



## “Sargazo: Alginatos y su Aplicación en la Industria Alimentaria”

*Presenta la Pasante:*

***Ilse Pamela Bernal España (Pasante de Lic. Química de Alimentos)***

*Tutora:*

***María Teresa de Jesús Rodríguez Salazar***

*PROYECTO PAPIME PE210820*

*“Sargazo: Contribución de la química analítica desde la docencia e investigación formativa”*

**Seminario Estudiantil**

Departamento de Química Analítica

*Facultad de Química*

México, CDMX, Junio 2021

Realizar investigación bibliográfica respecto a la composición química del sargazo (Género *Sargassum*)

Conocer e identificar los diferentes usos en la industria alimentaria de los alginatos presentes en la matriz celular de algas pardas (Género *Sargassum*)

Proponer diversas opciones de aplicación como oportunidad de mejora en el desarrollo de nuevos productos alimenticios en el país

**OBJETIVOS  
DEL  
PROYECTO  
DE TESIS**

# ANTECEDENTES

El químico británico Edward Charles Cortis Stanford, en 1881, fue el primero en descubrir y describir el alginato, también contribuyó en la explicación de su estructura química (Krioting, 1886), fue el primero en patentar el proceso de obtención de ácido algínico.



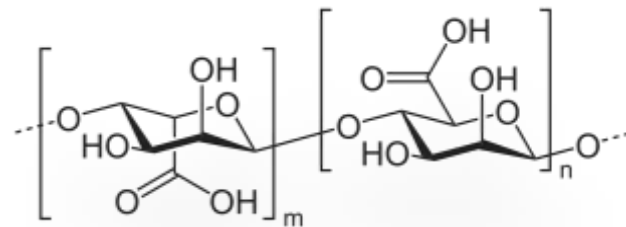




La Secretaría de Marina Armada de México informó que para octubre de 2020 se recolectaron un total de 17 mil 865 toneladas de Sargazo en las playas y áreas marítimas que conforman los municipios afectados en el estado de Quintana Roo. (SEMAR, 2020).

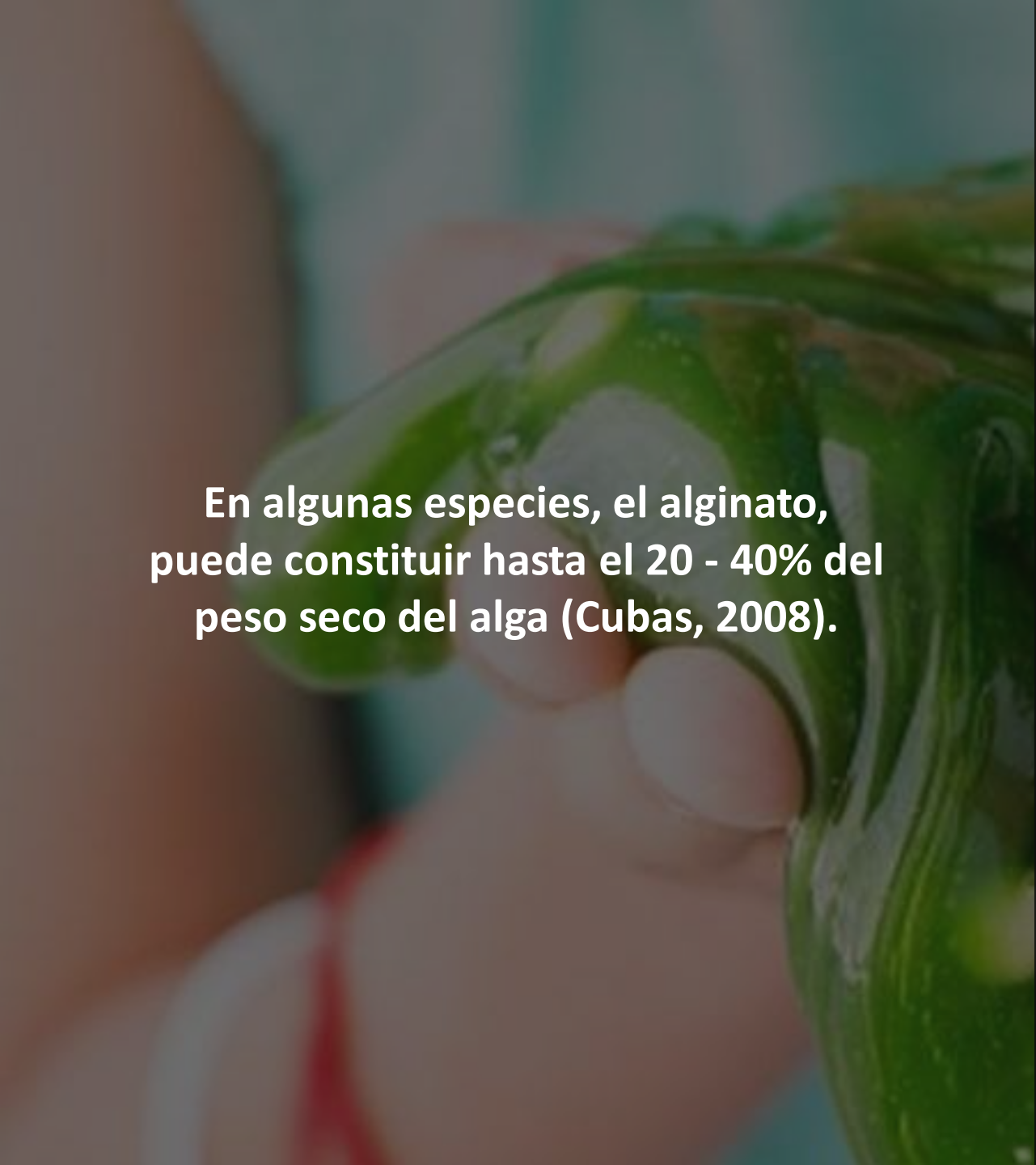


Actualmente, la producción de alginatos y sus sales ha quedado como uno de los principales productos de la industria de las algas. A nivel mundial las algas son consideradas como una de las fuentes sostenibles de biomasa más prometedoras (Ayarza León, 2015).



El compuesto derivado del ácido algínico más usado es el alginato de sodio y aunque todas las especies de algas pardas o cafés contienen ácido algínico, solo unas pocas son abundantes y bastante accesibles para ser usados comercialmente (Reis, 2012).





En algunas especies, el alginato, puede constituir hasta el 20 - 40% del peso seco del alga (Cubas, 2008).

Tabla 1. Polisacáridos producidos por las algas (Mata, 2006)

Familia	Polisacárido
<i>Cyanophyta</i> (algas verde-azul)	Glucógeno, lipopolisacáridos
<i>Chlorophyta</i> (algas verdes)	Almidón, laminarana, celulosa, glucomananas
<i>Rhodophyta</i> (algas rojas)	Agar, carragenina, furcellarana
<i>Phaeophyta</i> (algas cafés)	Alginatos, heteroglucanas sulfatadas

El término ficocoloide se emplea para describir a los coloides derivados de las algas. Por coloide se entiende que es una sustancia no cristalina, de molécula muy grande que al disolverse produce una solución viscosa y pegajosa (Round, 1981).

Bashford et al. (1950) seguido por Haug (1964), plantearon la transformación del ácido algínico insoluble a alginato de sodio mediante dos etapas de intercambio iónico (Hernández–Carmona, 2011).

En el primer procedimiento, los principales intermediarios son alginato de calcio y ácido algínico. En el segundo, no se forma alginato de calcio, solo ácido algínico. En ambos procesos, durante la etapa de conversión del ácido algínico a alginato de sodio, se usa agua o alcohol como solvente, obteniendo resultados muy diferentes (McHugh, 1987)

