



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**VARIACIÓN EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y
EN LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Eisenia*
arborea (LAMINARIALES: OCHROPHYTA)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA

CRISTINA LANDA CANSIGNO

LA PAZ, B. C. S., JUNIO 2015



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 10:00 horas del día 9 del mes de Junio del 2015 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

“VARIACIÓN EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y EN LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA
DE *Eisenia arborea* (LAMINARIALES: OCHROPHYTA)

Presentada por el alumno:

LANDA	CANSIGNO	CRISTINA				
Apellido paterno	materno	nombre(s)				
Con registro:						
B	1	3	0	8	6	3

Aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Directores de Tesis



DR. GUSTAVO HERNÁNDEZ CARMONA
Director de Tesis



MC. DORA LUZ ARVIZU HIGUERA
2ª. Directora de Tesis



DR. RAFAEL CERVANTES DUARTE

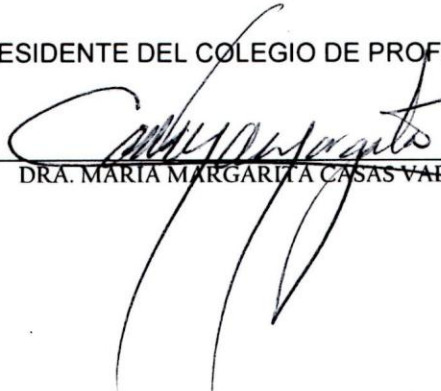


DRA. CLAUDIA JUDITH HERNÁNDEZ GUERRERO



DR. MAURICIO MUÑOZ OCHOA

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES



DRA. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ



IPN
CICIMAR
DIRECCION



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 11 del mes Junio del año 2015
el (la) que suscribe CRISTINA LANDA CANSIGNO alumno(a) del
Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS
con número de registro B130863 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS
manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:
DR. GUSTAVO HERNÁNDEZ CARMONA Y MC. DORA LUZ ARVIZU HIGUERA
y cede los derechos del trabajo titulado:

"VARIACIÓN EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y EN LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA
DE *Eisenia arborea* (LAMINARIALES: OCHROPHYTA)

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: bio.lancan@gmail.com - gcarmona2007@gmail.com - darvizu@ipn.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

CRISTINA LANDA CANSIGNO

nombre y firma

“None of us is as smart as we are together”
David M. Clore.

A la **Sociedad Mexicana**,
porque somos, hemos sido y seremos la mayor motivación para la
generación del conocimiento de nuestro país.

A mi pequeña **Sofía**, mi compañera de vida, de pasos, de aprendizaje,

*Que en la diferencia de geografías,
Tu mirada ónix fue el puente para que la distancia no existiera.
Tu voz, fuego inagotable de tu compañía;
Tu risa, sonido de tambor y semillas.
Tú, mi corazón, mi vida,
El horizonte, la mañana, la tarde, la siembra...*

A **mamá y papá** con mucho amor, porque este logro también es suyo. Su apoyo,
comprensión, confianza y motivación fueron la base para el desarrollo y culminación de
ésta etapa.

A **Abraham**, mi compañero, cómplice y todo, tu amor, comprensión y apoyo
incondicional son/somos en éstas páginas.

A los niños de mi vida **Alonso, Alex, Sarita y Natasha**, a quienes espero el
conocimiento los lleve hasta dónde ellos quieran

AGRADECIMIENTOS

A mi nueva casa de estudios y *alma mater*, el Instituto Politécnico Nacional, cuyos valores y semblante histórico estarán en mí siempre, buscando que mi hacer esté *al servicio de la Patria*. A todos los que en conjunto forman al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas y a la biblioteca Reuben Lasker del IPN.

A las becas otorgadas por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el programa de Beca de Estímulo Institucional de Formación de Investigadores (BEIFI) del IPN. A los proyectos SIP 20131081, SIP 20131204 y CONACyT 224896. Al Permiso de Pesca de Fomento a Universidades emitido por la Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca No. PPF/DGOPA-025/14.

A mis directores de tesis, Dr. Gustavo Hernández Carmona y M. en C. Dora Luz Arvizu Higuera, por impulsar el desarrollo de ésta idea, por sus aportaciones, apoyo y comprensión. A mi comité: Dr. Mauricio Muñoz Ochoa, por toda sus enseñanzas, comprensión y amistad; a la Dra. Claudia Judith Hernández Guerrero y al Dr. Rafael Cervantes Duarte, por su tiempo y disponibilidad para compartir sus conocimientos, resolver mis dudas y sus valiosas observaciones a mi trabajo.

A Antelmo Morales Castillejos, quien recolectó todas mis muestras durante el periodo y a Jorge Luis Ojeda Godínez por su ayuda en la molienda de algas. Al apoyo técnico del equipo de trabajo del Laboratorio de Química de algas. A la Dra. Mireya Hernández-Herrera.

Al Dr. David Alfaro Siqueiros Beltrones, por todas las aportaciones inteligibles y filosóficas realizadas a mi trabajo, su amistad, apoyo y sus enseñanzas para comprender la ciencia, potenciar mi capacidad crítica e intelectual y reafirmar mi herejía. Al Dr. Víctor Cruz Escalona y al Dr. Rodolfo Ramírez Sevilla, por tomarse el tiempo para empaparse de mi tema, realizar críticas, aportaciones a mi trabajo y su disponibilidad para ayudarme.

Al Dr. Est. Yuri Okolodkov (Universidad Veracruzana), a Marcia M. Gowing (University of California) y Kim Siewers por sus revisiones y edición del idioma Inglés en el Abstract. Al Ing. Armando Hernández López por su ayuda en la edición del mapa de Bahía Magdalena. A Alejandro Ramos Rodríguez, por su ayuda en la obtención de las imágenes de temperatura.

A mis entrañables amigos Olinda Soriano y Marcelino Ruiz, por la maravillosa coincidencia de habernos encontrado, por su amistad y apoyo incondicional.

A mis amigos Lucy, Amaru, Isa, Rosita, Hisol, María, Armando, María José, Juanda, Erik, Daniela López, y cualquiera que haya omitido, quienes me tendieron siempre una mano, me escucharon, me acompañaron y alimentaron deliciosamente.

A Estrella Ulaje, a quien no tengo palabras por todo lo que pudimos compartir este último año, todas las enseñanzas de vida, de crecimiento personal y de apoyo.

A mi familia y al grupo de trabajo del Jardín de Niños Octavio Paz (Xalapa Ver.), por todo el apoyo que nos brindaron a Sofía y a mí en esta etapa.

A Sofía, por todas las horas de juego que quedaron pendientes.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ii
GLOSARIO.....	iv
RESUMEN.....	v
·	v
ABSTRACT.....	vi
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	3
CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS BOSQUES DE KELP.....	3
ALGINATOS.....	4
FUCOIDAN.....	5
METABOLITOS SECUNDARIOS.....	5
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	6
<i>Eisenia arborea</i>	7
COMPOSICIÓN QUÍMICA Y USOS DE <i>E. arborea</i>	8
VARIACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE <i>E. arborea</i>	10
JUSTIFICACIÓN.....	12
OBJETIVO GENERAL.....	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
HIPÓTESIS.....	13
SITIO DE RECOLECTA.....	14

MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
RECOLECTA Y SECADO DEL ALGA.....	16
COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL.....	16
OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS CRUDOS.....	17
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EtOH.....	17
EXTRACCIÓN DEL FUCOIDAN CRUDO.....	18
ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE DEL FUCOIDAN.....	19
CARACTERIZACIÓN DEL FUCOIDAN.....	20
EXTRACCIÓN DEL ALGINATO DE SODIO.....	21
DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD Y FUERZA DE GEL.....	21
DETERMINACIÓN DEL COLOR Y pH DEL ALGINATO.....	22
CARACTERIZACIÓN PARCIAL DEL ALGINATO.....	22
DETERMINACIÓN DE LA PROPORCIÓN M/G.....	22
TEMPERATURA SUPERFICIAL DEL MAR.....	23
PROCESAMIENTO DE DATOS.....	23
RESULTADOS.....	24
ANÁLISIS DE QUÍMICA PROXIMAL.....	24
EXTRACTO ETANÓLICO CRUDO.....	26
RENDIMIENTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO CRUDO.....	26
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	26
FUCOIDAN.....	27
RENDIMIENTO DEL FUCOIDAN.....	27
AZÚCARES TOTALES DEL FUCOIDAN.....	28
FUCOSA DEL FUCOIDAN.....	29

