

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



" DIFERENCIAS EN CONTENIDO, COMPOSICION QUIMICA Y ESTRUCTURA
DE ALGINATOS DE DIFERENTES TEJIDOS DEL ALGA
Macrocystis pyrifera (L) Ag."

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

PEDRO DIAZ DUARTE

Ensenada, B.C., Octubre de 1988

RESUMEN

Se estudió el contenido, composición química y estructura de los alginatos aislados del hápteron, estipe, neumatocistos y láminas de Macrocystis pyrifera.

Se usaron dos métodos para evaluar el contenido de ácido algínico. El primero fue el método indirecto del Acetato de Calcio (Hellebust y Craigie, 1978) y el segundo fue el método de extracción de Haug, (1964). La composición y estructura de los alginatos se determinó usando el método químico desarrollado por Haug et al., (1974).

Se encontraron diferencias significativas en el contenido de ácido algínico entre el estipe, lámina, neumatocisto y hápteron. El tejido más rico en este compuesto fue la parte superior del estipe con 27.91 %; el valor más bajo se encontró en el hápteron con 15.38 %.

El rendimiento en la extracción presentó diferencias significativas entre todas las muestras con excepción de la parte media e inferior del estipe.

La mayor proporción de bloques MM se observó en los alginatos del estipe inferior y el estipe superior, con 48 % en ambos, y la menor se encontró en los alginatos de la lámina y el hápteron con 39 y 40 % respectivamente.

Los alginatos de la lámina presentaron la mayor proporción de bloques GG (22 %), mientras que en el neumatocisto y el estipe superior se encontraron los valores más bajos, 13 y 14 % respectivamente.

"DIFERENCIAS EN CONTENIDO, COMPOSICION QUIMICA Y ESTRUCTURA
DE ALGINATOS DE DIFERENTES TEJIDOS DEL ALGA
Macrocystis pyrifera (L.) Ag."

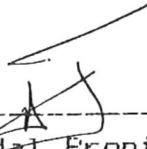
T E S I S
QUE PRESENTA:
PEDRO DIAZ DUARTE

Aprobada por:

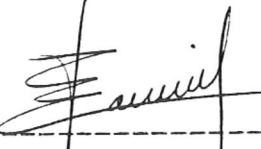
Presidente del Jurado
M. C. Julián Guardado Puentes



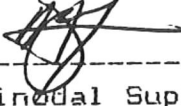
Sinodal Propietario
Q.F.B. Eduardo Durazo Beltrán



Sinodal Propietario
Oc. Felipe Correa Díaz



Sinodal Suplente
Quim. Irma E. Soria Mercado



Sinodal Suplente
Oc. Héctor Bustos Serrano

A MIS PADRES

Y

A LA MEMORIA DE MI HERMANO "NINO"

AGRADECIMIENTOS

Durante la realización de este trabajo, recibí el apoyo y la orientación del Dr. Héctor D. Rivera Carro, P.D. Enrique Hernández Garibay, M. C. Julian Guardado Puentes, Dr. José A. Zertuche, Dc. Julio A. Villaescusa, P.D. Adán Castillo G. y de otras personas cuya colaboración no fue menos significativa.

A todos ellos, hago patente mi reconocimiento y más sincero agradecimiento.

Igualmente agradezco a los sinodales sus sugerencias y atención en la revisión final del texto.

INDICE

	Pg.
I. INTRODUCCION	
I.1. Antecedentes	1
I.2. Objetivos	10
II. MATERIAL Y METODOS	
II.1. Colecta de las Muestras	11
II.2. Preparación de las Muestras	13
II.3. Determinación Cuantitativa de Acido Algínico por el Método del Acetato de Calcio.....	15
II.4. Extracción de los Alginatos	16
II.5. Determinación de la Distribución de Bloques MG, MM y GG	17
II.6. Análisis Estadístico de los Datos.....	17
III. RESULTADOS	
III.1. Fracciones porcentuales de los tejidos de <u>Macrocystis</u> <u>pyriferá</u>	18
III.2. Contenido de ácido algínico de distintos tejidos de <u>Macrocystis pyriferá</u>	19
III.3. Rendimiento en la extracción de ácido algínico de distintos tejidos de <u>Macrocystis pyriferá</u>	20
III.4. Distribución de bloques en los alginatos de distintos tejidos de <u>M. pyriferá</u>	21
IV. DISCUSIONES	23
V. CONCLUSIONES	29
VI. RECOMENDACIONES	30
VII. BIBLIOGRAFIA	31

LISTA DE TABLAS

	Pg.
TABLA I. Distribución de bloques en alginatos de diferentes tejidos de algas cafés	6
TABLA II. Comparación entre la distribución de frecuencia de dobletes para muestras de alginatos de diferentes especies	7
TABLA III. Fracciones porcentuales de distintos tejidos de <u>Macrocystis pyrifera</u>	18
TABLA IV. Contenido de ácido algínico en distintos tejidos de <u>Macrocystis pyrifera</u>	19
TABLA V. Rendimiento obtenido en la extracción de ácido algínico de distintos tejidos de <u>Macrocystis pyrifera</u>	20
TABLA VI. Distribución de bloques MG, MM y GG de alginatos de distintos tejidos de <u>Macrocystis pyrifera</u> ...	22
TABLA VII. Principales usos de los alginatos	46/AIII

LISTA DE FIGURAS

	Fig.
Fig 1. Estructura de los ácidos β -D-manurónico y α -L-gulurónico	4
Fig 2. Estructura de los Bloques MM	4
Fig 3. Estructura de los Bloques GG	4
Fig 4. Localización del área de colecta	12
Fig 5. Representación esquemática de un espécimen de <i>Macrocystis pyrifera</i> y las divisiones que se hicieron para su análisis	14
Fig 6. Distribución de los mantos de <i>Macrocystis</i> <i>pyrifera</i> en las costas de Baja California, México	40/AI
Fig 7. Importación de Acido Algínico por México	50/AIV

A N E X O S

ANEXO I:

DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE Macrocystis pyrifera..... 38

ANEXO II:

ASPECTOS GENERALES DE Macrocystis pyrifera..... 41

ANEXO III:

USOS DE LOS ALGINATOS..... 45

ANEXO IV:

LA INDUSTRIA DE LOS ALGINATOS 47

I. INTRODUCCION

I.1. Antecedentes y Justificación.

Desde tiempos remotos, las macroalgas han tomado parte en el quehacer humano en su lucha por mejorar su forma de vida. Civilizaciones antiguas como la griega, la romana y algunas poblaciones ribereñas asiáticas de China, Corea y Japón, utilizaron las algas marinas como fertilizante, como alimento, e incluso, en Japón al principio del siglo IV fueron usadas como moneda con la cual se pagaban impuestos al imperio. Estos mismos pueblos asiáticos las usaban como ofrenda en los rituales religiosos (González et al., 1985; McHugh, 1987). En la actualidad, las algas siguen siendo renglón importante en la economía de varios países quienes las utilizan de manera directa o indirecta en una serie de industrias como la textil, la alimenticia, la farmacológica, etc. González et al., (1985).

En la costa noroccidental de los litorales mexicanos, existe una gran riqueza en recursos algales, de los cuales tres especies se encuentran en explotación desde hace varias décadas, éstas son; Macrocystis pyrifera, Gigartina canaliculata, y Gelidium robustum. De estas tres especies, por su abundancia y potencial económico llama la atención Macrocystis pyrifera, cuya utilización se remonta a la Primera Guerra Mundial, en la que la industria

norteamericana la aprovechó para la obtención de Iodo, Potasio y Acetona (Chapa, 1963). Durante la Segunda Guerra Mundial fue utilizada para la extracción de Ácido Algínico, de múltiple aplicación industrial. En el curso de la guerra de Vietnam (1947-1967) se utilizaron volúmenes considerables en la industria militar, para la fabricación de explosivos (napalm) por su alto contenido de fosfatos. Además, a esta alga se le ha encontrado utilidad en la fabricación de fertilizantes agrícolas, forraje para ganado y alimento para aves de corral. (Molina, 1986). Desde el punto de vista nutricional, es rica fuente de Calcio, Fósforo, Magnesio, Hierro, Iodo, Sodio, Potasio, Vitaminas A, B1, B12, C y E, así como de Carbohidratos de fácil digestión (Beamonte, 1982). El uso más importante que tiene esta alga actualmente es en la obtención de ácido algínico.

