondracanthus harveyanus de Punta San Isidro, B.C. , basado en el peso seco del alga (n=3).

Muestra	Rendimiento promedio (%)	Desviación estándar
19/I/89 cistocárpica	42.74	0.6360
19/I/89 tetraspórica ¹	56.76	1.4684
16/III/89 cistocárpica	43.33	0.5610
16/III/89 tetraspórica ¹	43.46	4.2223
4/V/89 cistocárpica	47.31	0.4701
4/V/89 tetraspórica	48.88	0.5759
18/X/89 cistocárpica	48.59	2.4839
18/X/89 vegetativa	2	2

¹ n=2

² Muestra depolimerizada, no se pudo calcular el rendimiento.

El módulo de elasticidad (módulo de Young) presentó el mismo patrón que la fuerza de gel, con valores crecientes de enero a mayo. Sin embargo, la mínima penetración se obtuvo en la muestra de marzo (1.57mm).

Tabla II.- Caracterización química del carragenano de Chondracanthus harveyanus de Punta San Isidro, B.C., (n=3).

Muestra	% carbohidratos (n=3)	% sulfatos (n=3)	% 3,6- anhidrogalactosa (n=3)	Recobro %	Grado de sulfatación
19/I/89 cistocárpica	71.37 ± 0.5305	22.28 ± 1.0625	21.57 ± 0.4320	98.11	1.01
19/I/89 tetraspórica	59.20 ± 2.0041	28.61 ± 1.0528	4.64 ± 0.0368	94.63	1.60
16/III/89 cistocárpica	70.79 ± 2.0372	23.12 ± 0.5175	21.44 ± 0.3782	99.42	1.06
16/III/89 tetraspórica	57.92 ± 1.0886	31.95 ± 0.2692	4.29 ± 0.2309	97.48	1.83
4/V/89 cistocárpica	68.10 ± 3.7953	25.95 ± 0.2158	22.36 ± 0.7544	98.88	1.23
4/V/89 tetraspórica	58.08 ± 2.3835	30.27 ± 0.6743	3.85 ± 0.0491	95.56	1.73
18/X/89 cistocárpica	56.01 ± 1.1542	28.96 ± 1.1084	8.29 ± 0.1377	91.87	1.87
19/X/89 vegetativa	67.56 ± 3.6077	23.68 ± 1.4083	22.38 ± 0.9284	96.88	1.13

Valores en base al peso seco del carragenano.

Los valores de punto de fusión y de gelificación se muestran también en la tabla III. Los valores mínimos de ambos se presentaron en la muestra de enero (50 y 46 °C), mientras que marzo y mayo presentaron el mismo punto de fusión y puntos de gelificación muy cercanos.

Tabla III- Caracterización física de los carragenanos de Chondracanthus harveyanus de Punta San Isidro, B.C.

Muestra	Fuerza de gel (g/cm ²)	Módulo de Young (E) (Dinas/cm ²)	Penetración (mm)	Punto de fusión (°C)	Punto de gelificación (°C)	Tipo de carragenano
19/I/89 Cistocárpica	80.19 ± 0.7466	4.3448*10 ⁵ ± 0.5698*10 ⁵	1.83 ± 0.2338	50	46	κ/ι
19/I/89 Tetraspórica						ξ
16/III/89 Cistocárpica	93.90 ± 5.5026	5.6788*10 ⁵ ± 0.4957*10 ⁵	1.57 ± 0.1235	61	55	κ/ι
16/III/89 Tetraspórica						ξ
4/V/89 Cistocárpica	169.19 ± 4.6654	9.0975*10 ⁵ ± 0.2753*10 ⁵	1.82 ± 0.0067	61	56	κ/ι
4/V/89 Tetraspórica						ξ
18/X/89 Cistocárpica	No gelificó	No gelificó	No gelificó	No gelificó	No gelificó	Precursores
18/X/89 vegetativa	*	*	*	*	*	κ/ι

Las muestras cistocárpicas (excepto la de octubre) y la vegetativa, presentaron banda media a los 930 cm⁻¹ para la 3,6-anhidrogalactosa, banda media a los 845 cm⁻¹ para la galactosa-4-sulfato, y banda débil a los 805 cm⁻¹ para la 3,6-anhidrogalactosa-2-sulfato; éstas dos últimas características de los carragenanos kappa e iota, respectivamente (figuras 4 y 5).

Las muestras tetraspóricas presentaron banda media, aguda a los 830 cm^{-1} para la galactosa-2-sulfato, característica del carragenano tipo xi (figura 6).

La muestra cistocárpica de octubre presentó banda media a los 930 cm^{-1} para la 3,6-anhidrogalactosa, (sin embargo fue más débil respecto a las otras cistocárpicas), y banda media a los 830 cm^{-1} (figura 4), por lo que se puede asumir que se trata de una muestra en la que predominan los precursores (mu y/o nu).

