



FACULTAD DE INGENIERIA, ARQUITECTURA Y URBANISMOS

**ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL Y COMERCIO EXTERIOR**

TESIS

**OPTIMIZACIÓN DE PRE-EXTRACCIÓN DE κ Y λ
CARRAGENANOS A PARTIR DEL ALGA
COCHAYUYO (*Chondracanthus chamissoi*)**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL Y COMERCIO EXTERIOR**

Autores:

**Bach. Castañeda Palacios Cristian Manuel
Bach. Teque Vera Myrlin Sarita**

Asesor:

Ms. Símpalo López Walter Bernardo

Línea de Investigación:

Ingeniería de Procesos Productivos

Pimentel- Perú

2018

Agradecimiento

A Dios, por ayudarme a cumplir mis metas profesionales dándome la fuerza, sabiduría y paciencia para hacerlo.

Mis padres, quienes me han enseñado valores y cómo afrontar la vida, por tenerlos a mi lado y tener la gran dicha de seguir aprendiendo de ellos.

Mis hermanos que con su apoyo y crítica constructiva me permiten conocer mis debilidades, y así esforzarme por ser cada día mejor.

Mis compañeros y amigos de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial y Comercio Exterior, con quienes compartí momentos de estudio, compañerismo y solidaridad.

Mi asesor el ing. Walter Bernardo Símpalo López por brindarme su experiencia, amistad y apoyo incondicional para la realización de la tesis.

Dedicatoria

A mi Dios, con todo mi corazón

Mi dedicatoria es a Dios por haberme orientado por el camino del bien, por darme la salud, la fuerza y la fe. Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor, me diste la oportunidad de vivir y me regalaste una familia maravillosa

A mis padres

Por sus buenos consejos y apoyarme en todo sentido, me brindan sentido de responsabilidad, respeto y perseverancia y siempre me dan esperanzas para lograr hazañas. Si ahora soy una persona de fe es gracia a ellos que siempre me encaminaron por el sendero del bien. Se dedicaron en cuerpo y alma para velar por mi bienestar y por ello no los quiero defraudar; porque son y serán mi fuerza en todo mí devenir

INDICE

INTRODUCCION

| | |
|--|-----------|
| CAPITULO I. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN | 12 |
| 1.1. Situación Problemática..... | 12 |
| 1.2. Formulación del problema..... | 14 |
| 1.3. Delimitación de la Investigación | 14 |
| 1.4. Justificación e Importancia de la Investigación..... | 15 |
| 1.5. Limitaciones de la investigación | 16 |
| 1.6. Objetivos de la investigación | 17 |
| Objetivo general | 17 |
| Objetivo específico | 17 |
| CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO | 17 |
| 2.1. Antecedentes de estudios | 17 |
| 2.2. Estado de arte | 20 |
| 2.3. Bases teórico científicas..... | 23 |
| 2.3.1. Aspectos generales de <i>Chondracanthuschamissoi</i> | 23 |
| 2.3.2. Generalidades de las carrageninas | 25 |
| 2.3.3. Tipos de carrageninas..... | 26 |
| 2.3.4. Procesos de extracción de las carrageninas | 30 |
| 2.3.5. Funciones y propiedades tecnológicas de las proteínas | 32 |
| 2.3.6. Metodología Superficie de Respuesta..... | 38 |
| 2.3.7. Diseño Compuesto Central | 40 |
| 2.4. Definición de términos básicos..... | 43 |
| CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO..... | 46 |
| 3.1. Tipo y diseño de la investigación..... | 46 |
| 3.1.1. Tipo de investigación | 46 |
| 3.1.2. Diseño de la investigación | 46 |
| 3.2. Población y muestra..... | 46 |
| 3.3. Hipótesis | 47 |
| 3.4. Variables | 47 |
| 3.5. Operacionalización de variable | 47 |

| | |
|--|----|
| 3.5.1. Abordaje metodológico, técnicas e instrumentos de recolección de datos..... | 48 |
| 3.5.1.1. Instrumentos de recolección de datos | 48 |
| 3.5.1.2..... Lugar de ejecución | 49 |
| 3.5.1.3. Materias primas..... | 49 |
| 3.5.1.4. Materiales..... | 49 |
| 3.5.1.5. Reactivos | 50 |
| 3.5.1.6. Equipos | 50 |
| 3.5.2. Procedimiento para la recolección de datos | 51 |
| 3.5.2.1. Caracterización de la materia prima | 51 |
| 3.5.2.2. Procedimiento de pre – extracción de carrageninas ... | 51 |
| 3.5.2.3. Procedimiento de fraccionamiento de carrageninas..... | 54 |
| 3.5.2.4.....Caracterización de carrageninas | 55 |
| 3.5.2.5.....Evaluación de viscosidad de las carrageninas..... | 56 |
| 3.5.3. Análisis Estadísticos e Interpretación de los Datos..... | 56 |
| 3.5.4. Principios éticos | 58 |
| 3.5.5. Criterios de rigor científico | 59 |

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.....60

| | |
|---|----|
| 4.1. Resultados en tablas y graficas..... | 60 |
| 4.1.1. Caracterización de materia prima..... | 60 |
| 4.1.2 Caracterización de carrageninas | 63 |
| 4.1.3 Evaluación de viscosidad de las carrageninas | 64 |
| 4.1.4 Evaluación del rendimiento de k-carragenanos | 66 |
| 4.1.5 EEvaluación del rendimiento de λ - carragenanos | 68 |
| 4.2. DISCUSIONES | 71 |

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....71

| | |
|---------------------------|----|
| 5.1. CONCLUSIONES | 74 |
| 5.2 RECOMENDACIONES | 75 |

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANEXO

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 2.1 Ubicación taxonomica del cochayuyo | 23 |
| Tabla 2.2 Composicion del cochayuyo | 24 |
| Tabla 2.3 Contenido de minerales en el cochayuyo | 24 |
| Tabla 2.4 Contenido de vitaminas en el cochayuyo | 25 |
| Tabla 2.5 Pesos moleculares y compuestos quimicos de las carrageninas | 27 |
| | |
| Tabla 3.1 Operacionalizacion de variables | 48 |
| Tabla 3.2 Diseño de evaluacion de concentracion y tiempo | 57 |
| | |
| Tabla 4.1 Caracteristicas organolepticas de las meteria prima | 60 |
| Tabla 4.2 Caracterizacion de materia prima | 61 |
| Tabla 4.3 Determinacion de pH..... | 63 |
| Tabla 4.4 Determinacion de viscosidad κ carragenano | 65 |
| Tabla 4.5 Determinacion de viscosidad κ carragenano | 65 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|---|--------------------------------------|
| Figura 2.1 Configuración de tipos de carrageninas | 28 |
| Figura 2.2 conversión de carrageninas | 32 |
| Figura 2.3 proceso de dispersión e hidratación de carragenina..... | 37 |
| Figura 2.4 Interacción de carrageninas | 38 |
| Figura 2.5 Puntos experimentales..... | 42 |
| | |
| Figura 3.1 Etapa de preparación de alga | 52 |
| Figura 3.2 Etapas de fraccionamiento de carragenina semi refinado | 53 |
| Figura 3.3 Etapas de fraccionamiento de carragenina | 55 |
| | |
| Figura 4.1 Preparación de Alga..... | viii |
| Figura 4.2 Determinación de pH de carrageninas..... | 64 |
| Figura 4.3 Diagrama de countur κ -carragenina | 67 |
| Figura 4.4 Diagrama de countur κ -carragenina 3D | ¡Error! Marcador no definido. |
| Figura 4.5 Diagrama de countur λ -carragenina | 70 |
| Figura 4.6 Diagrama de countur λ -carragenina 3D..... | 71 |

Resumen

Éste estudio, parte del análisis de la gran cantidad de aditivos químicos presentes en la mayoría de los productos alimenticios y bebidas que se consumen, siendo estos un tema de preocupación sobre todo en sus efectos secundarios. Teniendo en cuenta que existen aditivos naturales (carragenia de *Chondracanthus chamissoi*) que no son explotados debidamente, y que pueden reemplazar a los aditivos químicos para mejorar los sabores en los alimentos procesados, proporcionar la textura deseada, reemplazar vitaminas y minerales perdidos en los procesamientos y mantener los productos emulsionados estables.

El objetivo de la presente investigación fue optimizar el proceso de pre-extracción de κ y λ carragenanos a partir del cochayuyo (*Chondracanthus chamissoi*). Se analizó las propiedades fisicoquímicas, como composición proximal, viscosidad y pH del cochayuyo y se determinó la concentración de KOH y tiempos de reacción óptimos para lograr mayores rendimientos de extracción.

Se utilizó el software Design Expert 7.0 para diseñar el experimento de optimización y se realizaron 11 tratamientos de combinaciones de diferentes combinaciones de %KOH y tiempo de preextracción. Obteniéndose que el máximo rendimiento de κ -carragenano (69%) y λ -carragenano (70.8%) se logra cuando se utiliza 10% de KOH por 24 horas de reacción.

Concluyendo que la obtención de κ -carragenano y λ -carragenano están en función de la selección adecuada de algas, identificación correcta de las fases de vida, control de parámetros como temperatura, pH, tiempo y concentración de soluciones.

Palabras claves: Carragenanos, *Chondracanthus*, Pre extracción.

Abstract

This study, of the analysis of the large amount of chemical additives present in most food and beverage products consumed, being such a concern especially in their side effects. Given that there are natural additives (carragenia of *Chondracanthus chamissoi*) that are not properly exploited, and can replace chemical additives to enhance the flavors in processed foods, providing the desired texture, replace vitamins and minerals lost in processing and maintain stable emulsified products.

It aims to optimize the pre-extraction κ and λ carrageenan from seaweed (*Chondracanthus chamissoi*), get the best physicochemical properties and simultaneously determine the concentration of KOH and optimal reaction times to achieve higher yields.

25 Kg was collected algae seaweed from the cove of San Jose, obtaining 11 samples which were processed with the Design Expert 7.0 software to obtain a 69% yield in κ -carrageenan and 70.8% in λ -carrageenan; KOH in concentrations of 10 and 24 hour times respectively.

The obtain of the κ -carragenano and λ are -carragenano depending on the proper selection of algae, correct identification of the phases of life, control parameters such as temperature, pH, time and concentration of solutions.

Keywords: Carrageenan, *Chondracanthus*, additives.

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) las cuales se emplean como agente gelificante, espesante y estabilizante en la industria alimentaria, que es el campo de mayor aplicación y cuyo mercado ha crecido notablemente durante los últimos años.

La *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. En el Perú no existe industria procesadora de carragenanos siendo importada de Estados Unidos de Norteamérica, Japón, Francia, Canadá, Dinamarca y Chile esto se debe a la falta de aplicación de procesos tecnológicos para la industrialización de nuevos productos.

Este tipo de alga 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.

Una característica exclusiva de las carrageninas es formar una amplia variedad de texturas de gel a temperatura ambiente: un gel firme o un gel elástico ya sea transparente o turbio; fuerte o débil; termorreversible o estable al calor; alta o baja temperatura de fusión en la gelificación. Puede ser utilizado, también, como agente de suspensión, retención de agua, gelificación, emulsificación y estabilización en otras diversas aplicaciones industriales.

Existen varios tipos de carragenina, que se denominan según la estructura que se encuentra en mayor proporción, sin embargo, sólo cuatro de éstos

son de importancia comercial las cuales son iota, lambda kappa-I y kappa-II.

Se tuvo como objetivo encontrar los parámetros óptimos para la pre-extracción de carragenina y lograr obtener mayores rendimientos y mejores propiedades gelificantes de las carragenianas κ y λ a partir del cochayuyo

La *Chondracanthus chamissoi* fue sometido a proceso de secado y luego ser tratada con las diferentes concentraciones de hidróxido de potasio a diferentes tiempos de remojo en el alcalino ya mencionado, las diferentes muestras las cuales cada una se analizaron y comparadas para así poder extraer las carragenias por medio de extracción al vacío siendo la fracción gelificante se quede atrapada en el filtro y la no gelificante en el recipiente esto se debe a su alto grado de sulfatación, los carragenanos fueron tratados con isopropanol y cloruro de potasio obteniendo rendimientos esperados.

CAPITULO I. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Situación Problemática

El Perú es un país muy diverso tanto en sus productos terrestres como hidrobiológicos, siendo algunos de estos desechados debido a la falta de conocimiento y tecnología para poder aprovecharlos. Uno de estos productos hidrobiológico que abunda en nuestro litoral es el Cochayuyo (*Chondracanthus chamissoi*), el cual es un alga roja de la familia de gigartinácea que habita las costas frías de Chile y Perú. (García, 2010)

De esta alga roja se pueden extraer diferentes tipos de carrageninas, las cuales tienen aplicabilidad en la industria alimentaria. La estructura química de las carrageninas define sus propiedades reológicas, siendo estas de interés las carrageninas kappa II y Lambda las cuales difieren entre familias y géneros de las algas de las cuales se extraen. (Wang et al., 2012).

Actualmente los avances tecnológicos en la industria de alimentos ha permitido un incremento en la aplicación de los hidrocoloides como un aditivo que ofrece múltiples ventajas. Las carrageninas es un hidrocoloide el cual se emplea como agente estabilizante, espesante y gelificante, en diversos productos alimentarios, por lo cual su mercado ha crecido considerablemente a nivel mundial en los últimos años. (Solís-Bravo, 2007)

La falta de aplicación de procesos tecnológicos que nos llevan a la industrialización de nuevos productos está generando como país que nos comportemos como productores de materias primas, que solo se enfoca para la exportación sin darle un valor agregado. Actualmente la recolección del cochayuyo se realiza de forma artesanal por pescadores, en las zonas de baja profundidad del mar.

Posteriormente a la recaudación de las algas estas son expuestas a la radiación solar para así obtener un nivel de humedad ideal para su procesamiento. Si bien nuestro país, aún no cuenta con plantas industriales para la obtención de carrageninas, se debe empezar a estudiar cuales son las condiciones óptimas para poder extraerlas. El contenido de carragenina, extraídas de estas algas, puede variar de acuerdo a las etapas de pre-extracción y de procesamiento, como también debido a las condiciones del mar, como por ejemplo, debido a la concentración de dióxido de carbono, presión de oxígeno, temperatura del agua e intensidad de la radiación solar.(García,2010).

Internacionalmente, podemos mirar al país vecino Chile, en donde, el sector de exportaciones de carragenina, aporta el 5% de los ingresos. Chile está concentrado en tres tipos de algas: pardas, rojas y gracilarias y en subproductos derivados como la carragenina, alginatos y agar agar. Por ejemplo, la aplicación de este aditivo se manifiesta en la leche con chocolate, la cual provoca que el chocolate no precipite. En jamones y pollo este aditivo natural es pieza fundamental para mantener la humedad. Muchos de los productos “listos para comer”, como los flanes, jaleas y budines, contienen este aditivo de algas que permite mejorar la textura (Capital, 2013).

Según el diario Capital (2013), los principales países importadores de carragenina son China, Japón, Noruega y Francia. Chile cuenta con una de las tres plantas más importantes de extracción de carragenina en el mundo. La cual se llama: “Extractos Naturales Gelymar”, del empresario Vicente Navarrete, dueño de la empresa química Oxiquim y uno de los pioneros del negocio de las algas en Chile. Está ubicada en Puerto Montt. Otras empresas importantes son la norteamericana Dupont y japonesa Kimica(Capital, 2013).

En la literatura se pueden encontrar diferentes tecnologías para poder

obtener las carrageninas a partir de las algas, pero la más apropiada es el tratamiento con álcali ya que le confiere mayor poder gelificante. Los aditivos alimentarios son sustancias químicas que se adicionan a los productos alimenticios tales como bebidas, conservas, pulpas, pastas, etc. para que puedan adquirir alguna característica física o sensorial. Entre estos aditivos tenemos mejoradores de sabor, apariencia o textura de los alimentos, y otros actúan como conservantes de los productos alimentarios. Actualmente muchos de estos aditivos están siendo estudiados, ya que se encuentran en muchos productos alimenticios y estos podría tener efectos secundarios en la salud de los consumidores.

Recientes estudios realizados se centran en la investigación para evaluar diferentes tipos de álcalis, concentración y duración del tratamiento en la estructura química y las propiedades gelificantes de la kappa/iota carrageninas extraídas de algas *Chondrus crispus* y *Ahnfeltiopsis devoniensis*. Pero los tiempos y concentraciones de álcalis utilizados difieren del propuesto por Salas de la Torre en su investigación realizada con cochayuyo. (Salas de la Torre 2009).

1.2. Formulación del problema

¿Cuáles son los parámetros óptimos de concentración de KOH y tiempos de pre extracción sobre el rendimiento y propiedades fisicoquímicas de los κ y λ carragenanos del Cochayuyo (*Chondracanthus chamissoi*)?

1.3. Delimitación de la Investigación

La materia prima se obtuvo del distrito de San José y la investigación se realizó en los laboratorios de la Universidad Señor de Sipan, Universidad Pedro Ruiz Gallo y Universidad del Santa – Chimbote.

1.4. Justificación e Importancia de la Investigación

En el mundo, las algas han sido utilizadas tradicionalmente en la alimentación y salud humana. En la actualidad, su cultivo se ha incrementado por la creciente demanda de los hidrocoloides que de ellas se obtienen (agar, carragenanos y alginatos). El cochayuyo es una especie endémica de la costa templada del Pacífico Sur, que se distribuye desde Paita, Perú (5°04' S, 81°05' W), hasta Chiloé, Chile (42°40' S, 73°55' W), y habita en las zonas rocosas del intermareal y submareal (Riofrio, O. 2003), siendo considerada una de las algas rojas que abunda en la costa del país, y ha sido utilizada como parte de la dieta alimenticia desde la época pre-inca por los pobladores de las zonas costeras y andinas, consumiéndose mayormente en estado fresco (Carbajal, Galán y De la Cruz, 2005).