Desde el punto de vista químico, el ácido algínico es un copolímero lineal compuesto por dos ácidos urónicos, el ácido β -D-manurónico y el ácido α -L-gulurónico (Fig. No. 1). Ambos monómeros están enlazados formando cadenas a través de las posiciones 1 y 4. Este compuesto se encuentra en la pared celular y en la matriz de las algas pardas y es generado también por las bacterias *Azotobacter vinelandii* y *Pseudomonas aeruginosa* como producto extracelular de su metabolismo (Larsen, 1981; Baardseth, 1966 y Vreland 1972).

En las algas, el ácido alginico se encuentra cementando las células entre sí y dando ciertas propiedades mecánicas y estructurales a la planta debido a su capacidad para acumular iones metálicos divalentes con los cuales forma geles de la rigidez requerida; la cual, a su vez depende de la composición química del alginato y de la composición química del agua de mar circundante, ya que en su estado nativo el alginato existe como una sal mixta insoluble de todos los cationes que se encuentran en el agua de mar, de los cuales, los principales son Sodio, Magnesio y Calcio, (Smidsrød y Grasdalen, 1983; Andersen *et al.*, 1977; Baardseth, 1969; Painter, 1983).

Se ha demostrado que las cadenas poliméricas de los alginatos están formadas por tres tipos de bloques (Haug *et al.*, 1966). Los bloques MM formados por unidades de ácido D-manurónico, unidos a través de enlaces ecuatoriales dando como resultado una cadena aplanada (Fig. No. 2). Los bloques GG contienen sólo unidades derivadas del ácido L-gulurónico unidos a través de enlaces axiales, resultando así una cadena plegada (Fig. No. 3), cuya estructura es de importancia fundamental en las propiedades gelificantes de los alginatos en presencia de iones de Calcio (Haug *et al.*, 1966, 1974; Grasdalen *et al.*, 1981).

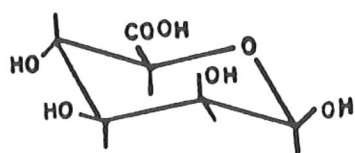
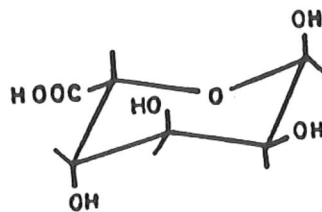
Acido β -D-manurónicoAcido α -L-gulurónico

Figura 1

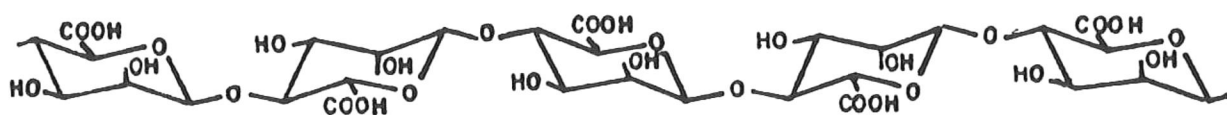


Figura 2. Bloque M.

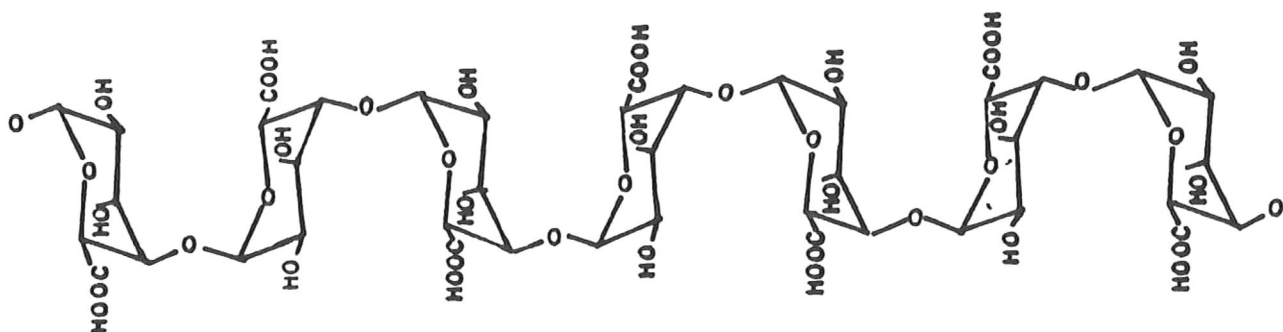


Figura 3. Bloque G.

Se ha demostrado que las propiedades de los alginatos dependen tanto de su composición química (proporción de ácidos manurónico y gulurónico, razón M/G) así como de su estructura, es decir, el arreglo de los dos residuos ácidos en la cadena de alginatos, donde forman bloques MG, MM y GG. La proporción de cada uno de estos bloques en la cadena impartirán diferentes propiedades a los alginatos. Por ejemplo la solubilidad del polisacárido en soluciones ácidas depende básicamente de su contenido de bloques MG. Por otra parte, la capacidad de formar geles en presencia de iones de calcio, depende del traslape entre los bloques G (Haug *et al.*, 1967; Penman y Sanderson, 1972; Smidsrød y Haug, 1972).

La correlación entre la estructura química y propiedades tiene una aplicación directa en los usos industriales de los alginatos (Haug *et al.*, 1974).

Según resultados de Fisher y Dorfel, (Citados por Percival y McDowell, 1967) parece que no existe relación entre la clasificación botánica y la composición del ácido algínico aunque si se encontró cierta diferencia entre las frondas y los estipes de Laminaria hyperborea.

Haug *et al.*, (1974), usando un método químico, examinaron la distribución de los tres tipos de bloques de alginato en distintos tejidos de Ascophyllum nodosum, Fucus vesiculosus, Pelvetia canaliculata, Laminaria digitata y Laminaria hyperborea. Los resultados indicaron que los

tejidos jóvenes son ricos en bloques M y que la diferencia entre los alginatos de distintas especies se debe principalmente a los alginatos de las partes más viejas de las plantas. Según estos autores, los cambios que ocurren cuando los tejidos envejecen dependen de la especie, por ejemplo, en A. nodosum tiende a aumentar la proporción de bloques MG. (Tabla I).

Tabla I. Distribución de bloques en alginatos de diferentes tejidos de algas cafés.

Especies (día/mes de colecta)	Tejido	Hidrólisis Parcial*		
		Soluble (%)	Insoluble(%)	
			Sol.a pH 2.9	Insol.a pH 2.9
<u>Fucus vesiculosus</u> (25/5)	Tejido joven	23	59	18
	Tejido viejo	40	20	40
<u>Polyetia canaliculata</u> (21/6)	Tejido joven	27	50	23
	Tejido viejo	41	28	31
<u>Laminaria digitata</u> (29/1)	Frondas nuevas	31	52	17
	Frondas viejas	29	40	31
	Estipes	39	31	29
<u>Laminaria hyperborea</u>	Frondas nuevas	22	53	25
	Frondas viejas	33	34	33
	Estipes	25	15	60
	Estipes, periferia y corteza exterior	26	15	59
	Estipes, médula y corteza interior	21	15	66

* Por 2 h con HCl 0.3 M a 100 °C.

Tomado de Haug et al., (1974).

Grasdalen et al., (1978) determinaron la distribución de bloques en los alginatos de la lámina y el estipe de M. pyrifera. Estos autores encontraron diferencias en la proporción de los tres tipos de bloques, siendo más evidentes dichas diferencias en los bloques homogéneos (MM y GG). (Tabla II).

Tabla II. Comparación entre la distribución de bloques y frecuencia de dobletes para muestras de alginatos de diferentes especies.

Muestra		MG+GMc	MM	GG	Razón M/G
<u>Laminaria</u>					
<u>hyperborea</u>	a	0.22	0.15	0.62	0.36
estipe viejo	b	0.25	0.00	0.75	0.38
<u>L. hyperborea</u>	a	0.27	0.21	0.52	0.54
estipe	b	0.25	0.14	0.61	0.57
<u>L. digitata</u>	a	0.26	0.54	0.20	2.16
frondas nuevas	b	0.37	0.50	0.14	2.10
<u>Macrocystis</u>					
<u>pyrifera</u>	a	0.40	0.40	0.20	1.50
estipe	b	0.44	0.43	0.13	1.20
<u>M. pyrifera</u>	a	0.40	0.36	0.25	1.29
fronda	b	0.35	0.37	0.28	1.10
<u>Ascophyllum</u>					
<u>nodosum</u>	a	0.39	0.39	0.23	1.48
	b	0.52	0.35	0.13	1.85

a: Frecuencia del doblete por C-13-RMN.

b: Distribución de bloques obtenida por fraccionación química.

c: Fracción soluble en ácido en el método químico.

Tomado de Grasdalen et al., (1978).