ESPECTROSCOPÍA DE INFRAROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IRATR)	30
ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE POR ENSAYO DE TTPA.....	32
ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE POR ENSAYO DE TP.....	33
ALGINATO.....	34
RENDIMIENTO DEL ALGINATO.....	34
VISCOSIDAD Y FUERZA DE GEL.....	35
ESPECTROSCOPIA DE INFRAROJO.....	38
RELACIÓN M/G DE LOS ALGINATOS.....	40
COLOR Y pH DE LOS ALGINATOS.....	41
TEMPERATURA SUPERFICIAL DEL MAR.....	42
DISCUSIÓN.....	43
CONCLUSIONES.....	57
RECOMENDACIONES.....	58
BIBLIOGRAFÍA.....	59
ANEXOS.....	77
ANEXO I. CÓDIGOS DE MUESTRAS.....	77
ANEXO II. GASTO ETANÓLICO EN LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS.....	78
ANEXO III. GASTO DE REACTIVOS EN LA EXTRACCIÓN DE ALGINATOS.....	80
ANEXO IV. RENDIMIENTOS DE FUCOIDAN.....	82
ANEXO V. ANÁLISIS DE VARIANZA.....	84
ANEXO VI. PRUEBAS DE TUKEY.....	85
ANEXO VII. CURVAS DE CALIBRACIÓN DE GLUCOSA Y FUCOSA	90

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. COMPARACIÓN DE LOS MAYORES CONSTITUYENTES PROXIMALES DE <i>E. arborea</i> EN UN CICLO ANUAL.....	10
TABLA 2. COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL EN LAS LÁMINAS Y ESTIPES DE <i>Eisenia arborea</i>	25
TABLA 3. RENDIMIENTO PROMEDIO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS CRUDOS (EtOH) OBTENIDOS DE <i>Eisenia arborea</i>	26
TABLA 4. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS CRUDOS OBTENIDOS DE LÁMINAS Y ESTIPES DE <i>Eisenia arborea</i>	27
TABLA 5. CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES TOTALES DEL FUCOIDAN OBTENIDO DE LÁMINAS Y ESTIPES DE <i>Eisenia arborea</i>	29
TABLA 6. CONCENTRACIÓN DE FUCOSA EN EL FUCOIDAN OBTENIDO DE LÁMINAS Y ESTIPES <i>Eisenia arborea</i>	29
TABLA 7. ABSORBANCIA DE LAS BANDAS 1125 Y 1029, OBTENIDAS DE LOS ESPECTROS DE INFRAROJO DE LOS ALGINATOS.....	40
TABLA 8. PROPORCIÓN M/G DE LOS ALGINATOS DE SODIO OBTENIDOS DE LÁMINAS Y ESTIPES DE <i>E. arborea</i>	40
TABLA 9. TRANSMITANCIA A 510 NM DE LAS MUESTRAS DE ALGINATOS DISUELTOS EN AGUA AL 1 %.....	41

TABLA 10. COMPARACIÓN DE LA EC ₅₀ DE DISTINTOS EXTRACTOS CRUDOS OBTENIDOS DE ALGAS PARDAS.....	47
TABLA 11. COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO, VISCOSIDAD Y FUERZA DE GEL DE DISTINTOS ALGINATOS.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

FIG. 1. MORFOLOGÍA EXTERNA DE <i>Eisenia arborea</i> (COLIFLOR DE MAR O SAGARAME).....	13
FIG. 2. SITIO DE MUESTREO. PUNTA ARENAS, BAHÍA MAGDALENA, BCS.....	15
FIG. 3. RENDIMIENTO DEL FUCOIDAN DE LÁMINAS Y ESTIPES DEL ALGA <i>Eisenia arborea</i>	28
FIG. 4. ESPECTROS DE INFRARROJO (FT-IRATR) DEL FUCOIDAN OBTENIDO DE LÁMINAS Y ESTIPES <i>Eisenia arborea</i> ...	30
FIG. 5. ESPECTROS DE INFRARROJO (FT-IRATR) DEL FUCOIDAN DE LAS LÁMINAS.....	31
FIG. 6. ESPECTROS DE INFRARROJO (FT-IRATR) DEL FUCOIDAN DE LOS ESTIPES.....	31
FIG. 7. CURVA DOSIS-RESPUESTA DE LA ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE (TTPA) DEL FUCOIDAN OBTENIDO DE LÁMINAS DE <i>Eisenia arborea</i>	32
FIG. 8. CURVA DE DOSIS-RESPUESTA DE LA ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE (TTPA) DEL FUCOIDAN OBTENIDO DE ESTIPES DE <i>Eisenia arborea</i>	33
FIG. 9. ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE (TP) DEL FUCOIDAN DE LÁMINAS Y ESTIPES DE <i>Eisenia arborea</i>	34
FIG. 10. RENDIMIENTO DEL ALGINATO DE SODIO DE LÁMINAS Y ESTIPES DE <i>Eisenia arborea</i>	35

FIG. 11. VISCOSIDAD DE LOS ALGINATOS DE LÁMINAS Y ESTIPES DE <i>Eisenia arborea</i>	36
FIG. 12. FUERZA DE GEL DEL ALGINATO DE LÁMINAS Y ESTIPES DE <i>Eisenia arborea</i>	37
FIG. 13. ESPECTROS DE INFRARROJO (FT-IRATR) DE LOS ALGINATOS OBTENIDOS DE LÁMINAS Y ESTIPES DE <i>Eisenia arborea</i>	38
FIG. 14. ESPECTROS DE INFRARROJO (FT-IRATR) DE LOS ALGINATOS OBTENIDOS DE LOS LÁMINAS DE <i>Eisenia arborea</i>	39
FIG. 15. ESPECTROS DE INFRARROJO (FT-IRATR) DE LOS ALGINATOS OBTENIDOS DE LOS ESTIPES DE <i>Eisenia arborea</i>	39
FIG. 16. COLOR DE LOS ALGINATIOS EN SOLUCIÓN AL 1 % Y EN GEL.....	41
FIG. 17. TEMPERATURA SUPERFICIAL DEL MAR EN BAHÍA MAGDALENA, DURANTE LOS DÍAS DE MUESTREO.....	42

GLOSARIO

Actividad biológica: capacidad de una sustancia de alterar una o más funciones fisiológicas en una célula o en un organismo vivo. (Sin.: **Bioactividad**).

Alga: grupo de organismos autótrofos, fotosintéticos y que no constituyen una categoría taxonómica tal cual, con estructuras simples y sin tejidos diferenciados.

Bentónico: Organismo que requiere vivir adherido a un sustrato.

Biogénica: Estructuras formadas por un organismo y que pueden proporcionar condiciones de vida para otros al ofrecer recursos como alimento y protección.

Conespecíficas: término utilizado cuando dos o más poblaciones o taxones pertenecen a la misma especie.

Estipe: estructura de soporte en las algas que asemeja lo que sería un tallo en plantas superiores.

Extracto: es el producto concentrado obtenido de la interacción periódica de un organismo o parte de él con un disolvente y que conserva las propiedades de dónde proviene.

Florotaninos: son polifenoles derivados del floroglucionol que se encuentran sólo en algas pardas.

Rendimiento: producto total obtenido de una determinada cantidad de alga con base al peso inicial utilizado para realizar dicha obtención.

Talo: se denomina así a un alga. También se utiliza como talofitas para hablar de varias. Se refiere al organismo completo.

Polisacárido: compuestos formados por muchas unidades de azúcar unidos por enlaces glicosídicos.

RESUMEN

Eisenia arborea es un alga parda abundante en la costa occidental de la Península de Baja California y que representa un recurso pesquero poco investigado en Bahía Magdalena (BM), BCS, México. Dado que la composición química de las algas varía con la estacionalidad el objetivo de este trabajo fue describir la variación bimestral en la composición química, en la actividad biológica y propiedades de extractos obtenidos de láminas y estipes de *E. arborea* recolectada en BM de septiembre 2013- julio 2014. A las algas secas y molidas se les realizó un análisis de química proximal (AQP), el cual mostró que los mayores constituyentes correspondieron a carbohidratos y cenizas tanto en láminas (53.85 y 28.44 %, respectivamente) como en estipes (47.65 y 33.90 %). El extracto etanólico crudo durante todo el periodo fue mayor ($p < 0.05$) en láminas así como la actividad antioxidante (AAOX). Septiembre y noviembre mostraron los mayores rendimientos del EtOH en láminas (5.40 y 4.00 %) así como la mayor AAOX ($EC_{50} = 82.7$ y $55 \mu\text{g mL}^{-1}$); en estipes mayo presentó el mayor rendimiento (2.07 %) y la mayor AAOX ($EC_{50} = 320.3 \mu\text{g mL}^{-1}$). El rendimiento de fucoidan crudo obtenido en láminas fue mayor ($p < 0.05$) que lo obtenido para estipes; los mayores rendimientos se obtuvieron en septiembre (20.06 %) y marzo (16.00 %) para láminas y en marzo (8.73 %) para estipes. La actividad anticoagulante del fucoidan fue mayor en enero para láminas y en mayo para estipes. El alginato presentó diferencia entre partes del alga ($p < 0.05$), de noviembre a marzo tuvo el mayor rendimiento con un promedio de 20.28% para láminas y 22.52 % para estipes. La viscosidad y fuerza de gel más alta se encontró en enero para láminas (464 m Pa s y 3239 g cm^{-2}) y estipes (1008 m Pa s y 3336 g cm^{-2}). El periodo de noviembre a marzo es la mejor época de cosecha, debido a que se encuentran los mayores rendimientos y la mayor actividad biológica y mejores propiedades de los extractos. Se sugiere utilizar sólo las láminas si el interés del recurso es la obtención de extractos crudos como los etanólicos y el fucoidan, para obtener los mayores rendimientos. Por otra parte, si el interés de extracción son los alginatos, se sugiere utilizar ambas partes del alga por las distintas propiedades que presentan.