De este tipo de alga se pueden extraer cantidades significativas de carrageninas (Salas de la Torre et al., 2009), aunque en el Perú no existe industrias procesadoras de carragenanos, si existen empresas que se dedican a la comercialización de algas de cual se extrae este hidrocoloide entre las que tenemos Crosland Técnica S.A., Peruvian Seaweeds S.R.L. y Vidal Vidal Elio, que comercializan las alga fresca, refrigerada, congelada y seca.

Existen diferentes tipos de carragenina, los cuales se denominan en función a la estructura química que se encuentra en mayor proporción, de las cuales solo 4 son utilizadas comercialmente y son las carrageninas iota, lambda, kappa-I y kappa-II, siendo kappa-II un polímero híbrido el cual posee una distribución similar de carragenina kappa-I e iota y tiene una gran importancia por sus propiedades reológicas, empleándose en diversos productos lácteos. (Solís-Bravo 2007)

Recientes investigaciones ponen a discusión el uso de los diferentes tipos de álcalis como NaOH e KOH, así como el tiempo de duración del proceso de pre-extracción, ya que pueden estos parámetros alterar las estructuras de las carrageninas, y si se compara los parámetros utilizados en investigaciones nacionales, los parámetros utilizados de concentración del álcali como el tiempo de reacción, llegan a ser elevados en contraparte de investigaciones internacionales. (Salas de la Torre 2009).

Con el desarrollo de esta investigación se contribuirá al reemplazo de aditivos químicos, por aditivos naturales para mejorar los sabores en los diferentes alimentos procesados, proporcionar la textura esperada y una cremosa sensación en la boca en los alimentos bajos en grasa, reemplazo de vitaminas y minerales perdidos en los procesamientos alimenticios, agregando nutrientes que pueden faltar en la dieta; así como permitir una mezcla suave de ingredientes, evitar la separación, mantener los productos emulsionados estables, reducir la viscosidad, controlar la cristalización, mantener los ingredientes dispersos y ayudar a disolver los productos más fácilmente.

Por lo tanto es importante determinar los parámetros óptimos de concentración de álcali y tiempos de extracción con la finalidad de obtener mayores rendimientos y mejores propiedades de κ y λ carragenanos a partir del cochayuyo.

1.5. Limitaciones de la investigación

En nuestro desarrollo de tesis tuvimos varias dificultades entre ellas los recursos de equipos en el laboratorio ya que nuestros procesos fueron extensos, al mismo tiempo la disponibilidad del laboratorio en atención de horario que tenían.

1.6. Objetivos de la investigación

Objetivo general

Optimizar el proceso de pre-extracción de κ y λ carragenanos a partir del alga cochayuyo (*Chondracanthus chamissoi*).

Objetivo específico

a) Caracterizar el alga cochayuyo para determinar la concentración de KOH y tiempo de reacción óptimo para lograr mayores rendimientos y mejores propiedades fisicoquímicas de los κ y λ carragenanos del Cochayuyo (*Chondracanthus chamissoi*).

b) Caracterizar la determinación de pH y viscosidad de las carrageninas obtenidas durante el proceso de extracción a partir del cochayuyo (*Chondracanthus chamissoi*).

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudios

Azevedo, G. Torres M. Sousa I. Hilliou L. (2015) evaluaron diferentes pre-tratamientos alcalinos los cual aplicaron a las algas *Chondrus crispus* y algas *Ahnfeltiopsis devoniensis* para investigar el efecto del tipo de álcali, la concentración y la duración del tratamiento en la estructura química y las propiedades gelificantes de carragenina híbrida (HK). Encontrando que en ambas algas el aumento del contenido de KOH y la duración de tratamiento previo da HK con menores cantidades de unidades-n carragenina, que tienen un impacto directo en las mejores propiedades gelificantes. Sin embargo, HK con masa molecular más pequeño y propiedades del gel deprimidos se encuentran cuando se emplean excesivo contenido

KOH excesiva y tiempo de pre-tratamiento. El NaOH fue más eficiente en la conversión de n-carragenina a i-carragenina en extractos de *C. crispus*. Para los extractos de carrageninas a partir de *A. devoniensis*, el NaOH y KOH mostraron resultados similares. Se encontró que existe correlación entre la estructura química y las propiedades del gel. Presentado propiedades gelificantes de ambas algas, propiedades para una amplia gama de aplicaciones.

Azevedoa G., Hillioua L. Bernardoa G. Sousa-Pintob I., Adams R. Nilssonc M. Villanueva R. (2013) evaluaron la extracción carragenina kappa y iota de Algas *Mastocarpus Stellatus*, las cuales fueron sometidos a diferentes pre-tratamientos alcalinos para investigar el efecto del tipo de álcali, la concentración y la duración del tratamiento en la estructura química y las propiedades gelificantes del extracto híbrido de kappa / iota carragenina (KI). El aumento de la concentración de KOH y tiempo de pre-tratamiento da KI con menores cantidades de unidades nu-carragenina, las cuales tienen un impacto directo en mejorar las propiedades gelificantes. Sin embargo, la excesiva concentración de KOH y duración del pre-tratamiento y dan KI con masa molecular más pequeño y propiedades del gel deprimidas. El NaOH fue más eficiente en la conversión de kappa / iota carragenino, pero no se encontró correlación entre la estructura química y las propiedades de gel.

SALAS, N. CORDOVA C. LENGUA R. & ANAYA, F. (2009) indican que el tipo de algas influye en la obtención de κ -carragenano y λ -carragenano, así como la fase de vida y los parámetros del proceso de extracción tales como temperatura, pH, tiempo y concentración de soluciones. El κ -carragenano tiene capacidad gelificante mientras que λ -carragenano define el comportamiento viscoso de sistemas acuosos. Los carragenatos obtenidos se aplicaron para reemplazar los insumos Lactogel FL610 y Lactogel PS451 en la formulación de flan y pudín, obteniendo excelente consistencia, textura, sabor, color y bajo en contenido de calorías en estos productos lácteos.

SOLIS I. (2007), evaluaron el rendimiento, propiedades fisicoquímicas (fuerza de gel en agua y en medios con alta concentración de KCl e índice de leche) y reológicas (viscosidad) de extractos de carragenina κ -I/ κ -II obtenidos de algas productoras de κ -II. Los tratamientos corresponden a un control (T1), elaborado con *Kappaphycus alvarezii* como fuente de carragenina κ -I y *Gigartinaskottsbergii* como fuente de carragenina κ -II, siendo esta última alga reemplazado por *Sarcothalia crispata* (T2) y *Chondracanthus chamissoi* (T3), usando una proporción 1:1 de cada tipo de alga en todos los tratamientos. Se obtuvo un rendimiento significativamente superior en T1 al obtenido en T2 y T3. Entre T3 y T1 no hubo diferencias en sus viscosidades, mientras que la viscosidad observada en T2 fue significativamente menor comparada con T1, tanto para la disolución en agua como para la disolución con KCl. En lo referente a la fuerza de gel y su deformación en agua, todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes. Entre T1 y T2 no se observaron diferencias en la fuerza en gel y deformación con KCl siendo ambos significativamente mayores comparados con T3. Esto debido a la naturaleza de la hibridación κ -I / I en las cadenas de la carragenina κ -II. Los tratamientos T2 y T3, no influyen significativamente en el índice de leche.

Hilliou L, Larotonda FD, Abreu P, Ramos AM, Sereno AM, Gonçalves MP. (2006) evaluaron los parámetros de extracción (temperatura, pH, tiempo) y la duración alcalina del pre-tratamiento se han variado de forma sistemática en el objetivo de explorar su impacto tanto en estructura química y propiedades gelificantes de biopolímeros de carragenina obtenidos de algas *Mastocarpus stellatus*, recogidos en la costa norte de Portugal. El aumento de la duración del tratamiento alcalina lleva a que las κ / I- carrageninas contengan menores grupos sulfato y monómeros precursores biológicos. Como resultado, las propiedades del gel en presencia de KCl son la mejora de la demostrada por el incremento en el módulo de Young con el parámetro PT. El aumento de los tiempos de extracción mejora los

rendimientos biopolímero con ningún cambio significativo en la k/i carragenina. Sin embargo, los pesos moleculares más pequeños se obtienen y las propiedades de gel son vistos a ser afectados negativamente. Temperatura de extracción y pH tienen efectos dramáticos en la fuerza de gel biopolímero, y se informa de un conjunto de parámetros de extracción optimizado con respecto al rendimiento de la extracción y de gel propiedades. Además, las carrageninas obtenidas a lo largo de esta exposición del estudio proporcionan amplia gama de resistencias de gel en KCl, y nos permiten presentar correlaciones entre las propiedades del gel termales y carrageninas con la estructura química.

2.2. Estado de arte

Los Carragenanos, son una forma natural de polisacáridos lineales aniónicos sulfatados extraídos de ciertas algas roja. La palabra "carragenina" procede de los habitantes de Carragher, en la costa sur de Irlanda, donde se extraen algas rojas con fines alimentarios y farmacéuticos desde el año 600 (Wang et al. 2012).

El constituyente principal de este tipo de algas son los llamados carragenanos, quienes son polisacáridos cuya columna vertebral es lineal construidos por β -D-galactosa y 3,6-anhidro- α -D-galactosa con densidad variable debido a los grupo sulfatados. La carragenina es una buena fuente de fibra soluble. Existen varios tipos de carrageninas con estructura química y propiedades diferentes. Las tres más prevalente, y de mayor interés comercial, son la: iota, kappa y lambda carragenina, estas tienen diferentes propiedades. La Administración de Alimentos y Drogas (FDA) ha reconocido la carragenina como GRAS (Generalmente como seguro). (Burtin, 2003), (Hugh. Et. Al., 2003).

La carragenina es un ingrediente extremadamente versátil adecuado

para su uso en la industria alimentaria y no alimentaria. La carragenina no tiene ningún valor nutricional, pero se ha aplicado ampliamente en la industria alimentaria y con recientes usos en la industria farmacéutica en la formulación de pastillas y píldoras. (Van de Velde et al., 2002).

Los detalles específicos de los procesos de extracción son secretos celosamente guardados por los fabricantes de carrageninas, pero en términos generales, el proceso de extracción sigue un patrón similar. Por lo general las algas marinas son recibidas en el lugar de procesamiento. Se muestrea y es sometida a la prueba de extracción para evaluar la calidad de la extracción. Otros factores de calidad también pueden ser monitoreados tales como contenido de humedad, arena y sal (Wang et al. 2012).

Para extraer Kappa-carragenano es más o menos similar a la extracción de agar. Las especies de *Eucheuma*, *Hypnea*, *Chondrus* y *Furcellaria* pueden ser utilizadas como materia prima. Las algas secas son tratadas con 5-10% de NaOH a 80- 90 °C, dependiendo de la textura de las algas. A continuación, las algas se hierven y el extracto se recoge en el evaporador para reducir el volumen de la solución de gel. En el caso de algas marinas como *Furcellaria* y *eucheuma*, se aplica proceso de precipitación KCl. En este caso, el filtrado después de la extracción en caliente se evapora para reducir el volumen del filtrado y luego se extrae a través de las hileras en frío con solución de KCl 1-1,5%. Los hilos gelificados se lavan de nuevo dentro de la solución de KCl. Luego se deshidratan y se muelen para obtener polvo de kappa carragenina (Wang et al. 2012).

Lambda-carragenano se obtiene de diferentes especies de los géneros *Gigartina* y *Chondrus* (nombre comercial de "musgo irlandés") (Van de Velde y Ruiters, 2002). Lambda-carragenina no

expone propiedades gelificantes. Por lo tanto, podría ser secado o precipitado en alcohol. El método de secado en tambor generalmente degrada el producto. Por lo tanto, el la extracción con alcohol es una técnica práctica (Wang et al. 2012).

La lota carragenano es más hidrófila que kappa-carragenina. Por lo tanto, se utiliza la técnica de precipitación alcohólica, similar al proceso de lambda-carragenina. Después de la extracción en caliente, el pH del licor alcalino se ajusta y pasa por una filtración. El filtrado se concentra con evaporadores de doble efecto para reducir el volumen (Wang et al. 2012).

Es bien conocido que la calidad de las carrageninas comerciales se ve afectada por varios factores, como las condiciones de cultivo de las algas (Hayashi et al., 2007; Hurtado et al., 2008), la temporada de cosecha (Hung et al., 2008; Wakibia et al., 2006), el estado de madurez de las algas (Mendoza et al., 2006), estado de salud o de enfermedad (Mendoza et al., 2002), y el almacenamiento post- cosecha (Hilliou et al., 2011). El procedimiento de extracción de biopolímero (temperatura, pH, duración) también es factor clave para la estructura química y en consecuencia de las características gelificantes (Hilliou et al., 2006). La etapa de pre-extracción con tratamientos alcalinos pueden modificar aún más la estructura química de las carrageninas (Pereira y van de Velde, 2011). El espectro de las propiedades del gel se puede obtener cuando se emplean diferentes niveles de condiciones de tratamiento alcalinos dependiendo de la extensión de la conversión de las unidades precursoras de 3,6- anhidrogalactosa.

El extracto nativo, sin pre-tratamiento alcalino, está en el extremo inferior del espectro de calidad o incluso no es un gel, mientras que el tratamiento previo alcalino con alta concentración de álcali y de larga duración produciría carragenina cuya calidad se pone gel en el extremo superior, es decir de buena calidad (Azevedo et al., 2015). Esto ha sido analizado por Azevedo et al. (2015) y Azevedo et

al. (2013) quienes señalan que un excesivo uso de KOH y tiempos de pre-tratamiento pueden causar daños estructurales a las carrageninas. Por lo tanto existe la necesidad de optimizar el pre- tratamiento.

2.3. Bases teórico científicas

231. Aspectos generales de *Chondracanthus chamissoi*

La ubicación taxonómica del cochayuyo se muestra a continuación:

Tabla 2.1

Ubicación taxonómica del cochayuyo

| TAXONOMÍA | |
|------------------|---------------------------------|
| Phylum: | Rhodophyta |
| Clase: | Florideophyceae |
| Orden: | Gigartinales |
| Familia: | Gigartinaceae |
| Género: | Chondracanthus |
| Especie: | <i>Chondracanthus chamissoi</i> |

Fuente: Carbajal y De la Cruz (2005)

Los nombres comunes de *Chondracanthus chamissoi* varían de acuerdo a cada zona, así tenemos que en el Perú en la zona norte es llamada “cochayuyo”, “mococho”. El alga contiene una gran cantidad de humedad, logrando hasta más del 80%. La composición de los demás componentes se expresa en base seca.(Carbajal y De la Cruz, 2005).

Tabla 2.2*Composición del cochayuyo (Chondracanthus chamissoi)*

| HUMEDAD (*) material fresco | 81,3200% |
|------------------------------------|-----------------|
| Extracto etéreo | 00,1227% |
| Cenizas totales | 15,6100% |
| Cenizas insolubles | 50,7750% |
| Cenizas ácidos insolubles | 42,4090% |
| Proteínas totales o proteína bruta | 42,9200% |
| Proteína solubles | 04,3800% |
| Proteínas insolubles | 38,5300% |
| Proteína no digerible | 16,3050% |
| Proteína digerible | 26,4310% |
| Nitrógeno amínico | 280 mg % |
| Proteína verdadera | 42,1870% |
| Nitrógeno noproteico | 00,7290% |
| Carbohidratos | 41,3400% |
| Aminoácidos libres | N.D |

Fuente: Carbajal y De la Cruz (2005)**Tabla 2.3***Contenido de minerales en el cochayuyo (Chondracanthuschamissoi)*

| COMPOSICION | % |
|--------------------|-----------|
| Fósforo | 0.35% |
| Calcio | 9.41% |
| Magnesio | 12.69% |
| Cloruro de Sodio | 3.46% |
| Níquel | 0.09 ppm |
| Molibdeno | 0.30 mg/L |
| Fierro | 0.16 ppm |
| Silicio | 1.10 ppm |

Fuente: Wilmer-Carbajal y De la Cruz (2005)

Tabla 2.4

Contenido de vitaminas en el cochayuyo (Chondracanthus chamissoi)

| COMPOSICION | % |
|-----------------|-------------|
| Ácido ascórbico | 128.9 mg % |
| Piridoxina | 2.32 mg % |
| Tiamina | 0.1 mg % |
| Riboflavina | 1.7 mg % |
| Carotenos | 0.005 mg/kg |

Fuente: Wilmer-Carbajal y De la Cruz (2005)

2.3.2 Generalidades de las carrageninas

Las carrageninas forman parte de la estructura de ciertas variedades de algas rojas, químicamente son polisacáridos sulfatados siendo esta estructura que los hace fuertemente aniónicos, lo cual facilita su interacción con moléculas catiónicas y anfotéricas, como las proteínas. Son solubles en agua, y tiene la propiedad de formar soluciones de alta viscosidad y/o geles, por lo cual son muy aplicados en la industria alimentaria. (Solis- Bravo, 2007; Gelymar, 2015).

Se define a la carragenina químicamente como poligalactanos que son polímeros lineales de moléculas alternadas de galactosa y 3,6 ahidro + D-galactosa unidos por enlaces de α 1-3 y β 1-4. Además estas moléculas se encuentran parcialmente sulfatadas a través de sales de potasio, sodio, calcio y magnesio. Fennema (2000).

Existen diferentes tipos de carrageninas, por ejemplo la carragenina lambda, sólo está compuesta de unidades de D-galactosa. Los tipos de carrageninas se pueden diferenciar por los grupos de éster sulfato (Solis-Bravo, 2007).