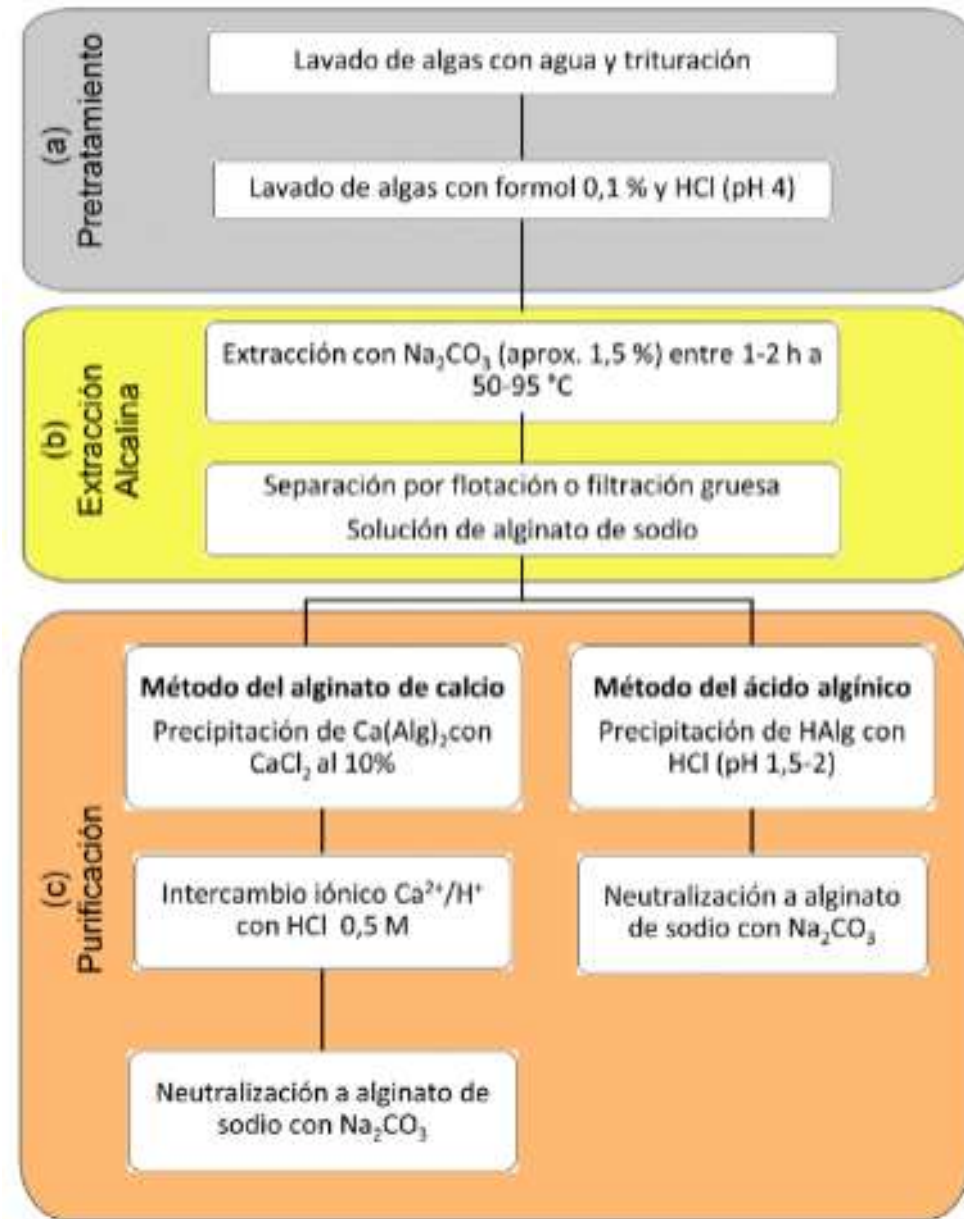


Diagrama de flujo para la purificación de alginato de sodio. (Ayarza León, 2014)

Alginates	Yield (%)	Protein (%)	Total phenol (mg GA/ g sample)	$F_G$	$F_M$	M/G
DW-A	3.30	14.58 ± 0.50 <sup>a</sup>	16.03 ± 0.84 <sup>a</sup>	0.87	0.47	0.54
AC-A	3.40	11.92 ± 0.69 <sup>b</sup>	9.18 ± 0.64 <sup>b</sup>	0.75	0.40	0.53
AL-A	3.50	0.36 ± 0.33 <sup>c</sup>	1.77 ± 0.55 <sup>c</sup>	0.77	0.42	0.54
CE-A	3.47	0.30 ± 0.33 <sup>c</sup>	1.40 ± 0.32 <sup>c</sup>	0.79	0.44	0.55

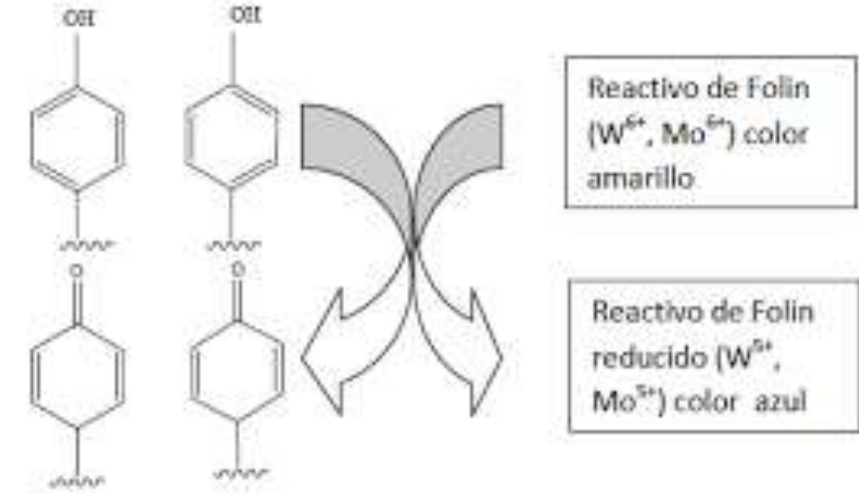
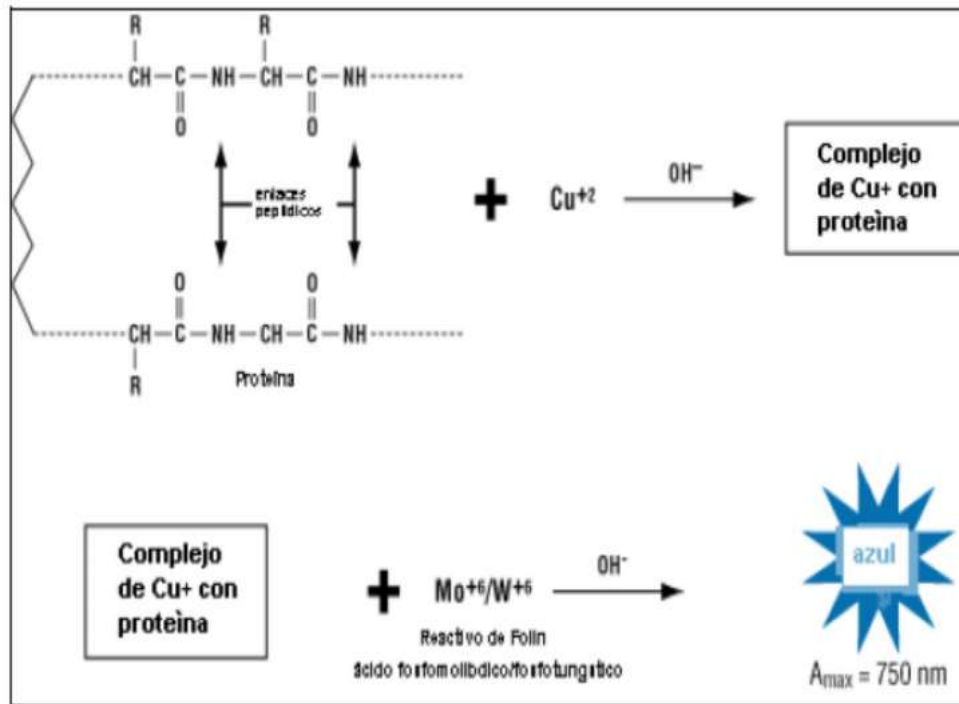
**Tabla 2.** Rendimiento y contaminaciones químicas de los alginatos DW-A (agua), AC-A (ácido), AL-A (alcalasa) y CE-A (celulasa) de *Sargassum angustifolium*.

**Borazjani, et al., 2017. Effects of extraction methods on molecular characteristics, antioxidant properties and immunomodulation of alginates from *Sargassum angustifolium*. International Journal of Biological Macromolecules.**



Evaluó los distintos métodos de pretratamiento sobre la composición química, sus efectos y las propiedades moleculares de los alginatos extraídos de *Sargassum angustifolium*.