ABSTRACT

Eisenia arborea is an abundant brown seaweed on the west coast of the Baja California Peninsula and is a marine resource that has been little studied in Magdalena Bay (MB), Baja California Sur, Mexico. Because chemical composition of seaweed may vary seasonally, the objective of this study was to describe a bimonthly variation in the chemical composition and in the bioactivities and properties of the extracts obtained from blades and stipes of *E. arborea* collected in MB over a period from September 2013 to July 2014. The proximate chemical analysis was carried out on dry milled algal samples and showed that the major constituents in both blades and stipes were carbohydrates (53.85 and 47.65 %, respectively) and ash (28.44 and 33.90 %). The crude ethanolic extract (EtOH) yield was higher ($p < 0.05$) in blades (3.25 %) than in stipes (1.3 %) throughout the period; this was also true for antioxidant activity (AAOX). September and November showed the highest EtOH yields (5.40 & 4.00 %) and AAOX ($EC_{50} = 82.7$ & $55 \mu\text{g mL}^{-1}$) in blades, while in stipes May showed the highest EtOH yield (2.07 %) and AAOX ($EC_{50} = 320.3 \mu\text{g mL}^{-1}$). The yield of crude fucoidan obtained from blades was higher ($p < 0.05$) than that obtained from stipes. The highest fucoidan yields were obtained in September (20.06 %) and March (16 %) for blades, while for stipes the fucoidan yield was highest in March (8.73 %). The anticoagulant activity of fucoidan was higher in January for blades and for stipes in May. The alginate showed significant difference ($p > 0.05$) within blades and stipes. Both blades and stipes showed the highest yield from November to March with a mean of 20.28 % and 22.52 for blades and stipes respectively. The highest viscosity and gel strength were determined in January in both blades (464 m Pa s y 3239 g cm^{-2}) and stipes (1008 m Pa s y 3336 g cm^{-2}). Our results suggest that the period from September to March is the best for collecting the alga due to highest yields and bioactivity and better properties of extracts. We suggest using only blades when a major yield of EtOH and fucoidan are needed. Moreover, if alginates are resource of interest, using both blades and stipes is recommended, because of the unique properties of each alginate.

INTRODUCCIÓN

Eisenia arborea J. E. Areschoug, 1876 (Laminariales: Ochrophyta) (www.algaebase.com, 2015), también llamada sagarame o coliflor de mar, es un alga parda abundante en las costas del Pacífico Occidental. En Japón constituye parte de la alimentación del hombre y es apreciada por su sabor.

En México puede encontrarse desde Tijuana Baja California hasta Bahía Magdalena, Baja California Sur (Druehl, 1970; Aguilar-Rosas *et al.*, 1990). En los planes de manejo de macroalgas se ha sugerido que esta especie sea considerada como un recurso pesquero (DOF, 2012), cuya importancia económica radica en que puede ser utilizada como materia prima para la extracción de alginatos (Hernández-Carmona, 1985; Arvizu *et al.*, 2007), así como para consumo humano o animal (Hernández-Carmona *et al.*, 2009) y para la obtención de compuestos bioactivos (Muñoz-Ochoa, 2006; Muñoz-Ochoa *et al.*, 2009; Sugiura *et al.*, 2009; 2013).

En particular, Bahía Magdalena es una zona de alta actividad pesquera, la cual sustenta a un gran número de familias (SAGARPA, 2007; Funes-Rodríguez, 2007; Ojeda-Ruíz de la Peña & Ramírez-Rodríguez, 2012). Por lo que *E. arborea* ofrece la posibilidad de ser un recurso de pesca en ésta zona y que además puede ser utilizado para el consumo directo por las familias que aquí viven.

No obstante, es importante considerar que Bahía Magdalena es una zona que posee una estacionalidad definida, la cual está fuertemente influenciada por la Corriente de California (CC) y en menor medida por la Corriente Subtropical (Lynn & Simpson, 1987; Lluch-Belda *et al.*, 2000; Durazo & Baumgartner, 2002; Cervantes-Duarte *et al.*, 2007; Durazo *et al.*, 2010; Durazo, 2015). Esta consideración es derivada del hecho de que en las macroalgas, los constituyentes químicos de valor económico pueden fluctuar en el tiempo y en la parte del alga (Black, 1950; Russell & Sivrastava, 1984; Hernández-Carmona, 1985; Rodríguez-Montesinos & Hernández-Carmona, 1991; Serviere-Zaragoza *et al.*, 2002; Usov *et al.*, 2005; Arvizu *et al.*, 2007; Hernández-Carmona *et al.*, 2009; Adams *et al.*, 2011; Wu *et al.*,

2014; Schiener *et al.*, 2015), como una respuesta adaptativa a la variabilidad ambiental, lo cual puede verse reflejado en cambios en los porcentajes de los constituyentes químicos y en algunos casos en sus propiedades físicas o bioactivas (Lobban & Harrison, 1994; Amsler, 2008).

Una comprensión adecuada de las variaciones químicas de interés económico ayuda a discernir si el recurso es apropiado para su explotación y a seleccionar las mejores épocas de cosecha. A pesar de que *E. arborea* en Bahía Magdalena está expuesta a una variación estacional, al momento no se han observado cambios químicos en la especie en esta zona, los cuales han sido observados para la especie en Bahía Asunción y Punta San Roque BCS (Serviere-Zaragoza *et al.*, 2002; Hernández-Carmona *et al.*, 2009), sitios ubicados al norte de Bahía Magdalena.

Dado que en Bahía Magdalena la especie ha sido muy poco estudiada y las investigaciones han estado enfocadas a la obtención de alginatos con una baja frecuencia de muestreos (Hernández-Carmona, 1985; Arvizu *et al.*, 2007) y con poca información acerca de éstos, se justifica la necesidad de realizar estudios de variación estacional que permitan seleccionar el recurso para ser aprovechado, competir en el mercado y elegir las mejores épocas de cosecha. Lo cual, aunado a estudios ecológicos y biológicos permitan el aprovechamiento del recurso y den sustento para un adecuado plan de manejo.

Bajo este contexto, esta investigación describe las variaciones bimestrales en el porcentaje de los constituyentes químicos proximales (CQP), del extracto etanólico crudo (EtOH), del fucoidan y del alginato de sodio, así como los cambios en las propiedades o actividad biológica de los polisacáridos y el extracto crudo durante el período de septiembre 2013- julio 2014.

ANTECEDENTES

"Si he logrado ver más lejos, ha sido porque he subido a hombros de gigantes"

Isaac Newton.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS BOSQUES DE KELP

Los bosques de Kelp están conformados por especies pertenecientes al orden Laminariales, el cual se caracteriza porque agrupa a las especies de algas pardas con las mayores tasas de crecimiento y que producen las más grandes estructuras biogénicas encontradas en los sistemas marinos bentónicos (Van den Hoek *et al.*, 1995; Dayton 1985) las cuales constituyen comunidades altamente productivas (Mann, 1973).

Dichas comunidades conforman asociaciones que son definidas por las tallas que alcanzan (Dayton, 1985) con poblaciones de dosel flotantes que superan los 40 m, cuyo principal representante es *Macrocystis pyrifera* (Abbott & Hollenberg, 1976), aunque se encuentran doseles menores conformados por especies como *Nereocystis luetkeana*, *Alaria fistulosa* y *Ecklonia máxima*, que alcanzan 10 m de longitud (Dayton, 1985). Otro tipo de asociación son las formas de láminas con estipe, que generalmente alcanzan los 5 m, aunque algunas especies llegan a medir 10 m y entre los que se encuentran los géneros *Laminaria*, *Pterygophora*, *Ecklonia* y *Eisenia*. Finalmente, se encuentran los bosques de kelp postrados, que son mucho más pequeños y cubren el bentos con sus frondas, estos incluyen a muchas especies de *Laminaria* (Lobban & Harrison, 1994).

Tal como en la mayoría de los ecosistemas marinos, los bosques de kelp están sujetos a constantes presiones ambientales como son cambios de temperatura, cambios en la concentración de nutrientes, alta irradiancia y movimientos de las masas de aguas a los que deben responder rápidamente (Darley 1987; Lobban &

Harrison, 1994; Dawes 1998), lo cual le confiere características particulares a cada especie. En el caso de las especies de interés comercial, es importante conocer cuáles son estas características y las razones por las que se manifiestan, para tener un mejor panorama de los posibles usos y aplicaciones del recurso que permitan optimizar su explotación.

ALGINATOS

El principal interés económico por las laminariales es la obtención de alginatos, descubiertos por Stanford en 1881. El alginato es un componente estructural de la pared celular del alga que le confiere flexibilidad al talo (Andersen *et al.* 1977; McHugh, 1987). Los alginatos son utilizados como aditivos en las industrias alimentaria, química, textil, cosmética, dental y farmacéutica, ya que son utilizados por sus propiedades espesantes, gelificantes y estabilizantes (Chapman & Chapman, 1980; Draget *et al.*, 2005; Barsanti & Gualtieri, 2006; Hernández-Carmona *et al.*, 2012). Debido a esto han alcanzado un gran valor comercial; tan solo en 2009, se tuvo una demanda mundial de 26,500 t, con un valor total de US\$ 318 millones (US\$ 12 por kilogramo) (Hernández-Carmona, *et al.*, 2013).