En todos los trabajos que se han realizado para determinar la composición y estructura de alginatos, los procedimientos más utilizados han sido el método de resonancia magnética nuclear (R.M.N.) y los métodos químicos.

El método de R.M.N. da la información más confiable que hasta la fecha se tiene sobre este aspecto, sin embargo, el método químico, aplicado simultáneamente con el método de R.M.N. a los alginatos de lámina y estipe de *M. pyrifera* ha demostrado ser comparativo, (Grasdalen et al., 1978).

La importancia de determinar la estructura de los alginatos radica en que ésta determina las propiedades fisicoquímicas y éstas a su vez las características comerciales.

Considerando la importancia que tienen los alginatos como elemento estructural en los tejidos de *M. pyrifera* así como las diferencias morfológicas que existen entre dichos tejidos, y sabiendo que durante el proceso biosintético de los alginatos el ácido D-manurónico es precursor del ácido L-gulurónico y que la transformación y distribución de éste es controlada por la planta según las necesidades de rigidez o flexibilidad de cada tejido de la planta (Larsen, 1981); en el presente trabajo se analizan las diferencias químicas y estructurales en los alginatos extraídos de la lámina, estipe, pneumatocisto y hápteron de *M. pyrifera*, esperando

encontrar diferencias en la cantidad y secuencia de los tres tipos de bloques que forman las cadenas de los alginatos de cada tejido, según su edad o función mecánica.

I.1. Objetivos.

Quantificar el contenido y rendimiento de alginatos extraídos de diversas porciones de Macrocystis pyrifera, así como determinar su estructura secuencial.

II. MATERIAL Y METODOS

II. 1.- Colecta de las muestras.

Las muestras fueron colectadas el 13 de noviembre de 1986 en San Miguel, B. C., México. ($31^{\circ} 57' 25''$ Latitud Norte; $116^{\circ} 46' 40''$ Longitud Oeste), en un manto localizado en el infralitoral rocoso. (Fig. No. 4).

Para el tamaño de muestra que se colectó se tomaron en cuenta los aspectos que marca Baardseth y Haug (1953), quienes al analizar el contenido de materia seca, cenizas y ácido algínico en láminas de Laminaria digitata encontraron que con muestras de 55 láminas se obtienen resultados estadísticamente representativos de la población muestreada.

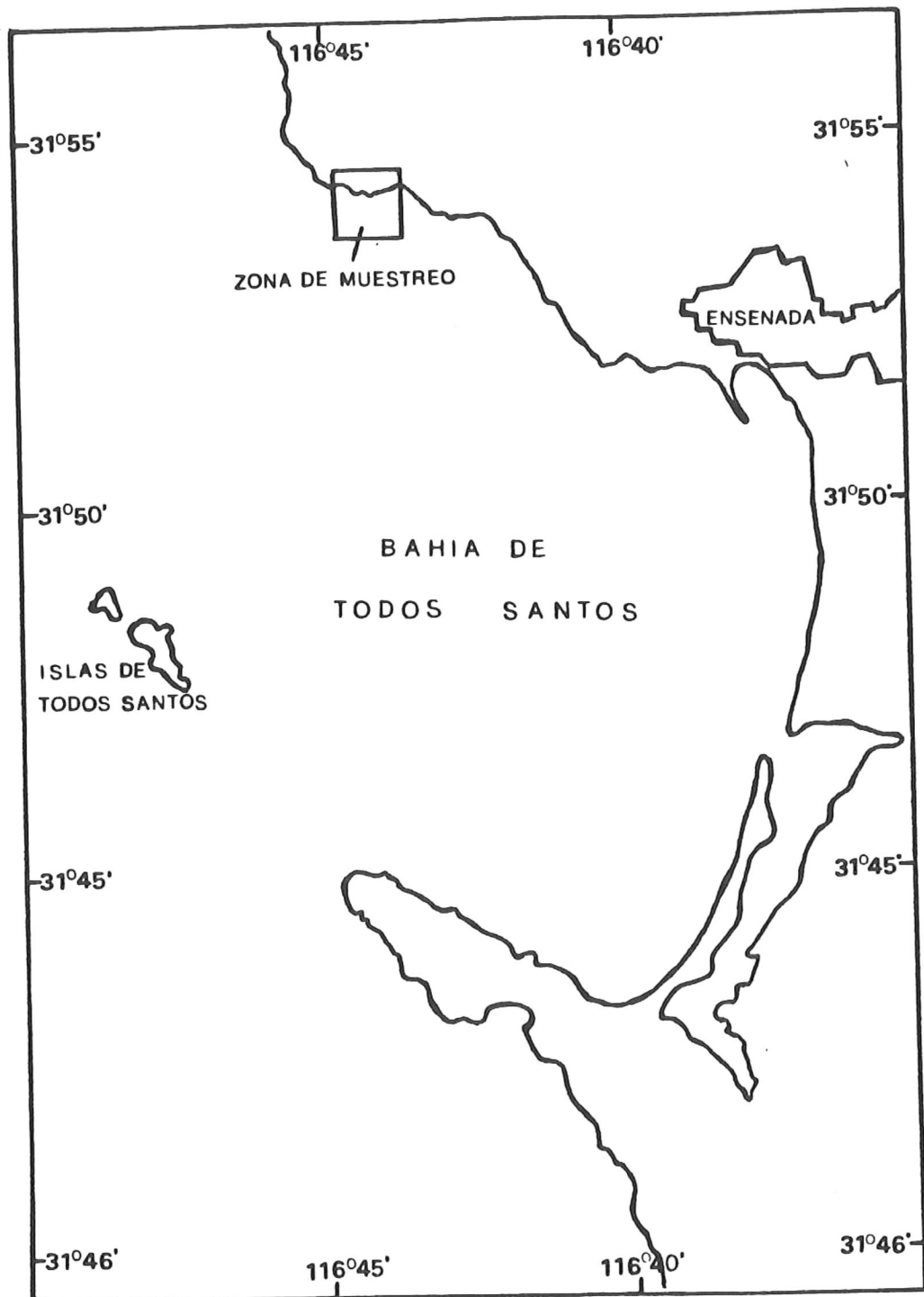


Fig. 4. Localización del área de colecta.

II.2.- Preparación de las muestras.

Se combinaron los mismos tejidos de 5 plantas frescas de aproximadamente 15 metros de longitud, las cuales fueron fraccionadas en las siguientes porciones: (Fig. No. 5).

Hápteron: Aquí se consideró el órgano de fijación hasta aproximadamente 10 cm. arriba de la primera dicotomía.

Estipe Inferior: En esta fracción se consideró aproximadamente un metro a partir del hápteron, los fragmentos remanentes de las primeras frondas, los esporofilos y los ejes de las nuevas frondas en desarrollo.

Estipe Superior: Aquí se consideraron las porciones terminales de los ejes que son colectados por el barco "Sargacero" (1.5 m. de profundidad).

Estipe Medio: Se incluyó todo el paquete de estipes intermedios a estipe inferior y estipe superior.

Lámina: Se incluyeron las láminas de todos los niveles de la planta.

Neumatocisto: Esta fracción está formada por todas las cápsulas que se encuentran en la porción basal de todas las láminas.

Alga Entera: Esta muestra se preparó combinando las fracciones porcentuales de cada una de las porciones anteriores.