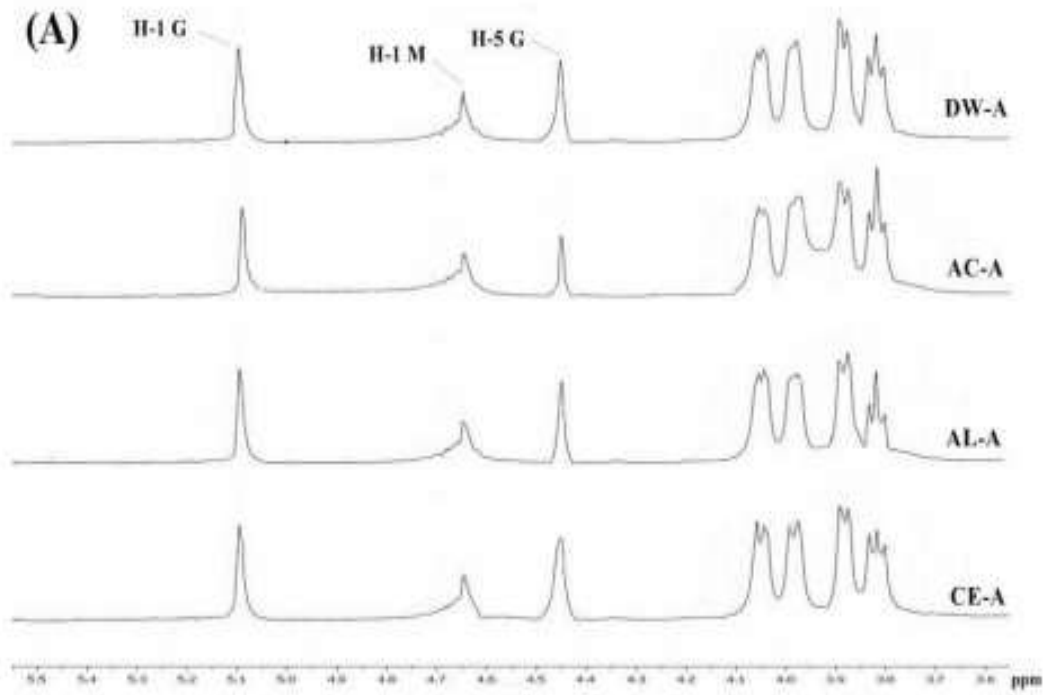




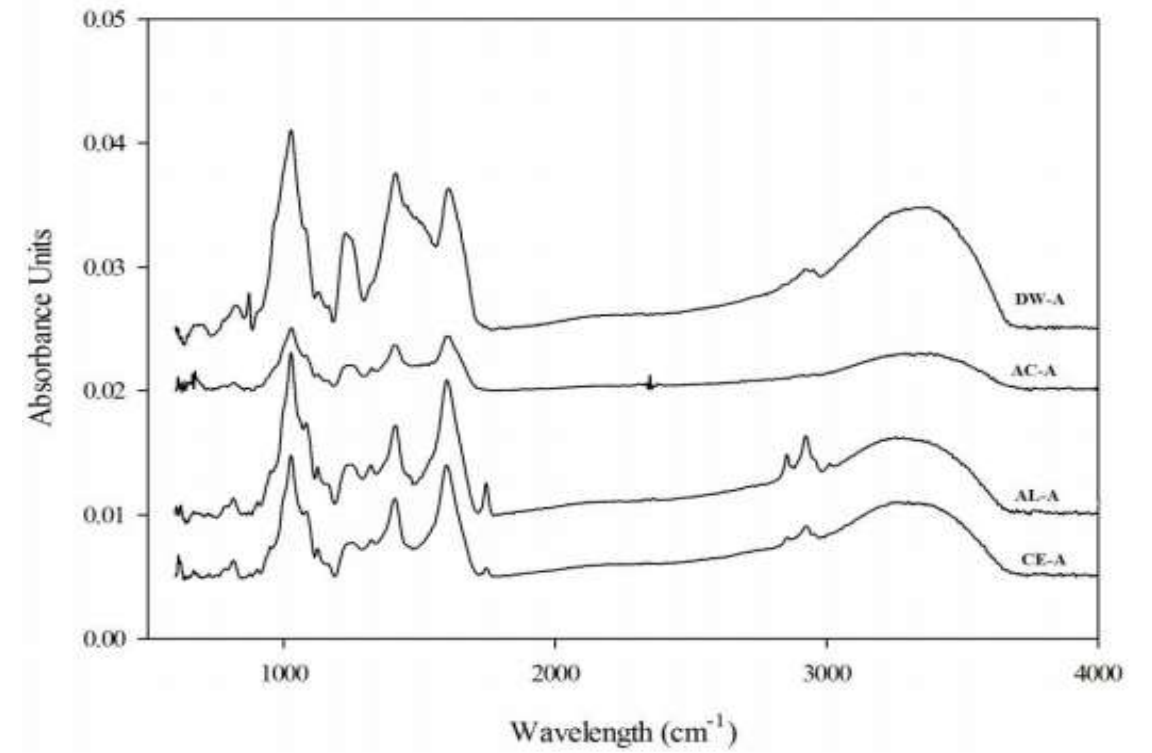
Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu. (García et al., 2015)

Esquema general de las reacciones que se llevan a cabo en el método de Lowry. (Del Puerto, M., 2013)

# PUREZA DE ALGINATOS



**Espectros de Resonancia Magnética Nuclear de alginatos** (DW-A (agua), ACA (ácido), AL-A (alcalasa) y CE-A (celulasa)).



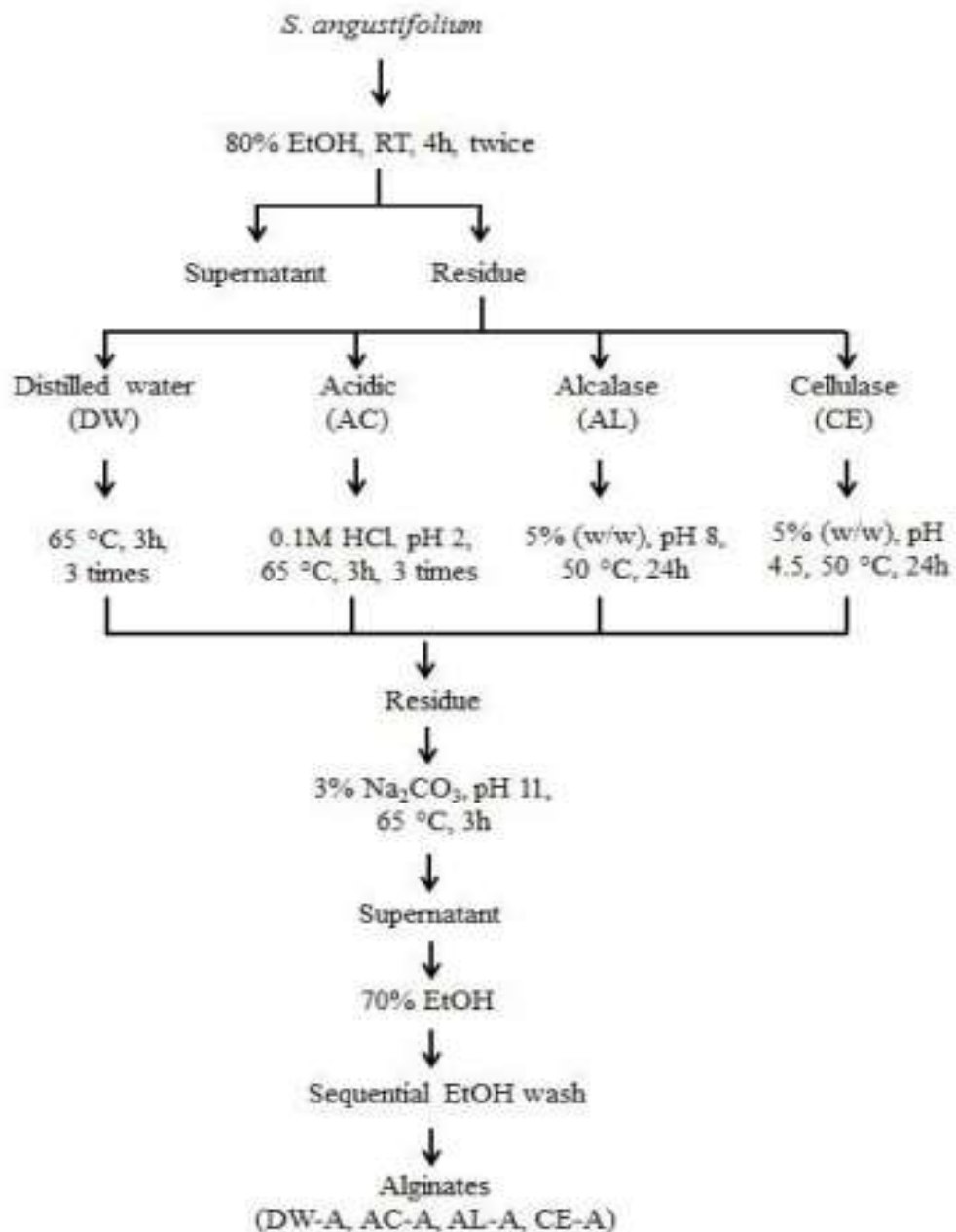
**Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) de alginatos** (DW-A (agua), ACA (ácido), AL-A (alcalasa) y CE-A (celulasa)).