Los alginatos son sales del ácido algínico, un polisacárido constituido por un copolímero binario no ramificado de los ácidos β -D-manurónico (M) y α -L-gulurónico (G), estructurado en secuencias de bloques MM, MG unidos por enlaces $\beta(1-4)$ y bloques GG, GM unidos por enlaces $\alpha(1-4)$. La estructuración y proporción de los bloques depende de la especie, la parte del alga empleada y las condiciones de crecimiento de la especie (Chapman & Chapman, 1980; Siraj *et al.*, 1988; Draget *et al.*, 2005; Usov *et al.*, 2005; Murillo-Álvarez & Hernández-Carmona, 2007). La proporción de los bloques le confiere diferentes propiedades físicas a los alginatos (Reyes-Tisnado *et al.*, 2004; Draget *et al.*, 2005; Barsanti & Gualtieri 2006; Agostini de Moraes & Masumi-Beppu, 2013), las cuales se ven reflejadas en la viscosidad y fuerza de gel de éstos y determina el uso que puede dársele a los alginatos.

FUCOIDAN

El fucoidan en las algas pardas es un polisacárido mucilaginoso altamente higroscópico (Percival & McDowell, 1967). Es considerado como una molécula de refuerzo para las paredes celulares y que al parecer está asociada con la protección contra los efectos de desecación a los cuales se exponen las algas en las mareas bajas (Percival and McDowell, 1967; Park *et al.*, 1997). Fue aislado por primera vez por Kylin en 1913, el cual constituye una familia de polisacáridos que están compuestos principalmente por fucosa y grupos sulfatos, además pueden poseer pequeñas cantidades de otros monosacáridos (manosa, galactosa, glucosa y xilosa), ácidos urónicos e incluso grupos acetílicos y proteínas (Li *et al.*, 2008). El fucoidan posee una alta heterogeneidad natural en su estructura química, por lo que, de la misma forma que los alginatos, su composición varía con las especies, la parte del alga de la que se extraen, el método de extracción y la estación de cosecha (Jiao *et al.*, 2011).

Ha sido estudiado en diversos campos de investigación como un recurso para la obtención de nuevos fármacos y alimentos benéficos para la salud o suplementos debido a las distintas actividades biológicas que presenta, entre las que se encuentran las antitrombótica, antiviral, antiinflamatoria, inmunomoduladora, antioxidante, antifúngica y antibacteriana (Chevolot *et al.*, 1999; Muñoz-Ochoa *et al.*, 2009; Frikha *et al.*, 2011; Jiao *et al.*, 2011; Ale *et al.*, 2011; Abu *et al.*, 2013). La actividad anticoagulante del fucoidan es una de las más estudiadas y se ha reportado que la estructura general del fucoidan es importante en dicha actividad, incluyendo la composición del azúcar, el peso molecular, el grado de sulfatación y la posición de los grupos sulfatos en la cadena de azúcar (Jiao *et al.*, 2011; Ale *et al.*, 2011).

METABOLITOS SECUNDARIOS

Por más de treinta años las algas han sido reconocidas como fuente potencial de compuestos con propiedades farmacológicas (Freile-Pelegrin, 2001) y actualmente el interés en la búsqueda de ésta fuente sigue creciendo, ya que habitan en

ecosistemas dónde soportan cambios ambientales bruscos a los que responden rápidamente gracias a que poseen enzimas protectoras y moléculas antioxidantes similares a las de las plantas vasculares (Zubia *et al.*, 2007). Así, la química de productos naturales de origen marino ha sido objeto de intensas investigaciones que han permitido descubrir nuevas sustancias con propiedades farmacológicas y medicinales (Freile-Pelegrín, 2001; Blunt *et al.*, 2014). Debido a esto, se han orientado esfuerzos para detectar propiedades bioactivas: hemaglutinantes, hemolisantes, antibacterianas, antivirales, antitumorales, anticancerosas, antialérgicas, antifúngicas, anticoagulantes y antioxidantes (Charzeddine & Fariñas 2001; Zubia *et al.* 2007; Blunt *et al.*, 2008, 2014).

Dichas propiedades han sido reportadas para numerosos metabolitos secundarios de las algas (Amsler 2008; Blunt *et al.*, 2008, 2014). En particular en el Phylum Ochrophyta se ha reportado que tiene una química dominada por terpenos y compuestos fenólicos (Blunt *et al.*, 2014). Según el grado de polaridad de estos compuestos, pueden ser extraídos con diferentes solventes y formar mezclas denominadas extractos que tienen características particulares para cada especie y que poseen distintas aplicaciones farmacológicas, cosméticas, alimenticias e industriales.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Una actividad biológica importante en macroalgas es la antioxidante, producto de los compuestos que metaboliza para proteger su organismo contra las especies reactivas de oxígeno formadas por el metabolismo o por factores externos como contaminación, estrés y radiación UV. Así, las algas son un recurso importante de compuestos antioxidantes de diferente naturaleza como la vitamina E (α -tocoferol), carotenoides, polifenoles, ficobiliproteínas y esteroles (Plaza *et al.*, 2008).

La búsqueda de moléculas que tengan esta actividad es de gran interés para el hombre debido a que en el tejido celular se producen especies reactivas de oxígeno (ROS) de forma endógena, tales como el radical hidroxilo (OH), radical superóxido (O_2^-), radical hidroperóxido (HO_2) y oxígeno (1O_2), que pueden causar daño oxidativo

al DNA, a las proteínas, lípidos y otros componentes celulares que frecuentemente están asociados a enfermedades crónicas como son la artritis, diabetes, envejecimiento, desórdenes neurológicos (Alzheimer, Parkinson), etc.; además de que las ROS pueden descomponer alimentos produciendo sabores rancios que hacen que estos pierdan su calidad y seguridad al producir metabolitos secundarios potencialmente tóxicos (Alencar *et al.*, 2014; Vinayak *et al.*, 2011a, b; Wang *et al.*, 2011, Yangthong *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2009; Andreo & Jorge, 2006).

Eisenia arborea

E. arborea posee un esporofito que consta de un sujetador densamente ramificado, un estipe terete de color marrón oscuro y leñoso que se bifurca en la porción superior formando dos pseudo-estipes cuyas porciones apicales terminan en láminas lanceoladas de color pardo a verde olivo y con el margen dentado (Hollenberg, 1939; Abbot & Hollenberg, 1976; Dayton, 1985). Se encuentra desde British Columbia, Canadá hasta Bahía Magdalena, Baja California Sur, México, desde la zona intermareal hasta los 30 m de profundidad (Druehl, 1970; Aguilar-Rosas *et al.*, 1990). Es muy abundante en la costa occidental de Baja California, con densidades de 19-36 algas m⁻² (Arvizu *et al.*, 2007; Parada *et al.*, 2009). Es una especie perenne, sin embargo la mayor proporción de esporófilos se observa en los periodos de julio a noviembre para especies submareales y julio para especies intermareales (McPeak, 1978; Parada *et al.*, 2009).

E. arborea compite con *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh en procesos de recolonización post-El Niño en la zona submareal (Ladah *et al.*, 1999; Hernández-Carmona, *et al.*, 2001, 2005) ya que posee adaptaciones fisiológicas para almacenar nitrógeno en sus tejidos que le ayuda a resistir condiciones de bajos nutrientes que traen consigo las aguas con temperaturas altas (Dayton *et al.*, 1992; Hernández-Carmona, *et al.*, 2001).

Posee dos morfotipos genéticamente diferenciados los cuales corresponden a una respuesta adaptativa a los movimientos de las masas de agua (Roberson & Coyer, 2004, Denny & Loretta, 2002) que le permiten asimilar una mayor cantidad de

nutrientes (Roberson & Coyer, 2004). Estos morfotipos pueden incluir láminas angostas y lisas o anchas y bulbosas; sus estipes pueden estar huecos o no y disminuir su tamaño a mayores profundidades (Roberson & Coyer 2004; Denny & Loretta, 2002; Parada *et al.*, 2009, 2012; Matson & Edwards 2006, 2007).

Estas respuestas de *E. arborea* son un indicio de que pudieran existir otras adaptaciones, *v. gr.*, a nivel químico que generen respuestas a las diferentes condiciones ambientales en las que habita la especie. Ello suscita la necesidad de conocer la respuesta generada de estas adaptaciones, y que poseen un potencial económico.

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y USOS DE *E. arborea*

Eisenia es un género representado por 8 especies, algunas de ellas conespecíficas, de las cuales *E. bicyclis* y *E. arborea* son utilizadas para consumo humano en Japón y Corea. *E. arborea* es utilizada en tratamientos ginecológicos en la medicina alternativa, posee compuestos con actividad antioxidante, antiinflamatoria, antitumoral, ha mostrado efectos contra enfermedades alérgicas *in situ* y en modelos con ratas (Nakamura *et al.* 1996; Nagayame *et al.*, 2003; Shibata *et al.*, 2002, 2003; Sugiura *et al.*, 2006, 2007 2008, 2009. 2013).

