

CARACTERIZACIÓN DE κ -CARRAGENANO Y λ -CARRAGENANO OBTENIDOS A PARTIR DE MACROALGA *CHONDRACANTHUS CHAMISSOI* Y SU APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA.

Norma Salas de la Torre, C. Córdova C., Laura Lengua C., Dora Bazán G., Elvira Becerra V., Edmundo Estrada A., Juana Sandívar R., V. Choque C.

Facultad de Química, Ingeniería Química e Ingeniería Agroindustrial; Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional Mayor de San Marcos

RESUMEN:

La explotación de las algas productoras de carragenanos se intensifica a partir de los 80. La obtención de κ -carragenano y λ -carragenano está en función de la selección adecuada de algas, identificación correcta de las fases de vida, control de parámetros como temperatura, pH, tiempo, concentración de soluciones.

El proceso de extracción se basa en: solubilidad en agua caliente e insolubilidad en solventes orgánicos polares. La fase gametofita es punto de partida para la producción de κ -carragenano y la fase esporofita se orienta a la producción de λ -carragenano. La capacidad gelificante (κ -carragenano) y el comportamiento viscosante (λ -carragenano) de los carragenanos son características que se aplican para gelificar o espesar sistemas acuosos.

La fracción gelificante obtenida se empleó en la formulación de productos lácteos. El κ -carragenano obtenido en laboratorio reemplazó a Lactogel FL610 y Lactogel PS451 en la formulación de flan y pudín de excelente consistencia, textura, sabor, color y bajo en contenido de calorías. Puede emplearse como estabilizante en el procesamiento de néctares en reemplazo de carboximetilcelulosa.

La leche achocolatada elaborada con λ -carragenano confirma que carragenanos provenientes de la fase de vida tetraspórica imparte mayor viscosidad a las suspensiones.

Palabras clave: Carragenanos, Chondracanthus, Polisacáridos, Fracción gelificante.

ABSTRACT:

The exploitation of algae producing carrageenan are intensified since the 80. Obtaining κ -carrageenan and λ -carrageenan is a function of the proper selection of algae, correct identification of the stages of life, control of parameters such as temperature, pH, time, concentration of solutions.

The extraction process is based on: soluble in hot water and insolubility in polar organic solvents. Gametophyte phase is a starting point for the production of κ -carrageenan and phase sporophytic is geared to the production of λ -carrageenan. The ability gelling (κ -carrageenan) and performance viscosante (λ -carrageenan) of carrageenan are characteristics that apply to gelificar or thicken aqueous systems. The gelling fraction obtained was used in the formulation of dairy products. The κ -carrageenan obtained in the laboratory replaced Lactogel FL610 and Lactogel PS451 in the formulation of custard pudding and excellent consistency, texture, flavor, color and low calorie content. It can be used as a stabilizer in the processing of nectars replacing carboxymethylcellulose. Achocolatada milk produced with λ -carrageenan confirmed that carrageenan from the stage of life tetraspores imparts a higher viscosity suspensions.

Keywords: Carrageenan, Chondracanthus, Polysaccharides, Fraction gelling.

I. INTRODUCCIÓN

Las algas marinas se caracterizan por su riqueza en oligoelementos, proteínas, vitaminas, iodo, fósforo, potasio, que no son frecuentes en otros alimentos; pero su gran riqueza está en los hidrocoloides que posee, considerados nutraceuticos.

Las algas rojas contienen polisacáridos complejos denominados ficocoloides (carragenanos) cuyas propiedades dependen en gran medida de los cationes a los que se asocian, así pueden formar geles firmes en presencia del catión potasio (κ -carragenano) o fracciones no gelificantes (λ -carragenano) debido a su alto grado de sulfatación.

Chondracanthus chamissoi, alga rodophyta que abunda en la Costa Sur del Pacífico de aguas templadas (Bahía de San Nicolás, Laguna Grande, Playa Mendieta, Pisco), de la que se extrae κ -carragenano, λ -carragenano, ι -carragenano y μ -carragenano, poseen propiedades antivirales, antilipogénicas e hipolipemiantes, según diversos autores; así Baba y colaboradores [3] lograron inhibir la replicación de algunos virus en dextran sulfato; después, Fuertes C. [7] propone que todo polisacárido sulfatado tiene efectos similares o superiores frente a diversos virus con una ventaja manifiesta para los polisacáridos naturales. Posteriormente, se ensaya con la fracción soluble λ -carragenano extraída de *Chondracanthus chamissoi* en su fase femenina y tetraspórica, y se observa que posee gran actividad inhibitoria de la replicación viral del virus de inmunodeficiencia adquirida, VIH.