233 Tipos de carrageninas

Las carrageninas están compuestas de unidades alternas de galactosa modificada, cuya estructura es una cadena lineal de residuos β -D-galactosa conectados a través de las posiciones 1 y 3 (unidad A) a los residuos α -D-galactose conectados a través de las posiciones 1 y 4 (Unidad B) dispuestos en una secuencia alternada (AB)_n. La unidad A puede transportar grupos de metil-éter en la posición 6, grupos sulfatos hemi-éter en las posiciones 2, 4 o 6; y algunas unidades A pueden transportar ácido pirúvico. La unidad B puede transportar grupos metil en la posición 2 o grupo 4-O-metil- α -L-galactopiranosil en la posición 6 y / o grupos sulfatos hemi-éter en la posición 2 o 6, o en ambas. La unidad B (α -D-galactosa) puede ser total o parcialmente convertida en formas de 3,6-anhidro por eliminación de sulfato a partir de la posición 6. Dependiendo de la cantidad y la posición de los grupos SO₃, las carrageninas se clasifican en λ (lambda), κ (kappa), ι (iota), ν (nu), μ (mu), θ (te) y ξ (Ksi), todas conteniendo cerca de 22-35% de grupos sulfato. Las κ - y λ - carrageninas representan, respectivamente, cerca de 40 y 60% del extracto no fraccionado de algas rojas siendo las más comerciales. (Van de Velde et al., 2005).

En la Figura 2.1, se muestran las estructuras químicas de los tipos de carragenina de importancia comercial.

Las propiedades de las carrageninas tan utilizadas en diferentes aplicaciones comerciales, particularmente en la industria de alimentos, no dependen sólo de su estructura química y de la composición (especialmente contenido de sulfato y potasio o calcio), sino también en la proporción en que las carrageninas se pueden mezclar para obtener la capacidad de gelificación deseada. Esto significa que identificar y cuantificar cada tipo de carragenina es de suprema importancia para la mejora de su desempeño en

aplicaciones, a fin de preparar la mezcla más apropiada comercialmente para cada aplicación particular. La caracterización industrial de varias carrageninas en una mezcla / combinación (obtenida después del refinamiento del producto natural de las algas) se realiza midiendo diferentes propiedades físicas, tales como viscosidad, solubilidad y fuerza del gel y relacionando el porcentaje de cada compuesto (PRADO-FERNÁNDEZ et al. 2003).

Tabla 2.5

Pesos moleculares y compuestos químicos de los diferentes tipos de carrageninas

| Tipo de carragenina | Peso molecular (kDa) | Ester sulfato (%) | 3,6 Anhidro Galactosa (%) |
|----------------------------|-----------------------------|--------------------------|----------------------------------|
| κ-I | 100-300 | 24-25 | 34-36 |
| κ-II | 300-500 | 25-28 | 32-34 |
| ι | 500-700 | 30-32 | 28-32 |
| λ | >700 | 35 | 0 |

Fuente: Gelymar(2015)

Las diferencias en la estructura química y en el contenido de componentes químicos entre las carrageninas κ-I e iota (Tabla 2.5), implican que esta última sea más soluble y el gel que forma tenga mayor elasticidad, tanto en sistemas acuosos como lácteos, libre de sinéresis y además, resistente a los cambios producidos por ciclos de congelamiento / descongelamiento (Solis-Bravo, 2007; Gelymar, 2015).



Figura 2.1

Configuración química de los diferentes tipos de carrageninas

Fuente: Gelymar (2015).

Las carrageninas del tipo Lambda pueden actuar como agente espesante en frío o en caliente, las del tipo Iota y Kappa además de ser ampliamente utilizadas como agentes espesantes en productos que se preparan a altas temperaturas, también permiten la obtención de geles estables en agua a la temperatura ambiente sin necesidad de refrigeración. (Van de Velde et al 2005)

Las fracciones solubles fueron designadas por el prefijo Kappa (κ), mientras que las insolubles fueron llamadas Lambda (λ). Más tarde, las clasificaciones se basaron en el número, en la posición de las agrupaciones sulfatos y en la presencia de puentes 3', 6'-anhidro en los residuos D- galactopiranosilos. Esto llevó a cuatro grandes familias: Kappa, Beta, Lambda y Omega. Las carrageninas que tienen importancia comercial se dividen en Kappa (κ), Iota (i) y Lambda (λ). La posición y el número de grupos de éster sulfato, así como el contenido de 3,6-AG, determinan las

diferencias primarias entre los tipos de carragena Kappa, Iota y Lambda. Los mayores niveles de éster sulfato implican menor fuerza de gelificación y baja temperatura de solubilización. La carragenina tipo Kappa contiene de 25% a 30% de éster sulfato y de 28% a 35% de 3,6-AG. La carragena tipo Iota contiene de 28% a 35% de éster sulfato y de 25% a 30% de 3,6-AG. La carragena tipo Lambda contiene del 32% al 39% de éster sulfato y no contiene 3,6-AG. (Villanueva et al. 2004)

Las carragenas Kappa suelen dividirse en dos tipos: Kappa I y Kappa II. Las Kappa I contienen entre el 24% y el 25% de éster sulfato y entre el 34% y el 36% de 3,6-AG. Debido a este alto contenido de 3,6-AG, estas carrageninas forman geles firmes y quebradizos, en agua y en leche, con cierta sinéresis. Ofrecen buena retención de agua. Las carragenas del tipo Kappa II presentan un contenido entre el 24% y el 26% de éster sulfato y el 32% y el 34% de 3,6-AG. Se forman geles firmes y elásticos, tanto en agua y en leche. Se presentan baja sinéresis y reactividad muy alta con la leche. El tipo Iota contiene entre el 30% y el 32% de éster sulfato y entre el 28% y el 32% de 3,6-AG. Los geles elásticos en agua y leche, con baja sinéresis. Presenta buena estabilidad a los ciclos congelación-descongelación. (Van de Velde et al., 2005).

El tipo Lambda presenta el mayor contenido de éster sulfato, aproximadamente 35%, y 0% de 3,6-AG. Por la ausencia de 3,6-AG, no gelifica y, debido a su alto grado de sulfatación, es la carragenina más soluble en agua y leche fría, propiciando así una alta viscosidad.

234 Procesos de extracción de las carrageninas

Como ya se ha mencionado, la carragenina se obtiene de diversos géneros y especies de algas marinas de la clase Rodophyta. El contenido de carragenina en las algas varía de 30% a 60% del peso seco, dependiendo de la especie del alga y de las condiciones marinas, tales como luminosidad, nutrientes, temperatura y oxigenación del agua. Las algas de diferentes especies y fuentes producen carrageninas de diferentes tipos (Kappa, Iota y Lambda). Algunas especies de algas pueden producir carrageninas de composición mixta, como Kappa / Iota, Kappa / Lambda o Iota / Lambda. Las especies productoras de carragenina tipo Kappa son *Hypnea Musciformis*, *Gigartina Stellata*, *Euclima Cottonii*, *Chondrus Crispus* y *Iridaea*. Las especies productoras de carragenina tipo Iota son *Gigartina Teedi* y *Euclima Spinosum*. Las especies productoras de carragenina tipo Lambda son en general del género *Gigartina*. Los métodos de extracción de carragenina descritos en la literatura emplean diversos procedimientos para el análisis de sus rendimientos y propiedades. Básicamente, involucran lavados del alga seca para remoción de sales, arena, residuos y microorganismos, seguidos de la extracción en agua caliente o en soluciones levemente alcalinas (Figura 2.2) (HAYASHI, 2001)

El proceso de extracción para producción industrial de la carragenina se basa en sus dos principales propiedades, que son la solubilidad en agua caliente y la insolubilidad en disolvente orgánico polar. El proceso industrial se compone de varias fases, siendo las principales el tratamiento inicial, la extracción, filtración / clarificación, concentración, molienda y blending.

Antes de cualquier procesamiento se deben eliminar todas las impurezas posibles, tales como sales, arenas, conchas, etc. El lavado es seguido por la operación de secado y molienda

para optimizar el contacto entre las algas y los solventes en las diversas operaciones subsiguientes. En esta fase también ocurre la despigmentación; las algas molidas se tratan con acetona, alcohol hirviendo y éter para solubilizar las grasas con el fin de extraer parte importante de los pigmentos.

Las soluciones de carrageninas pueden contener mezclas de dos orígenes diferentes. Algunos de ellos son componentes de la biomasa de las algas rojas, que no fueron removidos en el proceso de aislamiento de la carragenina. Los demás componentes (sales inorgánicas, sacarosa, galactomananas) pueden ser añadidos por las industrias para mejorar y/o controlar alguna propiedad funcional de muestras de carragenina (solubilidad, viscosidad, fuerza del gel, etc.). Pequeñas contaminaciones y aditivos, tales como sales inorgánicas y azúcares pueden ser removidos por diálisis, antes de los análisis de la estructura química y de las propiedades físicas (VAN DE VELDE et al., 2002).

En el proceso de extracción alcalina de carragenina, el alga es sometida en una solución alcalina a alta temperatura. Según lo descrito por Viana et al. (2004) y Van de Velde et al. (2005), el tratamiento alcalino cumple la función de formar las unidades 3,6 anhidro- α -D-galactosa y 3,6 anhidro- α -D-galactosa 2-sulfato, a partir de α -D-galactosa 6-sulfato y α -D-galactosa 2,6 disulfato, mediante la desulfatación de estas moléculas. Con esto se consigue transformar las unidades precursoras μ , μ / v y v en carragenina κ -I, κ -II e I respectivamente. Esta conversión química confiere el poder gelificante bajo las condiciones de solvente apropiadas. También se puede lograr la formación del anillo 3,6 AG y con ello carragenina θ , a partir de carragenina λ , pero la conformación de la molécula impide la gelificación. La reacción de los principales tipos de carrageninas se muestra en la Figura 2.2.

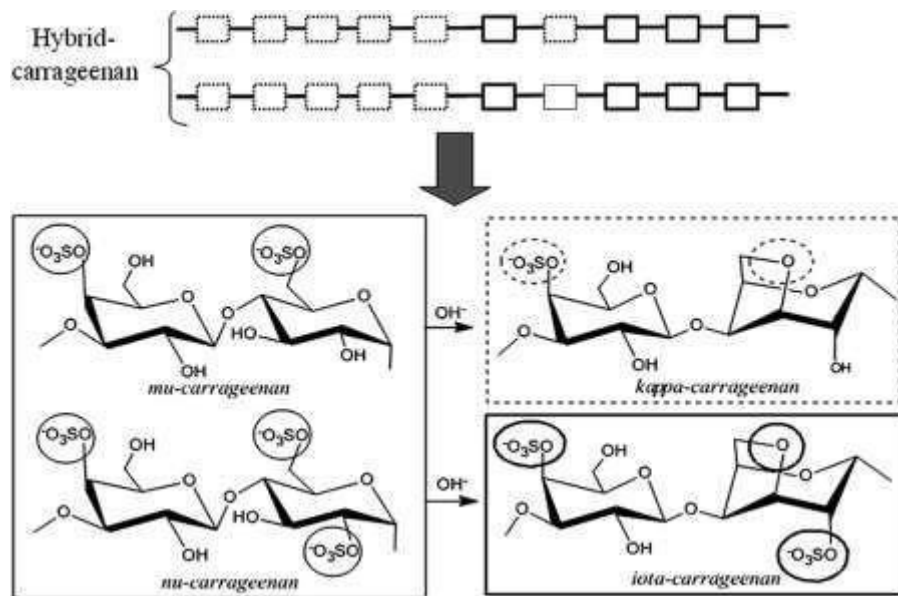


Figura 2.2

Conversión química de las carrageninas durante tratamiento alcalino.

Fuente: Azevedo et al., (2013)

235. Funciones y propiedades tecnológicas de las carrageninas

Dentro de las propiedades tecnológicas que tienen las carrageninas, podemos mencionar:

a. Gelificación y textura

Las soluciones calientes de carrageninas Kappa e Iota poseen la habilidad de formar geles termorreversibles por medio de su enfriamiento. Este fenómeno ocurre debido a la formación de una estructura de doble hélice por los polímeros de la carragenina. A temperaturas por encima de la temperatura de fusión del gel, los polímeros de la carragenina existen en la solución como espirales al azar. Durante el enfriamiento de la solución, una red de polímeros tridimensional se forma donde las hélices dobles constituyen

los puntos de unión de las cadenas de polímero. El enfriamiento adicional causa la agregación de los puntos de unión para formar la estructura de gel tridimensional. La presencia de asas en la cadena así como el número, tipo y posición de los grupos de éster sulfato tienen efectos importantes en las propiedades de gelificación. Este mecanismo de gelificación es básico para soluciones de carragenas tipo Kappa e Iota. Las sales de potasio o calcio son necesarias para la obtención del gel en agua, pero no son necesarias en leche. Las carragenas Kappa e Iota forman gel en agua solamente en presencia de determinados cationes (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2009).

La carragenina Kappa es sensible al ion potasio y produce geles rígidos y quebradizos en soluciones acuosas con sales de potasio. El gel de la carragenina Kappa presenta sinéresis (extrusión espontánea de agua a través de la superficie del gel en reposo) y cuanto mayor la concentración de potasio en la solución mayor será la sinéresis. La carragenina Iota es sensible al ion calcio y produce geles suaves y elásticos en soluciones acuosas con sales de calcio. La carragenina Iota no presenta sinéresis.

La fuerza de gel es directamente proporcional a la concentración de carragenina y sales. La concentración de cationes superior a cierto límite implicará la disminución de la fuerza de gel (BARUFALDI, 1998).

El gel formado es termorreversible y puede ser sometido a ciclos de calentamiento y enfriamiento sin considerable alteración en la estructura del gel (pH neutro). Las temperaturas de gelificación y fusión de la sal/gel dependen de la concentración de cationes.

El aumento de la concentración de sales de potasio o calcio en soluciones acuosas resultará en el aumento de la temperatura de gelificación (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2009).

b. Viscosidad

La viscosidad de las soluciones de carragenina debe determinarse en condiciones en las que no exista ninguna tendencia a la gelificación de la solución. Cuando una solución caliente de carragenina es enfriada, la viscosidad aumenta gradualmente hasta que se alcanza la temperatura de gelificación. A medida que se inicia la formación del gel, hay un aumento repentino e intenso de la viscosidad. Por lo tanto, la medida de viscosidad de las soluciones de carragenina debe ser determinada a temperaturas suficientemente altas (75° C) para evitar el efecto de la glaciación. La concentración de carragenina en la solución es en general del 1,5% en peso del volumen de agua. Las carrageninas disponibles comercialmente presentan en general viscosidades variando de 5 a 800 cP medidas a 75° C en soluciones de 1,5% de carragenina. La viscosidad de las soluciones de carragenina depende de la concentración, temperatura, presencia de otros solventes, tipo de carragenina y peso molecular. El mayor peso molecular, mayor concentración o disminución de la temperatura de la solución aumentan considerablemente la viscosidad (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2009).

c. Estabilidad

La solución de carragenina es bastante estable en pH neutros o alcalinos. Sin embargo, los valores bajos de pH afectan a su estabilidad, especialmente a altas temperaturas. La disminución del pH causa la hidrólisis del

polímero de la carragenina, resultando en la disminución de la viscosidad y de la fuerza de gelificación. Sin embargo, una vez formado el gel, incluso a pH bajos (3,5 a 4,0) no hay más ocurrencia de la hidrólisis y el gel permanece estable. Para aplicaciones prácticas, es importante estar atento a las limitaciones de la carragenina en medios ácidos (solución y gel). Se debe evitar el procesamiento de soluciones de carragenina con pH bajo a altas temperaturas durante un tiempo prolongado (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2009).

Las concentraciones de carragenina, para la formación de los geles, están influenciadas por el pH. Las soluciones a base de carragenina son estables en pH entre 4,0 y 12,0 y la máxima estabilidad está en el pH 9,0, no debiendo procesarlas en caliente con pH inferior a 3,5. En pH igual o superior a 6,0, las soluciones resisten a condiciones normales del proceso, ya en sistemas ácidos es recomendable agregar las carrageninas lo más tarde posible en el proceso. La acción combinada de temperatura y acidez puede generar una degradación de las carrageninas, provocando así la hidrólisis del conjunto, resultando en una pérdida de viscosidad y dureza (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2009).

En presencia de cationes considerados fuertes inductores de gel, como el sodio y el calcio, la carragenina a baja temperatura y en concentraciones ideales de estas sales, gotea y se produce un aumento de la viscosidad aparente de la misma. Este comportamiento es particularmente cierto para los cationes considerados fuertes inductores de gel, como el sodio y el calcio (PICULELL, 1995).

d. Comportamiento Reológico

El interés por los hidrocoloides es debido al hecho de su comportamiento reológico, es decir, la viscosidad, la cual

sólo se obtiene cuando ocurre la solubilización completa de la molécula, después de solubilizada, son capaces de organizarse de dos formas diferentes: por la retención de agua, efecto espesamiento, y por la construcción de redes, promoviendo el efecto gelificación. En bajas concentraciones, los geles acuosos de Iota carragena poseen propiedades reológicas tixotrópicas, es decir, disminuyen la viscosidad aparente con el tiempo de cizalla, a una tasa de cizallamiento constante.

e. Solubilidad

Las carrageninas exhiben las características de solubilidad normalmente mostradas por los coloides hidrófilos. Es soluble en agua e insoluble en la mayoría de disolventes orgánicos (CP Kelco, 2002).