Alginates	$M_w \times 10^3$ (g/mol)	$M_n \times 10^3$ (g/mol)	$R_g$ (nm)	$SV_g$ (cm <sup>3</sup> /g)	Polydispersity ( $M_w/M_n$ )
DW-A	480.3 ± 5.93	255.1 ± 3.53	81.05 ± 7.56	2.79	1.79 ± 0.12
AC-A	557.1 ± 1.48	294.7 ± 3.32	87.85 ± 0.07	3.06	1.85 ± 0.02
AL-A	357.0 ± 3.67	153.5 ± 1.62	80.4 ± 0.70	3.67	2.15 ± 0.09
CE-A	356.2 ± 3.81	120.95 ± 0.35	90.05 ± 2.33	5.17	2.94 ± 0.14

**Tabla 3.** Peso molecular medio ( $M_w$ ), peso molecular medio numérico ( $M_n$ ), radio de giro ( $R_g$ ), volumen específico de giro ( $SV_g$ ) y polidispersidad de diferentes alginatos.



*Sargassum angustifolium*. (Al-Homaidan, A. A., 2012)



El estudio actual demuestra el efecto crucial de diferentes métodos de extracción sobre la pureza, las características moleculares y las propiedades biológicas de los alginatos extraídos.



## Pretratamiento

- Se realiza en medio ácido, pues permite la solubilización en una solución alcalina y reduce la viscosidad de los alginatos al nivel deseado (Liu et al., 2012).

## Extracción

- Aquí el ácido algínico se transforma en alginato de sodio soluble, separándose por centrifugación (McHugh et al., 2001).

## Separación de fases

- Separación sólido/líquido, la fase acuosa precipita con solvente obteniendo fibra de alginato.

## Precipitación

- A escala de planta piloto, se precipita como alginato de calcio ya que reduce significativamente los costos de extracción (Hernández-Carmona et al., 2002).

## Secado

- Obtención de Alginato.

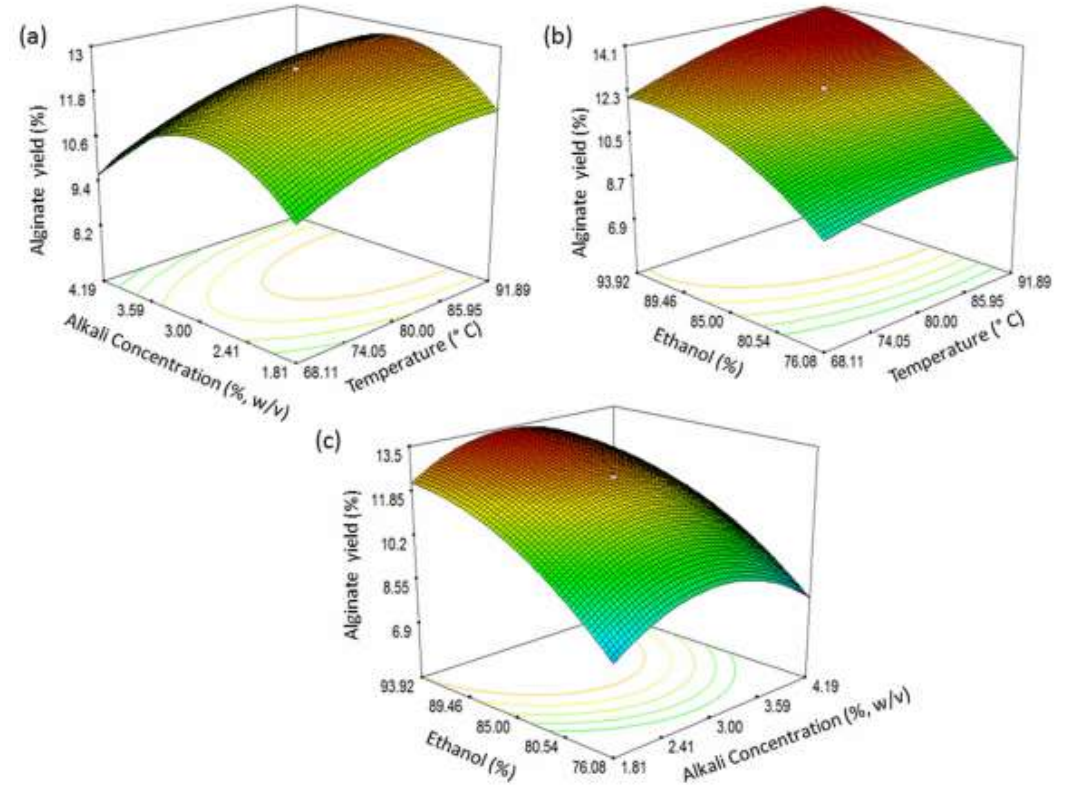
**Mazumder et al. (2016).**  
**“Extraction of alginate from *Sargassum muticum*: process optimization and study of its functional activities”. *Journal of Applied Phycology***

# Metodología de superficie de respuesta (RSM)

Estudio estadístico para optimizar parámetros dentro de un proceso.

Minimiza la complejidad de cada experimento.

Considera menor tiempo de proceso y el análisis cuantitativo resulta muy preciso en cuanto a los cálculos requeridos (Bezerra et al., 2008).



## OBJETIVO PRINCIPAL

Determinar los efectos que tienen las distintas variables del proceso de extracción (tiempo, temperatura, álcali y porcentaje de etanol acuoso en el rendimiento de extracción de alginato) en muestras de *Sargassum muticum* (Mazumder et al., 2016).



TEMPERATURA DE EXTRACCIÓN



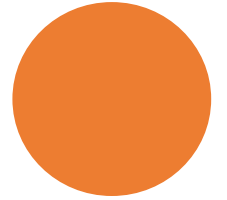
TIEMPO DE EXTRACCIÓN



CONCENTRACIÓN DE ALCÁLI



PORCENTAJE DE ETANOL ACUOSO





# CARACTERIZACIÓN DE ALGINATOS

**POLIFENOLES  
Y PODER  
REDUCTOR**

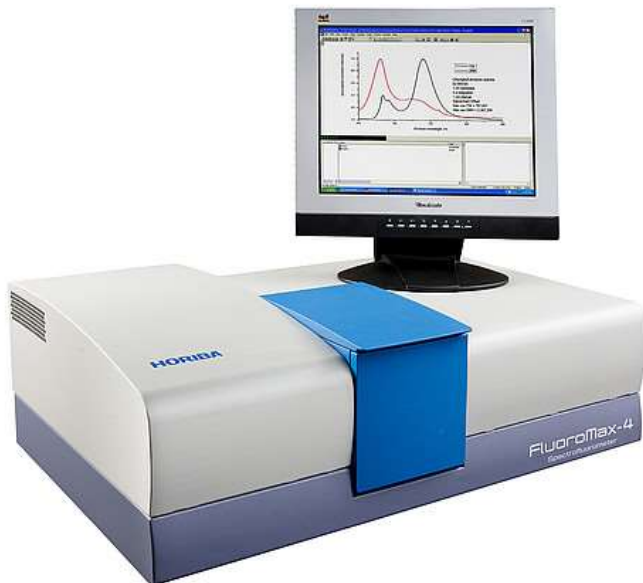
**PUREZA**

**ESTRUCTURAS  
DE BLOQUES**

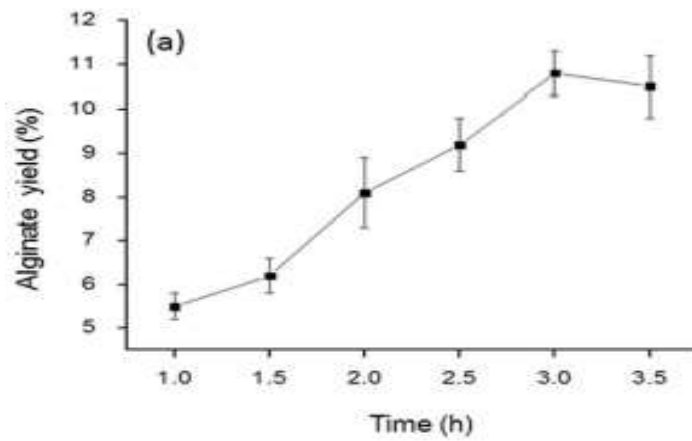
**NÚCLEOS DE  
HIDRÓGENO  
(<sup>1</sup>H NMR)**

# **POLIFENOLES Y PODER REDUCTOR**

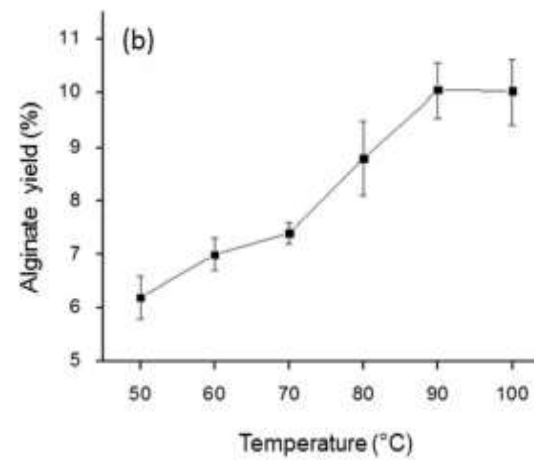
Según la metodología de Singleton y Rossi (1965), para la medición de absorbancia se empleó como estándar ácido gálico y se obtuvieron espectros de fluorescencia con lecturas a 765 nm. Realizando los cálculos adecuados, se obtuvo la cantidad de polifenoles totales presentes en cada muestra reportados como equivalentes de ácido gálico (GAE) en 100 g de alginato seco o en 100 mL de sobrenadante residual, según el caso.