En las costas de la Península de Baja California *E. arborea* ha mostrado ser una fuente potencial de alimento con valores nutricionales apropiados para el hombre y animales (Serviere-Zaragoza *et al.*, 2002, 2003; Arvizu *et al.*, 2007; Hernández-Carmona *et al.*, 2009; Zertuche *et al.*, 2013). También es un recurso potencial para la extracción de alginatos, los cuales se encuentran en porcentaje mayores al 20 % con base en el peso seco y que poseen ácido manurónico (M) y gulurónico (G) en proporciones (M/G) de 1.08 y una longitud de los bloques de mono-gulurónico de 7 unidades (Hernández-Carmona, 1985; Arvizu *et al.*, 2007; Murillo-Álvarez & Hernández-Carmona, 2007).

En lo referente a las investigaciones sobre la actividad biológica, se ha demostrado que el fucoidan obtenido de *E. arborea* posee una alta actividad anticoagulante, que es superior a la heparina (Muñoz-Ochoa *et al.*, 2009). El extracto crudo de la especie

presenta actividad antibacteriana contra *Polaribacter irgensii* y *Pseudoalteromonas elyakovii* y *Vibrio* spp., además muestra actividad inductora del crecimiento de la microalga *Cosmarium* spp. a concentración de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Muñoz-Ochoa, 2010).

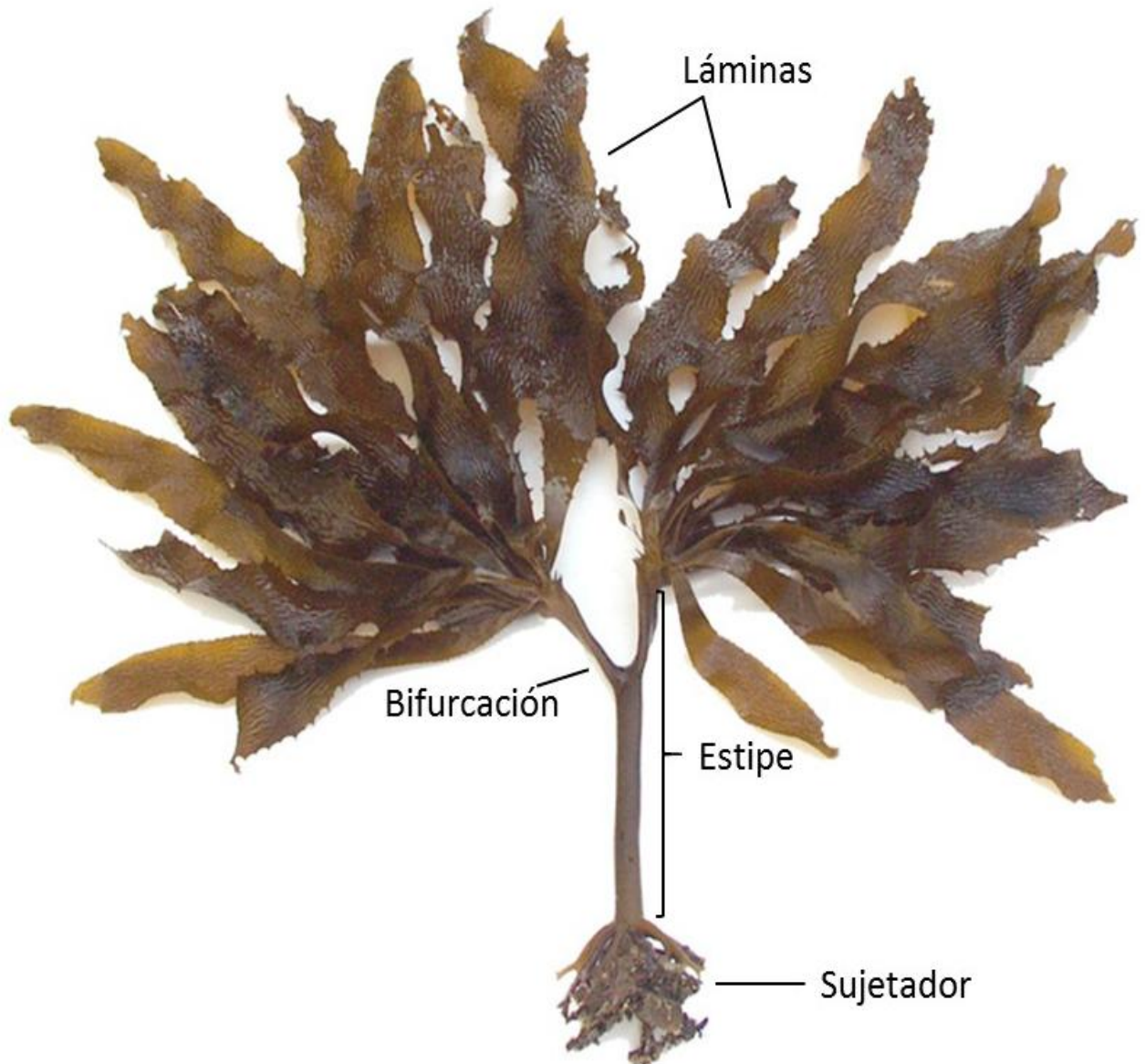


Fig. 1. Morfología externa de *Eisenia arborea* (coliflor de mar o sagarame). Imagen tomada de: <http://www.miegyoren.or.jp/fisheries-in-mie/uopedia/sagarame/>.

VARIACIONES EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE *E. arborea*

En la costa occidental de la península de Baja California las investigaciones sobre las variaciones químicas en la especie están claramente divididas en investigaciones abocadas a describir la variación de la composición química con respecto al valor nutricional de la especie (Serviere-Zaragoza *et al.*, 2002; Hernández-Carmona *et al.*, 2009) y por otra parte a describir la variación estacional del alginato obtenido de la especie (Hernández-Carmona, 1985; Arvizu *et al.*, 2007).

Trabajos realizados por Serviere-Zaragoza *et al.*, (2002) y Hernández-Carmona *et al.*, (2009) en Punta San Roque y Bahía Asunción, BCS, señalan que existen diferencias significativas en los constituyentes proximales (cenizas, proteínas, carbohidratos y fibra cruda) a lo largo de los ciclos anuales en los que se realizaron. Así mismo, en ellos se reportan altos contenidos de cenizas en las épocas de invierno y primavera, sin embargo el patrón de los demás constituyentes no es igual a pesar de ser la misma especie y haber sido recolectada en zonas geográficas cercanas. En la tabla se puede observar la época en la que se encuentran los mayores porcentajes de proteína, fibra y carbohidratos de acuerdo al autor.

Tabla 1. Comparación de los mayores constituyentes de *Eisenia arborea* a lo largo de un ciclo anual.

Composición química proximal de <i>Eisenia arborea</i>	Verano			Otoño			Invierno			Primavera		
	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May
Serviere-Zaragoza <i>et al.</i> , 2002	Proteína 14.2-14.9 %						Cenizas 24.1 %			Carbohidratos 68.2 %		
	Fibra 10.7 %			Lípidos 0.9 %								
Hernández-Carmona <i>et al.</i> , 2009	Carbohidratos 54.3-53.3 %						Proteína 11.68 %			Cenizas 29.3 %		
							Fibra 6.28- 6.44 %					

Por otra parte, se encuentran dos trabajos sobre variación estacional de alginatos, ambos realizados con muestras obtenidas de Bahía Magdalena, BCS. El primero fue el trabajo realizado por Hernández-Carmona (1985), el cual únicamente comparó la variación estacional del rendimiento de alginatos durante un año. El segundo es el realizado por Arvizu *et al.*, (2007), en el cual compararon la variación del rendimiento de alginatos, los porcentajes de cenizas, fibra cruda y manitol, separando las partes del alga en dos estaciones del año (otoño y primavera). Ambos estudios indican que el rendimiento del alginato no presenta variaciones en las estaciones del año. Además, Arvizu *et al.*, (2007) no encontró diferencias significativas de las cenizas y el manitol entre las estaciones. Los porcentajes de cenizas y fibra cruda en las láminas no presentaron diferencias estacionales, sin embargo las variaciones si fueron observadas entre láminas y estipes en ambas temporadas.

JUSTIFICACIÓN

“La ciencia es una actividad humana creativa cuyo objetivo es la comprensión de la naturaleza y cuyo producto es el conocimiento” Ruy Pérez Tamayo.

México se caracteriza por tener una amplia zona costera y poseer recursos algales potencialmente explotables y con diversas aplicaciones, tal es el caso de *E. arborea*. Sin embargo, antes de utilizar estos recursos, es necesario generar mayor conocimiento del comportamiento de algunos productos naturales de interés comercial que converjan con otros estudios en un plan de manejo adecuado para la especie o una guía en la búsqueda de compuestos bioactivos.