Según CP Kelco, (2002) las características de solubilidad de la carragenina en agua están influenciadas por una serie de factores más importantes de los cuales son:

- El tipo de carragenina.
- Contraiones presentes.
- La temperatura.
- pH

El grado de sulfatación de la molécula, tiene directa relación con la solubilidad. La carga fuertemente negativa de los grupos sulfato, provoca que las cadenas de los polímeros se mantengan apartadas. Debido a esto, la carragenina lambda tiene alta solubilidad en agua y leche, tanto en frío como en caliente (Solis-Bravo, 2007).

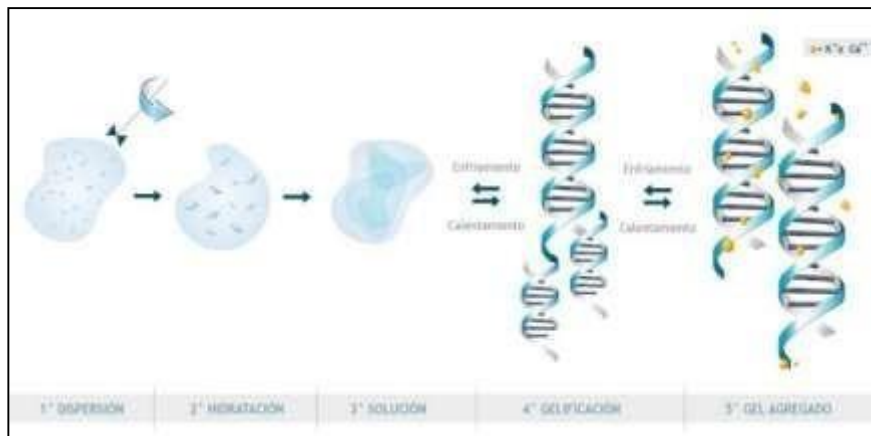


Figura 2.3

Proceso de dispersión, hidratación, solución y gelificación de las carrageninas.

Fuente: Gelymar, (2015)

Las carrageninas del tipo k, debido a su bajo contenido de grupos sulfato, requieren un calentamiento para conseguir la individualización de las moléculas y con ello lograr la solubilización. A temperaturas sobre los 60 °C, se logra la solubilización de las moléculas en medio acuoso y en leche, a temperaturas cercanas a los 80 °C. A 20 °C, pueden ser solubles en agua sólo con la adición de sales de sodio, sin embargo, esto provoca una disminución en la viscosidad del sistema (Gelymar, 2015)

f. Reactividad con Proteínas

Una de las propiedades que diferencian la carragenina de otros hidrocoloides es su habilidad para interactuar con las proteínas, principalmente la leche. La alta reactividad de la carragenina en la leche se debe a la fuerte interacción electrostática entre los grupos de éster sulfato negativamente cargado de la molécula de la carragenina con la micela de caseína de la leche que posee regiones de

fuerte carga positiva. Otra forma de interacción es a través de puentes entre grupos de éster sulfato de la carragenina con residuos carboxílicos de los aminoácidos que componen la proteína.

La reactividad con proteínas depende de muchos factores como concentración de carragenina, tipo de proteína, temperatura, pH y punto isoelectrico de la proteína. Este fenómeno de interacción y reactividad de la carragenina con las proteínas de la leche en combinación con su habilidad de formar gel y retener agua lo convierte en un ingrediente eficaz para la estabilización y la gelificación de productos lácteos (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2009).

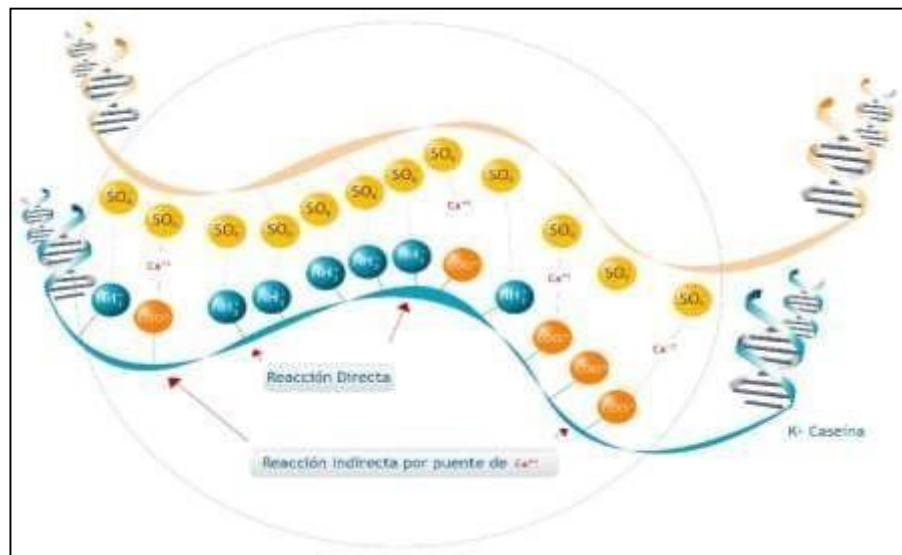


Figura 2.4
Interacción de la carragenina con las proteínas
Fuente: Gelymar, (2015)

236 Metodología Superficie de Respuesta

La tendencia mundial, hacia la opción de una economía de libre mercado, ha incrementado la competitividad en las industrias en general, el mismo que ha obligado a las empresas incrementar su eficiencia, mediante la optimización

del proceso de fabricación, desarrollo de nuevos procesos y productos. Generalmente para conseguir estos objetivos, se utiliza (conciente o inconcientemente) de un método de experimentación, desde la experimentación intuitiva pasando por los diseños experimentales Si bien el uso de las técnicas de los diseños experimentales es amplio, el objetivo es su aplicación en la optimización de procesos (Rodrigues y Lema, 2015).

Un diseño experimental para ajustar un modelo de segundo orden debe tener tres niveles de cada factor (-1, 0,+1). Así como en el diseño de primer orden se desea la ortogonalidad, en éste se desea que sea un diseño rotatable. Se dice que un diseño es rotatable cuando la varianza de la respuesta predicha en algún punto es función sólo de la distancia del punto al centro y no es una función de la dirección (Cornell, 1990).

La rotabilidad es una propiedad importante, dado que la finalidad de la Metodología de Superficie de Respuesta es optimizar, desconociéndose la localización del óptimo, así tiene sentido utilizar un diseño que proporcione estimaciones precisas en todas direcciones (Rodríguez y lemma, 2005).

Dentro de los diseños rotables de segundo orden se incluyen los Diseños Central Compuesto, Equirradial, Box-Behnken.

Las ventajas de trabajar con el Método Superficie Respuesta son las siguientes:

Reduce el número de experiencias o repeticiones y mejora la calidad de la información obtenida a través de los resultados. Esto significa una sensible disminución del trabajo y, consecuentemente, del tiempo y del costo final. Los factores son analizados simultáneamente. Asimismo, podemos cuantificar los efectos sinérgicos y antagónicos de los factores de interés.

Es posible optimizar más de una respuesta al mismo tiempo. Esta es una de las grandes ventajas del planeamiento factorial. Se puede optimizar variables como rendimiento, productividad y pureza, y/o minimizar variables de costo y contaminación, entre otras, individual o simultáneamente. Permite calcular y valorar el error experimental. Esto es fundamental para especificar el nivel de confianza estadística con el cual podemos estimar la reproductividad del resultado deseado. No es prudente confiar en un resultado aislado. Es deseable saber si al repetir el proceso n veces tendrá un comportamiento semejante, variando el error experimental esperado, de modo que se asegure la estabilidad del proceso.

Depende más de la competitividad del profesional en su área de trabajo que sus conocimientos en estadística.(Figueroa 2003)

237. Diseño Compuesto Central

La necesidad de la optimización de procesos y la minimización de costos y tiempo, llevan a la búsqueda de técnicas sistemáticas de planificación de experimentos (Lemma & Rodrigues, 2009).

Los diseños de experimentos son aquellos que involucran combinaciones entre los niveles de dos o más factores elegidos para el estudio del proceso. Esta técnica pretende mostrar cómo estos factores (variables independientes del proceso) pueden influir en una respuesta (Barros Neto et al., 2001). La elección de la planificación adecuada es función del número de variables independientes, de la disponibilidad de materia prima y de los costos (Lemma & Rodrigues, 2009).

Los efectos de las variables independientes se calculan sobre las variables de respuesta. El análisis estadístico permite la elaboración de modelos matemáticos predictivos y de superficies de respuesta para definir bandas óptimas operativas de las variables dentro de los límites estudiados. Se debe realizar la validación experimental de las condiciones optimizadas (Lemma & Rodrigues, 2009).

El diseño compuesto central (DCC), introducido por Box & Wilson (1951), es considerado como uno de los diseños más populares para el ajuste de modelos de superficie de respuesta (Lima & Filho 2010). El modelo rotacional es la más utilizada para ajustar modelos que comprenden efectos de primer orden (lineal), de interacción y de segundo orden (cuadrático) es la planificación compuesta central, considerada como óptima (Fuentes, 2012).

El diseño compuesto central presenta características interesantes para la búsqueda del punto que da la respuesta óptima, que son: un número menor de tratamientos en relación a los factoriales completos y puede ser realizado secuencialmente, buscando la optimización del sistema (Fuentes, 2012).

En la Figura 2.5, se presentan los puntos del planeamiento del diseño compuesto central para el caso de 2 factores.

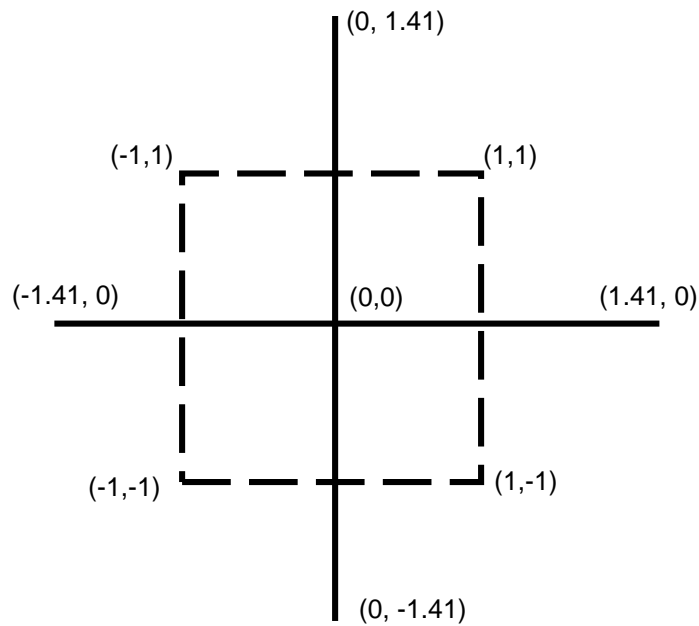


Figura 2.5

Puntos experimentales para el diseño compuesto central con dos factores

Fuente: Vivanco (2011)

El diseño Compuesto Central Rotacional (DCCR) completo 2^2 puede incluir 4 puntos axiales y 3 puntos centrales, totalizando 11 ensayos. A partir de este delineamiento, se puede observar la influencia de las variables independientes por la evaluación de los efectos, del error estándar y de la significancia estadística (p-valor). Los valores de los efectos estimados indican en cuánto cada factor influye en la respuesta estudiada, siendo que cuanto mayor es su valor, mayor es su influencia. EL valor del efecto indica si el aumento de la variable independiente favorece o no el aumento de la variable dependiente. El "p-valor" está relacionado con el nivel de significancia de la variable independiente sobre la variable dependiente (respuesta). Cuando se elige trabajar con un intervalo de confianza del 95%, es decir, un "p-valor" inferior a 0,05, se puede afirmar que la variable estudiada es estadísticamente significativa. Posteriormente, se puede verificar la significancia de la regresión y de la falta de ajuste a un nivel de confianza del

95%, a través de un análisis de varianza (ANVA), utilizando la prueba F (García, 2013).

El ANVA con prueba F puede decir si el modelo es o no predictivo. Para ello, además de un R^2 elevado, el $F_{\text{calculado}}$ de la regresión en relación a los residuos debe ser mayor que el F_{Tabulado} , indicando que la variación es explicada por la regresión y no por los residuos. Además, el $F_{\text{calculado}}$ de la falta de ajuste debe ser menor que el F_{Tabulado} , ya que un $F_{\text{calculado}}$ elevado indica una falta de ajuste de los datos obtenidos. Sin embargo, el $F_{\text{calculado}}$ de la falta de ajuste puede ser mayor que el F_{tabulado} , cuando el error puro, que se obtiene a partir de los puntos centrales, es muy inferior a la falta de ajuste, indicando una alta repetibilidad de los datos (García, 2013).

El DCCR se utiliza comúnmente en combinación con el análisis de superficie de respuesta, con el fin de determinar las condiciones óptimas operativas, proporcionando información segura del proceso, minimizando o maximizando (Vaz, 2009).

2.4. Definición de términos básicos

Carragenanos: Las carragenina son polisacáridos sulfatados utilizados principalmente en la industria alimenticia, de cosméticos y textiles, como agente estabilizante, gelatinizante, espesante y emulsificante.

Chondracanthus chamissoi: Llamada también, cochayuyo, yuyo o mococho, es un alga roja de la familia de las gigartináceas que habita las costas frías de Chile y Perú, esto es, la costa pacífica de América del Sur bañada por la corriente de Humboldt. En el Perú, es ampliamente consumida fresca como guarnición secundaria del ceviche y de la tradicional sopa de pescado Chilcano.

Hidrocoloides: El término hidrocoloides se refiere a una serie de polisacáridos y proteínas que actualmente se utilizan ampliamente en una variedad de sectores industriales para realizar una serie de funciones, como espesar y / o gelificar soluciones acuosas, estabilizar espumas, modificar y / o controlar las propiedades de flujo y la textura de los alimentos líquidos y de las bebidas, inhibir la formación de cristales de hielo y de azúcar y controlar la liberación de sabores, así como modificar las propiedades de deformación de productos semisólidos.

Reológicas: La reología es la ciencia que estudia la deformación y el flujo de cuerpos sólidos o fluidos

Kappa I carragenina: Las carrageninas Kappa I contienen entre el 24% y el 25% de éster sulfato y entre el 34% y el 36% de 3,6-AG. Debido a este alto contenido de 3,6-AG, estas carrageninas forman geles firmes y quebradizos, en agua y en leche, con cierta sinéresis. Ofrecen buena retención de agua

Kappa II carragenina: Las carrageninas del tipo Kappa II presentan un contenido entre el 24% y el 26% de éster sulfato y el 32% y el 34% de 3,6-AG. Se forman geles firmes y elásticos, tanto en agua y en leche. Se presentan bajo sinésimo y reactividad muy alta con la leche.

Lambda carragenina: Las carrageninas del tipo Lambda presenta el mayor contenido de éster sulfato, aproximadamente 35%, y 0% de 3,6-AG. Por la ausencia de 3,6-AG, no gelifica y, debido a su alto grado de sulfatación, es la carragenina más soluble en agua y leche fría, propiciando así una alta viscosidad.

Ficocoloides: Son compuestos coloides de algas. Los coloides son sistemas donde una es generalmente fluida y la otra un sólido en menor proporción. Una característica importante de estas “soluciones” es el tamaño del sólido, que varía entre 1 nanómetro y 1 micrómetro, por esta misma característica el soluto no decanta y no puede ser filtrado.

Metodología de Superficies de Respuesta (RSM): La metodología de superficie de respuesta consiste esencialmente de un conjunto de métodos matemáticos y estadísticos utilizados en el estudio empírico de las relaciones entre variables controladas (independientes) y una o más respuestas mensurables (dependientes).

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo y diseño de la investigación

3.1.1. Tipo de investigación:

Según el enfoque la investigación es cuantitativa, ya que con esta investigación se pretende encontrar los parámetros óptimos de tiempo y concentración del álcali para el proceso de pre extracción de carragenina a partir del cochayuyo (*chondracanthus chamissoi*).

3.1.2. Diseño de la investigación:

Según la intervención de los investigadores, es experimental, porque se realizarán una serie de experimentos planificados para optimizar los tiempos de pre extracción como la concentración del álcali, en función al rendimiento y grado de gelificación, la cual se mide en unidades de viscosidad centipoise, de las carrageninas obtenidas a partir del cochayuyo.

3.2. Población y muestra:

Población: Algas procedentes de la caleta de “San José”, ubicada a 12.9 km. al Nor Oeste de la ciudad de Chiclayo.

Muestra: El tipo de muestreo fue por conveniencia, este tipo de muestreo nos resulta más accesible, este método nos ayudó a seleccionar 25 kg de cochayuyo fresco estas deben ser de color pardo, de una medida adecuada que se encuentra en un rango de 15 a 20 cm de largo, esta muestra no debe contener ningún material extraño que pueda afectar en el procedimiento y en los resultados de la pre-extracción de κ Y λ carragenanos.

3.3. Hipótesis

H1: La concentración de 6% de KOH y el tiempo de extracción de 10 horas, son los parámetros óptimos con los cuales se logran tener mayores rendimientos y mejores propiedades gelificantes de las carrageninas extraídas a partir del cochayuyo.

Ho: La concentración de 6% de KOH y el tiempo de extracción de 10 horas, no son los parámetros óptimos con los cuales se logran tener mayores rendimientos y mejores propiedades gelificantes de las carrageninas extraídas a partir del cochayuyo.

3.4. Variables

Variable independiente:

Tiempo y concentración de KOH durante el proceso de pre-tratamiento para la obtención de carragenina.

Variables dependientes:

% de rendimiento y viscosidad de carrageninas κ y λ carragenanos.

3.5. Operacionalización de variable

En la tabla 3.1 se muestran los rangos las variables dependientes e independientes, así como el instrumento que se utilizará para cuantificarlas.