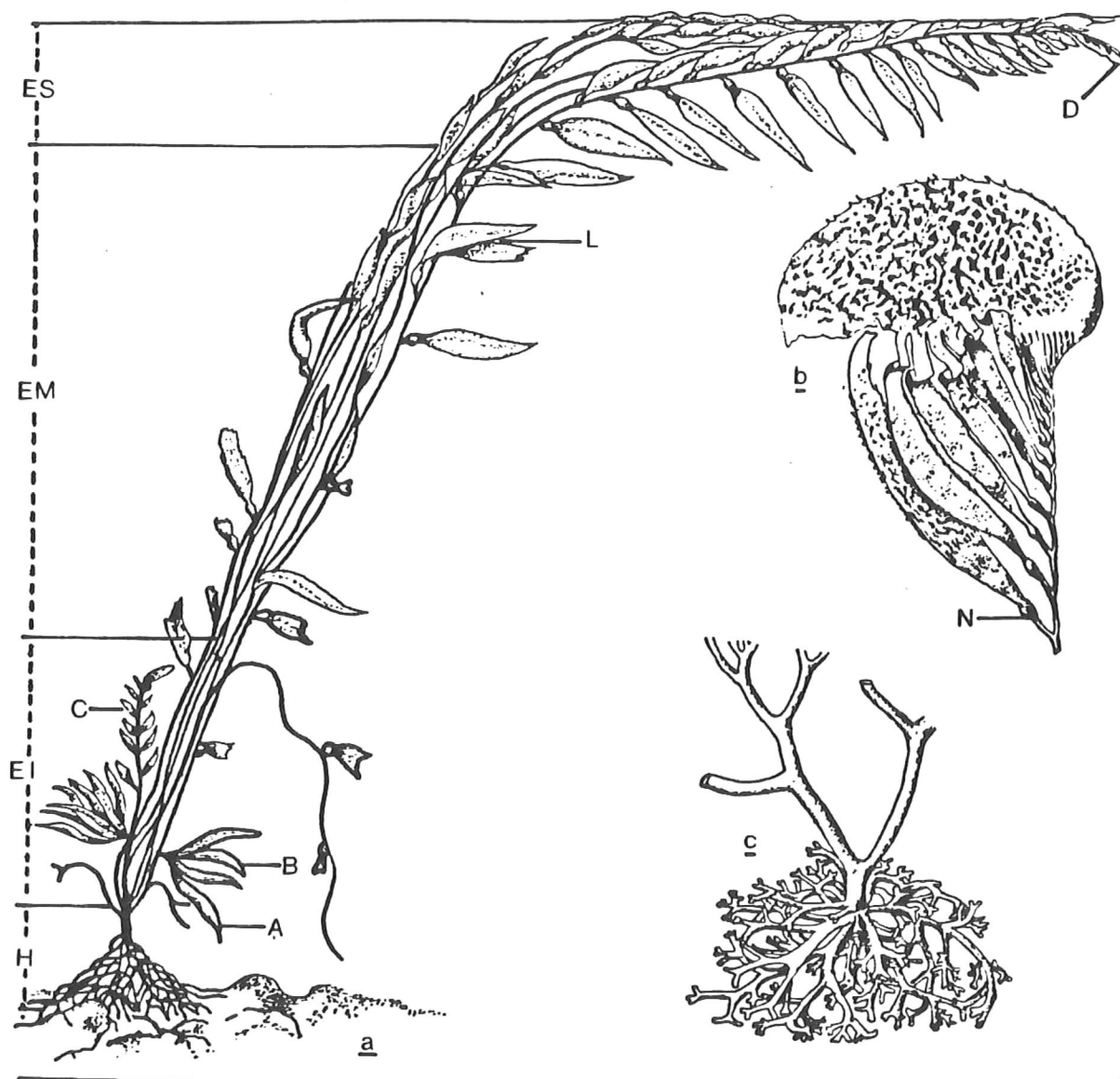


Fig. 5. a Representación esquemática de un espécimen de *Macrodictya pyriferia* y las divisiones que se hicieron para su análisis. b, detalle del ápice; c, detalle del hápteron; H, Hápteron; EI, estipe inferior; EM, estipe medio; ES, estipe superior; L, lámina; N, neumatócisto; A, fragmentos remanentes de las primeras frondas; B, esporofilos; C, frondas nuevas en desarrollo; D, ápice.

(Tomado de Dawson, 1966, y Abbott y Hollenberg, 1976).

Las muestras fueron secadas en horno a una temperatura entre 35 y 40 °C y molidas a un tamaño de partícula entre 0.5 y 1 mm.

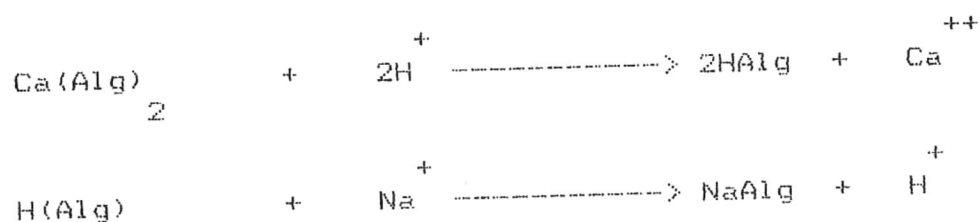
II.3.- Determinación Cuantitativa de Acido Algínico por el Método del Acetato de Calcio. (Hellebust y Craigie, 1978).

En esta determinación, el alga es preextraída con una solución de HCl 0.2 N removiendo así, todos los metales, polisacáridos sulfatados, laminarén, manitol, etc. y transformando el alginato a ácido algínico. El alga es tratada después, con una solución de acetato de calcio 0.03 M y posteriormente el alga es tratada de nuevo con HCl 0.2 N desplazando el calcio.

El Ca^{++} en solución se encuentra en proporción de 2 moles de alginato por una mol de Ca^{++} , o un equivalente de calcio por un equivalente de alginato. El calcio se determina por titulación complejométrica con EDTA.

II.4.- Extracción del Alginato. (Haug, 1964).

La extracción del alginato se puede generalizar de la siguiente manera: primero se llevó a cabo un intercambio de cationes con HCl 0.2 N, transformando el alginato de calcio insoluble (asumiendo que el alginato está unido únicamente al calcio) a ácido algínico, seguida por una neutralización con una sal de sodio alcalina (Na_2CO_3) y segundo, la extracción del polisacárido soluble a un pH de 7.5-8 en agitación constante durante 3 horas.



El símbolo Alg, se usa aquí para la unidad monomérica $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_4\text{COO}^-$, sin considerar que la configuración sea manurónico o gulurónico (Myklestad, 1968).

Una vez extraído el alginato, fue precipitado con etanol al 96 %, lavado con éter etílico y secado a una temperatura entre 35 y 40 °C hasta obtener peso constante.

El rendimiento (R) se obtuvo con la siguiente relación:

$$\% R = \frac{\text{g Ac. Alg. extraído}}{\text{g Ac. Alg. esperado}^*} \times 100$$

* El obtenido por el método del Acetato de Calcio.

II.5. Determinación de la Distribución de Bloques MG, MM Y GG. (Haug et al., 1974).

Esta determinación se lleva a cabo usando métodos químicos que incluyen una hidrólisis parcial ácida del alginato con HCl 0.3 N, en la cual se separa la fracción soluble (bloques MG), seguida por una precipitación fraccionada de la parte del alginato resistente al ácido (Bloques MM y GG), con HCl 0.05 N, aprovechando la diferencia en el pK de ambos ácidos. La cuantificación de cada tipo de bloque se lleva a cabo por la reacción del fenol-sulfúrico.

II.6.- Análisis estadístico de los datos.

El análisis estadístico de los datos obtenidos en los análisis de Contenido y Rendimiento de Acido Algínico se hizo aplicando un Análisis de Varianza de Una Vía y un análisis 'a posteriori' de Student-Newman-Keuls, con un nivel de significancia del 95 %. (Sokal y Sohlf, 1978).

Para los resultados de distribución de Bloques se llevó a cabo un análisis de varianza no paramétrico (Prueba de Kruskal-Wallis) con un nivel de significancia del 95 %. (Siege, 1980).

III. RESULTADOS

III.1. Fracciones porcentuales de los tejidos de Macrocystis pyrifera.

La fracción predominante en las plantas de Macrocystis pyrifera corresponde a las láminas (47.66 %).

La fracción más pequeña es el hápteron (4.80 %).

En general, las fracciones porcentuales de los tejidos de M. pyrifera, guardan la siguiente relación:

$$L > ES > N > EM > EI > H$$

Tabla III. Fracciones porcentuales de distintos tejidos de Macrocystis pyrifera, reportada % en peso de la planta seca completa.

TEJIDO	%
Hápteron	4.80
Estipe Inferior	4.91
Estipe Medio	10.42
Estipe Superior	18.75
Estipe Total	34.08
Láminas	47.66
Neumatocistos	13.45

III.2. Contenido de Ácido Algínico.

Las diferencias en contenido de ácido algínico en los tres niveles del estipe no son significativas de acuerdo con el ANOVA de Una Vía.

Los valores de ácido algínico encontrados en la lámina, neumatocisto, alga entera y hápteron son significativamente diferentes a los tres niveles del estipe y entre si mismos.

La relación que existe entre los distintos tejidos del alga respecto al contenido de ácido algínico es la siguiente:

$$ES \geq EI \geq EM > L > AE > N > H$$

Tabla IV. Contenido de ácido algínico en distintos tejidos del alga *Macrocystis pyrifera*, obtenido por el método del Acetato de Calcio.

TEJIDO	CONTENIDO (%)
Hápteron	15.38
Estipe Inferior	27.23
Estipe Medio	27.07
Estipe Superior	27.91
Lámina	26.01
Neumatocisto	21.66
Alga Entera	24.72

III.3. Rendimiento en la extracción de ácido algínico.