La fracción insoluble gametofita κ -carragenano, muestra menos actividad inhibitoria viral.

En el Perú no existe industria procesadora de carragenanos, siendo importada de Estados Unidos de Norteamérica, Japón, Francia, Canadá, Dinamarca y Chile.

En el Perú, existen tres empresas que se dedican a la extracción y comercialización del alga fresca, refrigerada, congelada y seca; éstas son: Crosland Técnica S.A., Peruvian Seaweeds S.R.L. y Vidal Vidal Elio.

Chondracanthus chamissoi es extraída del Submareal y exportada, principalmente, a países asiáticos (Japón) para su transformación y consumo directo.

II. PARTE EXPERIMENTAL

El proceso de extracción de carragenanos se basa en dos propiedades fundamentales de los carragenanos:

- Su solubilidad en agua caliente.
- Su insolubilidad en solventes orgánicos polares.

Las algas *Chondracanthus chamissoi* con estructuras reproductivas maduras se recolectaron del Submareal en la Bahía de Paracas por los miembros del grupo de investigación que encabeza el profesor César Córdova, y trasladadas a la Planta Piloto de la Facultad de Química e Ingeniería Química para ser separadas en sus fases de vida:

- Fase gametofito femenino,
- Fase gametofito masculino,
- Fase tetraspórica,
- Cuarto grupo (mezcla de las fases), 4^{to} G.

Etapas de Preparación de las Algas

Las algas clasificadas en sus fases de vida son lavadas para remover materia extraña, y enjuagadas repetidamente con agua destilada. Posteriormente, se somete a secado hasta peso constante y por fases. Se procedió luego a molienda grosera.

Las algas molidas son sometidas a hidratación con agua destilada y agitación constante. Se enjuagó repetidamente para extraer pigmentos y sales, así tenemos las preparadas para la extracción.

Etapas de Extracción de κ -carragenano (Tratamiento Alcalino en Frío)

Para el proceso de extracción, se ha tomado el método modificado de Craige y Leigh (1978), siendo adaptado con algunas variantes por la responsable del proyecto.

Las algas preparadas son tratadas con hidróxido de potasio al 6% P/P con agitación vigorosa para promover la extracción total de polisacárido. Deberán permanecer en la solución alcalina durante 24 horas. Evacuar parte de la solución alcalina dejando un remanente que cubra solamente las algas por otro tiempo igual.

Se retiran las algas de la solución alcalina y se observa el agua remanente, presenta un matiz amarillo intenso.

Seguidamente, se colocan las algas en sacos de muselina o nylon de doble tramo y se sumergen en agua destilada, repetidamente, y se deja por 12 horas.

Estirar las algas en forma uniforme en bandejas de acero inoxidable y llevar a congelación por 12 horas y descongelarlas. Repetir este paso dos veces.

Llevar a estufa de 42 - 45 °C hasta peso constante. Pesar el carragenano semi refinado.

Etapa de Fraccionamiento

El carragenano semi refinado es hidratado con agua destilada y se deja en reposo por una hora. Luego se lleva a baño maría a 80 °C durante dos horas. Luego separar las fases por filtración al vacío. La fracción gelificante es insoluble y es retenido en el filtro, esta fracción es tratada con cloruro de potasio al 0,20% P/P y posteriormente se extiende en bandejas de acero inoxidable para llevarla a congelación. Congelar y descongelar (2 veces). Secar en estufa de 42 - 45 °C por 24 horas, aproximadamente. El polvo obtenido de color blanco debe pesarse para calcular el rendimiento de κ -carragenano.

Por otro lado, el filtrado (fracción no gelificante), es tratada con isopropanol coagulando completamente. Esta fracción es extendida en bandejas de acero inoxidable y llevadas a secado a 45 °C hasta peso constante. Pesar el λ -carragenano para efectos de hallar el rendimiento.