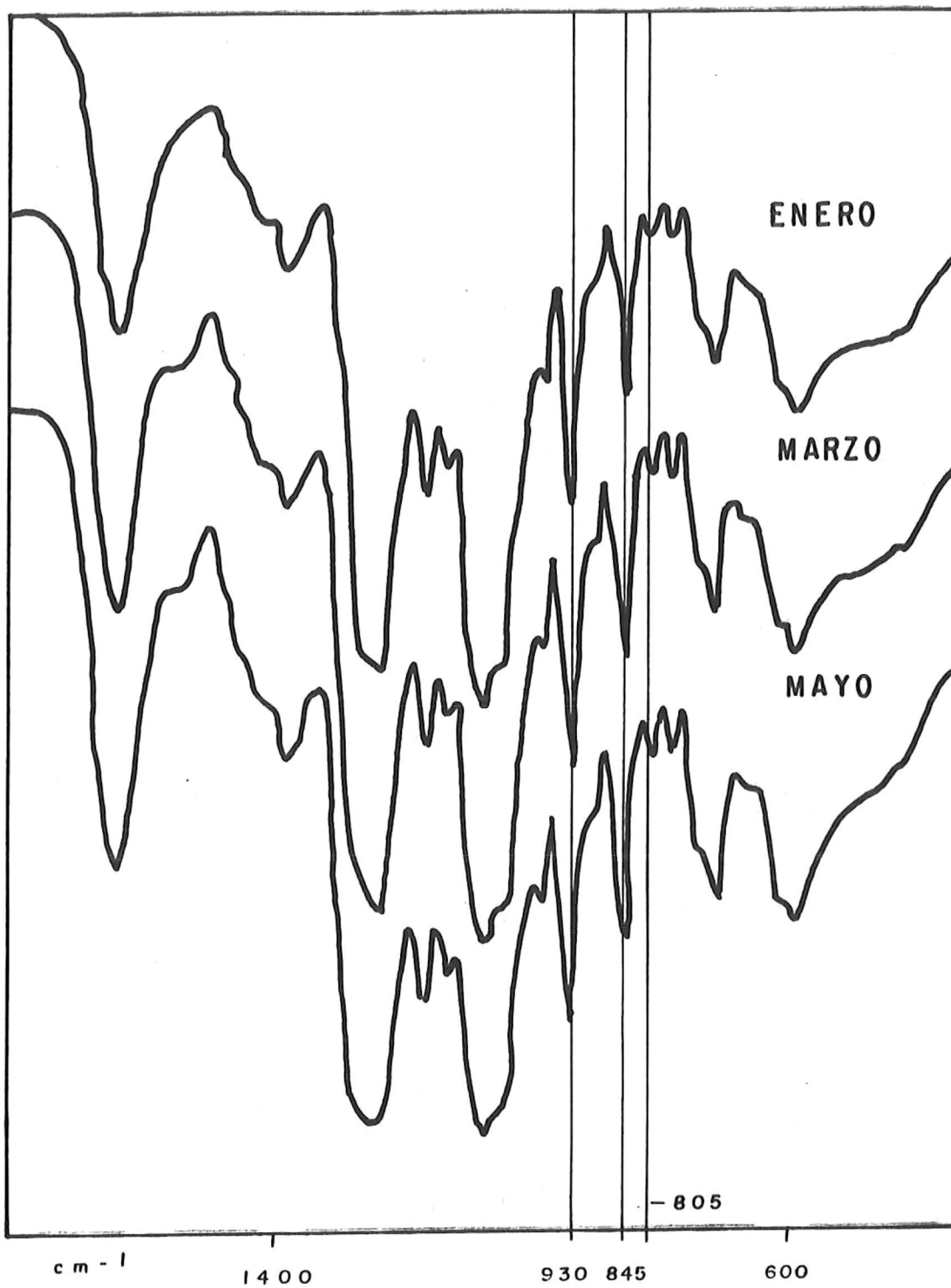


Figura 4.- Espectros de infrarrojo de muestras cistocárpicas de Chondracanthus harveyanus de enero a mayo.