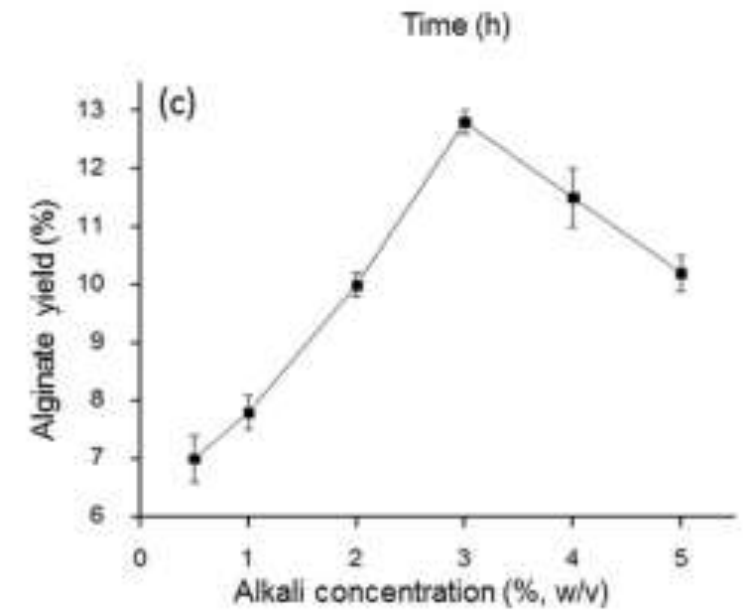
Siguiendo la metodología de Oyaizu (1986), las absorbancias se midieron a 700 nm empleando diferentes concentraciones de ácido ascórbico (10 – 500  $\mu\text{g/mL}$ ) como referencia para la comparación del poder reductor. Un aumento en las lecturas de absorbancia son indicativo del aumento en el poder reductor del alginato y el sobrenadante.



Efecto del tiempo (h) sobre el rendimiento de extracción de alginato (%).



Efecto de la temperatura (°C) sobre el rendimiento de extracción de alginato (%).



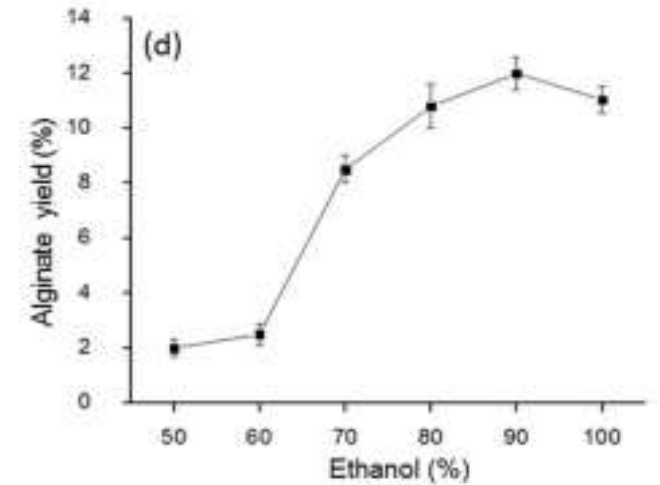
Efecto de la concentración de álcali (%) sobre el rendimiento de extracción de alginato (%).

### Independent variables

### Levels of variables

	-1.682	-1	0	+1	+1.682
Temperature (°C)	60	68	80	92	100
Alkali percentage (%)	1	1.8	3	4	5
Solvent percentage (%)	70	76	85	94	100

Tabla 4. Variables independientes y sus niveles empleados en el diseño de la superficie de respuesta.



Efecto del porcentaje de etanol (%) sobre el rendimiento de extracción de alginato (%).



El tiempo de extracción es una de las variables críticas, pues una exposición prolongada del disolvente en la biomasa permite que el alginato se disuelva y posteriormente se libera en el medio de extracción (Davis et al., 2004).

El efecto de la temperatura en el rendimiento de extracción muestra que, a temperaturas menores (50 – 70°C) y manteniendo todos los parámetros del proceso constantes (porcentaje de álcali, HCl y tiempo de extracción), el rendimiento de extracción es pequeño.

En la industria, el empleo de álcali para la extracción de alginatos, según estudios reportados, cambia la matriz de ácido algínico a alginato de sodio soluble obteniendo de esta forma un “gel viscoso” (Fenoradosoa et al., 2010)

Al emplear solventes como etanol en proporciones de entre el 90% y 100% en la extracción de alginatos, se alcanza el punto máximo de precipitación (Vauchel et al., 2009).





La cantidad cosechada depende de la demanda del producto por la compañía extranjera y de la disponibilidad por condiciones ambientales. Sin embargo, en términos generales se considera que este recurso es subutilizado pues existen entre 80 y 100,000 tm cosechables (Hernández-Carmona et al., 1999b).

En México la producción de alginatos es nula, por lo que para su obtención se recurre a la importación (Secretaría de Comercio Exterior y Fomento Industrial, 1986).



**CP Kelco**  
A HUBER COMPANY

# Industria de Alginatos en México

Esta industria no se ha desarrollado, debido principalmente a factores tales como:

- ▶ Escasez de materia prima, que puede darse por una sobreexplotación o por fluctuaciones naturales en el tiempo
- ▶ Costos de instalación a nivel industrial.
- ▶ Falta de tecnología adecuada, apoyo gubernamental e industrial.





# Conclusiones en avance



La investigación bibliográfica respecto a la composición del sargazo (Género Sargassum) sigue avanzando, sin embargo, la información obtenida hasta el momento indica que este género contiene un porcentaje alto de polisacáridos, los cuáles, en su mayoría utilizan métodos analíticos para su caracterización como la espectrofotometría, cromatografía, Termogravimetría, entre otros. En cuanto al proceso de extracción del alginato crudo, el efecto que tienen las distintas variables de proceso su rendimiento impacta en la eficiencia de extracción y rendimiento.



La industria alimentaria tiene un campo amplio en el uso de alginatos. La calidad de extracción varía con frecuencia de acuerdo a diferentes factores (ambientales, de muestreo, métodos de análisis, etc.).



Aún se continúa con la revisión bibliográfica de posible aplicación como oportunidad de mejora en el desarrollo de nuevos productos alimenticios en México.

# Actividades Complementarias de Formación Académica

- Seminario web: Validación de métodos analíticos (llevado a cabo el día 7 de abril 2021 con una duración de 2 h en la Ciudad de México), impartido por la Ing. Claudia Hernández especialista en espectroscopia.
- Seminario web: Comparación de métodos analíticos (llevado a cabo el día 8 de abril 2021 con una duración de 2 h en la Ciudad de México), impartido por la Ing. Claudia Hernández especialista en espectroscopia.
- Seminario web: Estabilidad de una muestra analítica (llevado a cabo el día 9 de abril 2021 con una duración de 2 h en la Ciudad de México), impartido por la Ing. Claudia Hernández especialista en espectroscopia.
- Elaboración de propuesta de práctica: Métodos Espectroscópicos Cuantitativos. Espectrofotometría Ultravioleta-Visible. Análisis de pigmentos algales en muestras de macroalgas (Sargassum).





## PROPUESTA DE PRÁCTICA

### Métodos Espectroscópicos Cuantitativos. Espectrofotometría Ultravioleta-Visible.

#### Análisis de pigmentos algales en muestras de macroalgas (*Sargassum*).



## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Fundamento de la técnica analítica

Los métodos espectroscópicos analíticos miden la cantidad de radiación que es absorbida o producida por especies moleculares/atómicas en estudio. De acuerdo con la radiación que emitan o absorban se van a ubicar en diferentes regiones del espectro electromagnético clasificándose de esta forma en: rayos g, rayos X, ultravioleta (UV), visible, infrarrojo (IR), microondas y las de radiofrecuencia (RF). Estos métodos analíticos son una herramienta útil para determinaciones cuantitativas y cualitativas tanto de compuestos inorgánicos como orgánicos. (Skoog et al. 2014)

Una transición desde un nivel bajo a un nivel alto de energía acompañado de una transferencia de energía se llama absorción. (Lab. Eq. Y Cin. 2010) Diferentes especies químicas moleculares orgánicas e inorgánicas absorben radiación ultravioleta (UV) y visible en función de longitudes de onda específicas (dentro de un rango de 0.6 a 380 nm) (Monge, P. S., 2015); esta cantidad de energía radiante absorbida se produce por la excitación de los electrones de enlace, por lo tanto, la longitud de onda de los máximos de absorción se puede relacionar con los enlaces de las especies absorbentes (Téllez et al. 2020).

