

PRODUCCION DE AGAR-AGAR EN COSTA RICA A PARTIR DE GRACILARIA FORTISSIMA *

Dennis León, Ivette Peña*, Jimmy Avendaño*, Juan J. Alvarado**

Key Word Index: Agar-agar production

RESUMEN

Se evaluaron comparativamente cinco diferentes métodos de tratamiento previo para la extracción de agar a partir de algas de la especie, Gracilaria fortissima recogida en Cahuita, provincia de Limón, Costa Rica. Los tratamientos previos utilizados fueron: alcalino a 90-95°C y a 70-75°C, ácido a 17°C, combinado alcalino-ácido a 90-95°C y 80-85°C y se comparó con la extracción sin tratamiento previo de las algas. El agar obtenido se evaluó con respecto a los siguientes parámetros: rendimiento, temperatura de fusión, temperatura de gelificación, fuerza del gel y apariencia del mismo. El tratamiento combinado alcalino-ácido a 90-95°C resultó ser el más adecuado para la extracción del agar.

Se sugiere extender el estudio hacia otras especies de algas rojas presentes en Cahuita, que podrían producir agar de mejor calidad. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1984; 5(2): 144-149].

INTRODUCCION

El agar es un polisacárido que se extrae de las algas de la clase Rhodophyceae, mejor conocidas como algas rojas, y constituye, en algunas de éstas, el principal componente de la pared celular (4, 10, 11). El descubrimiento de la extracción del agar ocurrió por accidente, a mediados del siglo XVII (3,9) y su utilización en el campo de la Bacteriología se produjo hasta en 1882, cuando Robert Koch lo usó en sus medios de cultivo, como sustituto de la gelatina (3). El agar también se utiliza en la industria alimenticia y cosmetológica.

En cuanto a la estructura química del agar, éste ha sido fraccionado en agarosa y agaropectina. La agarosa virtualmente no tiene grupos sulfato, mientras que la agaropectina es probablemente una mezcla de polisacáridos que contiene grupos sulfato, ácido glucorónico y a veces ácido pirúvico. La estructura ideal del agar es la de la molécula de agarosa y cuanto más semejante a ésta, mayor poder gelificante tendrá, además de que el rango entre la temperatura de fusión y gelificación será mayor (8, 13). Los géneros agaríferos más usados son: *Gracilaria*, *Gelidium* y *Ptecladia* siendo los dos últimos las fuentes preferidas en la industria agarífera (10). Se han descrito muchos métodos para producir agar (1, 2, 5, 6, 7, 9, 10, 12) pero el más importante, usado en el Japón, consistió en el proceso de congelación, descongelación.

La difícil situación económica por la que atraviesa nuestro país y el encarecimiento de los medios de cultivo, principalmente del agar, nos movió a analizar la posibilidad de producir éste en nuestro país. El objetivo de este trabajo fue desarrollar

* Presentado en IV Congreso Nacional de Microbiología, Parasitología y Patología Clínica, San José, Costa Rica, 1982.

* Microbiólogos Químico Clínicos, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

métodos adecuados para la producción de agar a partir de algas presentes en nuestras costas. El alga escogida para tal propósito fue *Gracilaria fortissima*.

MATERIALES Y METODOS

La recolección de las algas se realizó directamente del sustrato rocoso al que se encuentran adheridas. *Gracilaria fortissima* fue cuidadosamente separada de otras especies de algas consideradas como contaminantes. Se colocaron en láminas metálicas y se expusieron al sol por una semana, lavando periódicamente con agua del tubo hasta que se decoloraron totalmente, luego se secaron en un horno a 50°C por 24-48 horas.

Las algas, una vez secas y decoloradas, fueron sometidas a diferentes tratamientos previo a la extracción del agar, ésto con el objeto de determinar con cuál se obtiene mejor calidad en el producto.

Los tratamientos previos usados fueron los siguientes:

- a. **Tratamiento alcalino previo:** con este proceso se busca la conversión del anillo de galactosa 6 sulfato a 3-6 anhidro galactosa (molécula de agarosa) con el objeto de aumentar la fuerza del gel (10).
La temperatura escogida fue de 17°C (6).
- b. **Tratamiento combinado alcalino-ácido:** esta combinación fue ideada por los autores con el propósito de reunir las propiedades dadas por un tratamiento alcalino y las ventajas de un tratamiento ácido previo a la extracción del agar.
Se sometieron 15 g de algas a un tratamiento alcalino por dos horas y media a 90-95°C y a 80-85°C. Posteriormente se les aplicó un tratamiento ácido, procediéndose luego a la extracción del agar.
- c. **Sin tratamiento previo:** se realizó directamente la extracción del agar del alga seca, con el objeto de comparar el efecto de los diferentes tratamientos hechos al alga, previo a la extracción del agar.

Extracción del agar:

Este proceso consistió en someter las algas a ebullición por dos horas y media. El líquido que contenía el agar se separó del residuo de algas, filtrando a través de una bolsa de tela de algodón. Se adicionó carbón activado, se filtró a presión y se congeló por 24 horas. Posteriormente se descongeló con agua corriente y se deshidrató en alcohol al 95 por ciento.