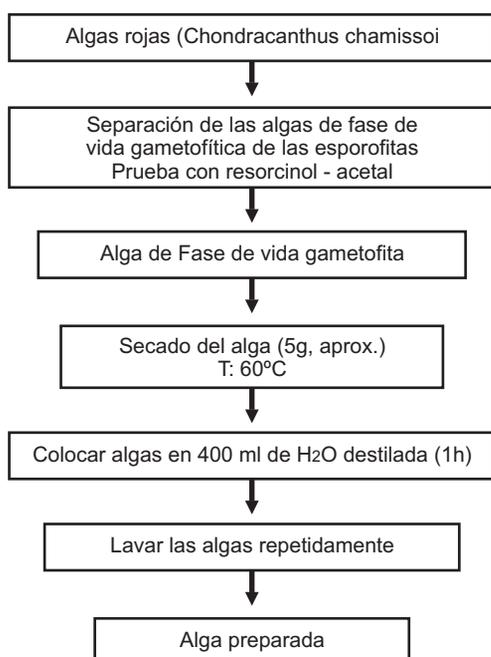


Gráfico N.º1. Etapa de Preparación de las Algas.

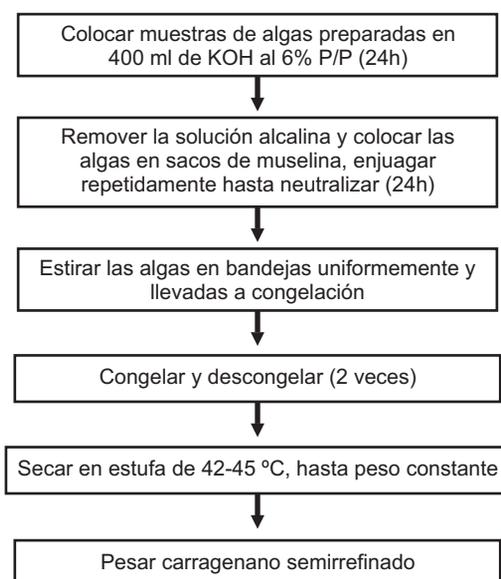


Gráfico N.º2. Etapa de Extracción de κ -carragenano.

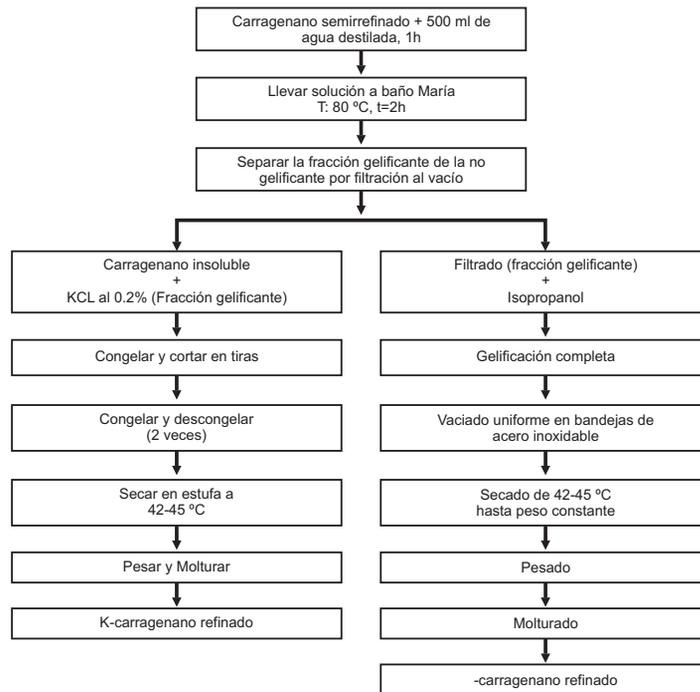


Gráfico N.º3. Etapa de Fraccionamiento.

