

CARACTERIZACIÓN Y USOS DEL SUBPRODUCTO SÓLIDO DE LA EXTRACCIÓN DE AGAR DEL ALGA "Gracilaria lemaneiformis"

Characterization and use of solid waste material extraction of agar alga "Gracilaria lemaneiformis"

Isabel Jesús Berrocal Martínez

Resumen

La investigación se diseñó con el objetivo de evaluar y caracterizar alga A-1 y tortas de alga T-2, T-3. Estos subproductos sólidos de la extracción de agar y agaroides fueron obtenidos a partir del alga Gracilaria lemaneiformis para darle utilidad en la industria de alimentos. Las muestras de Gracilaria lemaneiformis fueron recolectadas en la bahía San Nicolás en el departamento de Ica, Perú.

En la obtención de Agar y Agaroides se definen el procedimiento industrial y natural respectivamente; a través de estos se obtienen, como sub producto sólido, las muestras T-2; T-3 de Tortas de Alga Gracilaria lemaneiformis, las cuales fueron acondicionadas para su caracterización con evaluaciones bromatológicas, funcionales; luego, se procesaron fideos a partir del alga A-1 y las tortas de algas T-2, T-3 y, finalmente, se realizaron las pruebas biológicas y de colesterol con ratones para luego evaluar sensorialmente el producto final.

Palabras clave: *Caracterización, alga Gracilaria lemaneiformis, agar, agaroides.*

Abstract

The research was designed to evaluate and characterize algae A-1 and seaweed cakes T-2, T-3. These solid byproducts of extraction from agar and agaroid were obtained from alga Gracilaria lemaneiformis for being useful in the food industry. Lemaneiformis Gracilaria samples were collected at San Nicolas Bay in the department of Ica, Peru.

In obtaining Agar and agaroid the industrial and natural method are defined respectively, through these, the T-2 samples, T-3 Alga Gracilaria lemaneiformis cakes are obtained as a solid byproduct which were put up for characterization with bromatological functional assessments. Then noodles were processed from algae A-1 and seaweed cakes T-2, T-3 and, finally, biological and cholesterol tests were performed on mice for evaluating in a sensory way the final product.

Key Words: *Characterization, lemaneiformis Gracilaria seaweed, agar, agaroid.*

INTRODUCCIÓN

Para superar la crisis de escasez de alimentos que afronta el mundo desde hace tiempo, y, sobre todo, en los países en vía de desarrollo, es necesario buscar nuevos recursos que permitan dar soluciones a estos problemas, que se traduce en una dieta inadecuada, que lleva a problemas nutricionales. Por ello, se debe hacer frente al problema e investigar para hallar nuevas alternativas alimenticias.

Las algas son un recurso potencial renovable que se encuentra en forma abundante en el mar peruano. A través de la maricultura se podría cultivar y explotar racionalmente las algas, facilitando su recolección y control, lográndose un mayor volumen para su industrialización, ya que se trata de un recurso de bajo costo y gran rendimiento (Chapman, 1984).

Dentro de las posibilidades de utilización es como un alimento directo (fresco, semi-procesado u procesado), ya que las algas marinas tienen factores nutritivos y propiedades regeneradoras, que son capaces de eliminar del organismo los elementos tóxicos y de remover las impurezas de las células, creando un equilibrio corporal para ayudar al organismo a una cura natural.

Principalmente, su uso estaría encaminado a reforzar la dieta del poblador de escasos recursos; mediante la suplementación de sus menús, desde el punto de vista proteico, vitamínico y de sales minerales, ya que las algas aportan estos nutrientes a la dieta (Acleto, 1986). Es así, que los objetivos del presente trabajo son:

- Evaluar y caracterizar el alga y tortas de alga (sub-productos sólidos de la extracción de agar y agaroides), obtenidas a partir de *Gracilaria lemaneiformis*.
- Definir su uso en la industria alimentaria.

El residuo sólido denominado muestra T-2 para fines de la investigación proviene de un proceso comercial japonés de obtención de agar-agar y el residuo sólido denominado muestra T-3 para fines de la investigación, proviene de un proceso natural a nivel de laboratorio para la obtención de agaroides.

Por lo tanto, esta investigación se enmarca dentro de los objetivos básicos de los países en desarrollo, de

buscar nutrimentos biodisponibles para el organismo y de aprovechamiento integral de los recursos naturales existentes.

ANTECEDENTES

El Desarrollo de una Técnica de Extracción de Agar Ecológico de Alga Roja *Gracilaria lemaneiformis*.

Las algas rojas, *Gracilaria lemaneiformis* se cultivan como remediador a lo largo de las costas de la Península de Liaodong, en China, ello fue investigado para la producción de agar en un ambiente ecológico utilizando el método llamado "fotoblanqueado".

Los trabajadores de salud y seguridad del medio ambiente desarrollaron diferentes procesos, el agar nativo (NA), alcalino-agar modificado (AA), químico-blanqueado agar (CA) y el photoblanqueado agar (PA), los cuales fueron extraídos usando diferentes procesos y evaluados por sus propiedades físicas y químicas.

El photoblanqueado agar (PA) mostró mejor desempeño en términos de resistencia del gel, temperatura de gelificación y contenido de sulfatos 3,6 -anhidro-L-galactosa.

Entre los diferentes procesados de agares, photoblanqueado agar (PA) la resistencia del gel fue de 1913 g/cm², la más alta entre los diferentes agares transformados.

Un incremento de 8.6 % sobre la base de alcalino-agar modificado (AA). Además de aplicar esta nueva técnica para extraer agares de *Gracilaria centella* asiática, y resultados similares se obtuvieron con la de *G. lemaneiformis*.

Esto indica que el proceso de extracción agar "fotoblanqueado" es un método viable para especies de *Gracilaria* y tiene una aplicación potencial. Durante todo el proceso de extracción de agar "fotoblanqueado", el contenido del pigmento de *G. lemaneiformis*, disminuye gradualmente y la concentración de TOC en solución de "fotoblanqueado" aumenta junto con la irradiación. El mecanismo de agar "fotoblanqueado" podría ser dilucidado por la teoría de la fotólisis (Haiyan, Xingju, Yan, Wei, & Yuanling, 2008).

Caracterización Química de la Agarofita *Gracilaria blodgettii* Harvey en la Bahía de Cien Fuegos en Cuba.

Los resultados correspondientes a la caracterización química de *Gracilaria blodgettii* en la Bahía de Cienfuegos son discutidos en este trabajo, con el fin de contribuir al conocimiento de este recurso para su explotación sostenida. En el período de 1993 a 1999, fueron estudiadas, indistintamente, en esta especie las siguientes variables: rendimiento y calidad del agar, composición de metabolitos y componentes nutricionales. La concentración de agar extraído presenta un comportamiento estacional, correspondiendo los mayores valores al periodo de Noviembre a Abril; su calidad puede ser clasificada como un agar comercial "clase B", lo que permite su uso en la industria alimenticia y en la producción de vitroplantas. Los resultados del tamizaje fitoquímico del alga mostraron la presencia de metabolitos tales como: aminoácidos, triterpenos y/o esteroides, compuestos fenólicos y/o taninos, azúcares reductores, lactonas y saponinas, que unidos a los compuestos que fueron identificados en el estudio bromatológico (proteínas, carbohidratos, fibras y minerales) confirman el valor nutricional, farmacológico y biomédico de los componentes de esta alga (Castellanos González, León Pérez, & Moreira González., 2003).