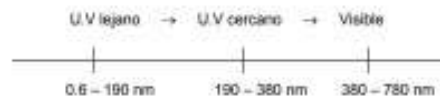


Figura 1. Rango de lectura para UV-Visible (Téllez et al. 2020)

Para llevar a cabo esta técnica se emplea un espectrofotómetro, instrumento en el cual se detecta la cantidad de luz producida o absorbida a través de la muestra en estudio (solución) depositada en una celda, comparándola con la que se produce o absorbe a través de una solución de referencia (blanco) (Téllez et al. 2020). Los espectrofotómetros ofrecen varias ventajas considerables, pueden variar continuamente la longitud de onda empleada, son simples, resistentes y de bajo costo (Skoog et al. 2014).

La transmitancia de la muestra se define como la relación de la radiación transmitida y la incidente ( $T = \frac{I}{I_0}$ ). La disminución de la intensidad de la radiación depende de la concentración del absorbente y de la longitud del camino recorrido por el haz. Estas relaciones se recogen en la Ley de Lambert-Beer, la cual es el fundamento de la espectrofotometría.

$$A = -\log_{10} T = \epsilon b c$$

Elaboró: Ibe Pamela Bernal España [Estudiante de Licenciatura Química de Alimentos]  
Revisó: Dra. Ma. Teresa de J. Rodríguez Salazar [Depto. de Q. Analítica, Fac. de Química]  
Asignatura: Química Analítica Experimental II (1607: QA, QFB; 1700 Q)

Noviembre 2020

Establece una relación lineal entre la absorbancia (A) y la concentración (c), donde:

- a es la constante de proporcionalidad llamada coeficiente de absorción molar, absorptividad molar o coeficiente de extinción ( $M^{-1} cm^{-1}$ ). Es la característica de una sustancia que nos dice cuánta luz absorbe a una longitud de onda determinada.
- b es el paso óptico, anchura de la celda que contiene la muestra (cm).
- c es la concentración molar de la especie (M) de la cual estamos midiendo la absorbancia.

La ley de Lambert-Beer se cumple para una radiación monocromática que atraviesa una disolución diluida ( $\leq 0.01M$ ), cuando la especie absorbente no participa en un equilibrio que dependa de su concentración.

### 1.2 Aplicación de la técnica analítica

Las algas se han venido utilizando desde hace mucho tiempo como alimento y fertilizante; sin embargo, con el desarrollo industrial en los últimos años, cada día se emplean más para extraer compuestos químicos de gran valor económico (Murillo, G. M., 2017).

La clorofila es un pigmento verde presente en las algas cuya función es la absorción de la energía luminosa en diferentes longitudes de onda, y transferir esta a los centros de reacción donde es utilizada para realizar la fotosíntesis. Estos pigmentos están divididos en tres grupos: Clorofilas (a, b, c1, c2, c3), Carotenoides (carotenos y sus derivados oxigenados conocidos como xantofilas), y Biliproteínas (aloficocianinas, ficocianinas, ficoeritrinas). En el reino vegetal, la clorofila a es el pigmento universal y la cantidad de clorofila a respecto a otros componentes celulares y o pigmentos presentes en el tejido va a variar de acuerdo con factores como limitación de luz y nutrientes, entre otros (Lobban & Harrison, 1994). Por sus características y beneficios a la salud se extrae y se utiliza en alimentos, farmacia y cosmética. Por su alta concentración se extrae generalmente de las espinacas, berro y acelgas, aunque se hace necesario el estudio de otras variedades como las algas con posibilidad de uso (Ruiz et al. 2019).

Las clorofilas y carotenos son moléculas solubles en grasas y pueden extraerse de las membranas tilacoides con solventes orgánicos, tales como acetona, metanol o DMSO. En contraste las ficobilinas y la peridrina son solubles en agua y pueden extraerse del tejido algal después de haber extraído las clorofilas y carotenoides con solventes orgánicos.

La determinación de la concentración de clorofila-a provee información acerca de la cantidad (biomasa) y actividad fotosintética potencial de la mayor parte del fitoplancton presente en un cuerpo de agua (algas y cianobacterias), con la excepción de las bacterias fotosintéticas, las cuales carecen de dicho pigmento. El metabolito más importante de la clorofila es la feofitina. La relación entre clorofila y feofitina es indicativa del estado fisiológico de las algas (Araza et al. 2019).

Los picos señalados en la figura 2 representan la longitud de onda de la luz solar donde absorben fuertemente las dos formas de pigmentos fotosintéticos, (clorofila a y clorofila b). Esos pigmentos, absorben predominantemente la luz violeta-azul y la luz roja en dos bandas estrechas del espectro

Elaboró: Ibe Pamela Bernal España [Estudiante de Licenciatura Química de Alimentos]  
Revisó: Dra. Ma. Teresa de J. Rodríguez Salazar [Depto. de Q. Analítica, Fac. de Química]  
Asignatura: Química Analítica Experimental II (1607: QA, QFB; 1700 Q)

Noviembre 2020

Activar y  
Ve a Config



y reflejan la luz verde en la parte media. Los carotenoides absorben principalmente la luz azul y verde, y reflejan la luz anaranjada y amarilla (Motten, A. F., 2004).

Partiendo de lo anterior, el presente protocolo brinda un análisis cuantitativo acerca de la espectrofotometría mediante la relación que existe entre los conceptos de espectro de luz o radiación electromagnética, absorbancia y pigmentos, que se refiere a la absorbancia que originan los pigmentos, en este caso la clorofila extraída de Sargazo.

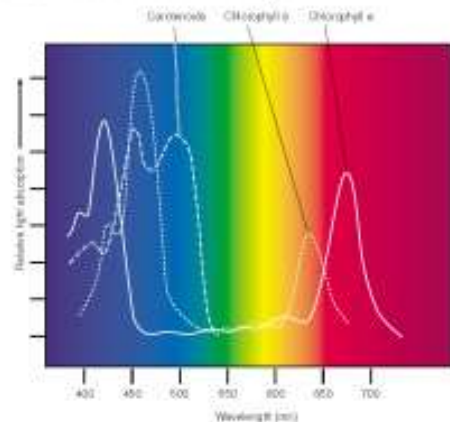


Figura 2. Espectro de absorción de la Clorofila (Figuerro et al. 2009).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivos Generales

Estimular el aprendizaje a través de la investigación bibliográfica, observación y registro experimental.

Comprender la relación de la pigmentación con el análisis por espectrofotometría UV-Vis.

Identificar los principales pigmentos presentes en organismos fotosintéticos (algas).

Ser capaz de correlacionar el contenido pigmentario de los organismos estudiados con los factores ambientales en que se desarrollan.

Adquirir un conocimiento amplio en la aplicación de la técnica analítica: Espectrofotometría Ultravioleta-Visible (UV-Vis).

### 3. ACTIVIDAD PRELIMINAR

- Investiga y menciona la función que desempeñan cada una de las partes que componen un espectrofotómetro.

Elaboró: Ibe Pamela Bernal España (Estudiante de Licenciatura Química de Alimentos)  
Revisó: Dra. Ma. Teresa de J. Rodríguez Salazar (Depto. de Q. Analítica, Fac. de Química)  
Asignatura: Química Analítica Experimental II (1607: QA, QFB; 1700 Q)

Noviembre 2020

3

- ¿Qué es, para qué sirve y cómo se construye una curva patrón?
- ¿Qué es blanco de calibración y como se realiza su medición en la curva patrón?
- ¿Qué es verificación instrumental y cuáles son los principales parámetros para controlar en un espectrofotómetro?

## 4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Este procedimiento experimental aplicado para la determinación cuantitativa de la clorofila-a es seguido según lo reportado por Hernández, G. E., (2015).