III. RESULTADOS

TABLA N.º 1: Rendimiento de carragenano semi refinado

MUESTRA	PESO DE MUESTRA	PESO CARRAGENANO SEMIRREFINADO	RENDIMIENTO (%)
Nº 1 (♀)	5,000 g.	2,6213	52,4
Nº 2 (♂)	5,000	2,2923	45,8
Nº 3 ()	4,6240	3,0383	65,7
Nº 4 (4º G)	5,000	1,9109	38,2

TABLA N.º 2: Peso de κ-carragenano y λ-carragenano

MUESTRA	PESO DE MUESTRA	PESO carragenano SEMIRREFINADO	PESO κ-carragenano	PESO λ-carragenano
Nº 1 (♀)	5,000 g.	2,6213	1,8138	0,8075
Nº 2 (♂)	5,000 g.	2,2923	1,7690	0,5233
Nº 3 ()	4,6240	3,0383	0,9445	2,0938
Nº 4 (4º G)	5,000	1,9109	1,1475	0,7633

TABLA N.º 3: Rendimiento de κ-carragenano

MUESTRA	PESO MUESTRA	PESO κ-carragenano	RENDIMIENTO (%)
Nº 1 (♀)	5,000 g.	1,8138	36.2
Nº 2 (♂)	5,000 g.	1,7690	35.4
Nº 3 ()	4,6240	0,9445	20.4
Nº 4 (4º G)	5,000	1,1475	23.0

TABLA N.º 4: Rendimiento de λ -carragenano

MUESTRA	PESO MUESTRA	PESO λ -carragenano	RENDIMIENTO (%)
Nº 1 (♀)	5,000 g.	0.8075	16.15
Nº 2 (♂)	5,000 g.	0.5233	10.5
Nº 3 ()	4,6240	2.0938	45.3
Nº 4 (4º G)	5,000	0.7633	15.2

CARACTERIZACIÓN DE κ Y λ CARRAGENANOS

La etapa de caracterización de κ y λ carragenanos se ha efectuado empleando métodos de análisis instrumental que se indican a continuación:

1. MÉTODO DE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

- Determinación de la viscosidad de los carragenanos por el método Stormer o Brookfield; nos sirven para medir viscosidad y la consistencia de los geles.
- Determinación del punto de gelificación.
- Determinación del pH.

2. MÉTODO DE ANÁLISIS QUÍMICOS

- La caracterización de 3,6 anhidrogalactosa se determinará mediante el método espectrofotométrico de Yaphe y Arsenault (1965), con las modificaciones hechas por Craigie y Leigh (1978), empleando fructosa como estándar y 1,087 como factor de corrección. Lo que nos determinará la presencia de galactanos.
- El contenido de grupos sulfato se determinará por el método turbidimétrico, empleando cloruro de bario con sulfato de potasio como estándar.
- El grado de sulfatación (GS) se calculará mediante la razón No. de moles de sulfato / No. moles de disacáridos.

IV. DISCUSIÓN

Fracción gelificante (κ -carragenano) y Fracción no gelificante (λ -carragenano)

La fracción gelificante es capturada en el filtro y tratada con cloruro de potasio formándose el gel consistente. El mecanismo de gelificación se presenta porque las moléculas de carragenano desarrollan estructuras helicoidales que reaccionan entre sí creando una red tridimensional.

De la Tabla N.º 3, observamos que el mayor rendimiento en κ -carragenano presenta la muestra que corresponde a fase gametofito femenino (36,2%) seguida de la muestra de fase gametofito masculino (35,4%).

La fracción que pasa a través del filtro, corresponde a la fracción no gelificante, siendo tratada con isopropanol coagulando completamente. De la Tabla N.º 4, se desprende que el mayor rendimiento de λ -carragenano, corresponde a la fase esporofítica (45,3%).

Formulación de productos lácteos a partir de κ y λ - carragenanos obtenidos

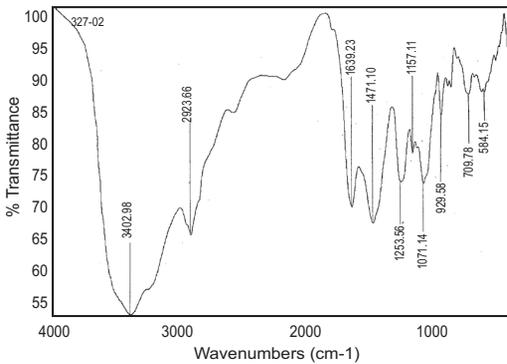
La tecnología lechera presenta diversas formas de preparación de los productos lácteos cuidando su valor nutricional y sus propiedades sensoriales.