Tabla 3.1*Operacionalización de variables.*

| Variables | Dimensiones | Indicadores | Técnicas e Instrumentos |
|-----------------------|----------------------|--------------------|--|
| Independientes | Tiempo | horas | Se utilizará el cronómetro para tomar el tiempo de extracción de carragenina, el cual tiene un rango entre 5 a 24 horas. |
| | Concentración de KOH | % (P/P) | Se pesarán diferentes concentraciones de KOH entre 3 y 10% con la finalidad de obtener la concentración óptima. |
| Dependientes | Rendimiento | % (peso g) | Se pesará el contenido de carragenina obtenida al final del proceso de extracción. |
| | Viscosidad | Pa.s | Se utilizará el Viscosímetro de Brookfield para evaluar la viscosidad de los geles de carragenina obtenidos. |

3.5.1. Abordaje metodológico, técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.5.1.1. Instrumentos de recolección de datos

Los instrumentos de recolección de datos experimentales serán utilizando los siguientes programas:

DESIGN EXPERT 7.0.

Hojas de cálculo en Excel™

3.5.1.2. Lugar de ejecución

El proceso de pre extracción y extracción de carrageninas se realizaron en los laboratorios de la Universidad Señor de Sipán – Lambayeque. Los análisis de caracterización de las algas se realizaron en los laboratorios de bromatología de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo – Lambayeque. El análisis reológico utilizando el viscosímetro de Brookfield se realizó en los laboratorios de la facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad del Santa – Chimbote.

3.5.1.3. Materias primas

Alga cochayuyo-(*chondracanthus chamissoi*)

3.5.1.4. Materiales

- Balón kjeldahl de 250 500, 1000 mL.
- Frascos Erlenmeyer de 250, 500 mL.
- Pipeta cilíndrica de 5, 10 y 20 mL.
- Probetas de 50, 100, 250 y 500 mL.
- Bickers de 250, 500 y 1000 mL.
- Fiolas de 100, 250 mL.
- Tubos de ensayo.
- Piceta de agua destilada.
- Papel filtro.
- Bolsas de polipropileno.
- Espátula.
- Lunas de reloj.

3.5.1.5. Reactivos

- Catalizador Kjeldahl: 15 g K_2SO_4 + 0,7 g HgO .
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Solución de KOH .
- Solución de $NaOH$.
- Zinc metálico: polvo, ACS.
- Solución indicadora: Fleisher violeta de metilo.
- Ácido de potasio estándar: falato NIST.
- Solución estándar de $NaOH$.
- Indicador fenolftaleína.
- Solución estándar de ácido: Solución de HCl o H_2SO_4 .

- Ácido clorhídrico.
- Hidróxido de sodio.
- Solución de tiosulfato de sodio.
- Isopropanol.
- Cloruro de potasio KCl .

3.5.1.6. Equipos

- Viscosímetro de Brookfield.
- Balanza electrónica.
- Planchas de acero
- Equipo micro - kjeldahl
- Estufa.
- Mufla.
- Refractómetro.
- Tanques de precipitación.
- Bandejas de acero inoxidable.

3.5.2. Procedimiento para la recolección de datos

3.5.2.1. Caracterización de la materia prima

Las materias primas fueron caracterizadas según su composición proximal, con los siguientes análisis:

Proteína, método Kjendahl 955.04 A.O.A.C. (2000)

Grasa: método 922.06 A.O.A.C (2000)

Fibra, método 991.43 A.O.A.C (2000)

Ceniza, método 900.02 A.O.A.C (2000)

Humedad, método 926.08 A.O.A.C (2000)

3.5.2.2. Procedimiento de pre – extracción de carrageninas

Se seguirá el procedimiento descrito por Salas de la Torre et al. (2008):

Las algas clasificadas serán lavadas para remover materia extraña, y enjuagadas repetidamente con agua destilada. Posteriormente, se someterán a secado hasta peso constante y por fases. Se procederá luego a molienda grosera.

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

Las etapas de preparación se muestran en la siguiente figura:

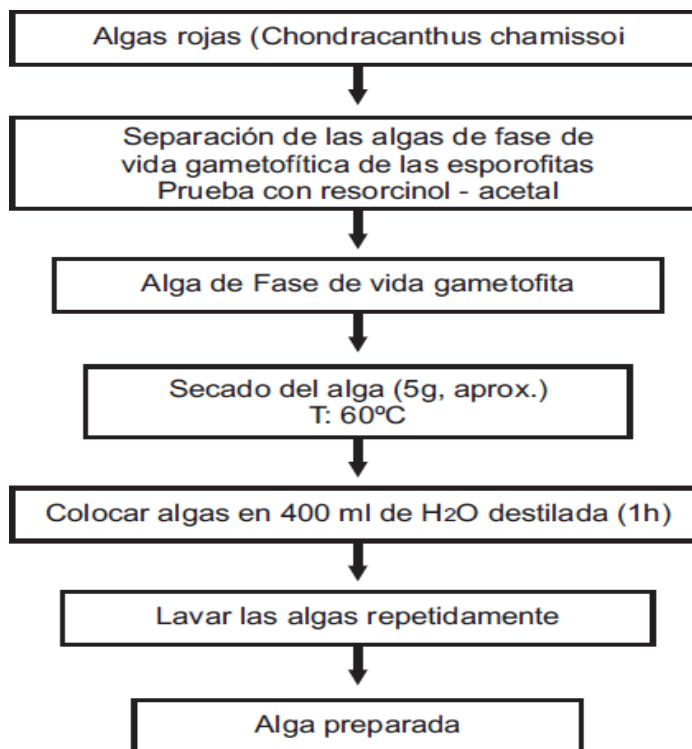


Figura 3.1
Etapa de Preparación de las Algas.

Fuente: Salas de la Torre et al. (2008)

Para el proceso de extracción, se ha tomado el método modificado de Craige y Leigh (1978), siendo adaptado con algunas variantes por los responsables del trabajo de investigación.

Las algas preparadas serán tratadas con diferentes concentraciones de hidróxido de potasio, según el diseño experimental planteado, con agitación vigorosa para promover la extracción total de polisacárido. Deberán permanecer en la solución alcalina durante los tiempos experimentales. Luego se evacuará 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 colocarán 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. Pesarse el carragenano semi refinado.

Las etapas de pre extracción se muestran en la siguiente figura:

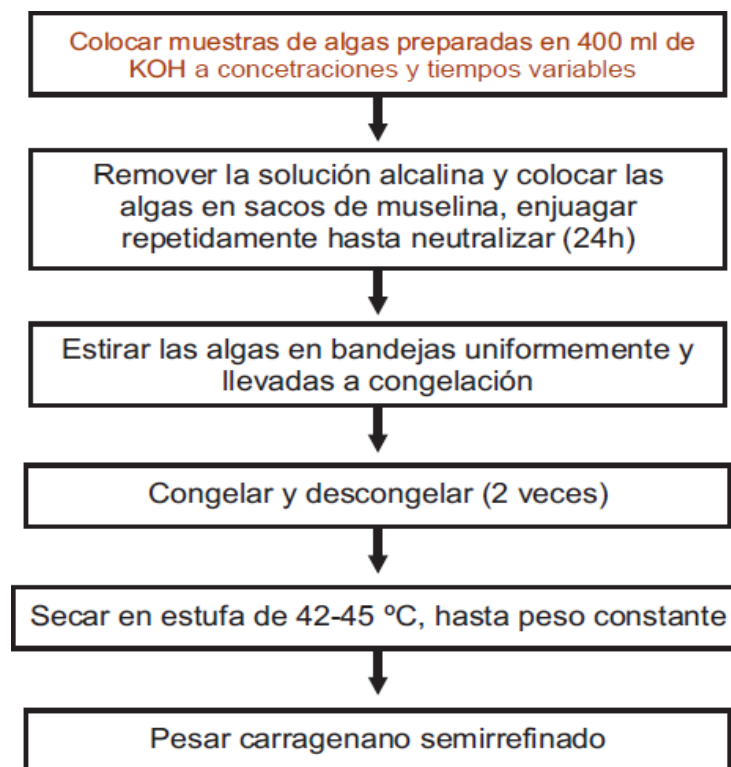


Figura 3.2

Etapas de Extracción de carragenano semi refinado

Fuente: Salas de la Torre et al. (2008).

3.5.2.3. Procedimiento de fraccionamiento de carrageninas

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, como se muestra en la siguiente figura:

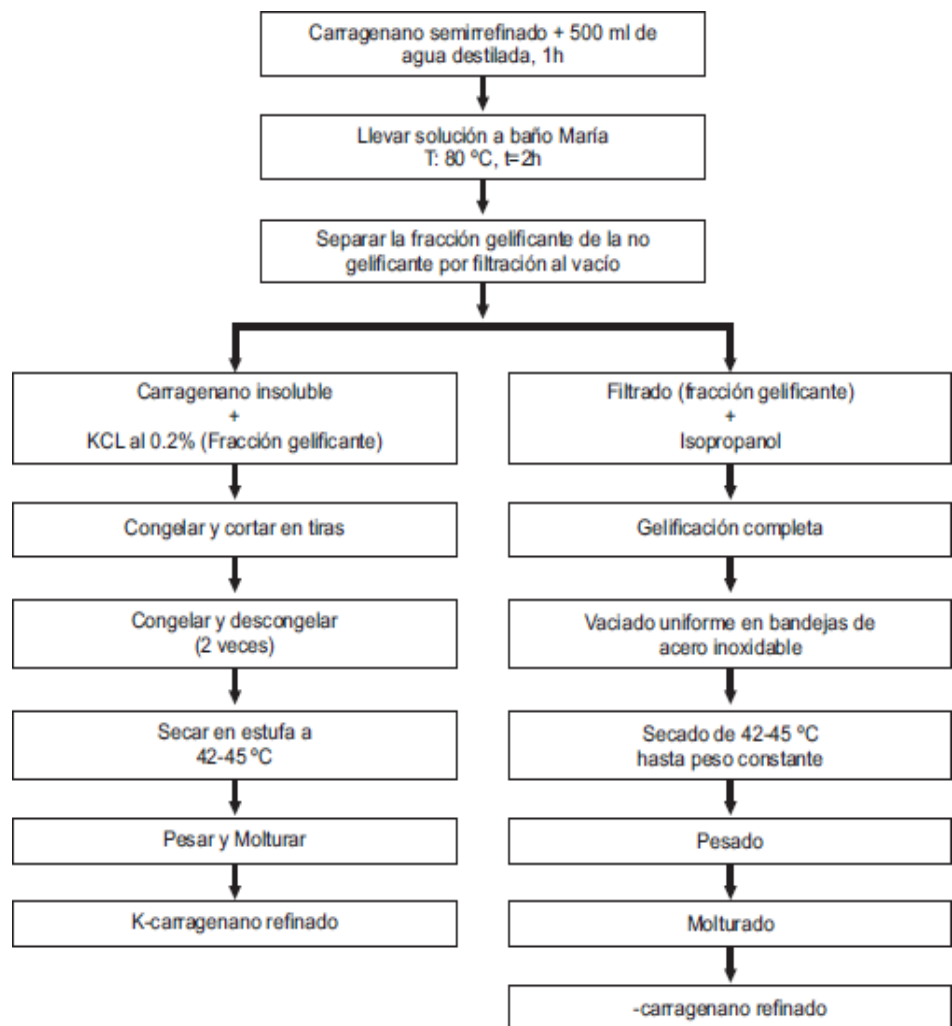


Figura 3. 3
Etapa de fraccionamiento de las carrageninas

Fuente: Salas de la Torre et al. (2008)

3.5.2.4. Caracterización de carrageninas

La etapa de caracterización de κ y λ carragenanos será efectuada empleando método de análisis instrumental que se indican a continuación:

- 1) Determinación del pH.
- 2) Determinación de viscosidad

3.5.2.5. Evaluación de viscosidad de las carrageninas

Existen diferentes tipos de viscosímetros de Brookfield equipados con diferentes agujas, es importante saber cómo operan cada una de ellas a varias velocidades. Los modelos LV vienen con 4 agujas en forma de barril estas a la vez son de diámetros diferente esto será la geometría que nos ayudaran hacer la medición, entre mayor sea el diámetro de las agujas estas nos servirán para muestras más fluidas y menos viscosas y entre menor sea el diámetro servirán para muestras de mayor viscosidad. Las agujas se atornillan en el pivote del cabezal, operación que debe hacerse con mucho cuidado para no dañar el mecanismo. El dial esta graduado en divisiones simétricas de 0 a 100 y posee un apuntador La lectura en el dial, multiplicada por el factor indicado en las tabla provistas con el aparato, da la lectura directamente en centipois (cps).

3.5.3. Análisis Estadísticos e Interpretación de los Datos

Para encontrar los parámetros óptimos de pre- extracción de carrageninas a partir del cochayuyo, se procedió a aplicar el Método de Superficie Respuesta (MSR), empleando el Diseño Compuesto Central Rotacional con 22+ 4 puntos axiales + 3 repeticiones en el punto central (Tabla 3.2.), empleando el Software DESIGN EXPERT 7.0.

Tabla 3.2

Diseño codificado y decodificado según diseño Compuesto central rotatable para evaluar la concentración de KOH y tiempos de pre- extracción en la obtención de carragenina a partir del cochayuyo

| Variable codificada | | Variable Decodificada | |
|---------------------|------------|-----------------------|---------------------------|
| X1 | X2 | Concentración de KOH | Tiempos de pre-extracción |
| -1 | -1 | 3.00 | 5.00 |
| 1 | -1 | 10.00 | 5.00 |
| -1 | 1 | 3.00 | 24.00 |
| 1 | 1 | 10.00 | 24.00 |
| - α | 0 | 1.55 | 14.50 |
| + α | 0 | 11.45 | 14.50 |
| 0 | - α | 6.50 | 1.06 |
| 0 | + α | 6.50 | 27.94 |
| 0 | 0 | 6.50 | 14.50 |
| 0 | 0 | 6.50 | 14.50 |
| 0 | 0 | 6.50 | 14.50 |

Fuente: Elaboración propia

Donde (-1) es nivel inferior, (+1) es nivel superior, (0) es nivel central y (- α , α) son los punto axiales. Los puntos axiales son los niveles que dan la rotabilidad al diseño experimental, se calcula de la siguiente formula: $\alpha = \sqrt{F}$, donde F es el número de tratamiento correspondiente al diseño 2^n , para nuestra investigación este valor es de $\alpha = \sqrt{4} = 2$.

Los datos experimentales se evaluaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y regresión, a un nivel de significancia del 0.05 para conocer el modelo más apropiado para correlacionar las variables respuestas como rendimiento y viscosidad con las el porcentaje de concentración de KOH y tiempos de pre-extracción.

Los modelos matemáticos que compararán serán:

- a. Modelo de términos lineales de los efectos principales:

$$= + +$$

- b. Modelo términos lineales y cuadráticos de los efectos principales:

$$= + + + +$$

- c. Modelo términos lineales de los efectos principales y las interacciones de segunda orden:

$$= + + +$$

- d. Modelo términos lineales y cuadráticos de los efectos principales y las interacciones de segundo orden:

$$= + + + + +$$

Donde b_0 , b_1 , b_2 , b_{11} , b_{12} , b_{22} son coeficientes numéricos obtenidos por el análisis de regresión y x_1 , x_2 son las variables de estudio.

3.5.4. Principios éticos

En el transcurso de la elaboración de este proyecto de investigación, se recopiló información sobresaliente de distintas fuentes bibliográficas, tales como: libros físicos y virtuales, artículos científicos, tesis, artículos científicos, páginas web, entre otros, los cuales se encuentran

debidamente citados, evidenciando la prudencia y el respeto a la propiedad intelectual.

3.5.5. Criterios de rigor científico

El análisis de la viscosidad de los geles de carrageninas obtenidas, según el diseño experimental propuesto, se utilizó el manual No. M13- 167-B0614, el cual nos proporcionará el procedimiento oficial de manejo del viscosímetro de BROOKFIELD.

Para la evaluación de los datos, según los diferentes modelos matemáticos, así como para determinar los valores óptimos se utilizó el manual oficial de DESIGN EXPERT versión 7.0.0

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. Resultados en tablas y graficas

4.1.1. Caracterización de materia prima

La materia prima (*Chondracanthus chamissoi*) extraída a 20 metros de la orilla del mar del distrito de San José, fue llevada al laboratorio de Bromatología de la Universidad Pedro Ruiz Gallo donde se observó que las características organolépticas fueron de un color verde claro, olor sui generis, sabor característico, aspecto en forma de láminas largas y de consistencia carnosa y firme, así como se describe en el Tabla 4.1 y observada en la Figura 4.1; así como su caracterización resultante que tuvo una humedad del 81%, proteínas 3.20%, grasas 0.40%, cenizas 4.20%, fibra 1.25%, energía 56.20 Kcal/100g y un valor nutritivo de 3.40 mostrados en el **Tabla 4.2**.