E. arborea, es una especie sugerida para ser utilizada como recurso pesquero utilizando sólo las láminas (DOF, 2012) sin embargo el conocimiento que se tiene de la especie en el país aún es fragmentado para ser considerado como tal y que pueda ser explotado de manera sustentable.

Desde el punto de vista industrial uno de los factores clave para la selección de una especie como recurso para ser explotado es la calidad de los compuestos o extractos de interés que contiene. Debido a las variaciones ambientales a las que se encuentran expuestas las macroalgas en el océano, los constituyentes químicos de importancia económica presentan variaciones de macroescala cómo pueden ser la estacionalidad y de microescala cómo puede ser la parte del alga examinada. Estas variaciones pueden verse reflejadas en las concentraciones, la actividad biológica o propiedades de los compuestos de interés comercial, por lo que es importante describir las variaciones para elegir las mejores épocas de cosecha de acuerdo al interés que se tenga del recurso y en el caso de *E. arborea* conocer el valor real que tienen las láminas, dado que son la parte del alga apropiada para ser utilizada (DOF, 2012)

OBJETIVO GENERAL

Describir la variación bimestral durante el periodo de septiembre de 2013 a julio de 2014 en la composición química, actividad biológica y propiedades fisico-químicas de los extractos obtenidos a partir de láminas y estipes de *Eisenia arborea*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir la variación en la composición química proximal.
- Describir la variación del rendimiento del extracto etanólico y la variación de su actividad antioxidante.
- Describir la variación en el rendimiento, propiedades y caracterización parcial del alginato.
- Describir la variación en el rendimiento y caracterización parcial del fucoidan crudo y de su actividad anticoagulante.

HIPÓTESIS (H_0)

Los constituyentes químicos de *Eisenia arborea* en la zona de Bahía Magdalena permanecen constantes en el tiempo, por lo que la especie no presenta variación en su composición química, en la actividad biológica y propiedades de los extractos obtenidos durante un periodo temporal.

SITIO DE RECOLECTA

Bahía Magdalena (BM), ocupa un área de 565 km². Está situada en la parte central del complejo lagunar Bahía Magdalena-Almejas, se localiza en la costa sur-occidental de la península de Baja California Sur (24° 16´ N y 25° 45´ N y 111°20´ W y 112° 18´ W). Está comunicada con mar abierto, a través de una amplia boca de acceso de 5.6 km de ancho, con 40 m de profundidad máxima (fig. 2).

Es un cuerpo de agua que posee una fuerte influencia hidrodinámica de las aguas oceánicas adyacentes en las cuales se ha reportado que existe una zona típica de surgencias costeras que son generadas por el viento (Bakun & Nelson, 1977). La surgencias en la zona se encuentran en un intervalo de 50 a 280 m³ s⁻¹ por cada 100 m de la costa (Zaitsev *et al.*, 2003) y poseen un patrón bien definido en el que la actividad de surgencias presenta su máxima intensidad durante la primavera (abril-mayo) y un segundo incremento de menor intensidad en otoño (octubre-noviembre), las cuales se manifiestan regularmente en los campos hidrológicos superficiales (Zaitsev *et al.*, 2003; Zaitsev *et al.*, 2007; Cervantes-Duarte *et al.*, 2010).

La temperatura superficial de éste cuerpo de agua tiene un ciclo bien definido en el que los meses de menor temperatura se encuentran de marzo-mayo (16-18°C) y el máximo en los meses de agosto-septiembre (27-28 °C) (Lluch-Belda *et al.*, 2000; Sánchez-Montante, 2004; Cervantes-Duarte *et al.*, 2010; Zaitsev *et al.*, 2010; Zaitsev *et al.*, 2014).

Respecto a los nutrientes en la zona, éstos presentan una variación que se puede observar en dos temporadas, una fría en los meses de febrero, abril y junio y una cálida en agosto, octubre y diciembre. Estas variaciones muestran un patrón en el que en los meses fríos los nitritos, nitratos, fosfatos y silicatos se encuentran en porcentajes altos, mientras que en los meses cálidos estos nutrientes están en proporciones bajas (Cervantes-Duarte *et al.*, 2010; Álvarez-Borrego *et al.*, 1975).

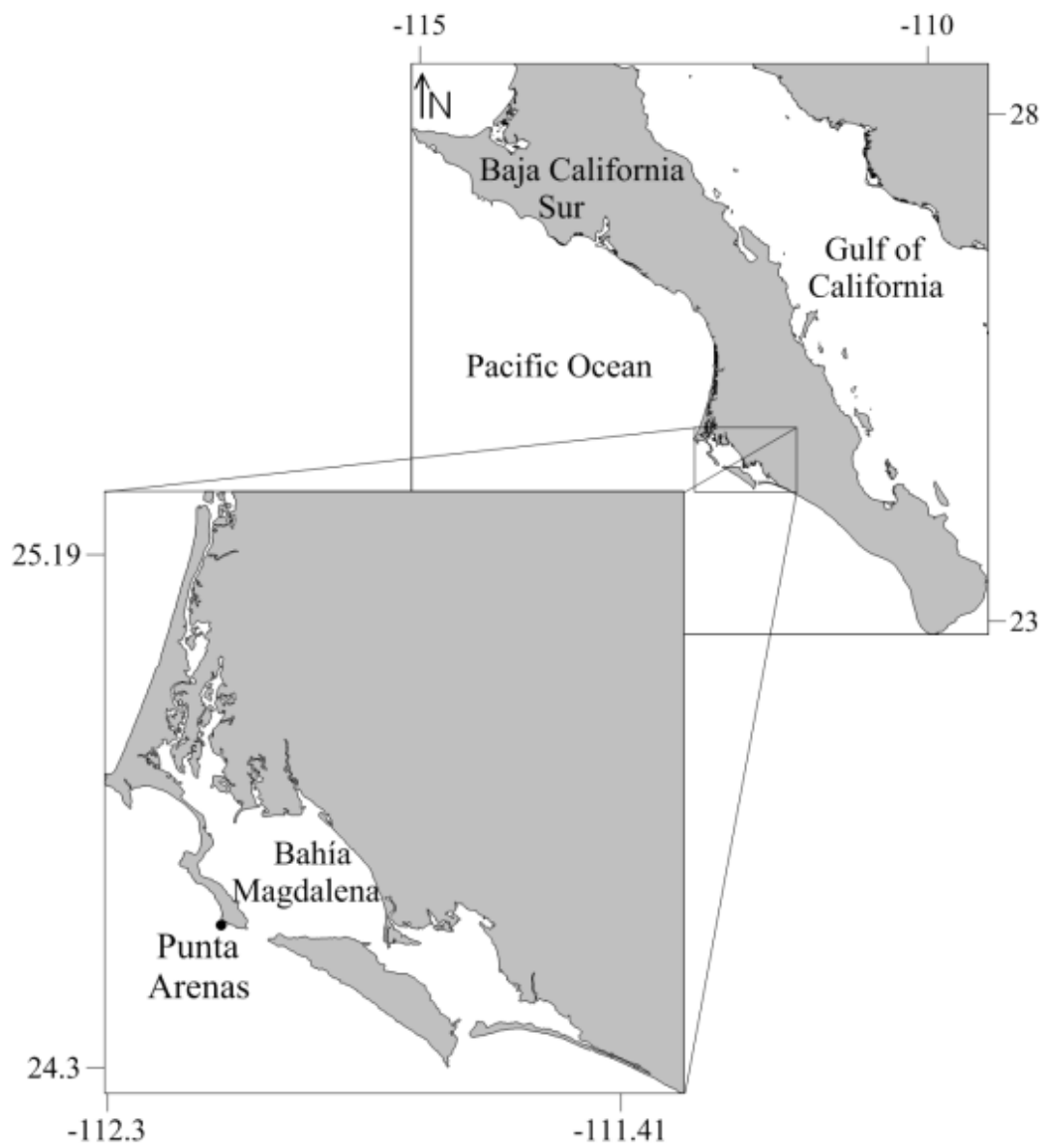


Fig. 2. Sitio de muestreo. Punta arenas, Bahía Magdalena, BCS.

MATERIALES Y MÉTODOS

RECOLECTA Y SECADO DEL ALGA

Las muestras fueron obtenidas con el Permiso de Pesca de Fomento emitido por la Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca No. PPF/DGOPA-025/14. Se recolectaron 30 individuos de *E. arborea* elegidos al azar cada dos meses los días 28-sep-2013, 10-nov-2013, 31-ene-2014, 16-mar-2014, 21-may-2014 y 21-jul-2014. Las muestras se obtuvieron por medio de buceo semi-autónomo Hooka a una profundidad de 5-6 m, en Punta Arenas, Bahía Magdalena, BCS. Cada talo fue cortado por la base del estípite con un cuchillo y transportado en panga a la costa. Se separaron las láminas y estipes, éstos últimos fueron cortados en pequeños trozos cuando estaban frescos, para facilitar su molienda después del secado.