### 4.1 Material y equipo

- Espectrofotómetro UV-Vis
- Celdas de cuarzo (1 cm)
- Agitador de vidrio
- Mortero de porcelana con pistilo
- Centrífuga
- 3 tubos de centrífuga con tapas de rosca
- Pipetas volumétricas de 1.0 mL, 3.0 mL y 5.0 mL
- 3 Matraces aforados de 10 mL
- Vaso de precipitado de 150 mL
- Pipetas Pasteur
- 2 matraces volumétricos de 10 mL y 5 mL
- Tubos eppendorf
- Espátula

### 4.2 Reactivos

- Material algal fresco (Sargazo)
- Acetona (en frío) o nitrógeno líquido.
- Acetona al 90% (en frío)
- Hielo
- Agua destilada

### 4.3 Preparación de la muestra

Tomar 0.5 g de peso fresco del alga (Sargazo). Moler en un mortero con acetona fría (se recomienda tener previamente en congelador el mortero y el pistilo). Moler el tejido hasta pulverizar.

### 4.4 Preparación de blanco

Se debe analizar un reactivo blanco (acetona) por cada corrida de muestras. Este reactivo es un filtro blanco que se extrae y analiza como cualquier otra muestra, se realiza una medida a 750 nm para determinar la turbidez, la cual se resta de las medidas de las otras absorbancias a 664 y 665 nm.

La celda de cuarzo se lava con acetona al 90% y se llena de acetona para realizar una lectura y corregir la absorbancia debida al disolvente en cada una de las longitudes de onda (Blanco). Se utiliza para determinar la posible contaminación de reactivos o materiales. Apuntar los datos obtenidos.

Elaboró: Ibe Pamela Bernal España (Estudiante de Licenciatura Química de Alimentos)  
Revisó: Dra. Ma. Teresa de J. Rodríguez Salazar (Depto. de Q. Analítica, Fac. de Química)  
Asignatura: Química Analítica Experimental II (1607: QA, QFB; 1700 Q)

Noviembre 2020

4

Activar V  
Ve a Config

#### 4.5 Curva de calibración

Cada vez que se realice este procedimiento es necesario realizar una curva de calibración a partir de una solución estándar de clorofila-a (proporcionada por el profesor), utilizando como mínimo 5 puntos con concentraciones entre 1 y 15 mg/L. La solución estándar de Clorofila-a se debe preparar en ausencia de luz de acuerdo con la metodología reportada por Menéndez, M., (2017).

Se transfiere el contenido de la ampolla (1 mg) a un matraz conteniendo 25 mL de acetona al 90 %. Se logra así una concentración de 40 mg/L. Recubrir el matraz con papel de aluminio para protegerlo de la luz.

En la siguiente tabla se muestran las posibles diluciones para realizar la curva de calibración a partir de la solución estándar de clorofila-a, éstas se llevan a un volumen final de 10 mL.

Concentración de la solución a preparar (mg/L)	Toma de la solución estándar (mL)
1	0.25
3	0.75
6	1.5
9	2.2
12	3
15	3.8

Tabla 1. Diluciones y concentraciones para realizar curva de calibración de clorofila-a (Menéndez, M., 2017).

#### 4.6 Verificación instrumental

Solicitar al profesor de asignatura el procedimiento para la verificación del instrumento: espectrofotómetro UV-Visible (uv spectrophotometer, uv 1500pc).

#### 4.7 Determinación analítica de la concentración

- Transferir el tejido pulverizado a un homogeneizador de vidrio. Agregar de 2 a 3 mL de acetona al 90% enfriada en hielo.
- Transferir a un tubo de centrifuga. Lavar el mortero con un volumen adicional de 2 mL de acetona y transferir también al tubo de centrifuga; repetir este paso de lavado, si es necesario, hasta que no quede color apreciable en el mortero.
- Centrifugar a 1000 rpm por 2 minutos. Decantar el sobrenadante en la celda correspondiente para su lectura.

#### ➔ A considerar:

Cualquier compuesto que absorba luz entre 664 y 665 nm puede interferir en la exactitud de las medidas de absorbancia de la muestra.

Una medida mayor a 0,005 U.A. indica una solución poco clara, lo cual se soluciona centrifugando o filtrando la muestra, previo a la lectura hasta que quede incoloro. El valor del máximo de absorbancia del espectro obtenido deberá estar comprendido entre 0.5 y 1.5 unidades.

Todos los pigmentos fotosintéticos son sensibles a la luz. El trabajo se debe realizar con luz tenue y todos los estándares materiales de control de calidad y muestras filtradas se deben almacenar en la

**Elaboró:** Ibe Pamela Bernal España (Estudiante de Licenciatura Química de Alimentos)  
**Revisó:** Dra. Ma. Teresa de J. Rodríguez Salazar (Depto. de Q. Analítica, Fac. de Química)  
**Asignatura:** Química Analítica Experimental II (1607: QA, QFB; 1700 Q)

oscuridad entre -20 °C y -70 °C para prevenir la rápida degradación. Mientras no es filtrada, la muestra debe ser refrigerada a  $\leq 6$  °C ( $> 0$  °C), en oscuridad.

Realice las mediciones de cada solución por triplicado y registre el valor de absorbancia en su bitácora.

Grafique la curva de calibración Absorbancia vs Concentración, para obtener la concentración de la muestra medida y multiplique por el factor de dilución correspondiente. Evalúe la información obtenida. Observe y registre la información en su bitácora de prácticas.

Análito	$\lambda$ (nm)	Absorbancia
Clorofila-a	630	
	647	
	664	
	750	

Tabla 2. Lecturas de absorbancia recomendadas para clorofilas. Hernández, G. E., (2015).

#### 5. CUESTIONARIO

- ¿Cuál es la importancia de emplear un solvente orgánico en la extracción de pigmentos?
- ¿Cuáles son las ventajas y desventajas del método espectrofotométrico UV-Vis en la extracción de pigmentos?
- ¿Cuál es la importancia de mantener las muestras en frío y en oscuridad antes de su análisis?
- Menciona la relación que existe entre la Ley de Lambert-Beer y el método espectrofotométrico UV-Vis.
- ¿Cuál es la utilidad de emplear soluciones blanco?
- Investiga e ilustra la estructura química de la clorofila.

#### 6. BIBLIOGRAFÍA

- Araiza, M. M. J., Balandrano, F. A. L., Hernández, C. J. P., (2019). *Alga Sargazo como posible fuente de materias primas para la extracción de carotenoides*. Memorias del XXX concurso Iasallista de Investigación, desarrollo e innovación, 21, 25-28. Enero 2021, De CUIDI Base de datos.
- Azcarate, M. P., Kloster, N. S., Ostinelli, M., Carreira D., (2011). *Guía para la verificación de espectrofotómetros uv-visible utilizados en el análisis de suelo y agua*. VI IBEROLAB, 1, 1-4.
- Dosal, M. A. and Villanueva, M., (2008). *Curvas de calibración en los métodos analíticos*. Introducción a la metrología química, 1, 1-9. Enero 2021, De Antología de Química Analítica Experimental Base de datos.
- Figueria, F. L., Israel, A., Neori, A., Martínez, B., Malta, E. J., Ang, P. J., Inken, S., Marquardt, R., Korbee, N., (2009). *Effects of nutrient supply on photosynthesis and pigmentation in Ulva lactuca (Chlorophyta): responses to short-term stress*. Vol. 7: 173-183. Aquatic biology.
- Hernández, G. E., (2015). *Manual de Prácticas de Laboratorio de Fitoquímica Marina*. Universidad Autónoma de Baja California, 1, 1-87. Noviembre 2020, De Facultad de Ciencias Marinas de la UABC Base de datos.
- Laboratorio de Equilibrio y Cinética. (2010). *Fundamentos de Espectrofotometría*. Cinética Química, 1, 1-18. Noviembre 2020, De Facultad de Química, UNAM. Base de datos.