Análisis y Caracterización de los Ésteres Metílicos de Ácidos Grasos de Algunas Especies de *Gracilaria*.

Los análisis de los ésteres totales metílicos de ácidos grasos, a partir de extractos de *Gracilaria birdiae*, *Gracilaria caudata*, *Gracilaria cerviconis*, *Gracilaria domingensis* se recoge de la costa Paraiba, noreste de Brasil, así como su importancia taxonómica, se informó aquí por primera vez. Pueden ser reconocidos como un grupo que representa taxonómica de análoga bases que muestran componentes comunes en su composición, tales como ácido hexadecanóico y el colesterol. Las diferencias se encuentran en la composición de ácidos grasos entre las especies estudiadas refuerzan la propuesta de transferencia de *Gracilaria caudata* para el género *Hydropuntia* (*H. caudata*). (Andrade Tomaz, Cavalcanti de Miranda, Vanderlei de Souza, & Vasconcelos Leitao da Cunha, 2012.)

Fraccionamiento de Extracción de Polisacáridos: Estructura y Propiedades *Gracilaria Corticata* Madagascar

Los polisacáridos se extrajeron a partir de *Gracilaria Corticata* que se recoge de la costa sur-oeste de Madagascar. Análisis químico combinado con ¹H, ¹³C NMR y espectroscopia de infrarrojos haciendo uso de la transformada de Fourier, mostró que la fracción se extrajo con agua/etanol 60% (v/v). Como disolvente tiene bajo contenido de metoxilo y piruvato y una gran capacidad de formar geles relativamente fuertes físicos con la presencia de KCl.

Las propiedades reológicas de fracciones extraídas se discuten, así como la selectividad iónica. (Andriamanantoanina, Chambat, & Rinaudo, 2007)

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

Se usó alga *Gracilaria lemaneiformis* que fue colectada en la Bahía de San Nicolás de Ica y luego de haber extraído el polisacárido se procedió a caracterizar las tortas (Sub producto de la extracción agar- agaroides)

Métodos de Procesamiento

Se describen cada uno de los procesos seguidos para la obtención de la muestra de alga A-1 *Gracilaria lemaneiformis* y las muestras de tortas de algas (T-2), (T-3), denominadas así para fines de la investigación (los cuales son residuos sólidos que se obtienen de la extracción de agar-agaroides respectivamente).

Luego de secadas y molidas, las muestras de algas y torta y/o subproductos de alga *Gracilaria lemaneiformis* fueron sometidas a los diferentes análisis y pruebas de caracterización para darle utilidad en la industria de alimentos, estas evaluaciones fueron las siguientes:

- a. Análisis proximal (método oficial de la AOAC (1984).)
- b. Determinación del contenido de calcio, fósforo y magnesio de la materia prima por el método de espectrofotometría de absorción atómica, según AOAC, (1984).
- c. Determinación de las propiedades funcionales en alga A-1 y tortas de alga T-2, T-3, *Gracilaria lemaneiformis* respectivamente.
- d. Determinación de pruebas biológicas.

- e. Determinación de digestibilidad aparente (Dap) y determinación del valor biológico aparente (VBap) por el método de ensayos en ratones albinos destetados.
- f. Determinación de pruebas microbiológicas.
Se realizaron utilizando las pruebas de Monsell y Quevedo, mencionados por CLEIBA (2003).
- g. Análisis de colesterol
Utilizando el método enzimático colesterol oxidasa-peroxidasa por colorimetría según Trinder (1979). Para la determinación cuantitativa de colesterol en suero o plasma en ratones albinos destetados que consumieron las muestras de algas A-1 y tortas de algas T-2, T-3.
- h. Análisis Estadístico
Pruebas estadísticas con un diseño de bloques completos al azar, se realizaron análisis de varianza en la determinación de pruebas biológicas.
- i. En la evaluación sensorial también se aplicó este diseño estadístico, luego de evaluar sensorialmente a través del método de calificación por puntos con el fin de conocer el grado de aceptación de los fideos elaborados con alga A-1 y torta de alga T-3, con dos niveles de sustitución al 10%,15% y una muestra testigo.

reportan los valores de 75.4 y 72% respectivamente; observamos que, por el método de procesamiento japonés, se obtiene mayor rendimiento, se infiere que se deba al método estimado de obtención de la torta, la cual se realizó con extracciones sucesivas en ácidos y álcalis respectivamente, concentrándose en mayor proporción la parte fibrosa.

Análisis Proximal

En el cuadro 1 se reporta los resultados de los análisis químicos proximales de las tres muestras utilizadas en el presente trabajo de investigación; es decir, del Alga G. lemanaeformis (muestra A-1); la Torta de Alga G. lemanaeformis obtenida por el método japonés de extracción de Agar (Muestra T-2) y la Torta de Alga G. lemanaeformis obtenida por el método de procesamiento natural de extracción de Agaroides (Muestra T-3).

El contenido de proteína total en alga Gracilaria lemanaeformis (A-1) es 33.87% y de las tortas de algas Gracilaria lemanaeformis T-2, T-3 son de 12.65% y 31.44% en base seca respectivamente.

Se compara el contenido de proteínas de alga Gracilaria lemanaeformis con el de otras especies del mismo género como son: Gracilaria verrucosa con 4.05% de proteína en base seca (Tagawa y Kojima, 1972). Gracilaria coronopifolia con 9.06% de proteína en base seca, Gracilaria blodgettii de la Bahía de Cien Fuegos en Cuba que reportó 9.6% de proteína en base seca (León,2003), Gracilaria sp. con 4.36 % de proteína en base seca (Chapman, 1984) y Gracilaria confervoides con 10.17% de proteína en base seca (Kojiyama, 1986). Se observa que el contenido de proteína de Gracilaria lemanaeformis es mayor que estas especies del género Gracilaria y mayor que alga Porphvra columbina que tiene un porcentaje de proteína de 26.72 en base seca según, García (1972).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados correspondientes a la caracterización de Gracilaria lemanaeformis procedente de la bahía San Nicolás en Ica son discutidos en este trabajo con el fin de contribuir al conocimiento de este recurso para su uso y explotación sostenida.