Las hojuelas resultantes se secaron a 37°C.

Filtrado a presión: se utilizó para ello una bomba de vacío conectada a un kitasato con embudo büchnner. Se colocó al embudo un papel de filtro whatman N° 2 y sobre éste, 3 g de tierra diatomácea precalcinada a 600°C por 30 minutos. El vacío utilizado para la filtración fue de 10-15 libras por pulgada cuadrada.

La efectividad de los diferentes tratamientos aplicados se valoró utilizando los siguientes parámetros: temperatura de fusión, temperatura de gelificación, fuerza del gel y porcentaje de rendimiento. (métodos descritos; recuperación de agar-agar a partir de medios de cultivo usados, en prensa).

del gel y porcentaje de rendimiento. (Métodos descritos; Recuperación de agar-agar a partir de medios de cultivo usados, Rev. Cost. Cienc. Méd., en prensa).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia del tratamiento previo sobre el rendimiento:

El efecto del tratamiento previo al alga sobre el rendimiento se presenta en el Cuadro 1, en el que se anota también la apariencia del gel obtenido. El tratamiento previo alcalino produjo bajos rendimientos (3.33% y 4.33%) y la apariencia del gel no fue óptima. Según Kojima y Funaki (5), el proceso de extracción de agar con tratamiento alcalino se ve dificultado por la formación de enlaces éster-sulfúrico, asociado con calcio que hacen disminuir el rendimiento. Por esta razón, Matsuhashi (6) recomienda utilizar polifosfatos como secuestradores de calcio para mejorar el rendimiento. Esta práctica no pudo llevarse a cabo por no tener disponibles polifosfatos.

El tratamiento ácido previo fue el que produjo un rendimiento mayor (44%) y un gel de muy buena apariencia óptica. Por su parte el tratamiento combinado previo mostró un rendimiento medio con una apariencia óptica adecuada pero no óptima. El agar extraído sin tratamiento previo al alga produjo un rendimiento menor que con los tratamientos ácido y combinado pero mayor que con el tratamiento alcalino. La apariencia del gel es muy adecuada para fines bacteriológicos.

Influencia del tratamiento previo sobre las características físicas del agar obtenido:

El efecto del tipo de tratamiento previo del alga sobre las características físicas se presenta en el Cuadro 2. Se puede observar que el método ácido produjo un agar con buenos puntos de fusión y gelificación pero su fuerza de gelificación no pudo determinarse por lo débil del gel.

Con relación al tratamiento alcalino se observó que la fuerza del gel era muy diferente, según la temperatura empleada; así, cuando se extrajo entre 90-95°C, la fuerza del gel fue de 362.5 g/cm², pero ésta fue de apenas 52 g/cm² con el agar extraído entre 70-75°C. La temperatura de gelificación de estos extractos también varió considerablemente, de 60°C a 35°C respectivamente, para las temperaturas citadas.

El tratamiento combinado alcalino-ácido se aplicó tratando de obtener una buena relación entre el rendimiento y la fuerza del gel. Puede observarse que el tratamiento combinado a 90-95°C fue el método más adecuado para la extracción de agar a partir de *Gracilaria fortissima*, ya que, tanto el rendimiento (24.66%) como las temperaturas de fusión y de gelificación fueron buenas, siendo este método el que produjo resultados óptimos en comparación con los otros que se estudiaron.

En general se observó que, conforme aumentaba el rendimiento en la extracción de agar, disminuían las propiedades gelificantes.

Los agares provenientes del género *Gracilaria* son elásticos, con baja fuerza de gelificación y temperaturas de fusión y gelificación altas (10) y en el agar de *G. fortissima* estas características estuvieron también presentes.

El agar que acompaña los medios de cultivo deshidratados poseen temperaturas de fusión entre 84°C y 93°C, temperaturas de gelificación entre 35°C y 39°C, y fuerzas de gelificación que van desde 328 g/cm² hasta 447 g/cm². [Recuperación de agar-agar a partir de medios de cultivo usados, (en prensa)].

CONCLUSIONES

El método de producción de agar a partir de *Gracilaria fortissima* que resultó ser el más adecuado es la extracción del mismo previo tratamiento combinado; alcalino -ácido a 90-95°C.

El agar obtenido de esta alga puede ser usado en medios de cultivo pero, no es el óptimo, ya que tiene una baja fuerza de gelificación y se tendría que usar a una concentración mayor del 1.5 por ciento. El alto rendimiento que se obtiene con el tratamiento ácido previo lo hace útil en la producción de agar con fines diferentes al Bacteriológico, por ejemplo, en la industria alimenticia. El método alcalino se recomienda para elevar la fuerza del gel en algunas especies del género *Gracilaria*, sin embargo el rendimiento de este método es bajo como se pudo comprobar. Nuestro trabajo abarcó sólo una de las especies de algas rojas presentes en Cahuita y es posible que algunas otras sean capaces de producir agar de mejor calidad. Sugerimos que se estudien otras especies tomando en cuenta además la posibilidad de cultivar las algas.