Tabla 4.1

Características organolépticas de la materia prima cochayuyo (Chondracanthus chamissoi)

| CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS | |
|--------------------------------|-----------------|
| Color | Verde claro |
| Olor | Suigeneris |
| Sabor | Característico |
| Aspecto | Laminas largas |
| Consistencia | Carnosa y firme |

Fuente: Elaboración propia



Figura 4.1
Alga cochachuyo (Chondracanthus chamissoi)

Tabla 4.2

Caracterización de la materia prima cochayuyo (Chondracanthus chamissoi)

| CARATERIZACION DE MATERIA PRIMA | |
|---------------------------------|-----------------|
| Humedad | 81% |
| Proteínas | 3,20% |
| Grasas | 0,40% |
| Cenizas | 4,20% |
| Fibra | 1,25% |
| Energía | 56,20 Kcal/100g |
| Valor nutritivo | 3,40 |

Fuente: Elaboración propia

4.1.2. Evaluación de Rendimiento de carrageninas

Tabla 4.3

Muestra los valores de rendimientos obtenidos en la extracción de kappa carragenano

| N° DE MUESTRA | PESO DE LA MUESTRA INICIAL (GR) | CONCENTRACION [KOH] (%) | TIEMPO (HORAS) | PESO KAPPA (GR) | RENDIMIENTO (%) |
|---------------|---------------------------------|-------------------------|----------------|-----------------|-----------------|
| 1 | 5 | 3 | 5 | SE GELIFICO | - |
| 2 | 5 | 3 | 24 | 1.2 | 24 |
| 3 | 5 | 10 | 5 | 0.41 | 8 |
| 4 | 5 | 10 | 24 | 3.45 | 69 |
| 5 | 5 | 6 | 24 | 1.8 | 36 |

Fuente: elaboración propia

Tabla 4.3

Muestra los valores de rendimientos obtenidos en la extracción de lambda carragenano

| N° DE MUESTRA | PESO DE LA MUESTRA INICIAL (GR) | CONCENTRACION [KOH] (%) | TIEMPO (HORAS) | PESO LAMBDA (GR) | RENDIMIENTO (%) |
|---------------|---------------------------------|-------------------------|----------------|------------------|-----------------|
| 1 | 5 | 3 | 5 | SE GELIFICO | - |
| 2 | 5 | 3 | 24 | 1.5 | 30 |
| 3 | 5 | 10 | 5 | 0.5 | 10 |
| 4 | 5 | 10 | 24 | 3.54 | 71 |
| 5 | 5 | 6 | 24 | 2 | 40 |

Fuente: elaboración propia

4.1.3 Caracterización de carrageninas

4.1.3.1. Determinación de pH

La **tabla 4.4** muestra los valores de pH tanto de κ y λ a diferentes tiempos y concentraciones de KOH; obtenidos en el laboratorio del Parque Tecnológico de la Universidad Señor de Sipán (PACTUSS).

Tabla 4.4

Determinación de pH a la carrageninas κ y λ de cada una de las muestras obtenidas de la extracción

| CONCENTRACION [KOH] (%) | TIEMPO (HORAS) | PH KAPPA | PH LAMBDA |
|----------------------------|-------------------|----------|-----------|
| 3 | 5 | 10 | 10,4 |
| 3 | 24 | 10,39 | 10,65 |
| 10 | 5 | 9,58 | 9,89 |
| 10 | 24 | 10,17 | 10,15 |
| 6,5 | 24 | 10,2 | 10,13 |
| 1,60 | 14,5 | 10,7 | 10,47 |
| 6,50 | 27,9 | 10,7 | 10,36 |
| 6,5 | 1,1 | 10,3 | 10,1 |
| 6,5 | 14,5 | 10,5 | 10,5 |
| 6,5 | 14,5 | 10,5 | 10,5 |

Fuente: Elaboración propia



Figura 4.2

Determinación de pH de las carrageninas

4.1.4 Evaluación de viscosidad de las carrageninas

En este análisis se evaluaron la viscosidad de las carrageninas κ y λ que se obtuvieron en la extracción de las algas cochayuyo por medio de equipo de viscosímetro de Brookfiel. Teniendo como base 11 muestras a diferentes tiempos, concentraciones de KOH y rpm (revoluciones por minutos); valores de CP (CentiPoints); mostrados en la **Tabla 4.5** y **Tabla 4.6**

Tabla 4.5*Determinación de viscosidad de κ - carragenina*

| # DE MUESTRA | [KOH] (%) | TIEMPO (HORAS) | RPM | CP |
|--------------|--------------|-------------------|-----|-------|
| 1 | 3 | 5 | 100 | 10.15 |
| 2 | 3 | 24 | 120 | 11 |
| 3 | 10 | 5 | 115 | 10.6 |
| 4 | 10 | 24 | 75 | 11.45 |
| 5 | 6.5 | 24 | 105 | 11.35 |
| 6 | 1.60 | 14.5 | 95 | 11.32 |
| 7 | 11.40 | 14.5 | 115 | 11.36 |
| 8 | 6.50 | 27.9 | 95 | 10.7 |
| 9 | 6.5 | 1.1 | 120 | 10.58 |
| 10 | 6.5 | 14.5 | 115 | 10.32 |
| 11 | 6.5 | 14.5 | 115 | 10.32 |

*Fuente: Elaboración propia***Tabla 4.6***Determinación de viscosidad de λ - carragenina*

| # DE MUESTRA | [KOH] (%) | TIEMPO (HORAS) | RPM | CP | |
|-----------------------------------|--------------|-------------------|------|-------|-------|
| <i>Fuente: Elaboración propia</i> | | 5 | 100 | 10.23 | |
| 2 | 3% | 24 | 120 | 10.7 | |
| D | 3 | 10% | 5 | 115 | 10.6 |
| o | 4 | 10% | 24 | 75 | 11.45 |
| | 5 | 6.5% | 24 | 105 | 10.58 |
| n | 6 | 1.60% | 14.5 | 95 | 10.73 |
| d | 7 | 11.40% | 14.5 | 115 | 11.65 |
| e | 8 | 6.50% | 27.9 | 95 | 10.68 |
| | 9 | 6.5% | 1.1 | 120 | 11.04 |
| | 10 | 6.5% | 14.5 | 115 | 11.45 |
| s | 11 | 6.5% | 14.5 | 115 | 11.45 |

Fuente: Elaboración propia

Donde se evidencio que la mayor viscosidad (cp) en las κ -carragenina, se logra cuando es pre tratado con 10% de KOH durante 24 horas. Para el caso de λ -carragenina, la mayor viscosidad se logra cuando es pre-tratada con 11.4% de KOH durante 14.5 horas.

Esto nos brinda una referencia sobre los valores óptimos a encontrar con la finalidad de que los geles formados por las carrageninas sean más viscosos.

4.1.5 Evaluación del rendimiento de κ - carragenano

Se realizó una evaluación de diferentes modelos estadísticos de superficie respuesta, con la finalidad de evaluar el grado de ajuste de los valores experimentales.

Como se muestran en el Anexo III, el modelo de mejor ajuste con los datos experimentales fue: "2FI vs Linear", el cual indica que son significativos la interacción de los factores (Concentración de KOH y tiempo en horas) así como los efectos lineales de dichos factores.

Una vez seleccionado el modelo más apropiado se procedió a realizar el análisis de varianza (ANEXO III), donde se demuestra que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) en los factores A, B, AB, según corresponden a concentración de KOH, tiempo de pre extracción e interacción de ambos, respectivamente.

Se realizó un análisis de regresión para determinar el grado de correlación de los valores experimentales con los del modelo seleccionado "2FI vs Linear" (ANEXO III).

Encontrando que el coeficiente de determinación (R^2) fue de 0.9088 y el R^2 -ajustado fue de 0.9658. Dichos valores fueron cercanos a la unidad, lo que demuestra que el modelo

seleccionado logra predecir con buena exactitud el rendimiento de k-carragenina.

Se realizó un análisis de contornos (Fig 4.3) y superficie respuesta (Fig 4.4) para evaluar, el comportamiento del rendimiento de k-carragenina, con respecto a los dos factores estudiados, donde se puede observar que a un tiempo de 5 horas con una concentración de 3% de KOH, se obtiene un 10% de rendimiento. Aun tiempo de 24 horas a una concentración de 3% de KOH, se obtiene un rendimiento del 24%. A un tiempo de 5 horas con una concentración de 10% de KOH, se obtiene un rendimiento de 8.2%. A un tiempo de 14.50 horas con una concentración de 6.50% de KOH, se obtiene un rendimiento de 7% y a un tiempo de 24 horas a una concentración de 10% de KOH, se logra un rendimiento de 69%, siendo éste último la mejor prueba realizada.

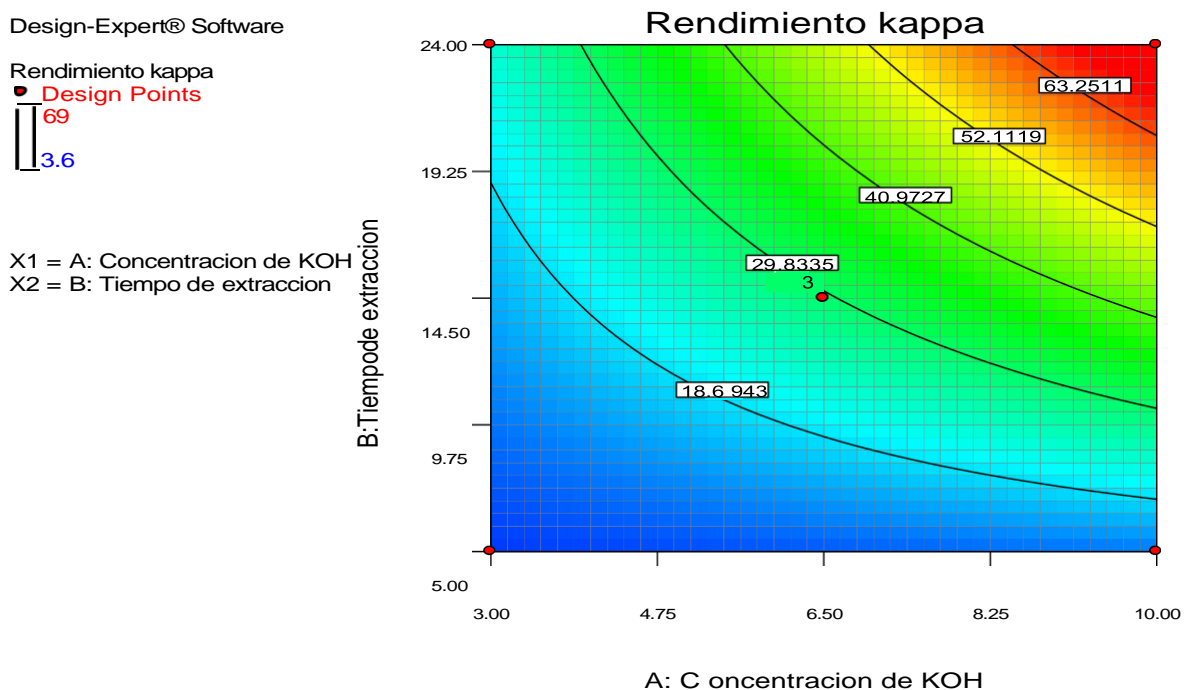


Figura 4.3

Diagrama de contorno para la evaluación del rendimiento de k- carragenina

Design-Expert® Software

Rendimiento kappa



X1 = A: Concentracion de KOH
X2 = B: Tiempo de extraccion

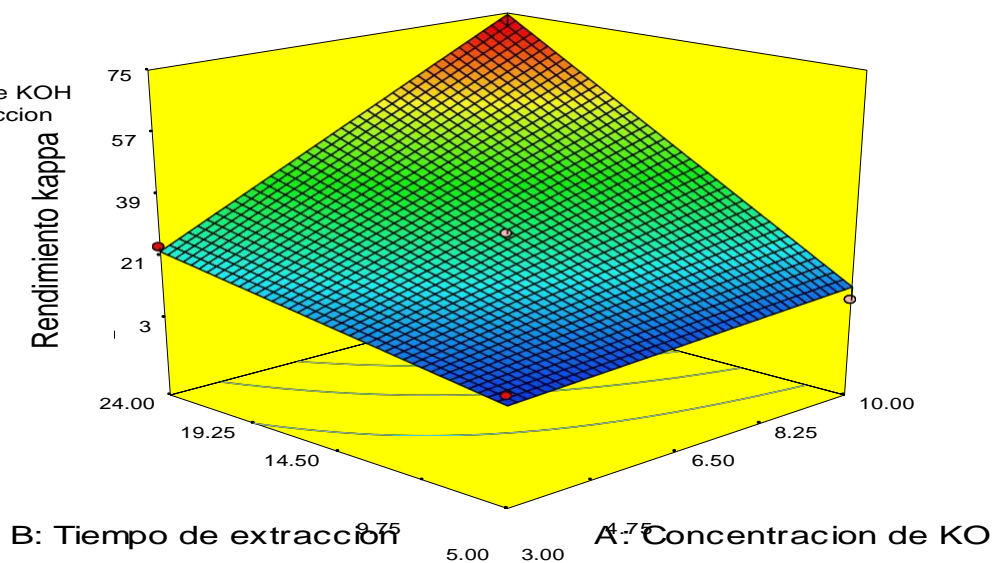


Figura 4.4

Diagrama de superficie respuesta para la evaluación del rendimiento k-carragenina

La ecuación final para predecir el contenido de rendimiento de k-carragenina se muestra a continuación:

Rendimiento kappa =

$$\begin{aligned} &+6.77944 \\ &-1.08452 * \text{Concentracion de KOH} \\ &-0.24979 * \text{Tiempo de extraccion} \\ &+0.35188 * \text{Concentracion de KOH} * \text{Tiempo de extraccion} \end{aligned}$$

4.1.6 Evaluación del rendimiento del λ - carragenano

Se realizó una evaluación de diferentes modelos estadísticos de superficie respuesta, con la finalidad de evaluar el grado de ajuste de los valores experimentales.

Como se muestran en el Anexo IV, el modelo de mejor ajuste con los datos experimentales fue: "2FI vs Linear", el cual indica

que son significativos la interacción de los factores (Concentración de KOH y tiempo en horas) así como los efectos lineales de dichos factores.

Una vez seleccionado el modelo más apropiado se procedió a realizar el análisis de varianza (ANEXO IV), donde se demuestra que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) en los factores A, B, AB, según corresponden a concentración de KOH, tiempo de pre extracción e interacción de ambos, respectivamente.

Se realizó un análisis de regresión para determinar el grado de correlación de los valores experimentales con los del modelo seleccionado "2FI vs Linear" (ANEXO IV).

Encontrando que el coeficiente de determinación (R^2) fue de 0.7951 y el R^2 -ajustado fue de 0.9288. Dichos valores fueron cercanos a la unidad, lo que demuestra que el modelo seleccionado logra predecir con buena exactitud el rendimiento de λ -carragenina.

Se realizó un análisis de contornos (Fig 4.5) y superficie respuesta (Fig 4.6) para evaluar, el comportamiento del rendimiento de λ -carragenina, con respecto a los dos factores estudiados, donde se observa que a un tiempo de 5 horas con una concentración de 3% de KOH, se obtiene un 10% de rendimiento. Aun tiempo de 24 horas a una concentración de 3% de KOH, se obtiene un rendimiento del 30%. A un tiempo de 5 horas con una concentración de 10% de KOH, se obtiene un rendimiento de 10%. A un tiempo de 14.50 horas con una concentración de 6.50% de KOH, se obtiene un rendimiento de 8.6% y a un tiempo de 24 horas a una concentración de 10% de KOH, se obtiene un rendimiento de 70.8 %, siendo éste último la mejor prueba realizada.

La ecuación final para predecir el contenido de rendimiento de λ -carragenina se muestra a continuación:

$$\begin{aligned} \text{Rendimiento Lamda} = & \\ & +2.34758 \\ & -0.08173 * \text{Concentracion de KOH} \\ & +0.20427 * \text{Tiempo de extraccion} \\ & +0.30677 * \text{Concentracion de KOH} * \text{Tiempo de} \\ & \text{extraccion} \end{aligned}$$