Rendimientos de Tortas de Alga T-2, T-3 Gracilaria lemanaeformis

Los rendimientos de las Tortas de alga T-2, T-3 Gracilaria lemanaeformis, obtenidos, tanto por los métodos de procesamiento japonés como natural,

GÉNEROS	PROTEINA %	GRASA %	CARBOHIDRATOS %	FIBRA %	CENIZAS %
Alga G. <u>lemanaeformis</u> (A-1)	33.87	0.36	54.29	4.17	7.31
Torta de Alga G. <u>lemanaeformis</u> (T-2)	12.65	0.24	45.55	31.26	10.30
Torta de Alga G. <u>lemanaeformis</u> (T-3)	31.44	0.25	47.40	16.23	4.68

Fuente: *Investigación Propia, 2013.*

Tabla 1. Análisis Químico de Alga A-1 y Tortas de Alga T-2, T-3 Gracilaria lemanaeformis en Base Seca

El contenido de 12.65% de proteína en base seca para torta de alga Gracilaria lemaneiformis T-2, es menor que la torta de alga T-3 Gracilaria lemaneiformis con 31.44% de proteína en base seca y que torta de alga Porphyra columbina, probablemente estas diferencias se deban a los métodos de procesamiento en la extracción de polisacáridos, el cual consiste en un tratamiento térmico, con bases y ácidos que desnaturalizan la estructura molecular de la proteína, disminuyendo sus propiedades nutritivas (Cueva, 1984 y Fennema, 1985).

En cuanto a los resultados del contenido de grasa, la muestra de alga G. lemaneiformis A-1 reporta 0.36% y para tortas de alga G. lemaneiformis de 0.24%, 0.25% respectivamente. García (1992) reportó contenidos de grasa para alga roja P. columbina de 1.14% y para la torta de alga P. columbina 0.69%, siendo estos valores mayores para aquellos obtenidos en alga y tortas de alga G. lemaneiformis; además, se observa que los resultados de grasa en tortas T-2, T-3 de alga G. lemaneiformis disminuyen con respecto a alga A-1 G. lemaneiformis, en un porcentaje de 33.33 y 30.55% respectivamente. De manera similar, se observó que en torta de alga P. columbina disminuye su contenido de grasa con respecto al alga P. columbina en un porcentaje de 39.47%, la disminución del contenido de grasa en las tortas se infiere a los efectos térmicos del proceso el cual habría solubilizado y eliminado durante el proceso, parte de las grasas del alga respectivamente (Chapman, 1984).

Los resultados del contenido de fibra, para alga G. lemaneiformis reporta un valor de 4.17%. García (1992) halló para Porphyra columbina 11.14%.

En las tortas de alga Gracilaria lemaneiformis se reporta en T-2 31.26% y en T-3 16.23% respectivamente. García (1992) reportó el contenido de fibra de 36.06 % para torta de alga Porphyra columbina.

En términos generales, se puede atribuir que la diferencia de fibras se debe al estadio fisiológico de la alga, (Acleto, 1991); además, influyen en estos valores los efectos del procesamiento. Luego, como se puede apreciar en torta de alga Gracilaria lemaneiformis T-2 aumenta su valor debido a que ha sido sometida a extracciones sucesivas con ácidos y bases en caliente,

concentrando la parte fibrosa de la torta y la parte soluble se va con el agar - agar.

En T-3 el valor es menor, debido a que ha sido sometido a un proceso natural que posiblemente influye en la concentración de la fibra.

En relación a los resultados del contenido de cenizas para alga Gracilaria lemaneiformis A-1 se obtuvo 7.31% y en las tortas de alga Gracilaria lemaneiformis T-2 10.30%, y en T-3 4.68%. García (1992) reportó para alga Porphyra columbina, un valor de 8.15%, y para la torta de esta alga 4.84%.

La diferencia del contenido de ceniza entre algas Porphyra columbina y Gracilaria lemaneiformis puede deberse al mismo factor que para el de fibra (estadio fisiológico) (Acleto, 1994). Por otro lado, las diferencias del contenido de ceniza entre las tortas de alga T-3 Gracilaria lemaneiformis y Porphyra columbina con el método de procesamiento natural los resultados no difieren significativamente, es decir el contenido de ceniza es casi similar en ambos casos.

En cambio con el método de procesamiento Japonés, aumenta el contenido de ceniza de torta de alga Gracilaria lemaneiformis T-2 con respecto al alga A-1 Gracilaria lemaneiformis y, con respecto a Porphyra columbina, posiblemente esto se da por la adición de bases y ácidos durante el procesamiento, que permiten la concentración de fibras y por ende el de ceniza.

Los resultados del contenido de carbohidratos nos indican para alga Gracilaria lemaneiformis 54.29%. García (1992) reporta para alga Porphyra columbina el valor de 52.85%.

Para tortas de alga Gracilaria lemaneiformis en T-2 se tiene el valor de carbohidrato de 45.55 y en T-3 de 47.40%. García (1992) halló en torta de alga Porphyra columbina, el valor de 18.82%.

Como se puede observar, el contenido de carbohidratos en algas Gracilaria lemaneiformis es mayor que Porphyra columbina, luego en las tortas de algas si existen diferencias entre sus valores, es así que en Porphyra columbina, probablemente su mayor porcentaje de carbohidratos puede estar en el

galactano porfiran, mientras que en las tortas de *G. lemanaiformis* T-2, T-3 posiblemente la fracción de carbohidratos sea distribuida casi equitativamente entre la torta y el agar – agar, agaróide.

Determinación de Magnesio, Calcio y Fósforo en Alga A-1, Tortas de Algas T-2, T-3 *Gracilaria lemanaiformis*.

En la bibliografía consultada, se observa que son los primeros estudios que se realizan en este género de alga en relación a la investigación del contenido de magnesio, fósforo y calcio. En el cuadro 2, se presenta el contenido de estos elementos en las muestras estudiadas en alga A-1 y tortas de T-3, T-2.

Para las tortas de alga *G. lemanaiformis* T-3, T-2, el elemento magnesio disminuye en 63.63 y 69.70 respectivamente en relación al contenido de magnesio de alga A-1, el elemento fósforo disminuye en 43.75 y 47.92 con respecto al contenido de fósforo de alga A-1 y el contenido de calcio disminuye en 13.06%, 14.28 respectivamente en relación al contenido de calcio de alga A-1, se atribuye a que posiblemente estas diferencias observadas se deba a la pérdida de sales minerales durante la extracción de los polisacáridos agar y agaróide.

Determinación	A-1 (g/ml)	T-2 (g/ml)	T-3 (g/ml)
Magnesio	0.33	0.10	0.12
Fosforo	0.48	0.25	0.27
Calcio	2.45	2.10	2.14

Fuente: Investigación Propia 2013.

Tabla 2. Contenido de Magnesio, Calcio, Fósforo Alga A-1 y Tortas de Algas T-2, T-3 *Gracilaria lemanaiformis*

Determinación de las Propiedades Funcionales

a) Determinación de Densidad Aparente.

En el Cuadro 3 se muestra los resultados de densidad aparente para alga A-1 y tortas de alga T-2, T-3 *Gracilaria lemanaiformis*, en el que observamos que alga A-1 *Gracilaria lemanaiformis* tiene una densidad aparente, de 0.73 g/ml mayor que las densidades de otros pulverizados proteicos.