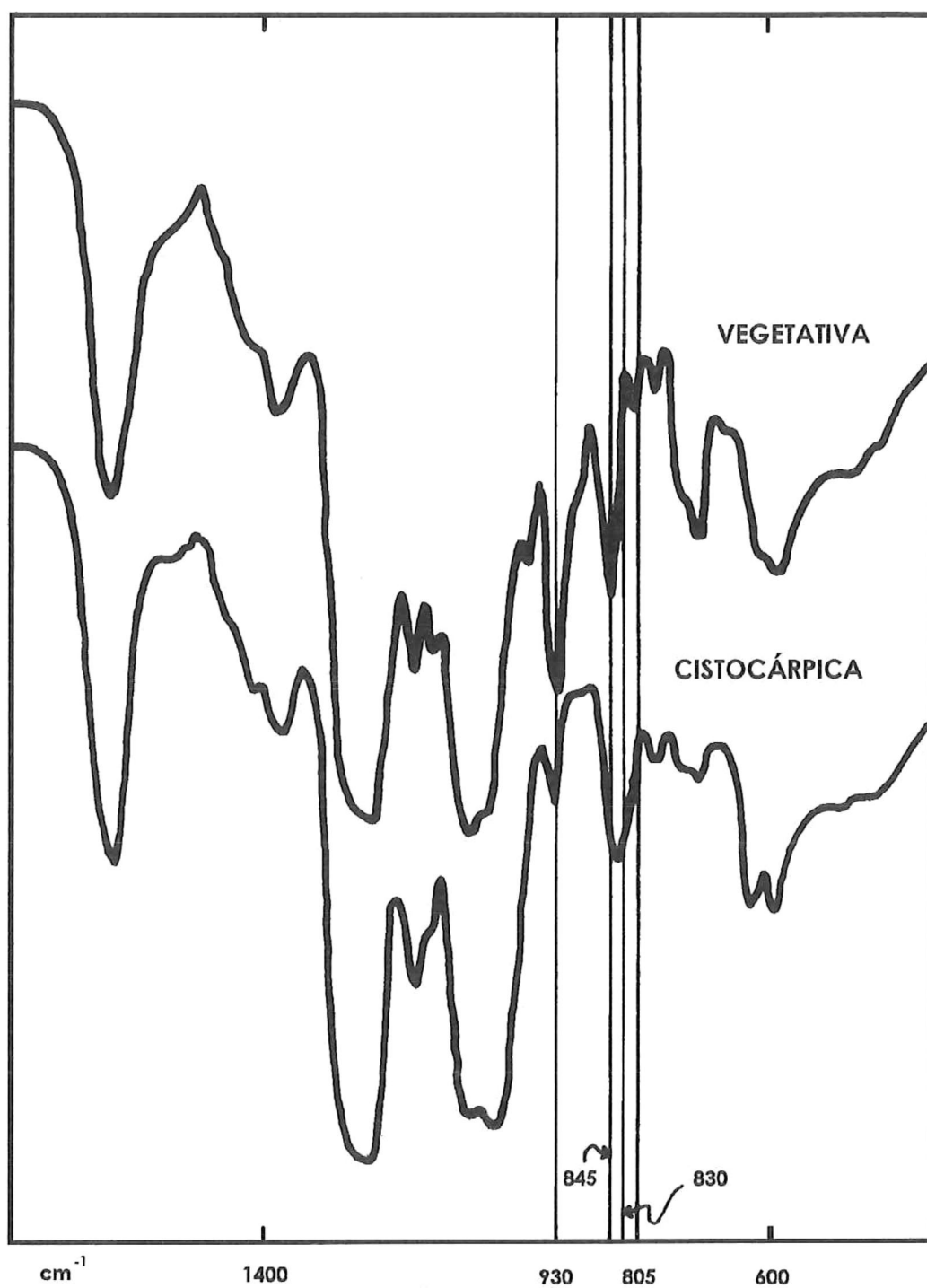


Figura 5.- Espectros de infrarrojo de muestras cistocárpica y vegetativa de Ch. harveyanus de octubre.