**Elaboró:** Ibe Pamela Bernal España (Estudiante de Licenciatura Química de Alimentos)  
**Revisó:** Dra. Ma. Teresa de J. Rodríguez Salazar (Depto. de Q. Analítica, Fac. de Química)  
**Asignatura:** Química Analítica Experimental II (1607: QA, QFB; 1700 Q)



- Lara, M. J. V., (2020). *Calificación de operación de espectrofotómetros de absorción atómica*. Centro Nacional de Metrología, Materiales Metálicos, 1, 1-6. Enero 2021, De CENAM Base de datos.
- Lobban, Ch. S. and Harrison, P. J., (1994). *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom: Ecological Society of America.
- Menéndez, M., (2017). *Determinación de Clorofila-a y Feofitina-a encontradas en fitoplancton de agua dulce y marina*. Manual de procedimientos analíticos para muestras ambientales, Versión 5, 1-8. Enero 2021, De Dirección Nacional de Medio Ambiente DINAMA Base de datos.
- Monge, P. S., (2015). *Desarrollo del método para la cuantificación de la clorofila-a en muestras de agua, por espectroscopia ultravioleta visible*. Tesis de Licenciatura. Universidad de El Salvador. Facultad de Química y Farmacia.
- Motten, A. F., (2004). *Diversity of photosynthetic pigments in tested studies for laboratory teaching*. Vol. 25 (M. A. O'Donnell, Editor), pp. 159-177.
- Murillo, G. M., (2017). *Proyecto de recolección de sargazo en las costas del acibe mexicano: diseño y evaluación*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. Programa de maestría y doctorado en Ingeniería (Ingeniería de sistemas-Ingeniería industrial).
- Ruiz, S. F. L., Ruiz, J. A., Hernández, B. J. A., García, J. R., Valadez, V. A., (2019). *Extracción y cuantificación de clorofila en hojas comestibles del estado de Tabasco*. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Vol. 4, 891-896. Noviembre 2020, De Universidad Tecnológica de Tabasco, División de Procesos Industriales Base de datos.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., Crouch, S. R., (2014). *Fundamentos de Química Analítica*. USA: Cengage Learning.
- Téllez, O. M., Domínguez, D. R., González, Ch. E., (2020). *Conocimiento de técnicas analíticas parte I: fundamentos de espectrofotometría*. Departamento de Fisicoquímica, P7, 1-6. Noviembre 2020, De Facultad de Química, UNAM. Base de datos.

**Elaboró:** Ise Pamela Bernal España (Estudiante de Licenciatura Química de Alimentos)  
**Revisó:** Dra. Ma. Teresa de J. Rodríguez Salazar (Depto. de Q. Analítica, Fac. de Química)  
**Asignatura:** Química Analítica Experimental II (1607: QA, QFB; 1700 Q)



Actividades por  
realizar

Concluir proyecto de tesis  
Titulación Lic. Química de  
Alimentos.



EG

88 (226) 2	6 12,01115 2,±4	53 126,904 ±1,3,5,7	33 74,992 ±3,5
700 5,0 <b>Ra</b>	4830 3727 2,26 <b>C</b>	185 113,7 4,94 <b>I</b>	613 817 5,72 <b>As</b>
(Rn)7s <sup>2</sup> <b>Radio</b>	1s <sup>2</sup> 2s <sup>2</sup> 2p <sup>2</sup> <b>Carbono</b>	(Kr)4d <sup>10</sup> 5s <sup>2</sup> 5p <sup>5</sup> <b>Yodo</b>	(Ar)3d <sup>10</sup> 4s <sup>2</sup> 4p <sup>3</sup> <b>Arsénico</b>

# Referencias

- Anon., 1954. The seaweed story. Dept. of Fish and Game. Sacramento, California, U. S. A.
- Baranov, V. et al., 1980. Method to obtain sodium alginate, Patent 707, 561, USSR.
- Bezerra, M. A. et al., 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta* 76:965 – 977
- Borazjani, N. J., et al., 2017. Effects of extraction methods on molecular characteristics, antioxidant properties and immunomodulation of alginates from *Sargassum angustifolium*. *International Journal of Biological Macromolecules* <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.128>
- Cubas, P., 2008. Phaeophyta (algas cafés). Obtenido el 28 de mayo de 2021 de: [https://www.aulados.net/Botanica/Curso\\_Botanica/Algas\\_pardas/7\\_Phaeophyta\\_texto.pdf](https://www.aulados.net/Botanica/Curso_Botanica/Algas_pardas/7_Phaeophyta_texto.pdf)
- Charoensiddhi, S., et al., 2016. Enzyme-assisted extraction of carbohydrates from the brown alga *Ecklonia radiata*: Effect of enzyme type, pH and buffer on sugar yield and molecular weight profiles, *Process Biochem.* 51,1503–1510.
- Davis, T. A. et al., 2004. Extraction, isolation and cadmium binding of alginate from *Sargassum* spp. *J Appl Phycol* 16:275–284
- Espín, G. et al., 2000. Gacs sensor kinase regulates alginate and poly-b-hydroxybutyrate production in *Azotobacter vinelandii*, *Journal of Bacteriology*, 182 (9), 2624-2628, Cuernavaca, Morelos, México.
- Fenoradosoa, T. A. et al., 2010. Extraction and characterization of an alginate from the brown seaweed *Sargassum turbinarioides* Grunow. *J Appl Phycol* 22:131 – 137
- Haug, A. and Larsen, B. Biosynthesis of alginate Polimannuronic acid c-5-epimerase from *Azotobacter vinelandii* (Lipman). Edited by R. M. Magalef, Oxford; Pergamon. Press. pp. 443-451
- Haug, A. et al. 1967b. Correlation between Chemical structure and Physical properties of alginates. *Acta Chem. Scand.*, Ref. 21:768-78.
- Hernández-Carmona, G. et al., 1999b. Pilot plant scale extraction of alginates from *Macrocystis pyrifera*. Studies on extraction conditions and methods of separating the alkalineinsoluble residue. *J Appl Phycol* 11:493–502
- Hernández-Carmona, G. et al., 2002. Pilot plant scale extraction of alginates from *Macrocystis pyrifera*. Conversion of alginic acid to sodium alginate, drying and milling. *J Appl Phycol* 14:445 – 451
- Hernández–Carmona G. et al., 2011. Avances tecnológicos en la producción de alginatos en México. Obtenido de *Technological Advance for Alginate Production in Mexico*: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-77432012000200003](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-77432012000200003)
- Hii, S. L., et al., 2015. Statistical optimization of fermentable sugar extraction from the Malaysian brown alga *Sargassum binderi*. *J Appl Phycol* 27:2089 – 2098
- Klöck, G., et al., 1997. Biocompatibility of mannuronic acid-rich alginates. *Biomaterials* 18:707 – 713
- Liu, L. et al., 2012. Towards a better understanding of medicinal uses of the brown seaweed *Sargassum* in Traditional Chinese Medicine: a phytochemical and pharmacological review. *J Ethnopharmacol* 142:591–619.
- Lorbeer, A. J. et al., 2015. Multiple-response optimization of the acidic treatment of the brown alga *Ecklonia radiata* for the sequential extraction of fucoidan and alginate. *Biores. Technol.* 197, 302–309.

## Referencias:

- Mata, J., 2006. Caracterización de los exopolisacáridos producidos por microorganismos halófilos pertenecientes a los géneros Halomonas, Alteromonas, Idiomarina, Palleronia y Salipiger. Tesis.
- Mazumder, A. et al., 2016. Extraction of alginate from *Sargassum muticum*: process optimization and study of its functional activities. *Journal Appl. Phycol.* DOI 10.1007/s10811-016-0872-x
- Mchugh, D., 1987. Production, properties and uses of alginates. *FAO, Fisheries Technical Paper*, 288, 58-115.
- McHugh, D. J. et al., 2001. Pilot plant scale extraction of alginates from *Macrocystis pyrifera*: 3. Precipitation, bleaching and conversion of calcium alginate to alginic acid. *J Appl Phycol* 13:471 – 479
- Mchugh, D., 2003. A guide to the seaweed industry. *FAO, Fisheries Technical Paper*, 441, 105.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reaction—antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 44:307 – 315
- Round, F. E., 1981. *The Ecology of Algae*. Cambridge University Press. Printed in Great Britain.
- Sabra, W. et al., 2000. Effect of oxygen on formation and structure of *Azotobacter vinelandii* alginate and its role in protecting nitrofenase, *American Soc. Of Microbiology*, 66, 4037-4044.
- Secretaría de Comercio Exterior y Fomento Industrial, 1986. Departamento de Documentación. México, D. F.
- Secretaría de Marina. (23 de Octubre 2020). En 2020 se recolectaron 17,865 tons de sargazo, con el apoyo de los 3 órdenes de Gobierno, Sector Privado y población quintanarroense.. 08 de Junio 2020, de Secretaría de Marina (Semar) Prensa Sitio web: <https://www.gob.mx/semar/prensa/marina-informa-que-en-2020-se-recolectaron-17-865-toneladas-de-sargazo-con-el-apoyo-de-los-tres-ordenes-de-gobierno-sector-privado-y-pueblo-quintanarroense?idiom=es>
- Singleton, V. L. and Rossi, J. A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144 – 158
- Stewart, W. D. P., 1974. *Algal Physiology and Biochemistry*. Botanical Monographs. Vol. 10. University of California Press, Berkeley and Los Angeles. Printed in Great Britain, Blackwell Scientific Publication Ltd.
- Vauchel, P. et al., 2009. Kinetics modeling of alginate alkaline extraction from *Laminaria digitata*. *Bioresource Technol* 100:1291–1296
- Zykwincka, A. et al., 2006. Alkaline extractability of pectic arabinan and galactan and their mobility in sugar beet and potato cell walls. *Carbohydr Polym* 65:510 – 520