ALIMENTOS	DENSIDAD APARENTE
(1) Alga <i>Gracilaria lemanaiformis</i> (A-1)	0.73 g/ml
(1) Torta alga (T-2)	0.63 g/ml
(1) Torta alga (T-3)	0.81 g/ml
(2) Garbanzo pulverizado	0.59 g/ml
(3) Aislado proteico de hoja de alfalfa	0.28 g/ml
(3) Proteínas aisladas de Soya	0.47 g/ml
(4) Torta Alga <i>Porphyra columbina</i>	0.65 g/ml

Fuente : (1) Presente Investigación (2013)
 (2) Okasaki A.C. (1979)
 (3) Knuckles E.B. (1982)
 (4) García (1992)

Tabla 3. Densidades Aparentes en Diferentes Productos Alimenticios

Se observa que difiere en 38.36% con respecto al promedio de estos, como son el garbanzo con 0.59 g/ml (Okasaki, 1971), aislado proteico de hoja de alfalfa y proteína aislada de soya con 0.28, 0.47 g/ml respectivamente según Knuckles y Kohler (1982).

Así mismo se observa que la torta T-2 de *G. lemanaiformis* tiene una densidad aparente de 3% menor que la torta de alga roja *P. columbina*; sin embargo, la torta de alga T-3 *G. lemanaiformis* tiene una densidad aparente de 19.75%, mayor que *P. columbina*.

Se reconoce que estas tortas de algas T-2, T-3 difieren en 29% y 44% respectivamente en promedio con respecto a los pulverizados proteicos (garbanzo, hoja de alfalfa y proteína aislada de soya), se infiere que esta diferencia puede deberse a que la densidad aparente de los diferentes alimentos puede variar según el método y el agente extractante que se emplea para concentrar y/o aislar la proteína (Wang y Kinsella, 1976; Snuckles y Kohler 1982).

Además el criterio importante que fundamenta la determinación de la densidad aparente es el económico; productos de baja densidad, requieren mayor superficie de empaque (Krog, 1977).

b) Solubilidad

Los resultados de mínima y máxima solubilidad de la proteína para alga A-1 *Gracilaria lemanaiformis* en la presente investigación fue: A PH=5 de 35%

de solubilidad de nitrógeno y a PH=10 de 81% de solubilidad de nitrógeno, siendo estos valores mayores a los que reportó Torres (1991), quien evaluó la alga Ulva fasciata deshidratada por dos métodos y presentó resultados de solubilidad mínima a PH = 4 de 31.14 para (alga deshidratada por aire caliente) luego de 28.57% para (alga deshidratada por rodillo) y de solubilidades máximas a PH=10 de 44% y 47% nitrógeno solubilizado respectivamente.

De la misma forma se tiene resultados para tortas de alga T-2, T-3 Gracilaria lemaneiformis, que dan solubilidades mínimas a PH = 4 de 19% y 33% y solubilidades máximas a PH=10 de 33%, 73% de Nitrógeno solubilizado respectivamente.

Estos valores hallados son bastante mayores en comparación a los hallados por García (1992) en torta de alga Porphyra columbina quien reportó solubilidades mínimas de nitrógeno a PH=4.5 de 7.3% y a PH=7 de 8.3% y de máxima solubilidad a PH=10 de 11% respectivamente.

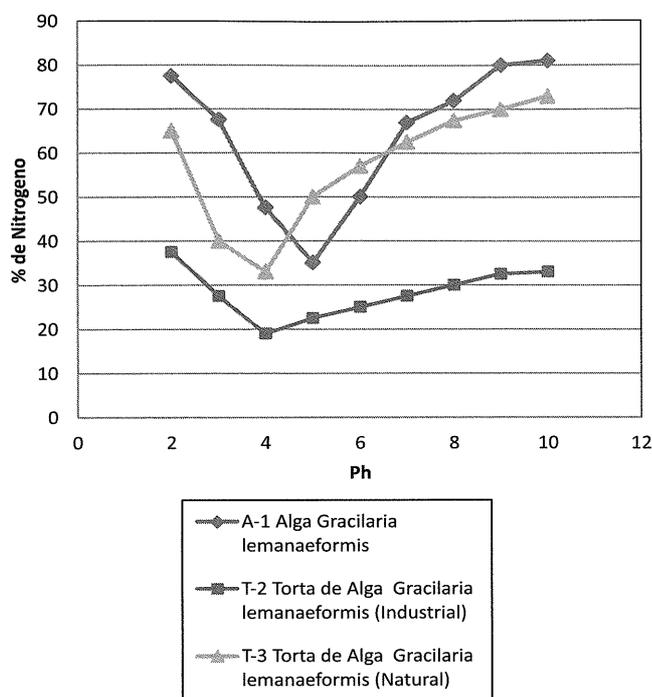
Comparando las solubilidades entre los valores obtenidos de alga A-1 y tortas de alga T-2, T-3 Gracilaria lemaneiformis como se observa en la fig. 1, alga A-1 presenta mayor grado de solubilidad de su proteína con respecto a las solubilidades de las tortas de alga T-2 y T-3, la solubilidad de la proteína de torta de algas T-2, T-3 probablemente se ve reducido por efectos del procesamiento, el tratamiento térmico, el método de determinación y la concentración de la proteína que son factores que afectan desnaturalizando a la proteína y disminuyendo su solubilidad (Fennema, 1985).

c) Capacidad de Absorción de Agua

En el cuadro 4 se muestran los resultados de capacidad de absorción de agua.

Se halló la capacidad de absorción de agua en alga Gracilaria lemaneiformis

A-1 de 272%. Torres (1991) reportó en Ulva fasciata secada por aire caliente 382 y secada por rodillo 280%, se observa que en alga A-1 es menor la capacidad de absorción de agua con respecto a Ulva fasciata probablemente se debe a su alta solubilidad, la cual reduce el entrapamiento estructural del agua. (Snuckler y Kohler 1982).



Fuente: Elaboración Propia 2013.

Figura 1. Solubilidad Nitrógeno de Alga A-1, Torta de Alga T-2 y T-3 Gracilaria lemaneiformis

Además se reportaron los valores de capacidad de retención de agua para las tortas de alga G. lemaneiformis T-2 de 276 % y T-3 de 274% respectivamente. García (1992) reportó el valor de retención de agua en torta de alga Porphyra columbina de 446.67%. Posiblemente, la menor capacidad de retención de agua de las tortas de alga Gracilaria lemaneiformis T-2 y T-3 con respecto a la torta de alga Porphyra columbina se debe a factores del proceso, así cuando la temperatura se eleva, la capacidad de retención de agua disminuye debido a la ruptura de los enlaces de hidrógeno, tiempos prolongados de centrifugación disminuyen la capacidad de retención de agua (Kinsella, 19976; Fennema, 1985; Burgeois, 1986)

d) Absorción de Grasa

En el cuadro 4 se muestran los resultados de absorción de alga A-1 y tortas de alga T-2, T-3, Gracilaria lemaneiformis.

Para alga A-1 se reporta los valores de absorción de grasa de 173 ml de aceite/100 g. de muestra, con 33.84% de proteína en base seca.

Torres (1991) halló en alga Ulva fasciata deshidratada por aire caliente 160 ml de aceite/100 g. con 24.63% de proteína en base seca y deshidratada por rodillo, 140 ml de aceite/100 g. con 23.41 % de proteína en base seca.