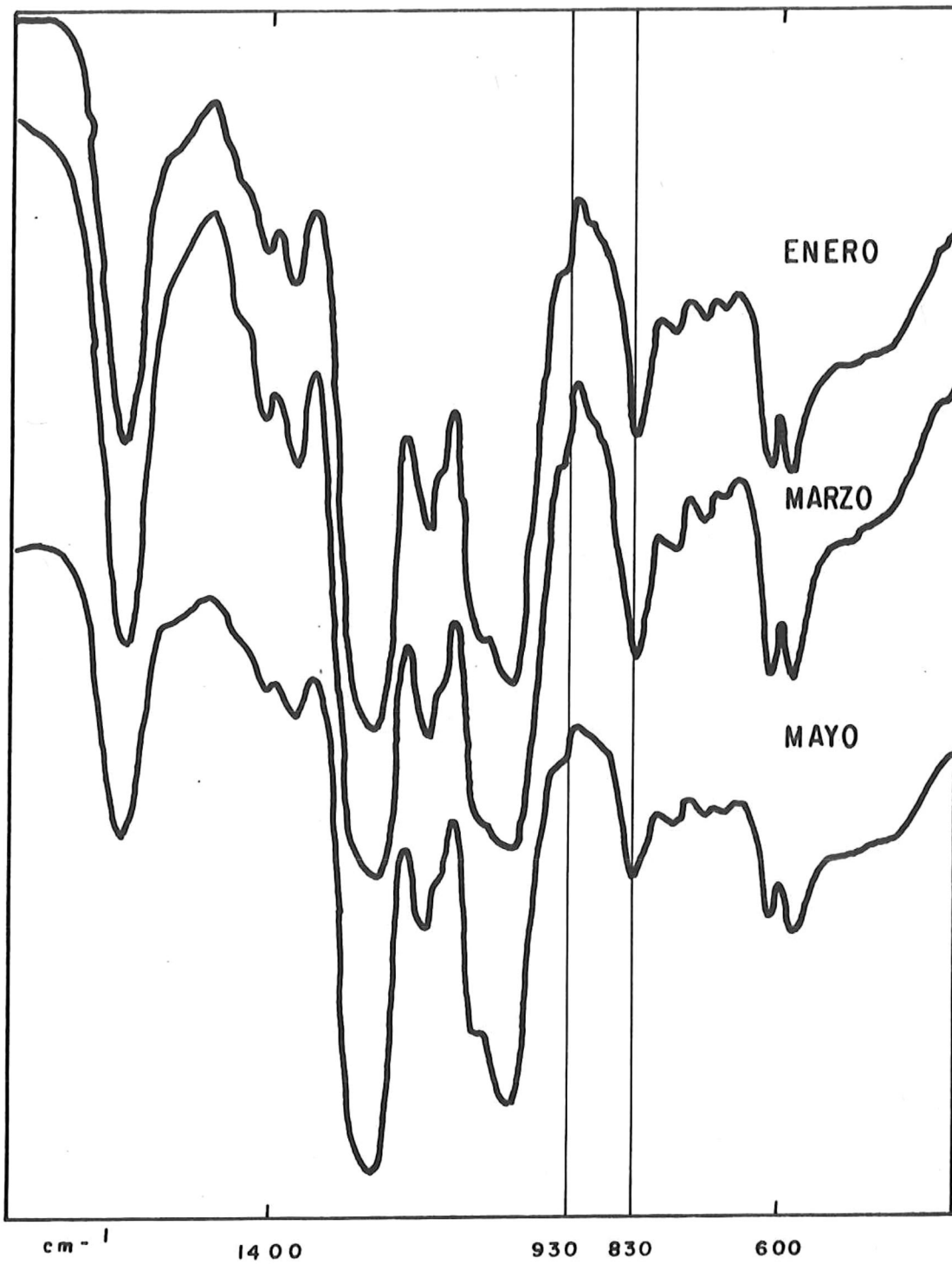


Figura 6.- Espectros de infrarrojo de muestras tetraspóricas de *Ch. harveyanus* de enero a mayo.

IV.- DISCUSIONES:

Los valores de rendimiento encontrados en este estudio son similares a los reportados comúnmente para otras carragenofitas. Tal es el caso de Gigartina canaliculata, con 41.24% de rendimiento, (Alvarez-Agramont, 1990, Sánchez-Rodríguez, 1989;), y 41.1%, de G. papilata, (Zazueta-Gutierrez, 1988) de muestras de campo de las costas de Baja California, así como de G. Pectinata (41.59%) y de Eucheuma uncinatum (44.42%) de muestras de cultivo (Alvarez-Colsa, 1993; Soria-Mercado, 1992).

Además el rendimiento promedio de Ch. harveyanus (47.29%), es mayor que los reportados para G. stellata con 28%, Eucheuma cottonii con 32% y Eucheuma spinosum con 36%, y que son utilizadas para la extracción comercial de carragenano, (Mathieson y Tveter, 1976; Adnan y Porse 1987).

El rendimiento fue calculado considerando el contenido de sales y pigmentos del alga. Cuando es calculado con base en el alga previamente lavada y/o despigmentada, los valores se incrementan. Por ejemplo, el rendimiento promedio de Ch. harveyanus, considerando el alga

previamente despigmentada es de 60.52% (anexo I), y es comparable con el rendimiento del alga explotada ampliamente en forma comercial, Chondrus crispus, de 58.1%, considerado de la misma manera, (McCandless et al. 1973).

Se han observado diferencias en el rendimiento de carragenofitas respecto a la estación y zona de colecta (Black et al. 1965 in: Santos et al. 1980), como Eucheuma uncinatum, que presentó máximos en verano-otoño y mínimos en primavera-invierno, (32 a 42%) asociados a la temperatura del medio (Correa-Díaz, 1987). En este trabajo no se observaron diferencias entre las muestras de distinta fecha. Este comportamiento es similar al de G. pectinata, (López-Acuña, op. cit.) y al de G. canaliculata (Alvarez-Agramont, op. cit.; Sánchez-Rodríguez, op. cit.), que no presentaron diferencias significativas en muestras estacionales.

Aunque en este trabajo no se contó con muestras de un ciclo anual completo, sí representa una aproximación de las características y comportamiento de Ch. harveyanus, ya que se ha observado que su presencia es inconsistente a lo largo del año (Aguilar-Rosas y Aguilar-Rosas, 1994; Pacheco-Ruíz y Aguilar-Rosas, op. cit.; Aguilar-Rosas, op. cit.).