El rendimiento en el estipe inferior y el medio no fue significativamente diferente, pero si lo fue en el resto de las muestras guardando la siguiente relación:

$$EI \geq EM > ES > AE > L > N > H$$

Tabla V. Rendimiento obtenido en la extracción de ácido algínico de distintos tejidos de Macrocystis pyrifera.

TEJIDO	% RENDIMIENTO
Hápteron	5.62
Estipe Inferior	22.51
Estipe Medio	21.87
Estipe Superior	20.38
Lámina	17.85
Neumatocisto	16.03
Alga Entera	18.50

III.4. Distribución de Bloques.

La diferencia en contenido de bloques MG no es significativa en los alginatos de los siguientes tejidos:

Hápteron y Neumatocisto

E. Inferior y E. Superior

E. Superior y Lámina

Lámina y Alga Entera

Alga Entera y E. Medio

Esta misma observación se hace para los bloques MM en los alginatos de:

Lámina, Hápteron y Alga Entera

E. Inferior y E. Superior

E. Medio y Neumatocisto

En cuanto al contenido de bloques GG, no hay diferencia significativa en los alginatos de los tres niveles del estipe entre si ni entre el estipe superior y el neumatocisto.

No hay diferencia significativa en el contenido de bloques MG y MM en los alginatos de la lámina, el neumatocisto y la alga entera.

La mayor proporción de bloques MM se observa en los alginatos de el estipe inferior y el estipe superior con un 48 %.

La menor proporción de estos mismos bloques se encuentra en los alginatos de la lámina, el hápteron y el alga entera, con 39, 40 y 40 % respectivamente.

La mayor proporción de bloques GG se encuentra en los alginatos de la lámina, con un 22 %, mientras que en el neumatócisto y el estipe superior se observan los valores más bajos; 13 y 14 % respectivamente.

Los tejidos más diferentes en la composición química de sus alginatos son el hápteron y el estipe superior.

Tabla VI. Distribución de bloques MG, MM Y GG en alginatos de distintos tejidos del *Macrocystis pyrifera*.

TEJIDO	HIDROLISIS PARCIAL		
	% Soluble (MG)	% Insoluble	
		Sol. a pH 2.9 (MM)	Insol. a pH 2.9 (GG)
Hápteron	43	40	17
E. Inferior	37	48	15
E. Medio	41	44	15
E. Superior	38	48	14
Lámina	39	39	22
Neumatócisto	43	44	13
Alga Entera	40	40	20
Estipe Total*	39	47	14

* Promedio ponderado de estipe inferior, medio y superior.

IV. DISCUSIONES

En la tabla V se puede observar que los tres niveles del estipe presentan el más alto contenido de ácido algínico (ES = 27.91 %, EM = 27.07 % y EI = 27.23), respecto al resto de la planta, sin presentar variaciones significativas dentro del estipe. Este resultado contrasta con lo reportado por González, (1983), quien observó dentro de un mismo estipe, un rango de variación en contenido de ácido algínico que va de 20.08 a 22.78 con una media de 21.10 %, aunque él atribuye este resultado a un error experimental.

El predominio de la cantidad de ácido algínico en el estipe sobre los otros tejidos se puede asociar con la función mecánica de dicho tejido de sostener a más del 60 % del peso total de la planta sobre todo durante los embates del oleaje, considerando la importancia de los alginatos como elemento estructural dentro de la planta.

Los valores obtenidos en este análisis para el estipe se aproximan a lo reportado por Hernández y Casas, (1985). Aunque no señalan que parte de la planta analizaron, estos autores reportan un 26.62 % de ácido algínico en Macrocystis colectada el mes de noviembre de 1981 en Bahía Tortugas, B. C. S., por otra parte, Casas, (1985), cuantificó un 38.04 % para esta misma especie colectada el mes de septiembre de 1974 en Punta China, B. C.. En estas comparaciones hay que

considerar el factor de variación estacional y geográfica pues sólo hay similitud en el mes de colecta y en el bajo contenido que encontraron Hernández y Casas, (1985) en muestras de Bahía Tortugas, B.C.S.

Desde el punto de vista económico es importante señalar que las fracciones predominantes en la planta (lámina y estipes) ocupan inversamente el primero y segundo lugar en contenido de ácido algínico.

Por otra parte, la eficiencia en la extracción de alginatos tiene un patrón distinto al observado en la estimación indirecta obtenida con el método del acetato de calcio. En primer lugar, se observa una variación significativa del estipe superior con respecto a las otras dos porciones del estipe, y de éstas a su vez con las otras porciones de la planta. Estas diferencias en la eficiencia pueden deberse a varios factores como pueden ser las características mecánicas de las partículas de cada tejido, así como las supuestas diferencias en la composición química de los alginatos de cada porción, lo cual demandaría hacer modificaciones en las condiciones de extracción de los alginatos con el fin de obtener una eficiencia más uniforme. En el caso particular del hápterón, dada su naturaleza basal en la planta, contiene una cantidad considerable de sedimento, el cual no es posible retirarlo en su totalidad,

restándole integridad a la muestra y confiabilidad a los resultados.

Aparentemente no existe ningún antecedente que apoye la sospecha de que hay una extracción selectiva de alginatos de acuerdo a las características de cada tejido. En el supuesto de que ésto fuera cierto, los resultados obtenidos en el análisis de distribución de bloques tendrían un error proveniente del método de extracción.

Sin tomar en cuenta la consideración anterior, de los resultados obtenidos en el análisis de distribución de bloques se pueden plantear las siguientes aseveraciones:

Las diferencias más significativas en la composición química de los alginatos de distintos tejidos de Macrocystis, se observaron en el contenido de bloques MM y GG.

Los alginatos del estipe medio presentaron significativamente menor proporción de bloques MM que los del estipe superior e inferior. Según Haug et al., (1974) los alginatos de los tejidos jóvenes son ricos en bloques MM. Esto haría suponer que el estipe superior tiene mayor proporción de dichos bloques, lo cual coincide con lo encontrado en el presente estudio y contrasta con el bajo contenido de bloques GG, los cuales se presentan en mayor proporción en alginatos de tejidos rígidos. Sin embargo, los

alginatos del estipe inferior, considerado como tejido más viejo, también presenta el mismo valor de fracciones MM.

Esto se debe en gran parte a que en la muestra considerada como estipe inferior se incluyeron otras porciones del alga que no corresponden a la edad de la parte baja del estipe, como son los esporofilos y los ejes de las nuevas frondas en desarrollo, teniéndose por lo tanto una mezcla de tejido viejo con otros más jóvenes. Esta misma observación se puede aplicar para justificar en parte la igualdad que existe también en el contenido de bloques GG en los alginatos de las tres porciones del estipe.

En contraste con el estipe superior, en los alginatos del hápteron, la lámina y la alga entera se encuentra la más baja proporción de bloques MM, resultando lógico en el hápteron por ser un tejido viejo y muy rígido, lo cual coincide con el relativamente alto contenido (17 %) de bloques GG en los mismos alginatos. En cuanto a la lámina, se observa que químicamente es el tejido más viejo de la planta por tener la más baja proporción de bloques MM (39 %) y la más alta de bloques GG (22 %) respecto a las proporciones de los otros tejidos. Comparando este resultado con el promedio de las tres porciones del estipe se observa que difiere con lo reportado por Grasdalen et al., (1978), quien encontró en los alginatos de las láminas de Macrocystis 37 % de bloques MM y 28 % de bloques GG,

mientras que en los del estipe reporta 43 % de fracciones MM y 13 % de GG. (ver tabla II). Este resultado se debe quizá a que la muestra compuesta por láminas incluye tanto las láminas viejas como las jóvenes, y aunque se desconoce la proporción relativa de ambas, en una planta adulta, como las que se manejaron en el presente estudio, son más abundantes las láminas viejas.

Existen antecedentes que indican que hay diferencias químicas entre los alginatos de las láminas viejas y las jóvenes del alga Laminaria digitata. Haug et al., (1974), encontró en las láminas jóvenes de dicha alga 52 % de bloques MM y 17 % de GG, mientras que para las láminas viejas reporta 40 % de bloques MM y 31 % de bloques GG.

Por su parte, el resultado de la muestra de alga entera se puede ver que está influenciado por el predominio que tiene la lámina sobre las otras porciones de la planta.