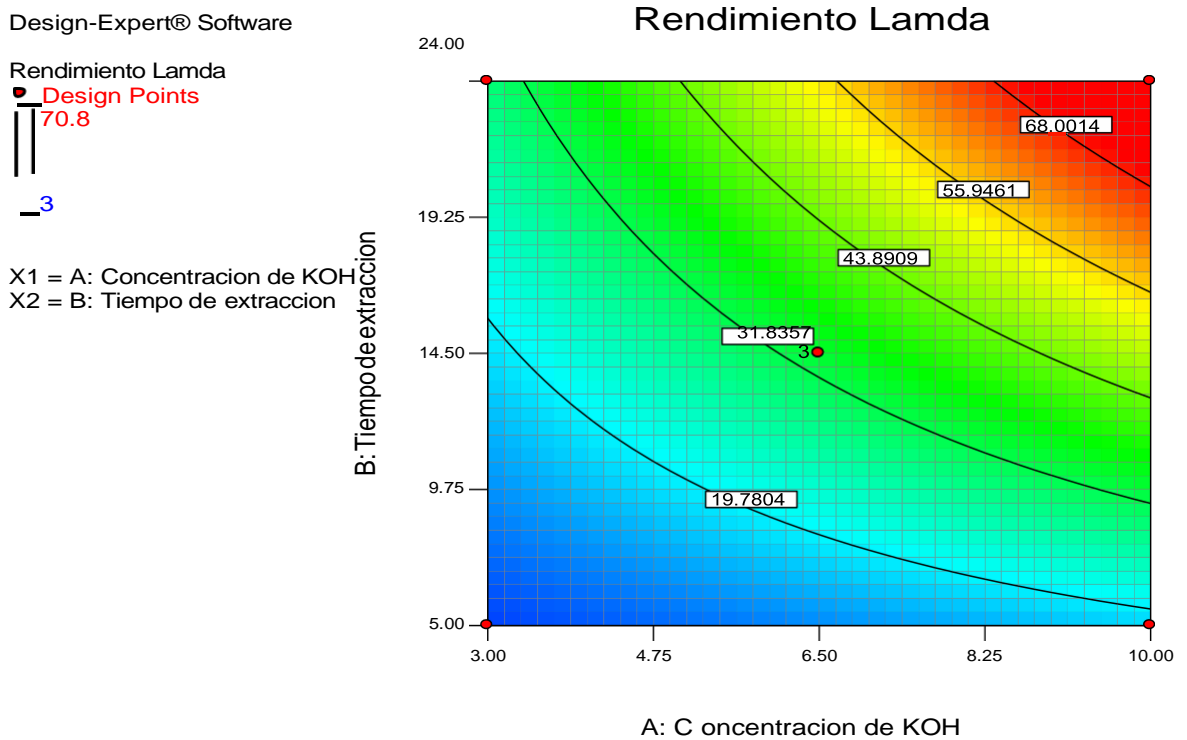


Figura 4.4

Diagrama de contorno para la evaluación del rendimiento de Lambda carragenina

Design-Expert® Software

Rendimiento Lamda



X1 = A: Concentracion de KOH
X2 = B: Tiempo de extraccion

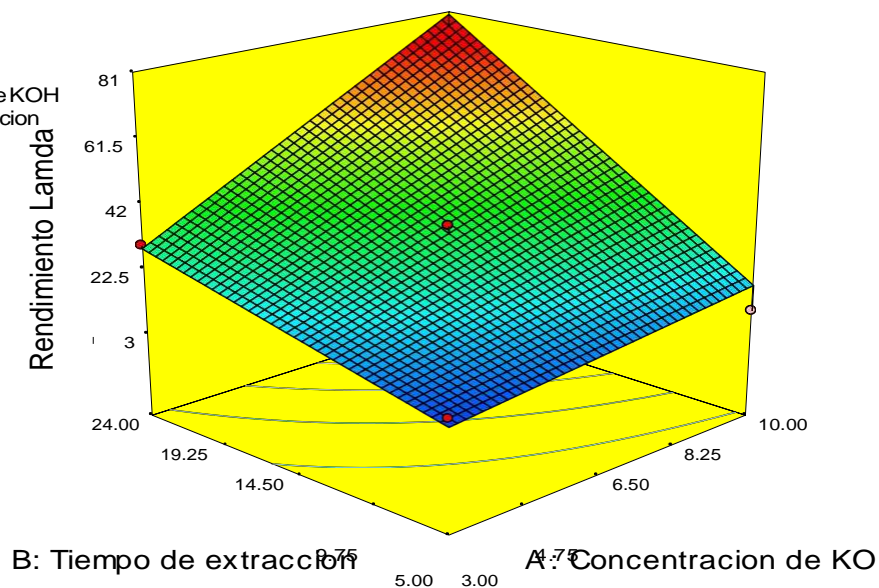


Figura 4.5

Diagrama de superficie respuesta para la evaluación del rendimiento de Lambda carragenina

4.2. DISCUSIONES

Las caracterización organolépticas del alga cochayuyo (*Chondracanthus chamissoi*) tuvo como resultado un color verde claro, olor suigeneris, sabor característico, aspecto en forma de láminas largas y de consistencia carnosa y firma; así como su caracterización resultante que tuvo una humedad del 81%, proteínas al 3.20%, grasas 0.40%, cenizas 4.20%, fibra 1.25%, energía 56.20 Kcal/100g y un valor nutritivo de 3.40%.

El elevado contenido de humedad y ceniza, concuerdan con lo reportado por Wilmer-Carbajal y De la Cruz (2005), quienes informan que los minerales predominantes en el cochayuyo son el magnesio, calcio,

sodio, silicio y fósforo.

El pH obtenido de las muestras con mejores rendimientos de κ y λ carragenano fue 10.17 y 10.15 respectivamente, las cuales concuerdan en pH básico a partir de macro alga según los estudios realizados por Salas de la Torre & S. de Castañeda (2009).

Con respecto a la viscosidad de los geles formados por κ y λ carragenano, esta se encontró entre 10.15 – 11.45 cp para la κ carragenina y 10.23 – 11.65 cp para la λ carragenina. Estos valores son reducidos a comparación con geles más viscosos, pero esto concuerda con lo manifestado por Solís Bravo (2007), quien señala que la carragenina κ -I no se caracteriza por producir soluciones de alta viscosidad, debido principalmente a que poseen un bajo contenido de grupos sulfato, sin embargo, las soluciones de carragenina κ -II presentan una mayor viscosidad, dado su mayor peso molecular. Según Van De Valde et al. (2005), las propiedades reológicas de las carrageninas son determinadas por la composición y estructura química de éstas.

Si bien las carrageninas son consideradas uno de los mayores ingredientes texturizantes utilizados en diversas aplicaciones alimentarias, por lo que sus propiedades reológicas son de gran importancia y constituyen el principal interés para la obtención de nuevos extractos de carragenina que maximicen y/o combinen estas propiedades (Villanueva et al., 2004). Los típicos valores de viscosidad de las carrageninas, oscilan entre 50 – 300 cp, pero este valor es cuando es obtenida en polvo y reconstituida, es por ello que nuestros resultados son muchos inferiores a los reportados por la literatura.

Con respecto al rendimiento de las fracciones de κ y λ carragenanos, los parámetros óptimos de extracción fueron de 24 horas de pre extracción a una concentración de 10% de KOH, donde se obtuvo un rendimiento de 69 y 70.8 % de κ y λ carragenanos, respectivamente.

Según Solís Bravo (2007), el contenido de carragenina que se logra extraer de las algas, tiene gran valor desde el punto de vista en el mercado empresarial, por ende, tiene directa relación con el valor económico de estas materias primas

En la hipótesis formulada se dijo que la concentración de KOH al 6 %, con un tiempo de 10 horas sería la muestra con mejor rendimiento, contrastando con los resultados obtenidos, podemos decir que nuestra hipótesis no se debía demasiado de los valores encontrados experimentalmente.

Los valores de rendimiento de κ y λ carragenanos obtenidos son superiores en comparación con los 36.2 % y 45.3% obtenidos en la Cuantificación de κ y λ carragenanos a partir de macro alga según los estudios realizados por Salas de la Torre & S. de Castañeda (2009).

Según Riofrío (2003), las diferencias en el rendimiento total de carragenina encontradas entre tratamientos, son atribuibles principalmente a la capacidad de constitución de hidrocoloide que posee cada especie de alga, lo que a su vez depende en gran parte, del estado de madurez de las frondas, de ciertos factores ambientales tales como temperatura, nutrientes y luz entre otros y de características propias de cada especie de alga.

Los altos valores de rendimiento, pueden ser comparados con otros tipos de algas, como la Luga roja, la cual es una de las algas de aguas frías de mayor importancia comercial debido precisamente a que posee un alto contenido de carragenina (Buschmann et al., 2001).

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

La concentración óptima de KOH fue de 10% y el tiempo óptimo fue de 24 horas, para lograr mayor rendimiento en la etapa de pre extracción de κ y λ carragenano respectivamente. Obteniéndose rendimientos de 69% y 70.8 % tanto para κ y λ carragenano respectivamente.

Los valores de pH para las κ y λ carragenanos obtenidos con los parámetros óptimos, fueron de 10 a 10.17 para los κ -carragenanos y de 10.15 a 10.4 para los λ carragenanos

Los valores de viscosidad de las carrageninas obtenidos con los parámetros óptimos de pre extracción, fueron de 11.45 a 10.15 cp para los κ -carragenanos y de 11.45 a 10.15 cp para los λ carragenanos.

5.2. RECOMENDACIONES

En la actualidad en nuestra región solo se viene explotando de manera comercial y/o su uso directo como es en la gastronomía se recomienda seguir investigando para su mejor uso en la industria de alimentos ya que se le puede dar usos como un medio gelificante y también en la rama farmacéutica.

Promover el cultivo de algas marinas tanto en nuestra región como en toda la costa de nuestro país para su industrialización y a la misma vez crear empresas para la extracción de carragenanos.

Continuar la investigación hasta la etapa de extracción final de carrageninas y evaluar su efecto en alimentos como flanes, postres de leche, entre otros.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BURTIN, P. (2003). Nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2(4), 498-503.
2. BUSCHMANN, A.; CORREA, J.; WESTERMEIER, R.; HERNANDEZ, M. y NORAMBUENA, G. (2001). Red algal farming in Chile: a review. *Aquaculture*. 194: 203-220.
3. CAPITAL (2013). Marea Alta. Revista virtual financiera. Disponible en: <http://www.capital.cl/negocios/2013/02/21/120252-marea-alta>
4. CARBAJAL, W., GALÁN, J., & DE LA CRUZ, J. (2005). Prospección del recurso *Chondracanthus Chamisooi* "cochayuyo" en la playa de Huanchaco (Trujillo), Junio-Julio 2005. Instituto Del Mar Del Perú.
5. CHEN, Y., LIAO, M. L., & DUSTAN, D. E. (2002). The rheology of K⁺ - κ-carrageenans as a weak gel. *Carbohydrate Polymers*, 50, 109-116.
6. CORNELL, J. (1990). How to apply response surface methodology. Wiley.EEUU.
7. CP KELCO. (2002). GENU ® Carrageenan Book. Retrieved from <http://foodsci.rutgers.edu/carbohydrates/Carrageenan Book.pdf>
8. Falshaw, R.; Bixler, H.; Johndro, K. (2001). Structure and performance of commercial kappa-2 carrageenan extracts I. Structure analysis. *Food Hydrocolloids*. 15: 441-452.

9. FENNEMA, O.R.(2000). Química de los Alimentos. 2ª edición. Ed. Acribia. Zaragoza.
10. G. AZEVEDO, M.D. TORRES, I. SOUSA-PINTO, L. H. (2015). Effect of pre-extraction alkali treatment on the chemical structure and gelling properties of extracted hybrid carrageenan from *Chondrus crispus* and *Ahnfeltiopsis devoniensis*. *Food Hydrocolloids*, 50(June), 150–158.
11. G. AZEVEDO, HILLIOU, L., BERNARDO, G., SOUSA-PINTO, I., ADAMS, R. W., NILSSON, M., & VILLANUEVA, R. D. (2013). Tailoring kappa/iota-hybrid carrageenan from *Mastocarpus stellatus* with desired gel quality through pre-extraction alkali treatment. *Food Hydrocolloids*, 31(1), 94–102.
12. GARCÍA M. (2010). Macroalgas marinas: situación actual y requerimientos legales para su explotación. En: Las algas en Galicia: factores que condicionan su explotación y oportunidades de valorización, Proyecto BIOTECMAR (Explotación Biotecnológica de productos y subproductos marinos), Centro Tecnológico del Mar-Fundación CETMAR.
13. GELYMAR. (2015). Carrageninas. (Disponible en: www.gelymar.com).
14. GIL-KODAKA P, MENDO J, FERNÁNDEZ E. (2002). Diversidad de macroalgas del submareal en la Reserva Nacional de Paracas y notas sobre su uso potencial. Memorias de la primera jornada científica. UNALM. 154 – 163.
15. HAYASHI, L., OLIVEIRA, E. C., BLEICHER-LHONNEUR, G., BOULENGUER, P., PEREIRA, R. T. L., VON SECKENDORFF, R., et al. (2007). The effect of selected cultivation conditions on the carrageenan characteristics of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) in Ubatuba Bay, Sao Paulo, Brazil. *Journal of Applied Phycology*, 19, 505e511.

16. HILLIOU, L., LAROTONDA, F. D. S., ABREU, P., ABREU, M. H., SERENO, A. M., & GONÇALVES, M. P. (2011). The impact of seaweed life phase and postharvest storage duration on the chemical and rheological properties of hybrid carrageenans isolated from Portuguese *Mastocarpus stellatus*. *Carbohydrate Polymers*, 87, 2655-2663.

17. HILLIOU, L., LAROTONDA, F. D. S., ABREU, P., RAMOS, A. M., SERENO, A. M., & GONÇALVES, M. P. (2006). Effect of extraction parameters on the chemical structure and gel properties of kappa/iota-hybrid carrageenan obtained from *Mastocarpus stellatus*. *Biomolecular Engineering*, 23, 201-208.

18. HILLIOU, L., LAROTONDA, F. D. S., ABREU, P., RAMOS, A. M., SERENO, A. M., & GONÇALVES, M. P. (2006). Effect of extraction parameters on the chemical structure and gel properties of κ /i-hybrid carrageenans obtained from *Mastocarpus stellatus*. *Biomolecular Engineering*, 23(4), 201–208.

19. HUNG, L. D., HORI, K., NANG, H. Q., KHA, T., & HOA, L. T. (2008). Seasonal changes in growth rate, carrageenan yield and lectin content in the red alga *Kappaphycus alvarezii* cultivated in Camranh Bay, Vietnam. *Journal of Applied Phycology*, 21, 265-272.

20. HURTADO, A. Q., CRITCHLEY, A. T., TRESPOEY, A., & BLEICHER-LHONNEUR, G. (2008). Growth and carrageenan quality of *Kappaphycus striatum* var. *sacol* grown at different stocking densities, duration of culture and depth. *Journal of Applied Phycology*, 20, 101-105.

21. MANGIONE, M.; GIACOMAZZA, D.; BULONE, D.; MARTORANA, V.; CAVALLARO, G. Y SAN BIAGIO, P.(2005). K⁺ and Na⁺ effects on the gelation properties of κ - carrageenan. *Biophysical Chemistry*. 113: 129-135.

22. D.J., (2003). A guide to the seaweed industry. FAO, Rome FAO Fisheries Technical Paper No. 441.

23. MENDOZA, W. G., GANZON-FORTES, E. T., VILLANUEVA, R. D., ROMERO, J. B., & MONTANO, M. N. E. (2006). Tissue age as a factor affecting carrageenan quantity and quality in farmed *Kappaphycus striatum* (Schmitz) Doty ex Silva. *Botanica Marina*, 49, 57-64.
24. MENDOZA, W. G., MONTANO, M. N. E., GANZON-FORTES, E. T., & VILLANUEVA, R. D. (2002). Chemical and gelling profile of ice-ice infected carrageenan from *Kappaphycus striatum* (Schmitz) Doty "sacol" strain (Solieriaceae, Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 14, 409-418.
25. MONTGOMERY, D. (1991). *Métodos y Diseños de Superficie de Respuesta*. Iberoamericana. México. pp. 467-509.
26. Nickerson, M.; Paulson, A. y Hallet, F. (2004). Dilute solution properties of κ -carrageenan polysaccharides: effect of potassium and calcium ions on chain conformation. *Carbohydrate Polymers*. 58: 25-33.
27. PEREIRA, L., & VAN DE VELDE, F. (2011). Portuguese carrageenophytes: carrageenan composition and geographic distribution of eight species (Gigartinales, Rhodophyta). *Carbohydrate Polymers*, 84, 614-623.
28. RIOFRIO, O. (2003). Efecto de la Variabilidad térmica sobre la biología vegetativa reproductiva de *Chondracanthuschamissoi* (Agardh) Kützinger (Rhodophyta) en la bahía de Ancón, Perú. Tesis para optar el título de Biólogo. UNMSM. 41 pp.
29. RODRIGUES M, I Y LEMMA A. (2015). *Experimental Design and Process Optimization*. CRC Taylor y Francis. Boca Ratón – Florida.
30. SALAS DE LA TORRE, S. DE, CASTAÑEDA, C., & CALLE, L. (2009).

Cuantificación de κ y λ -carragenanos a partir de la macro alga chondracanthus chamissoi cuantification, 75(4), 414–421.

31. SOLÍS-BRAVO, I. (2007). Estudio Comparativo de las Propiedades Finales de Extractos de Carrageninak -I / κ -II Utilizando Distintas Algas productoras de carrageninas. Tesis para optar el grado de Licenciado en Ciencias de Alimentos. Universidad Austral de Chile.
32. VAN DE VELDE, F., & DE RUITER, C. A. (2002). Carrageenan. In A. Steinbüchel, S. DeBaets, & E. i. VarrDamme (tds.), Biopolymers (Vol. 6) Polysacharidell Ptlysaccharicles from Eukaryotes (pp. 225 274). Weinheim: Wiley-VCH.

ADITIVOS & INGREDIENTES. 2009. Antioxidantes Naturais. Antioxidantes Naturais Vegetais, Frutas, Ervas, Especiarias e Chás. Revista, n. 64, p.20-34, set/out.
BARUFALDI, R., OLIVEIRA, N. M. 1998. Fundamentos de Tecnologia de Alimentos. Vol. 3; Editora Atheneu; São Paulo – SP.
33. VAN DE VELDE, F.; ANTIPOVA, A.; ROLLEMA, H.; BUROVA, T.; GRINBERG, N.; PEREIRA, L.; GILSENAN, P.; TROMP, R.; RODOLPH, B. Y GRINBERG, V. (2005). The structure of κ/λ hybrid carrageenan II. Coil helix transitions as a function of chain composition. Carbohydrate Research. 340:1113-1129.
34. VAN DE VELDE, F.; ANTIPOVA, A.; ROLLEMA, H.; BUROVA, T.; GRINBERG, N.; PEREIRA, L.; GILSENAN, P.; TROMP, R.; RODOLPH, B. Y GRINBERG, V. (2005). The structure of κ/λ hybrid carrageenan II. Coil helix transitions as a function of chain composition. Carbohydrate Research. 340:1113-1129.
35. VAN DE VELDE, F.; PEPPELMAN, H.; ROLLEMA, H. Y TROMP, R. (2001). On the structure of κ/λ hybrid carrageenans. Carbohydrate Research.331: 271- 283.