No se observaron diferencias en el contenido de carbohidratos en las muestras de enero a mayo, pero sí entre plantas cistocárpicas y tetraspóricas, con valores promedio de 70.1% y 58.40% respectivamente. La muestra cistocárpica de octubre fue un caso especial, ya que presentó el menor contenido de carbohidratos de todas las muestras incluso que las tetraspóricas

Al comparar con otras especies de la familia Gigartinaceae, se tiene que el contenido promedio de 3,6-AG de plantas cistocárpicas de Ch. harveyanus es ligeramente mayor que el de cistocárpicas de G. johnstonii, G. pacifica y G. sp. (18-20%), que presentan carragenano kappa/iota. Por otro lado, el contenido de plantas tetraspóricas de Ch. harveyanus es similar al de las tetraspóricas de G. corymbifera, G. jardinii, G. volans, G. papillata, G. exasperata y G. acicularis, (2.8-5.5%), productoras de carragenano xi o lambda/xi, y al de Chondrus crispus, productora de carragenano lambda, (Mc Candless et al., 1983). Estas dos últimas especies son utilizadas en la extracción comercial de carragenano.

El contenido de 3,6-anhidrogalactosa (3,6-AG) de plantas cistocárpicas de Ch. harveyanus, (21.94%), es similar al de especies

productoras de carragenano kappa, como E. platycladum, 21.0% y E. procrustanum. 23.2%, así como de especies productoras de carragenano iota tales como E. arnoldi, 18.1% y E. sp., 20.9%, (Doty y Santos, 1978).

Los carragenanos "ideales" presentan grados de sulfatación típicos: kappa =1, iota= 2, lambda=3, etc., e indican el número de moles de sulfato por cada mol de unidad disacárida. En este trabajo los grados de sulfatación (G.S.) calculados concuerdan con los espectros de infrarrojo obtenidos para cada caso; las muestras cistocárpicas, excepto la de octubre, presentaron G.S. en promedio de 1.1, y cuyo espectro de I.R. indica que se trata de un híbrido kappa/iota, mientras las tetraspóricas de G.S. promedio de 1.72 presentaron carragenano tipo xi, (G.S. xi=2), el de la muestra citocárpica de octubre fue de casi 1.9, y presentó carragenanos ricos en precursores probablemente predominando de tipo mu, (G.S. mu=2), concordando además, con su incapacidad de gelificar.

El contenido de sulfato de Ch. harveyanus de plantas cistocárpicas fue similar también a los de cistocárpicas de Gigartina sp y G. pacifica con 22 y 25%, (McCandless et al., op. cit.), Gigartina canaliculata con 23.3%, (Sánchez-Rodríguez, 1989; Alvarez-Agramont, 1990). Ésta última

actualmente es explotada en forma comercial de las costas de Baja California.

Las plantas tetraspóricas, por otro lado, presentaron contenidos parecidos a los de tetraspóricas de G. corymbifera, G. jardinii, G. volans, G papillata, G. exasperata y G acicularis, productoras de carragenano xi o lambda/xi, y al de Chondrus crispus, productora de carragenano lambda, todas ellas con contenidos que van del 28 al 32%, (Mc Candless et al., op. cit.). Como ya se mencionó, estas dos últimas especies, son utilizadas en la extracción comercial de carragenano.

Ch. harveyanus cistocárpica presentó contenidos de sulfatos menores a los de E. odontophorum, E. platycladum (26.8-28.9%), similares a los de E. procrustanum y E. cottonii (25.5% y 23.28), productoras de carragenano kappa y similares a los de E. arnoldi y E. sp. (35.3-36.5%), productoras de carragenano iota, (McCandless et al., op. cit.). De las especies anteriores destaca E. cottonii, por ser fuente importante de carragenano kappa en la industria.

La composición de la muestra cistocárpica del mes de octubre, 8.27% de 3,6-anhidrogalactosa y 28.96% de sulfatos, presentó características intermedias a las del resto de las cistocárpicas, la vegetativa y las tetraspóricas. Esta composición es similar a la del carragenano enriquecido en el precursor nu reportado por Stancioff y Stanley, (1969), obtenido por fraccionación, para el cual reportan un contenido de 6.2% y 28.0%, respectivamente, y cuyo espectro de infrarrojo muestra una señal débil a 930 cm^{-1} . La composición y espectro de infrarrojo de esta muestra, son también similares a los de las fracciones enriquecidas en precursor mu (8.4% 3,6-anhidrogalactosa y 25.5% sulfatos en promedio) reportados por McCandless *et al.* (1973).

En cuanto al espectro infrarrojo de esta muestra de octubre, es parecido al de la fracción enriquecida en el precursor mu, obtenida también por fraccionación y que no contiene precursor nu, en la que aparecen señales medias a los 930 cm^{-1} y aproximadamente a los 820 cm^{-1} (Bellion, *et al.*, 1983), ésta última más prominente respecto a la de 930 cm^{-1} como en el caso de la muestra en cuestión, por lo que se podría sugerir que el precursor mu es predominante. Cabe enfatizar que fue obtenida sin previa fraccionación.