Los carragenanos interactúan favorablemente con las proteínas de la leche; en nuestro caso hemos diseñado la formulación de tres productos:

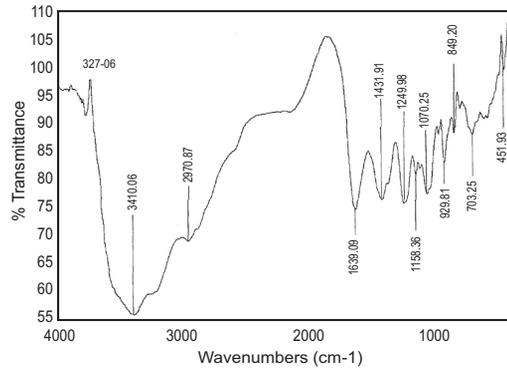
- Flan de leche formulado con κ -carragenano obtenido.
- Pudín de chocolate con κ -carragenano obtenido.
- Leche achocolatada con λ - carragenano obtenido.

El κ -carragenano reemplazó a Lactogel FL 610 (flan) y Lactogel PS 451 (pudín), obte-

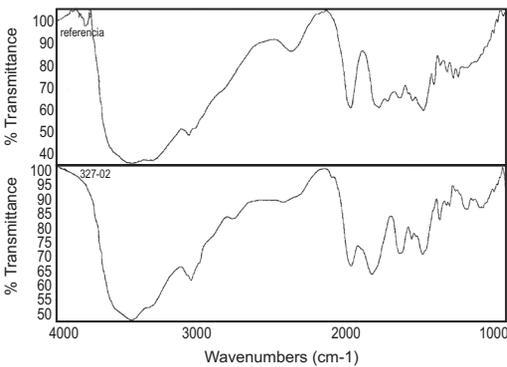
RESULTADOS DE ANÁLISIS DE ESPECTROS INFRARROJO DE CARRAGENANOS Equipo FTIR: NICOLET – Modelo “IMPACT 410”



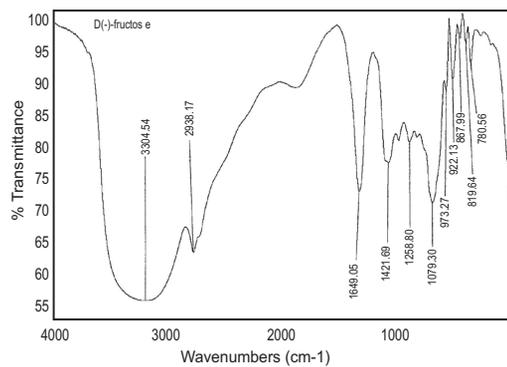
Patrón D-fructuosa



**Comparación de k-carragenano masculino
con D-fructuosa de referencia**



K-carragenano masculino



λ -carragenano femenino

RESULTADO DE ANALISIS DE: CARRAGENANOS

Código USAQ	Código Cliente	Determinaciones	Resultados (%)
327-01	κ - Carragenano Femenino 15-10-07	Sulfatos	13.05
327-02	κ - Carragenano Masculino 16-10-07	Sulfatos	15.83
327-04	κ - Carragenano 4to. Grupo 06-07	Sulfatos	11.95
327-05	κ - Carragenano Femenino 06-07	Sulfatos	14.66
327-07	Lambda Carragenano Femenino 15-10	Sulfatos	28.22
327-09	Lambda Carragenano 4to. Grupo 06-07	Sulfatos	20.41
327-10	Lambda Carragenano Masculino 06-07	Sulfatos	24.56