CUADRO 1

EFEKTOS DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS PREVIOS EN EL RENDIMIENTO DEL AGAR EXTRAIDO A PARTIR DE *Gracilaria fortissima*

METODO	Rendimiento en gramos	% Rendimiento*	Apariencia del gel
Tratamiento alcalino a 90-95 °C	0.65	4.33	Turbio—parduzco
Tratamiento alcalino a 70-75 °C	0.50	3.33	Turbio—parduzco
Tratamiento ácido a 17 °C	6.60	44.00	Cristalino—trans- parente.
Tratamiento combi- nado a 90-95 °C	3.70	24.66	Parduzco—claro y transparente.
Tratamiento combi- nado a 80-85 °C	3.30	22.00	Pardo claro y trans- parente.
Extracción sin trata- miento previo	2.70	18.00	Cristalino y trans- parente

* Calculado a partir de 15 g de alga seca.

CUADRO 2

EFECTO DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS PREVIOS SOBRE LAS CARACTERISTICAS FISICAS DEL AGAR OBTENIDO

METODO	Temperatura de fusión en °C	Temperatura de gelificación en °C	Fuerza del gel en g/cm ²
Tratamiento alcalino a 90-95 °C	90	60	362.5
Tratamiento alcalino a 70-75 °C	85	35	52.0
Tratamiento combinado a 90-95 °C	89	46	140.0
Tratamiento combinado a 80-85 °C	84	42	90.0
Extracción sin tratamiento previo	88	40	127.0
Pretratamiento ácido a 17 °C	86	40	*

* No se pudo determinar por lo débil del gel.

AGRADECIMIENTO

Nuestro profundo agradecimiento al Dr. Edgar Salgado por su valiosa colaboración en la realización del proyecto y al Dr. Enrique de la Cruz por la revisión del manuscrito.

ABSTRACT

Five different pre-treatment methods for extracting agar from Gracilaria fortissima, a red algae collected in Cahuita, Limón Province, Costa Rica were evaluated. These methods were: Alkaline at 90-95°C and at 70-75°C, acid at 17°C, combined alkaline-acid at 90-95°C and at 80-85°C, and without pretreatment.

The agar obtained was evaluated with respect to the following parameters: yield, fussion temperature, gelification temperature, gel strength, and optic characteristics.

The combined alkaline-acid at 90-95°C method gave the best results for extracting the agar, although this method was not ideal as the agar obtained had a low gel strength.

It is suggested that the study should be extended to cover other species of red algae from Cahuita, as they may yield agar of better quality.

BIBLIOGRAFIA

1. Corella, R. y Amato, S. Extracción e identificación de agar-agar de *Gracilaria fortissima* (Dawson). Congreso latinoamericano de Química para el desarrollo. Memoria, 1981; San José, Costa Rica, 426i — 426iii.
2. Guiseley, K. B. Seaweed colloids. In *Encyclopedia of Chemical Technology*. Vol 17, p. 763. John Wiley & Sons Inc. M. *Journal of Food Science*, 1977; 42(5):1396-1400.
3. Humm, H.J. Agar a pre-war. Japanese monopoly. *Economic Botany*, 1947; 1:317-329.
4. Humm, H.J. and L. G. Williams. A study of agar from two Brasilian seaweeds. *Am. Jour. Bot.*, 1948; 35 : 287-292.
5. Kojima, Y. and Funaki K. Studies on the new method of preparation of agar-agar from *Ahnfeltia plicata*. I. J. Shimonoseki Coll. Fish, 1977; 9:43 in J. F. Sci., 42(5): 1396-1400.
6. Matsuhashi, T. Acid pretreatment of agarophytes provides improvement in agar extraction. *Journal of Food Science*, 1977;42 :1396-1400.
7. Mohamed, A. F. Agar from Egyptian seaweeds, *Am. Jour Bot*, 1952; 39:689-690.
8. Percival, E. Chemistry of agaroids, Carrageenans and Furcellarans. *J. Sci. Fd. Agric.*, 1972; 23: 933-940.
9. Robertson, G. R. The agar industry in California; *Industrial end Engineering Chemistry* 1930; 22:1074-1076.
10. Santos, G. A. Quality of Carrageenans and agar in *Proceedings of 2nd. Symposium of useful algae*. Edited by Isabella Abbot, Michael S. Foster and Lowise F. Eklund. Published by the Ca. Sea Grant. College, Program UCa., La Jolla, Ca., U.S., 1980;123-129.
11. Tseng, C.K. The terminology of seaweed colloids, *Science*, 1975, 101 (2633):597-602.
12. Tseng, C.K. American's agar Industry. *Food Industries*, 1945; 17:140-141.
13. Turvey, J. R. and Williams L. The agar-type polysaccharide from the red alga. *Ceramium rubrum*. *Carbohydrate Research*, 1976; 49:419-425.