Se observa en G. lemanaiformis mayor capacidad de retención de grasa, esto probablemente se deba a

la mayor concentración de su proteína con respecto a alga Ulva fasciata, está directamente relacionada con la concentración de la proteína ya que el mecanismo de retención de grasa es principalmente atribuible a un entrapamiento físico del aceite (Kinsella, 1976; Pomeranz 1985).

PROPIEDADES FUNCIONALES	Unidades	Alga <u>Gracilaria lemanaiformis</u>	Torta de Alga <u>Gracilaria lemanaiformis</u>	
		A-1	T-2	T-3
Densidad aparente	g/ml	0.73	0.63	0.81
Capacidad de absorción de agua	% en volumen	272	276	274
Capacidad de absorción de grasa	ml.aceite/100 g muestra	173	205	183
Capacidad emulsificante	m/g	194	168	179
Actividad emulsificante	%	60	52	54
Estabilidad de la emulsión	%	46	44	45
Capacidad de formación de espuma	% en volumen	68	58	58

Fuente: *Elaboración Propia 2013*

Tabla 4. *Propiedades funcionales de Alga A-1 y Tortas de Alga A T-2, T-3 Gracilaria lemanaiformis,*

Para tortas de alga Gracilaria lemanaiformis, se hallaron, en la presente investigación, valores de absorción de grasa, 205 ml de aceite/100 g de muestra en T-2 y 183 ml de aceite/100 g de muestra en T-3 respectivamente. García (1992) reportó en torta de alga Porphyra columbina 215 ml de aceite/100 g de muestra, evaluándose que las tortas de alga G. lemanaiformis T-2 y T-3 tienen menor capacidad de retener grasa con respecto a P. columbina, posiblemente se deba a la baja capacidad de ligar grasa de las proteínas solubles, debido a su conformación (principalmente helicoidal) la cual no permitiría que sus sitios de enlaces sean disponibles para la interacción con el aceite (Voutsinas y Nakai 1982).

e) Capacidad Emulsificante

En el Cuadro 4 se muestran los valores de capacidad emulsificante para alga A-1 Gracilaria

lemanaiformis de 194 ml/g, Torres (1991) halló en alga Ulva fasciata secada por aire caliente 192 ml/g, y secada por rodillos, 190 ml/g, se observa que la capacidad emulsificante de G. lemanaiformis es mayor que para alga U. fasciata.

Se muestran los resultados de torta de alga Gracilaria lemanaiformis T-2 168 ml/g y T-3 de 179 ml/g. García (1992) halló en torta de alga Porphyra columbina el valor de capacidad emulsificante de 85 ml/g, se observa que en la torta de alga G. lemanaiformis muestra valores mayores de capacidad emulsificante con respecto a la torta de alga P. columbina, probablemente estas variaciones sean factibles de darse y, posiblemente, se deba a factores tales como la concentración de la proteína, la temperatura y la velocidad de centrifugación (Kinsella, 1976; Fennema, 1985).

f) Actividad Emulsificante

En el cuadro 4 se halló la actividad emulsificante para alga Gracilaria lemaneiformis de 60% con un contenido de proteína de 33.8% en base seca. Torres (1991) reportó para alga Ulva fasciata secada por aire caliente 50% de actividad emulsificante con 24.63% de proteína en base seca y para Ulva fasciata secado por rodillo 50.4% de actividad emulsificante con 23.41 de proteína en base seca, observándose que alga Gracilaria lemaneiformis tuvo mayor actividad emulsificante que Ulva fasciata, se piensa que probablemente esto se debe a efectos de la concentración de la proteína, ya que al incrementarse la concentración de ésta, se incrementa la actividad emulsificante (Wang y Kinsella, 1976), además Snuckler y Kohler (1982) reportaron en hojas de alfalfa liofilizada una actividad emulsificante de 64.3% y aislado proteico de Boya, 64.8 que tienen porcentajes de proteína de 88.6 y 91.3 respectivamente, observándose que en alga G. lemaneiformis, y P. columbina sus valores de actividad emulsificante no es demasiada baja, si la podemos comparar con hojas de alfalfa y proteína aislada de Boya que posee elevados porcentajes de proteínas y una actividad emulsificante no muy elevada.

Los datos obtenidos de actividad emulsificante para tortas de alga T-2, T-3 G. lemaneiformis fueron de 52% y 54% respectivamente.

García (1992) reporta para torta de alga P. columbina, el valor de 55.52%, los valores reportados de las tortas T-2, T-3 de alga G. lemaneiformis son menores con respecto a la torta de alga P. columbina, se atribuye a que posiblemente se debe a efectos del proceso como la temperatura, la velocidad de batido o centrifugado, la procedencia y concentración de la proteína (Kinsella, 1976; Kinsella, 1979).

g) Estabilidad de la Emulsión

En el Cuadro 4, se halló el valor de estabilidad de emulsión en alga Gracilaria lemaneiformis de 46%. Torres (1991) reporta en Ulva fasciata el valor de 51% (para alga secada por aire caliente) y 47.5 para (alga secada por rodillo). Como se observa G. lemaneiformis presenta menor estabilidad de emulsión que U. fasciata, esto posiblemente se debe a que el incremento de la temperatura disminuye la viscosidad y rigidez de la película proteica absorbida

en la interface y, por lo tanto, disminuye la estabilidad de la emulsión (Fennema, 1985).

Asimismo, se reportan los valores de estabilidad de emulsión para torta de alga G. lemaneiformis T-2 de 44% y T-3 de 45% respectivamente. García (1992) halló en torta de alga P. columbina el valor de 47.07 observándose que la torta de alga T-3 posee mayor estabilidad de emulsión que torta de alga T-2; pero, menor de estabilidad de emulsión que alga P. columbina, los valores no difieren demasiado. Estas variaciones posiblemente se atribuyan al tratamiento térmico del proceso, este usualmente disminuye la viscosidad y rigidez de la película proteica absorbida en la interface y, por ello, disminuye la estabilidad de la emulsión (Kinsella, 1979).

h) Capacidad de Formación de Espuma y Estabilidad en la Espuma

Para alga G. lemaneiformis se reportó, en el Cuadro 4, el valor de capacidad de formación de espuma de 68%. Torres (1991) halló para Ulva fasciata los valores de estabilidad de espuma de 70% (alga secada por aire caliente) y 90% (alga secada por rodillo) respectivamente.

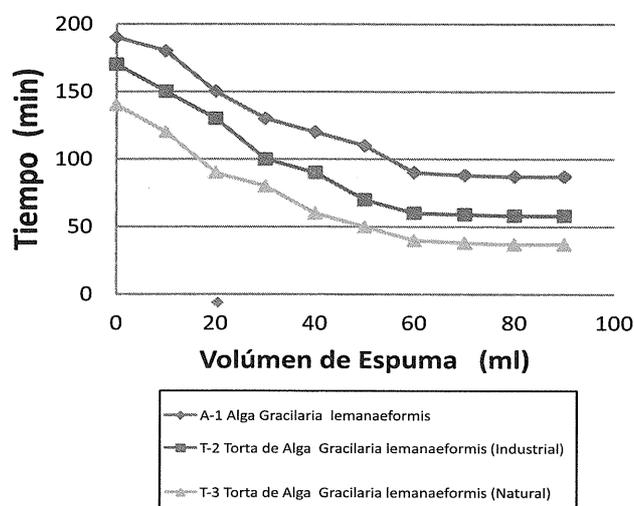
Se observa que G. lemaneiformis presenta menor capacidad de formación de espuma que U. fasciata, esto se debe, probablemente, a que los azúcares contenidos en estas disminuyen la expansión de la espuma, pero mejorarían la estabilidad de la espuma.