Por otro lado, aunque existen algunas variaciones significativas en el contenido de bloques MG entre algunos tejidos, como es el caso extremo del hápteron y el estipe inferior, la proporción de dichos bloques tiende a ser semejante en casi todos los tejidos. Dichas proporciones no presentan ningún patrón que pueda relacionarse con alguna característica de la planta, como pudiera ser la edad o la rigidez de los tejidos.

Observando los resultados de distribución de bloques en el hápteron y el estipe superior se puede distinguir que las diferencias más significativas en la estructura de los alginatos ocurre precisamente entre estos dos tejidos, cuya edad y rigidez es evidentemente más diferente.

V. CONCLUSIONES

- 1.- Existen diferencias significativas en el contenido de ácido algínico del estipe, las láminas, el neumatocisto y presumiblemente también en el hápteron de Macrocystis pyrifera.
- 2.- El estipe presenta el más alto valor en contenido de ácido algínico y no presenta variaciones significativas dentro del mismo.
- 3.- Existen diferencias significativas entre la estructura de los alginatos de distintos tejidos de Macrocystis pyrifera, las cuales se manifiestan principalmente en la proporción de bloques MM y GG.
- 4.- La mayor diferencia en composición química de alginatos se presentó en el hápteron y el estipe superior.
- 5.- En la lámina se encontraron los alginatos con mayor proporción de bloques GG (22 %) y la menor proporción de fracciones MM (39 %) respecto a los otros tejidos de Macrocystis pyrifera.

VII. RECOMENDACIONES

1.- Con el fin de aumentar la eficiencia durante la extracción, se recomienda hacer variaciones en las condiciones de extracción de acuerdo con las características químicas de los alginatos de cada tejido.

2.- Con el fin de establecer un patrón más definido en las diferencias químicas de los alginatos de los distintos tejidos de Macrocystis, se recomienda hacer una fraccionación más detallada de la planta, así como hacer una variación estacional de dicho parámetro.

VII. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Abbott I. A. and Hollenberg (1976), "Marine Algae of California". Stanford University Press. Stanford Ca. pg. 25.
- 2.- Andersen, I. L., Skjones, O., Smidsrød, O. Ostgaard, K. and Hemmer, P. C. (1977). Some biological functions of matrix components in benthic algae in relation to their chemistry and the composition of seawater. In: Cellulose Chemistry and Technology" (J. C. Arthur, ed.).
- 3.- Becerril, L. F. E. y Hernández, G. E. (1985). Cuantificación de la biomasa de la alga marina Macrocystis pyrifera o sargazo gigante de Baja California, para fines comerciales. No publicado. 19 pg.
- 4.- Baardseth, E. and Haug, A. (1953). Individual variation of some constituents in brown algae, and reliability of analytical results. Report No. 2. 21 p.
- 5.- Baardseth, E. (1966). Localization and structure of alginate gels. Proceeding 5th International Seaweed Symposium, p. 19 Pergamon Press, Oxford.
- 6.- Baardseth, E. (1969). Some aspects of the native intercellular substance in Fucaceae. Proceeding 6th International Seaweed Symposium, p. 53. Dirección general de la pesca marítima, Madrid.

- 7.- Beamonte, W.I.A. (1982). Introducción a las algas marinas en Baja California, Mex. para consumo humano directo. A.N.E.M., Sept. 1-7.
- 8.- Bold, H. C. and Wynne M. J. (1978), "Introduction to the Algae. Structure and Reproduction". Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey. pp. 706.
- 9.- Booth, E., (1975). Seaweeds in industry. In: Chemical Oceanography, edited by J.P. Riley and G. Skirrow, New York, Academic Press, Vol. 4:219-68.
- 10.- Caletti, V. (1961). Obtención de alginato de Lessonia flavicans borg. TESIS No. 1237, Fac. Cs. E. y Nat. de la Universidad de Buenos Aires, Argentina. 98 p.
- 11.- Casas, V. M. M. (1985). "Cuantificación y caracterización parcial de alginatos de algunas especies de algas faecofitas en México". Inv. Mar. CICIMAR. Vol. 2, No. 1. pp. 46-57.
- 12.- Casas, V. M. M., Hernández, C. G., Torres, V. J. R. y Sánchez, R. I. (1985). Evaluación de los mantos de Macrocystis pyrifera "Sargazo gigante" en la península de Baja California (Verano 1982). Inv. Mar. CICIMAR Vol. 2 No. 1; 17 p.

- 13.- Chapa, S. H. (1963). Notas sobre el aprovechamiento industrial de algunas agarofitas. Serie Trabajos de Divulgación. Vol. VII. No. 64. S.I.C., D.G.P.I.C.
- 14.- Clendening, K. A. (1960). Physiology of giant kelp. Kelp Investigations Program. Quart. Prog. Rep., I January-31 March 1960 Univ. of Calif. Inst. Mar. Res. IMR Ref. 60-8.
- 15.- Dawson, E. Y. (1966), "Marine Botany". Hol, Rinehart and Winston Inc. New York.
- 16.- González, C.H.R., Becerril, L.F.E. y Fuentes, L.F.R. (1985), Proyecto de Industrialización de Algas Marinas. Estudio de Mercado. Centro de Graduados del Instituto Tecnológico de Tijuana, S.E.P., Tijuana, B.C. México.
- 17.- González, F. J. G. (1983). "Variaciones Individuales en la Composición Química y Determinación del Tamaño Mínimo de Muestra en Mantos de Macrocystis pyrifera (L.) C. Ag." TESIS. Escuela Superior de Ciencias Marinas. UABC. Ensenada, B.C.
- 18.- Grasdalen, H. B. (1981). ¹³C-NMR studies of monomeric composition and sequence in alginate. Carbohydr. Res. 89:179-91.

- 19.- Grasdalen, H. B., Larsen, B. and Smidsrød, O. (1978).
Uronic acid sequence in alginates by ¹³(C) nuclear magnetic
resonance. Proceedings 9th International Symposium, p. 309,
Science Press, Cambridge. 7 pp.
- 20.- Guzmán del Prío, S. A., De la Campa, S. G. y Granados,
J. L. (1971). "El sargazo gigante Macrocystis pyrifera y su
explotación en Baja California". Revista de la Sociedad
Mexicana de Historia Natural. Tomo XXXII. pp. 15-49.
- 21.- Guzmán del Prío, S. A., De la Campa y J. Pineda (1974).
Cosecha de algas comerciales en Baja California. Inst. Nal
de Pesca. Serie Divulgación No. 6.
- 22.- Haug, A. (1964). Composition and properties of
alginates. Report No. 30 Norwegian Institute of Seaweed Res.
123 pp.
- 23.- Haug, A., Larsen, B. and Smidsrød, O. (1966). A study
of the constitution of alginic acid by partial acid
hydrolysis. Acta Chemi. Scand. 20, 183.
- 24.- Haug, A., S. Myklestad, B. Larsen and O. Smidsrød.
(1967). Correlation between chemical structure and physical
properties. Acta Chem. Scandin. 21:768-78.

- 25.- Haug, A., Larsen, B. and Smidsrød, O. (1974). "Uronic acid sequence in alginate from different sources." Carbohydr. Res. 32:217-225.
- 26.- Hellebust, J. A. and Craigie, J. S. (1978). "Handbook of Phycological Methods". Cambridge University Press, New York. 511 pp.
- 27.- Hernández, C. G. y Casas, V. M. M. (1985). "Precipitación del ácido alginico y su conversión a alginato de sodio en muestras de Macrocystis pyrifera. Inv. Mar. CICIMAR Vol. 2 No. 1; 11 p.
- 28.- Instituto Mexicano de Comercio Exterior, (1983). Concentrado global de importaciones de alginatos y derivados de algas marinas: Macrocystis, Gelidium y Gigartina de 1963 a 1990. Archivos de Microfichas: Fracción arancelaria 3906A002. Banco Mexicano de Comercio Exterior. Tijuana, B.C.
- 29.- ITC (International Trade Center), (1981). Pilot Survey of the World Seaweed Industry and Trade. Geneva, UNCTAD/GATT, 111 p.
- 30.- Larsen, B. (1981), "Biosynthesis of alginate." Xth International Seaweed Symposium. pp. 7-34.
- 31.- McHugh, D.J. (1987). Production and Utilization of Products from Commercial Seaweeds. FAO Fish. Tech. Pap., (288): 189 p.