Métodos: Sulfatos (SO₄): APHA 4500 SO₄=E

CÓDIGO	PICO 0 (cm ⁻¹)	PICO 1 (cm ⁻¹)	PICO 2 (cm ⁻¹)	PICO 3 (cm ⁻¹)	PICO 4 (cm ⁻¹)	PICO 5 (cm ⁻¹)	PICO 6 (cm ⁻¹)	PICO 7 (cm ⁻¹)
327-01		3419	2922	2113	1639	1429	1234	1042
	K-CARRAGENANO Femenino(15/10/07)							
327-02		3402	2923	2100	1639	1471	1253	1071
	K-CARRAGENANO Masculino(16/10/07)							
327-03		3411	2919	2128	1639	1460	1228	1067
	K-CARRAGENANO Tetra (/06/07)							
327-04		3408	2922	2100	1639	1449	1247	1069
	K-CARRAGENANO 4to. grupo(/06/07)							
327-05		3403	2921	2100	1638	1462	1232	1071
	K-CARRAGENANO Femenino (/06/07)							
327-06	3600	3410	2970	2119	1639	1431	1249	1070
	λ-CARRAGENANO Femenino (/06/07)							
327-07	3600	3417		1637	1432			1075
	λ-CARRAGENANO Femenino(15/10/07)							
327-08	3600	3400		1638	1425		1248	1069
	λ-CARRAGENANO Tetra (/06/07)							
327-09	3600	3407		1634	1439		1250	1070
	λ-CARRAGENANO 4to.grupo(/06/07)							
327-10	3600	3387		1638	1439		1253	1072
	λ-CARRAGENANO Masculino(/06/07)							
Referencia		3402	2942	2121	1640			1060
	D-Fructuosa 90 % PUREZA							
D-Fructuosa		3304	2938	2120	1649			1079
	100 % PUREZA							
GRUPO	OH Libre	OH Intramolecular Asociado	CH ₂	O	O C C	Sulfato orgánico	Sulfato orgánico	R - CH ₂ - OH

FORMULACIÓN DE FLAN CON K-CARRAGENANO OBTENIDO

	♀	♂	4 ^{to} . GRUPO
Azúcar refinada	29,16 g.	29,16	29,16
K-carragenano	0,715	0,715	0,715
Sal refinada	0,100	0,100	0,10
Etil vainillina	0,018	0,018	0,018
Amarillo N.º 5	0,0008	0,0005	0,0036
Rojo N.º 2	0,0005	0,0004	0,0006

PARÁMETROS DE CONTROL DE FLAN

	♂	♀	4 ^{to} . GRUPO
Tiempo de gelificación	31'	26'	32'
Densidad	1,0461	1.0458	1.0417
Color	MUY BUENO	BUENO	REGULAR
Sabor	BUENO	MUY BUENO	MUY BUENO

FORMULACIÓN DE PUDÍN DE CHOCOLATE

	♂	♀	4 ^{to} . GRUPO
Azúcar refinada	80,0 g	80,0 g	80,0 g
K-carragenano	1,0	1,0	1,0
Maizena	5,0	5,0	5,0
Cocoa	10,0	10,0	10,0
Etil vainillina	0,2	0,2	0,2
Leche	0,600 L	0,600 L	0,600 L

PARÁMETROS DE CONTROL DE PUDÍN DE CHOCOLATE

	♂	♀	4 ^{to} . GRUPO
Tiempo de gelificación	6'	5'	8'
Color	BUENO	BUENO	REGULAR
Sabor	BUENO	MUY BUENO	BUENO

FORMULACIÓN DE LECHE CHOCOLATADA

	⊗
Azúcar refinada	80,0 g
Lambda carragenano	0,5
Cocoa	10,0
Ácido ascórbico	0,030
Etil vainillina	0,20
Sorbato de potasio	0,24
Leche	0,600 L

PARÁMETROS DE CONTROL DE LECHE CHOCOLATADA

ATRIBUTOS DE CALIDAD	⊗
Color	BUENO
Sabor	MUY BUENO
Consistencia	BUENA
Textura	BUENA
Dulzor	MUY ACENTUADO

niéndose productos de excelente consistencia y con bajo contenido de calorías. Su preparación es simple no requiere de horneado ni tiempos de cocción prolongados.

La leche chocolatada presentó sabor, color, textura y consistencia muy buenos que confirmaron que la fase tetraspórica genera un carragenano que le imparte mayor viscosidad a las suspensiones.