Alga G. lemaneiformis tiene un porcentaje de carbohidratos de 54.29%, U. fasciata presenta los valores de 45.61 y 47.12% respectivamente, estos valores perjudicarían a la formación de espuma, pero mejorarían su estabilidad (Wang y Kinsella 1976; Burgeois, 1986).

En tortas de alga T-2 y T-3 de G. lemaneiformis se halló valores de 58% respectivamente. García (1992) reporta para torta de alga P. columbina el valor de 76.84%, las tortas de alga G. lemaneiformis T-2 y T-3 no tienen buena capacidad de formación de espuma, la estabilidad de éstas, como se puede ver, tienen tendencia a ser estables, tal como se observa en la fig. 2, ya que ocurre una disminución del volumen de espumas con respecto al tiempo, esto posiblemente

se debe a efectos del proceso, el tratamiento térmico disminuye la estabilidad de la emulsión. Debe tenerse presente que esta determinación se realizó a PH=5, rango de PH entre 4-6, región donde se encuentran los puntos isoeléctricos, en esta región se ha hallado que las fuerzas de atracción electrostáticas intermoleculares, incrementan el espesamiento y rigidez de las películas proteicas absorbidas en la interface aire-agua, siendo mínimas la capacidad de formación de espuma, y la estabilidad es frecuentemente buena (Balwin, 1974; Kinsella, 1976).

A pesar de no ser comparativamente elevado el porcentaje de lípidos de las tortas de alga T-2, T-3 0.44 y 0.25% respectivamente, se sabe que concentraciones menores al 0.1% de lípidos dañan seriamente el desempeño de las proteínas en las propiedades de espumación (Pomeranz, 1985; Fennema, 1985).



Fuente: Elaboración Propia 2013.

Figura 2. Evolución con respecto a la Estabilidad de Espuma de Alga A-1 y Tortas de Alga T-2; T-3 Gracilaria lemaneiformis

Análisis Microbiológicos

Los resultados de los análisis microbiológicos se muestran en el cuadro 5, en el cual se puede apreciar que la carga microbiana en forma general es baja, se aprecia ausencia de mohos y levaduras, stafilococcus totales, coliformes y halófilas.

Se investiga poca cantidad de bacterias aerobias mesófilas viables, esto se debe a un buen control de la materia prima así como a un eficiente tratamiento

térmico y al buen manipuleo del producto en todas sus etapas de proceso hasta el producto final.

Micro organismos	Alga A-1	Torta Alga T-2	Torta Alga T-3	Límite*
Bacterias Aerobias Mesófilas Viables	5.9 x 10 ²	8 x 10 ³	8.6 x 10 ³	10 x 10 ⁵
Mohos y Levaduras	< 1	< 1	< 1	100
Stafilococcus Totales	< 1	< 1	< 1	1
Coliformes	< 1	< 1	< 1	10
Halófilas	< 1	< 1	< 1	200

Fuente: Centro Latinoamericano de Enseñanza Capacitación Bacteriológica Cleiba 2009. Ufc/g ó ml Unidades Formadoras de Colonias).

Tabla 5. Recuento microbiológico de Alga A-1 y Tortas de Algas T-2, T-3 Gracilaria lemaneiformis

Ensayo de colesterol

Se realizaron ensayos de colesterol en ratas, 3 de las cuales fueron utilizados como muestras en blanco (sin ingerir dieta formulada) y 3 que ingieren las dietas formuladas con alga A-1 y torta de alga T-2, T-3 Gracilaria, lemaneiformis. El nivel de colesterol en A-1 antes y luego de ingerir la dieta formulada, reporta 84mg % y 78 mg % en cada caso.

El nivel de colesterol disminuye como consecuencia del consumo de Alga A-1, en la cual la molécula de agar es una mezcla compleja de polisacáridos conteniendo grupos sulfatos que en su estructura son agentes reductores del colesterol, así como también tiene la composición de ácidos grasos (ácido eicosapentanoico y araquidónico) cumpliendo ambos una acción reductora de la hipercolesterolemia (Ching, 1993).

En T-2 (Torta - alga) se reporta 82 mg/dl y 88 mg/dl observándose un aumento del nivel de colesterol esto se explica porque la fracción de polisacáridos de torta de alga en la molécula de agar contiene grupos sulfatos

en su estructura que le confieren solubilidad y que, por efectos de procesamiento para obtención de agar, se utiliza el NaOH con el fin de bloquear y neutralizar al grupo sulfato mejorando e incrementando la fuerza de gel del agar (Del Sol, 1989). Como consecuencia de esta reacción, se observa que, al no existir los grupos sulfatos en la presente dieta, hace que el nivel de colesterol aumente, por lo tanto, se descarta utilizar la formulación con torta de alga T-2.

Luego se tiene evaluaciones de colesterol antes y luego de ingerir la ración formulada con torta de Alga T-3 reportándose 82 - 77 mg/dl respectivamente.

Se observa disminución de colesterol por efectos que en la fracción de polisacáridos de torta T-3, la molécula de agaroides contiene en su estructura grupos sulfatos agentes reductores de colesterol.

Cabe mencionar que en el proceso de extracción de torta T-3 (basado en el método de obtención de Agar - Agar), no se utilizó NaOH, por lo tanto, la

torta de alga *Gracilaria lemaneiformis* T-3 favorece la disminución de los niveles de colesterol.

Evaluación Biológica

En el Cuadro 6 se muestran los resultados de las pruebas de digestibilidad aparente y valor biológico aparente para Caseína Alga A-1, tortas de Alga T-2, T-3 *Gracilaria lemaneiformis*.

Los valores de digestibilidad y valor biológico para torta de alga T-2 resultaron negativos, posiblemente, se deba a efectos del procesamiento, factores como tratamiento térmico, las bases y ácidos desnaturalizan a la proteína disminuyendo sus propiedades nutritivas. (Cueva, 1984 y Fennema, 1985). Así mismo, posiblemente la calidad de esta proteína no es la adecuada y se deba a que tenga en su composición anti nutrientes que no han sido digeridos y absorbidos por los ratones, luego se realizaron comparaciones solamente entre alga A-1 y torta de alga T-3.