- 32.- Molina, M. J. (1986). "Notas sobre tres especies de algas marinas: Macrocystis pyrifera, Gelidium robustum y Gigartina canaliculata de interés comercial en la costa occidental de Baja California, México." Contribuciones Biológicas y Tecnológico-Pesqueras. Documento Técnico No. 3 16-39. Ensenada, B. C. México.
- 33.- North, W. J. y M. Neushul, (1968). "A Note on the Possibilities of Large Cultivation of Macrocystys". En W. R. North y C. L. Hubbs (ed.) Utilization of Kelp-bed Resources in Southern California, Calif. Dept. Fish and Game, Fish. Bull. 139.
- 34.- Painter, T. (1983). Algal Polysaccharides. In: The Polysaccharides. Vol. 2 (G.O. Aspinall, ed.) Academic Press, New York.
- 35.- Penman, A. and G. R. Sanderson, (1972). A method for determination of uronic acid sequence in alginates. Carbohydr. Res., 25:280.
- 36.- Percival, E. J. and McDowell, R. H. (1967). Chemistry and Enzimology of Marine Algal Polysaccharides. Academic Press, London, 219 pp.

- 37.- Siegel, S. (1980). Estadística no Paramétrica Aplicada a las Ciencias de la Conducta. Editorial Trillas, México pp. 224-225.
- 38.- Smidsrød, O., A. Haug and S. G. Whittington, (1972). The molecular basis for some physical properties of polyuronides. Acta Chem. Scand., 26: 2563-4.
- 39.- Smidsrød, O. and Grasdalen, H. (1983). Proceedings 11th International Seaweed Symposium. Qingdao, China. In Press.
- 40.- Sokal, R. R. y Rohlf, F. J. (1979). Biometria. Principios y Métodos Estadísticos en la Investigación Biológica. H. Blume Ediciones. España. 830 p.
- 41.- Vreeland, V. (1972). Immunocytochemical localization of the extracellular polysaccharide alginic acid in the brown seaweed Fucus distichus. J. Histochem. 20, pp 358-367.

ANEXO I

DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE Macrocystis pyrifera.

ANEXO I: DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE Macrocystis pyrifera.

Macrocystis pyrifera es una alga café que se distribuye en el Pacífico desde Alaska hasta Bahía Magdalena en Baja California, México, en donde está limitada a localidades de agua fría y zonas de surgencias. Además se le encuentra en Sudamérica y en el sur de Australia (Abbott y Hollenberg, 1976).

En la Península de Baja California, de acuerdo con la evaluación hecha para el verano de 1982 por Casas et al., (1985), las mayores superficies cubiertas por los mantos de M. pyrifera se localizan entre Isla de Cedros y San Hipólito, le siguen la zona comprendida entre Cabo San Quintín y Santa María en el Arrecife Sacramento y la zona más pobre fue la comprendida entre las Islas Coronado y Cabo San Quintín. Sin embargo, según otra evaluación hecha para el mismo periodo por Becerril y Hernández, (1985), las poblaciones más significativas de esta alga se ubican en las siguientes localidades: Islas Coronado, Santo Tomás, Bahía del Rosario y Bahía Tortugas; las cuales, según estos autores, contienen aproximadamente en 60 % del total del recurso disponible. Fig. No. 6.

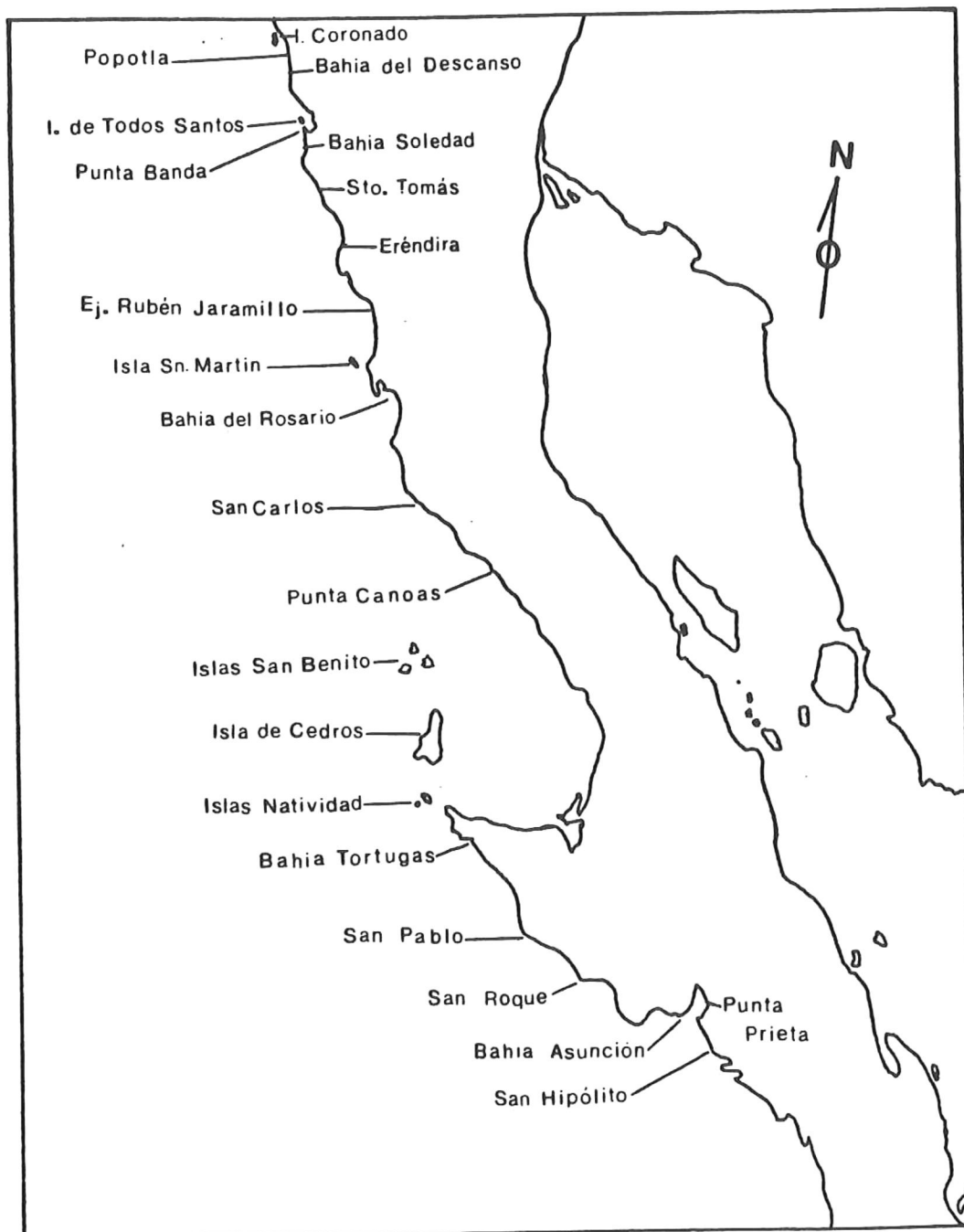


Fig. 6. Distribución de los mantos de *Macrocyctis pyrifera* en las costas de Baja California. (Tomado de Becerril y Hernández, 1985).

ANEXO II

ASPECTOS GENERALES DE Macrocystis pyrifera.

ANEXO II: ASPECTOS GENERALES DE Macrocystis pyrifera.

Macrocystis pyrifera se clasifica taxonómicamente dentro de la clase Phaeophyceae, orden Laminariales y de la familia Lessoniaceae (Abbot y Hollenberg, 1976).

Esta especie, como todas las algas pardas, presenta alternancia de generaciones, en cuyo ciclo de vida, la planta macroscópica o esporofito produce las esporas en hojas fértiles especiales llamadas esporofilos; estas esporas germinan y forman el gametofito microscópico, el cual libera las gametas femenina y masculina. De la unión de estas células se produce el esporofito, completando el ciclo. (Guzmán del Prío et al., 1971).

La planta macroscópica comienza a ser visible de 4 a 6 semanas, (North y Neushul, 1968) y más o menos a los 4 meses alcanzan la superficie del mar. Las plantas son perennes y presentan el más alto ritmo de crecimiento registrado para cualquier planta marina, 50 cm/día, según Clendenning (1960).

Estas plantas llegan a medir hasta 47.5 metros de longitud; los estipes por lo regular se ramifican dicotómicamente 4 ó 5 veces cerca de la base, arriba de esta se presenta división alterna y en la parte apical algunas láminas presentan ramificación pectinada. La fronda terminal

crece rápidamente haciéndose más angosta con la edad, las láminas laterales maduras son rugosas y con márgenes dentados y miden hasta 80 cm. de longitud y 40 cm. de ancho, unidas a un pequeño pneumatocisto basal. (Abbott y Hollenberg, 1976). Su órgano de fijación se caracteriza por un eje cilíndrico erecto del cual sale un hápteron ramificado dicotómicamente, este órgano es perenne y capaz de regenerar estipes adicionales, resultando una masa grande de estipes y láminas (Bold y Wyne, 1978) (Fig. No 5).