Se calculó el porcentaje de recobro de las muestras mediante la suma promedio del contenido de carbohidratos totales y de sulfato de sodio, ya que durante la extracción se obtuvo el carragenano en la forma sódica. En promedio se obtuvo un recobro de 96.6% (tabla III), lo que indica que la mayor parte de la muestra está compuesta por carbohidratos sulfatados. De existir sustituyentes diferentes al sulfato, serían mínimos y la diferencia con el 100% puede atribuirse al error en la cuantificación de los dos componentes.

La diferencia entre la temperatura de gelificación y la de fusión (histéresis) fue de 5 a 6 °C (tabla III). Este comportamiento es más cercano al de carragenanos puros ι , que presentan histéresis de < 5 °C, que al de carragenanos κ , con histéresis de 10 a 20 °C, (FMC, 1981 in: Myslabodski, 1990). Por ejemplo, para carragenano κ puro, en cloruro de potasio 0.2 M, los puntos de gelificación y de fusión son de 58.4 y 76.7 °C respectivamente, (Rochas, et al., 1993). Para carragenano ι puro, a esa misma concentración de KCl, el punto de gelificación sería de 52 °C, (Rochas,et al., 1989).

Si bien los geles de carragenanos nativos de Ch. harveyanus no serían adecuados para medios microbiológicos, ya que su punto de

gelificación es alto (46-56 ° C), en las condiciones en que se realizaron las mediciones, serían apropiados para aplicaciones en los que se requiera de gelificación sin necesidad de refrigerar como algunos tipos de "gelatinas" o desodorantes sólidos. Debe recordarse que las características de los geles pueden ser modificadas al variar el contenido y tipo de sales, la proporción $\iota : \kappa$, modificando químicamente los carragenanos, o bien mezclándolos con otro tipo de gomas.

Los valores de E obtenidos para los geles de Ch. harveyanus de enero, marzo y mayo corresponderían a los reportados para mezclas de carragenanos $\iota : \kappa$ puros, con proporciones de 50%:50%, 42.5%:57.5% y 10%:90%, respectivamente, obtenidos experimentalmente, en los que se utilizó una concentración total de polisacárido de 1.2% w/v en KCl 0.25M, (Rochas, op. cit.).

Asimismo, los valores de E obtenidos en este trabajo para los geles de enero, marzo y mayo, corresponderían a los de geles de carragenano κ puros en KCl 0.25M, con concentraciones total del polisacárido de aproximadamente 0.8, 0.95 y 1.1%, respectivamente, (Rochas y Landry, 1988 in: Rochas, et al., 1993).

Los valores de fuerza de gel, módulo de elasticidad (Módulo de Young) y punto de gelificación tuvieron tendencia a aumentar de enero a mayo, excepto la penetración que fue menor en la muestra de marzo y el punto de fusión fue el mismo en las muestras de marzo y mayo.

Las propiedades mecánicas de los geles extraídos de cualquier alga están en función del tipo de carragenano y su composición, como la proporción $\iota : \kappa$, el peso molecular de los polímeros, la concentración iónica total, entre otros. Existen, además, factores inherentes a la metodología involucrada, como son la concentración total del polímero, el contenido de sales presentes, la relación entre el diámetro del émbolo usado y el diámetro del gel y el tiempo que se permite que la fuerza actúe sobre los geles. Como no existe una metodología utilizada universalmente y como la "calidad" depende en parte del uso que se intente dar a los carragenanos, si se comparan las características de los geles reportados por diversos autores, deben tenerse en cuenta las diferencias de las condiciones en las que fueron realizadas las evaluaciones y de qué manera influyen éstas en los resultados obtenidos.

Correa-Díaz (en preparación), en geles de carragenano nativo provenientes de mezcla de plantas cistocárpicas, tetraspóricas y vegetativas de G. canaliculata (actualmente explotada comercialmente), utilizando el mismo principio para realizar las mediciones y una concentración de carragenano del 2% w/v en KCl al 2%, reporta valores de 76.19 g/cm² para la fuerza de gel y $E = 3.88 \cdot 10^5$ dinas/cm², valores similares obtenidos en la muestra de enero, (80.19 g/cm² y $4.34 \cdot 10^5$ dinas/cm² respectivamente), los valores de las muestras de marzo y mayo fueron mayores (tabla IV).

En resumen, el rendimiento de los carragenanos de G. harveyana está dentro de lo esperado para especies de carragenofitas que son explotadas comercialmente.

En cuanto a las características fisicoquímicas que presentó, son similares a las de algunas especies aprovechadas en la industria como G. acicularis, G. canaliculata, C. crispus y E. cottonii.

Al respecto, es importante señalar que para que una especie sea potencialmente útil en la industria, no se busca en ella características idénticas a la de otra que ya está siendo explotada, ya que como se mencionó al principio, se requiere realizar mezclas de carragenanos con distintas características para obtener la variedad de productos que se ajusten a las necesidades de cada aplicación a la que van destinados.