INGREDIENTES	CASEÍNA	ALGAA-1	ALGAT-2	ALGAT-3
Nº de Animales	6	6	6	6
Peso inicial (g)	51.830	54.40	52.26	43.26
Peso final (g)	66.420	55.42	46.53	40.66
Ganancia de Peso (g)	14.590	0.95	5.72	2.6
Consumo Alimento (g)	61.320	26.36	32.67	22.88
% de Materia Seca del alimento	97.230	92.28	94.93	92.98
% de Nitrógeno del Alimento	1.540	1.307	1.552	1.398
Consumo de Nitrógeno (g)	0.9443	0.345	0.506	0.320
Total heces excretado (g)	4.0383	16.167	90.56	9.9357
% Materia seca de heces	78.530	51.82	29.46	64.86
% Nitrógeno de heces	3.2184	1.004	0.66	1.98
Total de Nitrógeno excretado (g)	0.1299	0.1623	0.603	0.1967
Total de orina excretada (ml)	36.070	6.9045	7.97	3.8223
Densidad de orina (g/ml)	1.029	1.038	1.032	1.032
Peso de la Orina (g)	37.116	7.166	8.22	3.944
% de Nitrógeno orina excretada	0.526	0.720	0.85	1.512
Total de nitrógeno				
Orina excretada (g)	0.1897	0.049	0.067	0.057
Digestibilidad aparente (D ap) %	86.33	53.04	---	38.72
Valor Biológico aparente (VB ap) %	77:31	73.64	---	54.22

Fuente: *Elaboración Propia 2013.*

Tabla 6. Resultados de las Pruebas de Digestibilidad Aparente (Dap), Valor Biológico Aparente (VB ap)

El análisis estadístico de Duncan para digestibilidad aparente nos reporta que hay diferencias significativas entre tratamientos debido a que la caseína con 86.33 es más digestible que alga A-1 con 53.04 y que torta de Alga T-3 con 38.72%, se observa que alga A-1 es más digestible que la torta de alga T-3, esta baja digestibilidad de la torta T-3 probablemente se atribuya a que está presente algún antimetabolito que todavía no ha sido estudiado y que bloquea la absorción de la proteína, observándose una baja digestibilidad de la proteína. Aldave (1991).

En el Cuadro 6, se muestran los resultados del valor biológico para caseína de 77.31%, alga A-1 de 73.64 y torta de alga T-3 con 54.22 respectivamente.

El análisis estadístico de la prueba de Duncan para el valor biológico nos reporta que no existe diferencias significativas entre el valor biológico de la caseína con respecto al valor biológico de alga A-1 de lo cual se deduce que ambos valores biológicos son casi semejantes. Pero, se observa que existen diferencias significativas entre el valor biológico de la caseína que es mayor, con respecto a la torta de alga T-3, a la vez se observa en el anexo 13, que alga A-1 posee mayor biológico que otros alimentos como el filete de buey, trigo completo, papa, avena, maíz, harina de trigo y frijol cocinado, así mismo la torta de alga T-3 supera en valor biológico a la harina de trigo, al frijol cocinado, y valor casi semejante que el maní.

Por los resultados hallados en la presente investigación, se deduce que alga A-1 y torta de alga T-3 son alimentos con contenido proteico y buena calidad biológica, superior a otras proteínas de origen vegetal.

Fideos:

Luego de haberse realizado la respectiva caracterización de Alga Ha-1 y tortas de Algas T-2, T-3 de *Gracilaria lemaneiformis* obtenidos por diferentes métodos de proceso, se llega a anular la torta de alga T-2 por la calidad de su proteína que no es buena y presente una deficiente caracterización. Luego el alga A-1 y torta Alga T-3 presentan mejores características químicas, funcionales, microbiológicas, biológicas, colesterolémicas y, en función a esta evaluación, se llega a darle utilidad en la elaboración de fideos

con dos niveles de sustitución, para luego evaluarlos sensorialmente y conocer el grado de aceptación del fideo.

ANÁLISIS SENSORIAL

La degustación se efectuó por el método de la prueba de calificación por puntos y para ello participó un panel integrado por 10 jueces semi entrenados, con el objetivo de conocer el grado de aceptación de los fideos elaborados con 2 niveles de sustitución, 10%, 15% y un testigo de 0% de sustitución de Alga A-1 y torta de Alga T-3 respectivamente.

Las dos muestras de fideos después de codificadas en forma randomizada fueron cocidos simultáneamente y servidos a temperatura de ambiente empleándose la siguiente calificación:

Excelente:	5 puntos
Muy bueno:	4 puntos
Bueno:	3 puntos
Regular:	2 puntos
Malo:	1 punto

Con los resultados obtenidos sensorialmente, se aplicaron los análisis de varianza (ANVA) y la prueba de LSD (Least significant Difference) (Chou, 1977 y Ostle, 1983).

En alga A-1 para el atributo sabor estadísticamente, existen diferencias significativas entre los niveles de sustitución.

La preferencia del panel es mayor para la muestra testigo, seguido el 15% y en último lugar el de 10% de sustitución respectivamente, de manera que el grado de sustitución promedio estaría en un 15%.

Para los atributos aroma, textura, color y aspecto general, estadísticamente no hay diferencias significativas. De manera que para el público degustador cualquier grado de sustitución es aceptable.

En torta de alga T-3 para los atributos color y aspecto general, estadísticamente existen diferencias significativas entre los niveles de sustitución.

Entonces se puede inferir que la preferencia del público degustador es variable, siendo el orden de preferencia el siguiente, primero 0%, segundo 10% y

tercero 15% de sustitución respectivamente de manera que el promedio de aceptación del público degustador estaría en un 10% de sustitución.

Para los atributos sabor, aroma y textura estadísticamente no hay diferencias significativas, esto indica que al público degustador le es indiferente cualquier grado de sustitución para estos atributos.

CONCLUSIONES

1. Mediante el análisis químico de alga Gracilaria lemaneiformis se determinó que su composición fue la siguiente: proteína 36.65%, grasa 0.35%, carbohidrato 52%, fibra 4%, cenizas 7% (0.33 de magnesio, 0.48 de fósforo, 2.45 de calcio y otros 3.74%).
2. De la caracterización química de las tortas de alga, la torta de alga T-3, presenta mejores características en: proteína 31.4%, grasa 0.25%, carbohidratos 47.40%, fibra 16.23%, ceniza 4.68%, (0.12 de magnesio, 0.27 de fósforo, 2.13 de calcio y otros 2.16%).
3. La alga A-1 y la torta de alga T-3 presentan buenas características funcionales en: densidad aparente, solubilidad de proteínas, propiedades de emulsión y formación de espuma. En absorción de agua y grasa presentan bajos niveles y además baja estabilidad de la espuma.
4. Por los resultados de las pruebas de colesterol realizadas en ratas, se llegó a concluir que alga A-1 y Torta de alga T-3 disminuyen el nivel de colesterol.
5. Debido a las evaluaciones biológicas realizadas en ratas se tiene:
 - En torta de alga T-2 Gracilaria lemaneiformis la calidad de proteína es mala.
 - Alga A-1 Gracilaria lemaneiformis es más digestible que la torta de alga T-3.
 - El valor de biológico de la caseína y valor biológico del alga Gracilaria lemaneiformis A-1 son semejantes.
6. Las evaluaciones sensoriales realizadas en la elaboración de fideos, determinaron que:
 - En alga A-1: **El atributo sabor**, de la preferencia del público degustador es por el 0% de sustitución de alga y en menor grado para el 15% y 10% de sustitución y para los atributos de aroma, textura, color y aspecto general la preferencia es casi similar entre los 3 grados de sustitución 0%, 10% y 15%.
 - En tortas de alga T-3: para **el atributo de color** y aspecto general la preferencia del público degustador está en el 0% y entre los niveles de sustitución el de 10% es el más aceptable que el 15% y los atributos sabor, aroma y textura, la preferencia del público degustador es algo semejante entre los grados de sustitución de 0%, 10% y 15%.
7. Por la caracterización realizada en el presente trabajo de investigación, la alga A-1 y la torta de alga T-3 presenta buena calidad y contenido elevado de proteína, además buenas propiedades químicas, funcionales, microbiológicas y sensoriales teniendo entonces la posibilidad de ser utilizado en la alimentación humana y animal.