Posteriormente las partes separadas de las algas fueron secadas al sol. Cuando perdieron la mayor cantidad de humedad fueron transportadas a las instalaciones del CICIMAR (Anexo I), en dónde las láminas se terminaron de secar al sol y los estipes fueron colocados en una estufa a 55 °C durante 12 horas.

Una vez seco el material, las láminas y los estipes de las muestras fueron molidas en un molino pulverizador marca Pulvex.

COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL

Los análisis de química proximal se realizaron siguiendo las indicaciones de la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, 1995) en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), dónde fueron determinados los porcentajes de: humedad por diferencia de peso a 105 °C/4 h; cenizas por diferencia de peso después de calcinación a 600 °C/5 h; proteína por el método de Dumas, usando el Equipo Leco FP 528; fibra cruda por el método de hidrólisis sucesiva

(ácido/base), lípidos por el método Soxtec-Avanti 2050 TECATOR y carbohidratos por diferencia de 100 - (% proteínas + % lípidos + % fibra cruda + % cenizas).

OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS CRUDOS (EtOH)

Las extracciones etanólicas se realizaron por triplicado para cada muestra. En el caso de las láminas se utilizaron 300 g secas y molidas y 80 g para los estipes. Las muestras fueron colocadas en frascos ámbar con diferentes volúmenes de etanol al 96% previamente destilado (Anexo II). Cada tercer día el etanol se filtró y fue vaciado en frascos ámbar y almacenados en obscuridad a temperatura ambiente; éste proceso se repitió por 3 veces. A partir del tercer filtrado se dejó en extracción durante 10 días más. El extracto líquido obtenido se concentró a presión reducida en un rotavapor a 40 °C. Una vez seco el extracto se pesó y se calculó el rendimiento con base al peso seco del alga. El tejido algal sobrante fue secado en una estufa a 55 °C durante 16 horas.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EtOH.

A los extractos crudos obtenidos de la extracción etanólica se les evaluó la actividad antioxidante por el método colorimétrico del ensayo de actividad secuestrante de radicales libres utilizando 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), de acuerdo con el protocolo descrito por Goupy *et al.*, (1999), lo cual se realizó por triplicado para cada muestra. Se disolvieron los extractos secos en etanol en concentraciones de 250, 100, 50 y 25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para láminas y 200, 100 y 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para estipes. La actividad se midió en tubos de ensayo agregando 1 mL de muestra y 4 mL de la solución DPPH al 0.02%, posteriormente fueron almacenadas en obscuridad durante 30 minutos y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (Milton Roy Company SPECTRONIC 20D) a una longitud de onda de 517 nm. Con los resultados

obtenidos se calculó el porcentaje de reducción y se elaboraron curvas de dosis efecto.

Se utilizó ácido ascórbico como estándar y el porcentaje de reducción se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\frac{AB - AM}{AB} \times 100$$

Dónde:

AB: Absorbancia del blanco

AM: Absorbancia de la muestra.

La concentración mínima para reducir el DPPH al 50% (EC₅₀) fue calculada por el método gráfico de correlación lineal. Para esto, a las curvas de dosis-efecto se les agregó la línea de tendencia y se calculó la ecuación de la recta. Los cálculos se realizaron interpolando los puntos obtenidos en el gráfico.

EXTRACCIÓN DEL FUCOIDAN CRUDO

Se extrajo el fucoidan crudo siguiendo el método de Muñoz-Ochoa *et al.*, (2009) con algunas modificaciones. Brevemente, 20 g de algas secas, molidas y previamente extraída con etanol se les adicionó 200 mL de agua destilada (volumen 1:10) y se colocaron en baño María a 55°C y con agitación continua durante 2 horas. El sobrenadante fue filtrado y el proceso anterior se repitió dos veces más. Posteriormente el líquido obtenido fue clarificado por centrifugación, se le adicionó cloruro de calcio al 10% y se colocó en refrigeración durante 24 h para separar los residuos de alginato de calcio del fucoidan. Al término de ese tiempo el alginato de calcio fue separado por centrifugación y la solución de fucoidan se precipitó con etanol en proporción 1:2 (solución-etanol) dejándolo en reposo durante 16 h. Posteriormente el fucoidan precipitado fue recuperado y secado durante 16 h a

55°C. Una vez seco, se pesó y se calculó el rendimiento (Anexo IV) con base al peso seco del alga y fue almacenado en refrigeración hasta su uso.

ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE DEL FUCOIDAN

La actividad anticoagulante del fucoidan se evaluó mediante el ensayo de Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA). El ensayo fue realizado con plasma humano obtenido de individuos sanos. El plasma fue mezclado con una solución de citrato de sodio al 3.5% en proporción 9:1 (v/v) y centrifugado durante 15 minutos. Se hicieron diluciones hasta encontrar la concentración necesaria para duplicar el blanco. Todos los ensayos fueron realizados por duplicado y con los datos obtenidos se realizaron curvas de dosis efecto.

Las muestras se prepararon a una concentración de 10 mg mL⁻¹, debido a que la actividad fue mayor a los 300 s a ésta concentración, se buscó duplicar el blanco a partir de una concentración de 2 mg mL⁻¹ y posteriormente se hicieron diluciones. Se utilizaron 10 µL del extracto de prueba y se mezclaron con 90 µL de plasma humano citrado. La mezcla fue incubada durante 1 min a 37 °C. Posteriormente se le adicionaron 100 µL de reactivo de TTPA (Biopool® by Trinity Biotech, plc) y esta mezcla se dejó incubar por 3 min. Al término de este periodo se agregaron 100 µL de cloruro de calcio (CaCl₂) al 0.25 M y se midió el tiempo de coagulación.

Adicionalmente a las muestras de septiembre, noviembre, enero y marzo se les hizo la prueba de Tiempo de Protrombina (TP). Para éste ensayo se prepararon muestras a una concentración de 10 mg mL⁻¹. Este ensayo consistió en mezclar 10 µL de la muestra a evaluar con 100 µL del plasma citrado, la mezcla se dejó incubando 1 min en un baño maría a 37 °C. Al finalizar el tiempo de incubación se agregaron 200 µL del reactivo TP (Biopool® by Trinity Biotech, plc) previamente incubado a 37 °C por 10 min., y se midió el tiempo que tardó en formarse el coagulo una vez agregado el reactivo. Se hicieron diluciones de las muestras de prueba sin alcanzar a duplicar el blanco. Posteriormente se hicieron curvas dosis efecto para observar el comportamiento de la muestra.

CARACTERIZACIÓN PARCIAL DEL FUCOIDAN

La caracterización parcial estructural del fucoidan se realizó por medio de espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) en un espectro Perkin Elmer TWO, equipado con atenuador de reflectancia total (ATR). Los espectros fueron obtenidos después de 28 escaneos a una resolución de 4 cm^{-1} , en un rango de $500\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$.

La concentración de azúcares totales se cuantificó por el método colorimétrico de Dubois *et al.* (1956). Un mL de muestra de fucoidan disuelto en agua destilada a una concentración de $100\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$, se le adicionó 1 mL de solución de fenol al 5% y después se le agregaron 5 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). El tubo de ensayo fue agitado en un vortex y puesto en obscuridad durante 10 min. Al finalizar el tiempo, se midió la absorbancia a 490 nm. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado. Para determinar la concentración de azúcares totales se interpoló la absorbancia de la muestra en una curva estándar elaborada con glucosa. Los datos de la curva fueron procesados en Excel y se graficó la concentración contra la absorbancia: se obtuvo la ecuación de la recta y se calculó el coeficiente de determinación (R^2). Con la ecuación de la recta se calculó la concentración de azúcares de las muestras, sustituyendo la absorbancia en la ecuación.

Finalmente se determinó la concentración de fucosa por el método colorimétrico de Dische (1955). Se preparó una solución de fucoidan en concentración de $100\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$. Un mL de la solución se agregó en tubos de ensayo previamente colocados en agua-hielo. Una vez fría la muestra, se adicionaron 4.5 mL de H_2SO_4 , los tubos fueron agitados en un vortex y colocados en un baño María a $100\text{ }^\circ\text{C}$ durante 10 minutos. Posteriormente fueron colocados 1 minuto en hielo, se les agregó $100\text{ }\mu\text{L}$ de cisteína al 3%, se agitó en un vortex y se colocó la mezcla en obscuridad durante 30 minutos. Finalmente, se midió la absorbancia a 396 y 427 nm y se calculó la diferencia entre estas ($A_{\text{fucosa}} = A_{396\text{nm}} - A_{427\text{nm}}$). Todos los ensayos fueron realizados por triplicado y la concentración de fucosa se obtuvo por la interpolación de la absorbancia de la fucosa en una curva estándar construida con L-Fucosa (Marca Fluka).