V.- CONCLUSIONES:

El rendimiento de carragenano de Chondracanthus harveyanus está dentro de lo esperado comúnmente para especies de Gigartinas y para especies de carragenofitas que son explotadas comercialmente.

Las características fisicoquímicas que presentaron los carragenanos de Chondracanthus harveyanus son similares a los de algunas especies que son utilizadas en la industria para la obtención de este producto.

VI.- LITERATURA CITADA:

- Abbott, I. A. and G. H. Hollenberg. 1976. **Marine Algae of California** . Stanford University Press, Stanford, CA., U. S. A. 827 pp.
- Adnan, H. and H. Porse. 1987. Culture of *Euचेuma cottonii* and *Euचेuma spinosum* in Indonesia. XIIIth. International Seaweed Symposium. M.A. Ragan and C.J. Bird (eds.). **Hydrobiologia**, 151/152:355-358.
- Aguilar-Rosas, L. E. 1981. Algas rojas de la Bahía de Todos Santos, Baja California, México durante el ciclo anual 1978-1979. **Ciencias Marinas**, 7(1):85-101.
- Aguilar-Rosas, L. E., R. Aguilar-Rosas, I. Pacheco-Ruíz, E. Bórquez-Garcés, M. A. Aguilar-Rosas y E. Urbieta-González. 1982. Algas de importancia económica de la región noroccidental de Baja California, México. **Ciencias Marinas**, 8(1):49-63.
- Aguilar-Rosas, R. y M.A. Aguilar-Rosas. 1994. Estudio florístico de las algas marinas bentónicas del Ejido San José, Baja California, México. **Ciencias Marinas**, 20(4):511-534.
- Alvarez-Agramont, S.L. 1990. Estudio de la composición química del alga *Gigartina canaliculata* (Harv. Rhodophyceae, Gigartinales) durante un ciclo anual en dos localidades de Baja California. **Tesis de licenciatura**, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B.C. Méx. 36 pp.
- Alvarez-Colsa, P. 1993. Extracción y análisis de carragenano de *Gigartina pectinata* Dawson (Rhodophyta, Gigartinales) cultivada con fertilizantes agrícolas. **Tesis de licenciatura**, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B.C. Méx. 33 pp.
- Armisen, R. 1993. Curso de agar. **Master's Degree course in Applied Algology**. Instituto de Algología Aplicada. Universidad de las Palmas de gran Canaria. Islas Canarias, España.
- Bellion, C., G. Brigand, J.C. Prome, D.W.S. Bociek. 1983. Identification et

- caractérisation des précurseurs biologiques des carraghénanes par spectroscopie de r.m.n. ^{13}C . **Carbohydr. Res.**, 119:31-48.
- Correa-Díaz, F. (En preparación). Semirrefined carrageenan from *Gigartina canaliculata*, Harv. (Rhodophyta, Gigartinales) from Baja California, Mexico.
- Correa-Díaz, F. 1987. Variación estacional del rendimiento del carragenano extraído de *Eucheuma uncinatum* Setchell & Gardner (Rhodophyta) de Bahía de los Angeles, B. C. **Tesis de licenciatura**, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B.C. Méx. 35 pp.
- Correa-Díaz, F., R. Aguilar-Rosas y L. E. Aguilar-Rosas. 1990. Infrared analysis of eleven carragenophytes from Baja California, Mexico. **Hydrobiologia**, 204/205:609-614.
- Craigie, J. S. and C. Leigh. 1978. Carrageenans and agars. IN: A. Hellebust and J. S. Craigie (eds). **Handbook of Phycological Methods**. Cambridge University Press. Cambridge. 2:109-131.
- Craigie, J. S., Z. C. Wen and J. P. van der Meer. 1984. Interspecific, intraspecific and nutritionally-determined variations in the composition of agars from *Gracilaria* spp. **Botanica Marina**, 27:5-61.
- Doty, M.S., G.A. Santos. 1978. Carrageenan from tetrasporic and cystocarpic *Eucheuma* species. **Aquatic Botany**, 4:143-149.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton. P. A. Rebes and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, 28(3):350-356.
- Fernández-Mejía, E. y J. Aldeco-Ramírez. 1981. Estudio de algunos parámetros hidrológicos en una zona costera del Ejido Eréndira, B.C. **Tesis de licenciatura**, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B.C. Méx. 155 pp.
- García-González, L. H. 1989. Constituyentes bioquímicos y caracterización físicoquímica de los carragenanos en cuatro especies de *Gigartina* de la costa de Baja California Norte, México. **Tesis de licenciatura**,

Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Baja California, Tijuana, B. C. Méx. 40 pp.

Goring, D. A. I. 1956. A semimicro gelometer. **Canadian Journal of Technology**, 34:53-59.

Guzmán del Proó, S.A., M. Casas-Valadez, A. Díaz-Carrillo, M.L. Díaz-López, J. Pineda-Barrera y M.E. Sánchez-Rodríguez. 1986. Diagnóstico sobre las investigaciones y explotación de las algas marinas en México. **Investigaciones Marinas CICIMAR**, La Paz, B.C.S., México. 3(2):1-63.