36. VIANA, A.; NOSEDA, M.; DUARTE, M. E. Y CEREZO, A. (2004). Alkali modification of carrageenan. Part V. The iota-nu hybrid carrageenan from *Eucheuma denticulatum* and its cyclization to iota-carrageenan. *Carbohydrate Polymers*. 58: 455-460.
37. VIANA, A.; NOSEDA, M.; DUARTE, M. E. Y CEREZO, A. (2004). Alkali modification of carrageenan. Part V. The iota-nu hybrid carrageenan from *Eucheuma denticulatum* and its cyclization to iota-carrageenan. *Carbohydrate Polymers*. 58: 455-460.
38. VILLANUEVA, R.; MENDOZA, W.; RODRIGUEZA, M.; ROMERO, J. Y MONTAÑO, M. (2004). Structure and functional performance of gigartinacean kappa-iota hybrid carrageenan and solieracean kappa-iota carrageenan blends. *Food Hydrocolloids*. 18: 283-292.
39. VIVANCO P. (2011). *Planeamiento de Experimentos y Optimización de Procesos en la Industria de Alimentos*. Universidad Nacional del Callao.
40. WAKIBIA, J. G., BOLTON, J. J., KEATS, D. W., & RAITT, L. M. (2006). Seasonal changes in carrageenan yield and gel properties in three commercial eucheumoids grown in southern Kenya. *Botanica Marina*, 49, 208-215.
41. WANG, W., ZHANG, P., YU, G.-L., LI, C.-X., HAO, C., QI, X., ET AL. (2012). Preparación and anti-influenza A virus activity of k-carrageenan oligosaccharide and its sulphated derivatives. *Food Chemistry*, (133): 880-888.
42. WHISTLER, R. Y BEMILLER, J. (1993). *Industrial Gums: Polysaccharides and their derivatives*. 3^a edition. Academic Press. San Diego. EE.UU.
- Azevedo, G. Torres M. Sousa I. Hilliou L. 2015. Effect of pre-extraction alkali treatment on the chemical structure and gelling properties of extracted hybrid carrageenan from *Chondrus crispus* and *Ahnfeltiopsis devoniensis*. *Journal*

- Food Hydrocolloids. España.
- Azevedoa G., Hillioua L. Bernardoa G. Sousa-Pintob I., Adams R. Nilssonc M. Villanueva R. 2013. Tailoring kappa/iota-hybrid carrageenan from *Mastocarpus stellatus* with desired gel quality through pre-extraction alkali treatment. *Journal Food Hydrocolloids*. 31.94-102
- SALAS, N. CORDOVA C. LENGUA R. & ANAYA, F. 2009. Cuantificación de κ y λ -carragenanos a partir de la macroalga *Chondracanthus chamissoi*. *Rev. Soc. Quím. Perú*. vol.75, n.4, pp. 414-421.
- SOLIS I. 2007. Estudio Comparativo De Las Propiedades Finales De Extractos De Carragenina K-I / K-II Utilizando Distintas Algas Productoras De Carragenina K-II. Tesis. Escuela de Ingeniería de Alimentos. Universidad Austral de Chile.
- Hilliou L, Larotonda FD, Abreu P, Ramos AM, Sereno AM, Gonçalves MP. 2006. Effect of extraction parameters on the chemical structure and gel properties of kappa/iota-hybrid carrageenans obtained from *Mastocarpus stellatus*. *Biomol Eng*. 23(4):201-8.
- PRADO-FERNÁNDEZ, J.; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, J.A.; TOJO, E.; ANDRADE, J.M. 2003. Quantitation of κ -, ι -, and λ -carrageenans by midinfrared spectroscopy and PLS regression. *Analytica Chimica Acta*, v.480, p.23-37.
- PICULELL, L. 1995. Gelling carrageenans. In: *Food Polysaccharides and their Applications*. (Ed.) New York, Marcel Dekker, p. 205-244.

ANEXO I

Procedimiento experimental para la extracción de carragenina



Figura 1:
Preparación de alga de Cochayuyo (chondracanthuschamissoi)
Fuente: Elaboración propia



Figura 2:
Secado de alga de Cochayuyo
(chondracanthuschamissoi) a 60°C
Fuente: Elaboración propia



Figura 3:
Agitación de la muestra a través de un agitador magnético.
Fuente: Elaboración propia



Figura 4:
Alga semi refinada preparada para su congelación.
Fuente: Elaboración propia

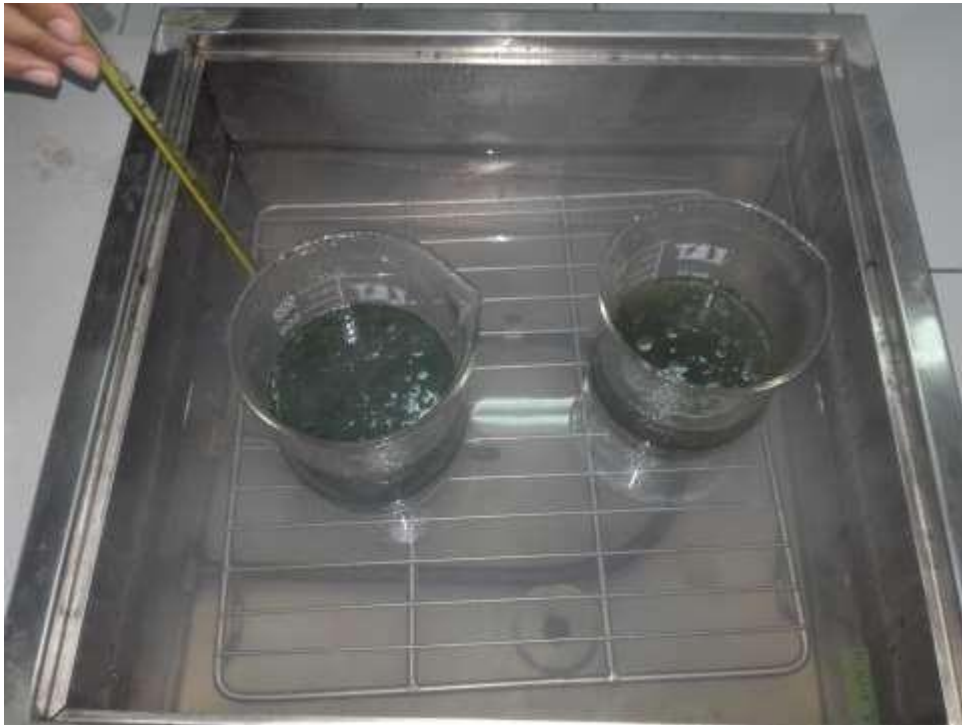


Figura 5:
Muestras gelificadas en baño maría 80°C
Fuente: Elaboración propia



Figura 6:
Separación de κ y λ carragenanos por filtrado al vacío
Fuente: Elaboración propia

ANEXO II
Caracterización del cohayuyo



Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo
Facultad de Ciencias Biológicas




INFORME DE ANALISIS BROMATOLÓGICOS

Nº 000404

Solicitante: CRISTIAN CASTAÑEDA PALACIOS.
Asunto: SOLICITA ANÁLISIS BROMATOLÓGICO **Nº de Factura:**
Referencia: SOLICITUD **Fecha:** 04 - 05 - 2 016
Fecha de Recepción: 04 - 05 - 2016 **Código:** MAYO - 2016

- I. DATOS DEL SOLICITANTE:
Nombre : CRISTIAN CASTAÑEDA PALACIOS.
Expediente : Nº 1071-2016-FCCBB: Fecha: 04 - 05 -2016.
- II. DATOS DE LA MUESTRA:
Nombre : YUYO FRESCO (*Guzmania chamissoi*).
Cantidad recibida : 01 muestra.
Forma de Presentación : Bolsa coerente sin membrete.
Estado del envase : Bueno.
Naturaleza del envase : Plástico.
Marca : NO INDICA.
Procedencia : NO INDICA.
Peso bruto declarado : NO INDICA.
Peso neto declarado : NO INDICA.
Rendimiento : NO INDICA.
Peso bruto determinado : 91,5 g.
Peso neto determinado : 85,1 g.
Fecha de Producción : NO INDICA.
Fecha de Vencimiento : NO INDICA.
Registro Sanitario : NO INDICA.
Llegada al laboratorio : 19-05-2016
Fecha de análisis : 20-05-2016
- III. TIPO DE ANALISIS
- ORGANOLEPTICO
- FISICO - QUIMICO
- IV. DOCUMENTO NORMATIVO
Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (D.S. 007-98-SA)
- V. RESULTADO DEL ANALISIS
1. Caracteres Organolépticos:
Color : Verde claro.
Olor : Suavemente.
Sabor : Característico.
Aspecto : Láminas largas.
Consistencia : Carnosa y firme.
2. Determinaciones Físico - químicas:
Humedad : 81,00% V. Máx. 12% Método empleado: Gravimétrico de la estufa.
Materia Seca : 09,00% Método empleado: Por diferencia
Proteínas base seca : 03,20% Método empleado: Kjeldahl
Grasas base seca : 00,40% Método empleado: Soxhlet
E.L.N. : 09,95% Método empleado: Por diferencia
Cenizas base seca : 04,20% Método empleado: Incineración directa.
Fibra cruda base seca : 01,25% Método empleado: AOAC 985.29
Energía total : 56,20 Kcal/100g (Fórmula de Atwater)
Valor nutritivo : 3,40 (Fórmula de Atwater)
- VI. CONCLUSIONES: La muestra se encuentra APTA PARA EL CONSUMO HUMANO DESDE EL PUNTO DE VISTA BROMATOLÓGICO
Lambayeque, 26 de Mayo del 2016


 M.Sc. José Roberto Perich
 C. B. P. 2463

NOTA: La presente certificación es válida por cinco días a partir de la fecha de emisión. La fotocopia no es válida.

ANEXO III

Análisis estadístico del rendimiento de k-carrageninas

En la **Tabla 1** se muestra el modelo "Sequential Model Sum of Squares [Type I]" utilizando el programa Design-Expert 7.0, como se puede observar se presenta los diferentes modelos al cual se han ajustado los resultados de la matriz experimental, para la cual se evalúa el ajuste con la prueba F y los p valores. Para un 95% de confiabilidad el p-valor de tabla es de 0.05, aquellos modelos cuyos p valores son menores a 0.05 son estadísticamente significativos, es decir que los datos se ajustan a este modelo. Por lo que se puede observar el modelo lineal con interacción tiene un p valor menor a 0.05, por lo cual nuestros datos se ajustan a ese modelo.

Tabla 1

Modelo secuencial de suma de cuadrados.

Sequential Model Sum of Squares [Type I]

| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F Value | p-value Prob>F | |
|----------------------|----------------|----------|---------------|-------------------|----------------|------------------|
| Mean vs Total | 9425.81818 | 1 | 9425.81818 | | | |
| Linear vs Mean | 4579.03374 | 2 | 2289.51687 | 27.199969 | 0.0003 | |
| <u>2FI vs Linear</u> | <u>547.56</u> | <u>1</u> | <u>547.56</u> | <u>30.4615626</u> | <u>0.0009</u> | <u>Suggested</u> |
| Quadratic vs 2FI | 6.84181818 | 2 | 3.42090909 | 0.14375227 | 0.8696 | |
| Cubic vs Quadratic | 88.5662641 | 2 | 44.2831321 | 4.36717279 | 0.1293 | Aliased |
| Residual | 30.42 | 3 | 10.14 | | | |
| Total | 14678.24 | 11 | 1334.38545 | | | |

Fuente: Elaboración propia

La tabla 2 indica el modelo F-Value de valor 95.07, que implica que este es significativo; teniendo en cuenta que existe solo una posibilidad del 0.01 % a que el “Modelo F-Value” tenga una gran cambio debido al ruido.

Los valores de “Prob> F” son menores que 0.0500 los cuales indican que los términos del modelo son significativo.

Valores superiores a 0.1000 indican que los términos de modelo no son significativos.

Si hay muchos términos del modelo insignificantes (sin contar los que permiten la jerarquía), la reducción del mismo puede mejorar el modelo.

Tabla 2
Datos obtenidos según el modelo matemático 2FI del programa Design – Expert 7.0

ANOVA for Response Surface 2FI Model

| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F Value | p-value Prob>F | |
|------------------------|----------------|----|-------------|------------|----------------|-------------|
| Model | 5126.59374 | 3 | 1708.86458 | 95.0666324 | 0.0001 | significant |
| A-Concentración de KOH | 1581.93182 | 1 | 1581.93182 | 88.0051775 | 0.0001 | < |
| B-Tiempo de extracción | 2997.10192 | 1 | 2997.10192 | 166.733157 | 0.0001 | < |
| AB | 547.56 | 1 | 547.56 | 30.4615626 | 0.0009 | |
| Residual | 125.828082 | 7 | 17.9754403 | | | |
| Lack of Fit | 125.828082 | 5 | 25.1656165 | | | |
| Pure Error | 0 | 2 | 0 | | | |
| Cor Total | 5252.42182 | 10 | | | | |

Fuente: Elaboración propia

La Tabla 3 señala que el coeficiente "Pred R-Squared" de valor 0.9088 es razonable de acuerdo con el coeficiente "Adj R-Squared" de valor 0.9658.

El coeficiente "Adeq precisión" mide la relación señal a ruido, teniendo un valor de 28.35, siendo este mayor que 4 el cual es deseable, ya que significa un modelo adecuado de discriminación, indicando una señal adecuada y un coeficiente de variación (C.V.) de %14.48. Este modelo se puede utilizar para navegar por el espacio de diseño.

Tabla 3
Coeficientes estadísticos

| Coeficiente | valor | Coeficiente | valor |
|-------------|------------|----------------|------------|
| Std. Dev. | 4.23974531 | R-Squared | 0.9760438 |
| Mean | 29.2727273 | Adj R-Squared | 0.96577685 |
| C.V. % | 14.483602 | Pred R-Squared | 0.90882582 |
| PRESS | 478.885267 | AdeqPrecision | 28.3535713 |

Fuente: Elaboración propia

ANEXO IV

Análisis estadístico del rendimiento de λ -carrageninas

El cuadro 4, se muestra el modelo "SequentialModel Sum of Squares [Type I]" utilizando el programa Design–Expert 7.0 en la cual se muestra la prueba de comparación de modelo de varianza con la varianza residual (F), da como valor más alto 29.81, el cual se interpreta que es un polinomio de grado 29 con un valor de grados libertad (freedom) de 2, una estimación de varianza (Mean Square) de 2678.66; y un p (Probabilidad del valor de F) de 0.0002; donde los términos adicionales son significativos, debido a que p es menor que 0.05; por lo tanto el modelo no tiene traslape (alised).

Tabla 4

Modelo secuencial de suma de cuadrados

Sequential Model Sum of Squares [Type I]

| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F Value | p-value Prob> F | |
|--------------------|----------------|----|-------------|---------|-----------------|-----------|
| Mean vs Total | 12485.85 | 1 | 12485.85 | | | |
| Linear vs Mean | 5357.32 | 2 | 2678.66 | 29.81 | 0.0002 | |
| 2FI vs Linear | 416.16 | 1 | 416.16 | 9.62 | 0.0173 | |
| Quadratic vs 2FI | 37.2 | 2 | 18.6 | 0.35 | 0.7205 | Suggested |
| Cubic vs Quadratic | 210.38 | 2 | 105.19 | 5.72 | 0.0946 | Aliased |
| Residual | 55.13 | 3 | 18.38 | | | |
| Total | 18562.04 | 11 | 1687.46 | | | |

Fuente: Elaboración propia

La table 5 indica el modelo F-Value de valor 80.68, que implica que este es significativo; teniendo en cuenta que existe solo una posibilidad del 0.01 % a que el "Modelo F-Value" tenga una gran

cambio debido al ruido.

Los valores de "Prob> F" son menores que 0.0500 los cuales indican que los términos del modelo son significativo.

En este caso A, B, AB son los términos del modelo significativo.

Valores superiores a 0.1000 indican que los términos de modelo no son significativos.

Si hay muchos términos del modelo insignificantes (sin contar los que permiten la jerarquía), la reducción del mismo puede mejorar el modelo.

Tabla 5

Datos obtenidos según el modelo matemático 2FI del programa Design – Expert 7.0

ANOVA for Response Surface 2FI Model

| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F Value | p-value Prob>F | |
|------------------------|----------------|----|-------------|---------|----------------|-------------|
| Model | 5773.48 | 3 | 1924.49 | 44.5 | < 0.0001 | Significant |
| A-Concentración de KOH | 1868.40 | 1 | 1868.40 | 43.21 | < 0.0003 | |
| B-Tiempo de extracción | 3488.92 | 1 | 3488.92 | 80.68 | < 0.0001 | |
| AB | 416.6 | 1 | 416.16 | 9.62 | 0.0073 | |
| Residual | 302.71 | 7 | 43.24 | | | |
| Lack of Fit | 302.71 | 5 | 60.54 | | | |
| Pure Error | 0.000 | 2 | 0.000 | | | |
| Cor Total | 6076.19 | 10 | | | | |

Fuente: Elaboración propia

La tabla 6 señala que el coeficiente "Pred R-Squared" de valor 0.7951 es razonable de acuerdo con el coeficiente "Adj R-Squared" de valor 0.9288.

El coeficiente "Adeq precisión" mide la relación señal a ruido, teniendo un valor de 19.140, siendo este mayor que 4 el cual es deseable, ya que significa un modelo adecuado de discriminación, indicando una señal adecuada y un coeficiente de variación (C.V.) de %19.52. Este modelo se puede utilizar para navegar por el espacio de diseño.

Tabla 6
Coeficientes estadísticos

| Coeficiente | valor | Coeficiente | valor |
|-------------|---------|----------------|--------|
| Std. Dev. | 6.58 | R-Squared | 0.9502 |
| Mean | 33.69 | Adj R-Squared | 0.9288 |
| C.V. % | 19.52 | Pred R-Squared | 0.7951 |
| PRESS | 1244.81 | AdeqPrecision | 19.140 |

Fuente: Elaboración propia