REFERENCIAS

- A.O.A.C. (1984). "Official Methods of analysis" Washington DC."
- A.O.A.C. (1989). "Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist Washington."
- Andrade Tomaz, A. C., Cavalcanti de Miranda, G. E., Vanderlei de Souza, M., & Vasconcelos Leitão da Cunha, E. (2012). Análisis y Caracterización de los Ésteres Metílicos de Ácidos Grasos de Algunos Especies de Gracilaria. *Biochemical Systematics and Ecology*, 44, 303-306.
- Andriamanantoanina, H., Chambat, G., & Rinaudo, M. (2007). Fraccionamiento de Extraer Polisacaridos: Estructura y Propiedades Gracilaria Corticata de Madagascar. *Carbohydrate Polymers*, 68, 77-88.
- Betschart, A. (1974). Nitrogen solubility of alfalfa protein concentrate as influenciado by various factors.
- Betschart, A.A. Fon, R. y Hamamoto, M.M. (1979). Safflower Protein Isolates Functional Properties in Simple Systems and Breads *Journal of Food Science*. Vol. 44: 1022 - 1026.
- Burgeois, C.M. y Le Roux, P. (1986). *Proteins Animales Editorial México DF. El Manual Moderno.*
- C.L.E.I.B.A. (1980). Centro Latinoamericano de Enseñanza y Capacitación Bacteriológico.
- Chapman, J. (1984). *The seaweeds and their. Uses. Mc. Milan Comp. Limit Londres.*
- Castellanos González, M. E., León Pérez, Á. R., & Moreira González, Á. (2003). Caracterización Química de la Agarofita Gracilaria blodgettii Harvey en la Bahía de cienfuegos, Cuba. *Revista de Investigación Marina* 24(3), 24 (3), 185-192.
- Cheftel, J. y Cheftel, J. (1983). *Introducción a la bioquímica de los alimentos*
- Ching, Orlando (1993). PHd Bioquímico y Farmacia UNMS. Entrevista personal.
- Chou Ya, L. (1977). *Análisis estadísticos 2da. Edición Ed. Interamericana. México.*
- CIID (1990). *Primer Seminario Latinoamericano de Capacitación Pesquera, Centro Internacional de Investigación para el desarrollo. Canadá.*
- Crampton, E. W. y Harrys L.E. 1984. *Nutrición Animal Aplicada al uso de los alimentos en la formulación de raciones Zaragoza - Acribia.*
- Cueva, A. (1989). *Química Orgánica. Doctor en Farmacia y Bioquímica. Dpto. de Química UNA.*
- Fenema, O.R. (1985). *Food Chemistry. Marcel Dekker INC. New York United States.*
- García, P. (1992) *Característica. De algas Porphyracolumbina.*
- Gordillo, G. F. 1974. *Estudio Comparativo de diferentes métodos de extracción de Agar - Agar utilizando Alga Marina Gracilaria lemanaiformis.*
- Gross, J. 1980. *Archivos del Instituto de Nutrición.*
- Haiyan, L., Xingju, Y., Yan, J., Wei, Z., & Yuanling, L. (2008). *Development of an eco-friendly agar extraction technique from the. Bioresource Technology*, 99, 3301-3305.
- IFOP. 1991. *Instituto de Fomento Pesquero para la Investigación. Universidad Católica de Chile en convenio con la Universidad de Tokio - Japón.*
- Inamura, K. (1988). *Seas Gifto in Nippon suisan kaichas Ltd. Tokio.*
- Kazutochi C. y Nishizawa P. 1991. *A report and international seaweed symposium XII. Vol. 25 N° 2.*
- Kinsella, J.E. (1976). *functional Properties of proteins in foods: A survey critical review in Food Science and Nutrition* 7: 286-291.
- Kinsella, J.E. (1979). *Functional properties of soy protein Journal of American Oil Chemistry Society. Vol. 56: 212-258.*

- Knuckles, B.E. y Kohler G. (1982). *Functional Properties of Edible Protein Concentrates from Alfalfa*.
- Kojiyama, Y. (1986). *Estudies en la preparation of agar - agar from Gracilaria confervoides Japón*.
- Kritchevsky, D. (1974). *Cholesterol*. New York.
- Krog, N. (1977). *Functions of emulsifiers in food systems Journal of the American oil Chemists Society*. Vol. 54: 124-131.
- Leon Perez Angel Raul, (2003) *Caracterización química de la agarofita Gracilaria blodgetti harvey en la Bahía de Cien Fuegos, Cuba*. Revista de Investigación Marina 24(3):pag.185-192,.
- Naylor, J. (1976). *Production trade and utilization of seaweed and seaweed Products FAO. Fisheries Technical Papper N° 159 Italia - Roma*.
- Nisizawa K, Noda H, Kikuchi R, & Watanabe T. (1987). *The main seaweed foods of Japan*. Hydrobiologia, 151/152: 5-29.
- Nisizawa, K. *The main (1987) serweed food in Japan Hidrobiología*.151-152:5-29.
- Okasaki, A.C. (1979). *Seaweed and their uses in Japan takai University Press Tokio*.
- Ostle, B. (1983). *Estadística Aplicada Limusa Willey México*.
- Pomeranz, Y. (1985). *Functional properties of food Componentes Academic Press INC Orlando Florida EE.UU*.
- Regesstein, J.M. (1984). *Food protein chemistry in introduction for food scientist*. Academia Press INC.
- Tagawa, S. y Kojima, Y. (1972). *The alcali tratament of the mucilage of Gracilaria verrucosa*. Proc. Int. seaweed Symp.
- Torres, D. (1991). *Caracterización de Alga Lechuga de Mar Ulva fasciata deshidratado por aire caliente y por rodillo*.
- Trinder, P. (1979). *Analisis Clínicos y Bioquímicos*.
- Voutsinas, L.P.; Cheling E. y Nakai, S. (1983). *Relations chips of Hydrophobicity to emulsifying properties of heat denatured proteins*. Journal Food Science. Vol. 48 26-32.
- Wong, J.C. y Kinsella, J.E. *Functional properties of novel proteins: alfalfa leaf protein*. Journal of food science. Vol.41.