Hommersand, M.H., M.D. Guiry, S. Federicq, G.L. Leister. 1993. New perspectives in the taxonomy of the Gigartinaceae (Gigartinales, Rhodophyta). **Hydrobiologia**, 260/261: 105-120.

INFOFISH. 1983. Seaweeds-products and markets. **IN: INFOFISH**. Marketing Digest. FAO. Number 4/83:23-26.

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

López-Acuña, L.M. 1990. Cuantificación y caracterización estacional de 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. Ensenada, B.C. Méx. 28 pp.

Mathieson, A.C. and E. Tveter. 1976. Carrageenan ecology of *Gigartina stellata* (Stackhouse) Batters. **Aquatic Botany**, 2:353-361.

McCandless, E. L., J.S. Craigie and J.A. Walter. 1973. Carrageenans in the gametophytic and sporophytic stages of *Chondrus crispus*. **Planta**, 112:201-212.

McCandless, E. L., J. A. West and M. D. Guiry. 1982. Carrageenan patterns in the Phyllophoraceae. **Biochemical Systematics and Biology**, 10(4):275-284.

McCandless, E. L., J. A. West and M. D. Guiry. 1983. Carrageenan patterns

- in the Gigartinaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, 11(3):175-182.
- Myslabodski, D.E. 1990. Red-algae galactans: isolation and recovery procedures-effects on the structure and rheology. **Doktor ingeniør thesis**. Division of biotechnology. Norwegian Institute of Technology. Trondheim, Norway, 225 pp.
- Pacheco-Ruíz, I. y L. E. Aguilar-Rosas. 1984. Distribución estacional de Rhodophyta en el noroeste de Baja California. **Ciencias Marinas**, 10(3):67-80.
- Peats, S. 1981. The infrared spectra of carrageenans extracted from various algae. **Int. Seaweed Symp.** 10:495-502.
- Rochas, C., D. Brault, and M. Rizzotti. 1993. Carrageenans. Part I. **Master's Degree course in Applied Algology**. Instituto de Algología Aplicada. Universidad de las Palmas de gran Canaria. Islas Canarias, España, 47 pp.
- Rochas, C., M. Rinaudo and S. Landry. 1989. Relation between the molecular structure and mechanical properties of carrageenan gels. **Carbohydrate Polymers**, 10:115-127.
- Sánchez-Rodríguez, J. 1989. Caracterización del carragenano del alga *Gigartina canaliculata* (Harv. Rhodophyceae, Gigartinales) a lo largo de un ciclo anual en la Bahía San Quintín, Baja California, México. **Tesis de licenciatura**, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B.C. Méx. 39 pp.
- Santos, G.A. 1980. Quality of carrageenan and agar. **Pacific Seaweed Aquaculture**, Proc. Symp. on usefull algae. I.A. Abbott, M.S. Foster and L.F. Eklund (eds.).University of California, La Jolla, CA. U.S.A. 123-129.
- Soria-Mercado, I.E. 1992. Efecto de la temperatura del agua y la edad del tejido en el rendimiento y calidad de los carragenanos extraídos de *Eucheuma uncinatum* Setchell y Gardner (Rhodophyta, Gigartinales). **Tesis de maestría**, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B.C. Méx. 43 pp.

- Stancioff, D.J. and N.F. Stanley. 1969. Infrared and chemical studies on algal polysaccharides. **Proc. Intl. Seaweed Symp.**, (6):595-609.
- Zazueta-Gutierrez, E. 1988. Un estudio químico de los carragenanos de cuatro especies de Gigartina. **Tesis de licenciatura**, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B.C. Méx. 42 pp
- Zertuche-González, J. A. 1993. Situación actual de la industria de las algas marinas productoras de ficocoloides en México. **IN: Zertuche-González, J. A. (ed.). Situación Actual de la Industria de Macroalgas Productoras de Ficocoloides en América Latina y El Caribe.** FAO documento de campo. PROYECTO AQUILA II. México, D. F. (13):33-38.

VII.- ANEXO

Anexo I.- Rendimiento de carragenano de Chondracanthus harveyanus de Punta San Isidro, B. C., basado en el peso seco del alga despigmentada (n=3).

Muestra	Rendimiento promedio (%)	Desviación estándar
19/I/89 cistocárpica	55.57	0.8110
19/I/89 tetraspórica ¹	79.14	2.4557
16/III/89 cistocárpica	53.88	0.9679
16/III/89 tetraspórica ¹	55.02	4.9363
4/V/89 cistocárpica	61.25	0.5950
4/V/89 tetraspórica	59.34	0.6241
18/X/89 cistocárpica	59.42	2.8384
18/X/89 vegetativa	²	²

¹ n=2

² Muestra depolimerizada, no se pudo calcular el rendimiento.