Esta especie es típica de la zona infralitoral de fondos rocosos. Los bancos se extienden desde aguas muy someras (2 a 3 metros) hasta los 25 metros de profundidad dependiendo de la transparencia de las aguas, pero típicamente sigue la isobata de los 18 metros (Guzmán del Prío et al., 1971).

Uno de los factores que más severamente actúa limitando la distribución de los mantos de Macrocystis es la temperatura. Otros factores que afectan su existencia y abundancia son la turbidez, las corrientes, el oleaje así como el pastoreo que ejercen organismos herbívoros, erizo principalmente, sobre los mantos (Guzmán del Prío et al., 1971; Molina, 1986).

La abundancia de esta alga en la península de Baja California ha sido estimada en un potencial de cosecha para el verano de 1982 de 80,346 toneladas métricas húmedas, de

las cuales se cosecharon solamente 32,000 toneladas métricas para ese mismo año (Casas, et al., 1985).

Actualmente, la explotación comercial de este recurso está concesionada a una sola empresa de la iniciativa privada denominada Productos Pesqueros del Pacífico, S.A.. La industrialización no se realiza en el país y la totalidad de la producción anual, que oscila entre 20 y 30 mil tons. métricas, se descarga en el Puerto de San Diego, Ca. U.S.A. para la empresa Kelp Company (Kelco), que es la que efectúa la industrialización para la obtención de ácido alginico y sus sales de sodio y potasio principalmente (Molina, 1986).

ANEXO III

USOS DE LOS ALGINATOS.

ANEXO III: USOS DE LOS ALGINATOS.

Los alginatos tienen una gama de aplicaciones muy amplia en industrias como la de alimentos, farmacéutica, de cosméticos, repostería, textil, hule, dental, médica, de pinturas, de cerámica, papel, etc. y en general en las que funciona como agente suspensor, gelificante, emulsificante, formador de películas o dando cuerpo a ciertos compuestos (Caletti, 1961). Los principales usos de los alginatos se muestran en la Tabla VIII.

Tabla VIII. Principales usos de los alginatos.

USOS	% de la demanda total
Pinturas textiles	50
Alimentos	30
Papel	6
Soldaduras	5
Fármacos	5
Otros	4

Tomado de ITC (1981).

ANEXO IV

LA INDUSTRIA DE LOS ALGINATOS.

ANEXO IV: LA INDUSTRIA DE LOS ALGINATOS.

El ácido alginico, cuyas sales son las principales constituyentes de las algas pardas, fue descubierto por Stanford en 1881. (Larsen, 1981).

Booth, (1975) describe la historia de la evolución de la industria de los alginatos, la cual fue iniciada por el propio Stanford, produciendo extractos crudos de alginatos. En 1923 F.C. Thornley intentó sin mucho éxito establecer un negocio basado en el uso de los alginatos como cementante en la fabricación de conglomerados de tierra de antracita. Thornley se instaló en San Diego, Ca. y por 1927 su compañía estuvo produciendo alginatos para su uso en selladores de latas. Después de algunas dificultades, la compañía cambió su nombre a Kelp Products Corp. precursora de la actual Kelco.

La producción en el Reino Unido fue establecida en el periodo 1934-1939 y en Noruega después de la Segunda Guerra Mundial. Según el International Trade Center [ITC], (1981), existen 17 fábricas en 9 diferentes países, excluyendo la República de China. Los dos grandes productores, Kelco en los Estados Unidos y Alginate Industries Ltd. en Inglaterra han sido adquiridas por Merck & Co. Inc., USA; estas compañías combinadas producen alrededor del 70 % del

A/S de Noruega, seguido por compañías en Japón, Francia y China (ITC, 1981).

La producción mundial de alginatos ha sido estimado en 20,000-24,000 toneladas por año (McHugh, 1987).

Las principales especies de las cuales se obtienen alginatos a nivel industrial en todo el mundo son las siguientes: Ascophyllum nodosum, Laminaria digitata, Laminaria hyperborea, Laminaria japónica, Lessonia, Durvillaea, Ecklonia y Macrocystis pyrifera. (McHugh, 1987).

Por otro lado, en México, existe un mercado de alginatos cada vez mayor el cual se satisface con productos de los Estados Unidos principalmente. Es decir, México es exportador de materia prima e importador de productos procesados industrialmente (alginatos). En la FIG. No. 7 se muestran los valores de importación de alginatos en los últimos años. (IMCE, 1983).

A pesar de que en México existe la información técnica y científica necesaria para llevar a cabo la producción de alginatos a nivel industrial, ésta se hará realidad cuando se alcancen niveles de competitividad en cuanto a calidad del producto, precios internacionales, inventarios programados y atención a las características del mercado y a sus necesidades particulares (González et al., 1985).

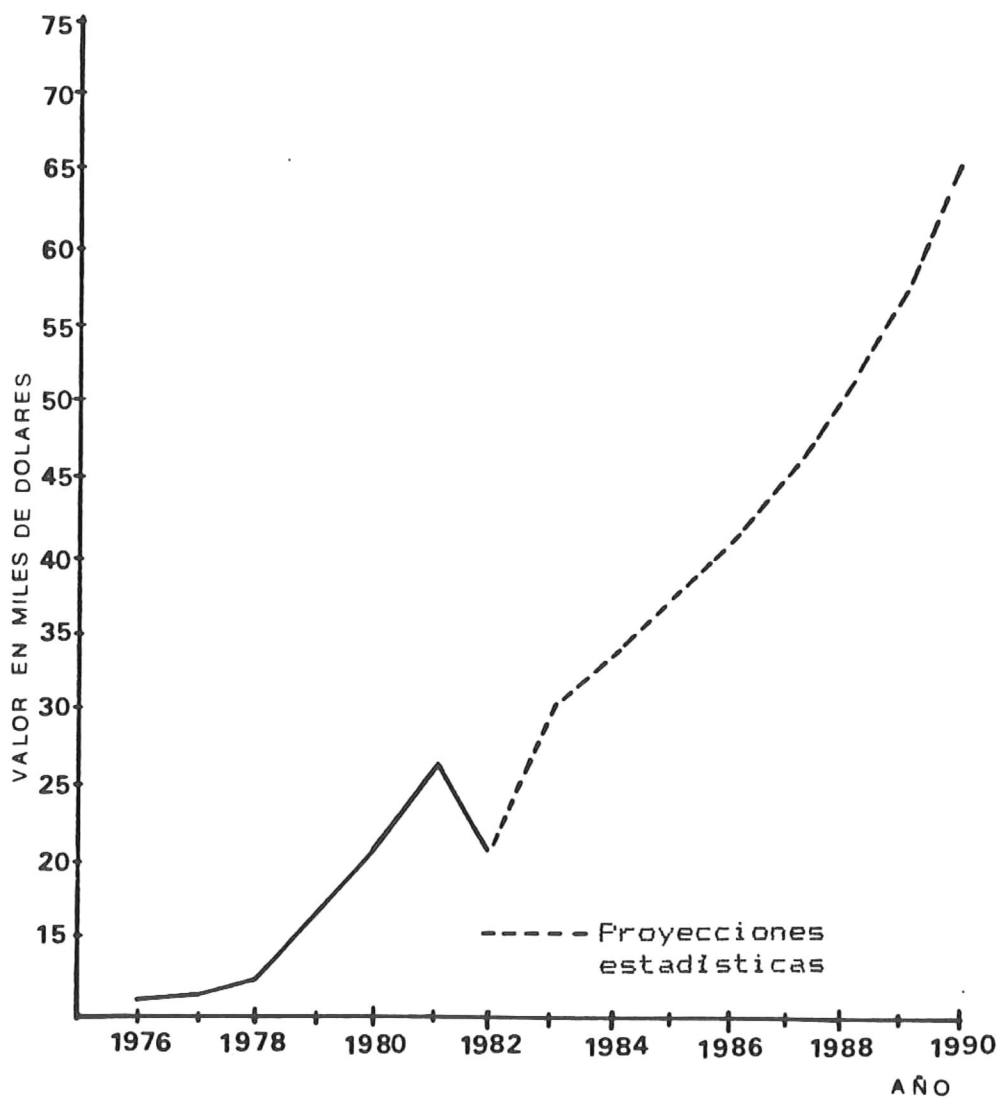


Fig. 7. Importación de Acido Algínico por México.
(IMCE, 1983).