V. CONCLUSIONES

- La identificación de las fases se realizó visualmente y químicamente mediante el método del resorcinol-acetal, que después del baño maría se observa la coloración y se concluye:
 - Matiz rojo oscuro, corresponde a alga en fase de vida gametofita.
 - Matiz color rosado, se trata de alga en fase de vida esporofita.
- Las unidades galactosa sulfatada en posición C6 han sido convertidas en unidades 3,6 anhidrogalactosas mediante tratamiento alcalino.
- De la Tabla N.º 1, se concluye que la fase tetraspórica presenta mayor proporción de carragenano semirrefinado y la mínima corresponde al 4^{to} Grupo (mezcla de fases).
- La fracción gelificante se debe a las moléculas de k-carragenano que desarrollan estructuras helicoidales que reaccionan entre sí creando una red tridimensional. En la Tabla N.º 3, observamos el rendimiento de k-carragenano que alcanza al 36,2%, para la fase gametofito femenino; y 35,4%, para la fase gametofito masculino.
- La fracción no gelificante (λ - carragenano) alcanza el mayor rendimiento (45,3%), que corresponde a la fase tetraspórica como se observa en la Tabla N.º 4.
- De los resultados de los análisis infrarrojos sobre diez muestras de κ y λ carragenanos se concluye que corres-

ponde a la estructura química de dichos compuestos, al haberse caracterizado todos los grupos funcionales, tal como se muestra en el cuadro respectivo.

- Del análisis de los grupos sulfato se observa que λ - carragenano presenta mayor contenido de grupos sulfato que κ - carragenano, con lo que se confirma su propiedad viscosante.
- La costa sur del Pacífico (Pisco), de aguas templadas posee condiciones climáticas muy especiales para el cultivo de estas algas (rodophitas), materia prima para la producción de hidrocoloides de múltiples aplicaciones en la industria alimentaria, farmacéutica, odontológica, textil, curtiembre.
- Baba y colaboradores ^[3] lograron inhibir la replicación de algunos virus en dextran sulfato, posteriormente Fuertes C. ^[6] propone que todo polisacárido sulfatado tiene efectos similares o superiores frente a diversos virus con una ventaja manifiesta para los polisacáridos naturales. Posteriormente, se ensaya con la fracción soluble lambda carragenano extraída de *Chondracanthus chamissoi* en su fase esporofítica, y se observa que posee gran actividad inhibitoria en la replicación viral del VIH.

VI. AGRADECIMIENTOS

- Consejo Superior de Investigación de la UNMSM

VII. REFERENCIAS

- [1] Bixler H, Kevin Johndro, Falshaw R (2001). Kappa-2 carrageenan: Structure and performance of commercial extracts. Performance in two simulated dairy applications. Food Hydrocolloids. pp. 619 - 630.
- [2] Falshaw R, Bixler H, Johndro K (2001). Structure and performance of commercial kappa-2 carrageenan extracts. Food Hydrocolloids. pp. 441 - 452.

- [3] Falshaw R, Bixler H, Johndro K (2003). Structure and performance of commercial K-2 carrageenan extracts. Part. III. Structure analysis and performance in two dairy applications of extracts from the New Zealand red Seaweed, *Gigartina atropurpurea*. *Food Hydrocolloids*. pp. 129 - 139.
- [4] López Acuña Lm (2002). Caracterización del carragenano de *Chondracanthus pectinatus*. *Ciencias Marinas*. pp. 311 - 318.
- [5] Bulboa C, Macchiavello J (2006). Cultivo de Frondas cistocárpicas, tetraspóricas y vegetativas de *Chondracanthus chamissoi* en dos localidades del norte de Chile. Departamento de Biología Marina, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile.
- [6] Fuertes C (1998). Polisacáridos sulfatados de algas marinas, elucidación estructural, actividad antiviral frente al virus del VIH. Tesis; Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM.
- [7] Alama Vallejos E, Aojalla R. Estudio del Efecto hipolipemiante de polisacáridos sulfatados de la fase tetraspórica del alga *chondracanthus chamissoi* en conejos. Tesis; Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM.
- [8] Suqueyama Mihagui HI (1978). Extracción de carragenina a partir del alga *Gigartina chamissoi*. Tesis; Universidad Nacional Agraria La Molina.
- [9] Deza Durand K (2002). Efecto del tamaño de corte sobre la tasa de crecimiento y cobertura de la microalga *Chondracanthus chamissoi* "yuyo" en Mendieta, Paracas. Tesis; Universidad Nacional Agraria La Molina.
- [10] Vandermeulen H. Crude extraction and testing of carrageenan. Huntsman Marine Laboratory. NB, Canada.
- [11] Ruperez P, Saura-calixto F (2001). Dietary and fibre physicochemical properties of edible spanish seaweeds.