EXTRACCIÓN DEL ALGINATO DE SODIO

La extracción se hizo siguiendo el método de Arvizu *et al.*, (2002), con la diferencia de que para la extracción se utilizó el tejido algal resultante de la extracción de fucoidan. Brevemente, 20 g de tejido algal al que previamente se le extrajo fucoidan, se le adicionó 180 mL de una solución de formaldehído al 0.1% y se dejó durante 16 horas en reposo. Se removió la solución de formaldehído y se comenzó la pre-extracción ácida, para lo cual se adicionaron 300 mL de agua destilada y se colocó en agitación continua durante 15 min, a un pH ajustado a 4 con ácido clorhídrico (HCl) 1 N (Anexo III). Al término de la pre-extracción se filtró y al tejido recuperado se le adicionaron 500 mL de agua destilada (proporción 1:25 alga: agua), se colocó en baño maría a 80 °C durante 2 h con agitación continua y con un pH ajustado a 10 con carbonato de sodio al 10%. Al finalizar el tiempo de extracción se filtró al vacío con tierra de diatomeas. La solución filtrada se precipitó en etanol al 96%, en proporción 1:1. Las fibras suspendidas de alginato fueron recuperadas y secadas durante 12 h en una estufa a 55°C. Se pesaron y se calculó el rendimiento con base al peso seco de la muestra.

DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD Y LA FUERZA DE GEL

Se midió la viscosidad a una solución de alginato de sodio al 1% (peso/volumen) a una temperatura de 22 °C, en un viscosímetro Brookfiel modelo LTV, con la aguja apropiada (3 o 2). Las mediciones se realizaron a una velocidad de rotación de la aguja de 60 rpm y se obtuvo la viscosidad utilizando la tabla correspondiente que proporciona el fabricante (Hernández-Carmona *et al.*, 1999a).

Para medir la fuerza de gel, el alginato de sodio solubilizado se colocó en una membrana de diálisis de la marca Spectra/Por®, de 29 mm de diámetro, cortados en tramos de 15 cm de longitud, previamente hidratada y sellada por la base. La bolsa se llenó con un volumen suficiente para ocupar una longitud de 12 cm y se

cerró con una pinza de presión en la parte superior. Los cilindros fueron colocados en una solución de CaCl_2 al 10% durante 12 h. Al término de este tiempo, los bloques sólidos fueron cortados en unidades de 2.5 cm de largo, asegurando obtener tres unidades por réplica (Camacho & Hernández-Carmona, 2013). La fuerza de gel se midió en el equipo Texture Analyzer modelo TA.TX Plus. El valor de máxima resistencia se obtuvo al momento en que el gel se fracturó, tomando la lectura con el programa Exponente que acompaña al equipo.

DETERMINACIÓN DEL COLOR Y pH DEL ALGINATO

Se preparó una solución de alginato de sodio al 1 % y se midió la transmitancia de la solución en un espectrofotómetro de luz UV-VIS a 510 nm (Hernández-Carmona *et al.*, 1999b). El pH fue determinado de manera cualitativa utilizando papel pH para ello.

CARACTERIZACIÓN PARCIAL DEL ALGINATO

La caracterización parcial estructural del alginato se realizó por medio de espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) en un espectro Perkin Elmer TWO, equipado con atenuador de reflectancia total (ATR). Los espectros fueron obtenidos después de 28 escaneos a una resolución de 4 cm^{-1} , en un rango de $500\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$.

DETERMINACIÓN DE LA PROPORCIÓN M/G

Para la determinación de la proporción de bloques de ácido manurónico y gulurónico, se utilizó el método semicuantitativo de Phillipov & Kohn, 1976. Se utilizó la absorción de las bandas de 1125 y los 1030 que corresponden a las señales de ácido gulurónico y manurónico respectivamente. Se calculó la relación A_{1125}/A_{1030} .

TEMPERATURA SUPERFICIAL DEL MAR

La variación de la temperatura superficial del mar fue obtenida a través de imágenes de satélite. Las cuáles fueron extraídas de la base del Group for High Resolution of Sea Surface Temperature (www.GHRSST.org). Las imágenes corresponden al promedio de la temperatura de los días en que se recolectaron las algas y tuvieron una resolución espacial de 1 Km.

PROCESAMIENTO DE DATOS

Se realizó un análisis exploratorio de los datos en el programa R Project 3.01. Debido a que las réplicas de cada muestra tenían una $n=3$, se utilizaron las réplicas de todos los meses separando las partes del alga y se probó la normalidad con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las pruebas de normalidad aceptaron la hipótesis de que los datos se distribuyen de manera normal. Únicamente la variable de rendimiento de fucoïdan en estipes rechazó esta hipótesis, debido a valores atípicos que se presentaron en el mes de marzo. Por lo tanto se realizó un análisis de varianza multifactorial (MANOVA) para determinar si había diferencias significativas entre las partes del alga y los meses de recolecta (Statgraphics Centurion XVII). Posteriormente se aplicó la prueba de Tukey para identificar cuáles fueron las muestras significativamente distintas. Con las tablas de medias y desviación estándar se elaboraron los gráficos con ayuda de los programas SigmaPlot 11 y Excel 2013.

RESULTADOS

ANÁLISIS DE QUÍMICA PROXIMAL

Los mayores constituyentes de *E. arborea* tanto en láminas como en estipes (Tabla 2) son los carbohidratos, encontrándose en proporción significativamente mayor ($p < 0.05$) en las láminas. En Julio se registró el mayor porcentaje (55%) para las láminas y mayo para los estipes (49.7%). Las cenizas secundaron como mayores constituyentes tanto en láminas como en estipes, estas a diferencia de los carbohidratos, se encuentran en mayor proporción ($p < 0.05$) en los estipes y el mayor porcentaje de cenizas se encontró en marzo para estipes con un 37.4% y enero para las láminas con 33.7 %.

En menor proporción se encontraron las proteínas y la fibra cruda. En el caso de la proteína, ésta fue significativamente mayor en las láminas ($p < 0.05$) y sus máximos porcentajes se observaron en mayo tanto en las láminas (12.5%) como en los estipes (10.2%). La fibra cruda, por su parte, fue mayor en los estipes que en las láminas. Sus máximos porcentajes se observaron en Julio para láminas (5.6%) y noviembre para los estipes (9.9%).

Finalmente, los lípidos constituyeron menos de 1% de los componentes químicos proximales y los porcentajes de éstos fueron superiores en estipes. Respecto al periodo de muestreo, los meses en lo que el porcentaje de lípidos fue mayor correspondieron a enero para las láminas (0.25%) y julio en los estipes (0.36%).

Tabla 2. Composición química proximal en las láminas y estipes de *Eisenia arborea* en el periodo septiembre 2013-julio 2014. Porcentaje promedio de las réplicas (n=3) y la desviación estándar.

	Septiembre	Noviembre	Enero	Marzo	Mayo	Julio	Promedio anual %
Carbohidratos							
Láminas	61.43	53.03 ± 0.43	48.62 ± 0.01	52.78 ± 0.25	54.21 ± 0.18	55.07 ± 0.15	53.85
Estipes	48.15	47.94 ± 0.17	47.25 ± 0.63	44.47 ± 0.29	49.75 ± 0.20	48.35 ± 0.28	47.65
Cenizas							
Láminas	21.72	29.89 ± 0.27	33.72 ± 0.06	30.05 ± 0.07	27.66 ± 0.06	27.60 ± 0.16	28.44
Estipes	34.05	32.89 ± 0.21	35.41 ± 0.24	37.39 ± 0.28	30.83 ± 0.09	32.87 ± 0.17	33.90
Proteína							
Láminas	12.06	11.62 ± 0.08	12.27 ± 0.06	12.27 ± 0.06	12.52 ± 0.04	11.42 ± 0.08	12.02
Estipes	8.69	8.91 ± 0.08	9.26 ± 0.08	9.26 ± 0.08	10.23 ± 0.02	9.84 ± 0.07	9.36
Humedad							
Láminas	9.21	8.72 ± 0.14	8.55 ± 0.01	8.49 ± 0.05	8.35 ± 0.07	8.79 ± 0.16	8.68
Estipes	9.92	10.93 ± 0.05	10.04 ± 0.08	9.10 ± 0.05	9.88 ± 0.01	9.57 ± 0.08	9.90
Fibra cruda							
Láminas	4.63	5.22 ± 0.11	5.42 ± 0.05	4.62 ± 0.23	5.42 ± 0.05	5.65 ± 0.11	5.16
Estipes	8.85	9.98 ± 0.005	8.51 ± 0.30	8.51 ± 0.15	8.81 ± 0.21	8.54 ± 0.15	8.86
Lípidos							
Láminas	0.15	0.21 ± 0.02	0.25 ± 0.07	0.24 ± 0.05	0.16 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.17
Estipes	0.25	0.24 ± 0.05	0.34 ± 0.05	0.27 ± 0.05	0.34 ± 0.05	0.36 ± 0.02	0.3

RENDIMIENTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO CRUDO

El rendimiento del extracto etanólico crudo (EtOH), presentó una variación significativa tanto en partes del alga como en los meses de recolecta (Tabla 3). En todo el ciclo, el rendimiento del extracto crudo fue significativamente ($p < 0.05$) mayor en las láminas. Los mayores rendimientos se observaron para láminas en septiembre con 5.40% y para estipes en mayo con 2.07 %.

Tabla 3. Rendimiento de los EtOH obtenidos de *Eisenia arborea* en el periodo septiembre 2013- julio 2014. Porcentaje promedio de las réplicas (n=3) y su desviación estándar

Rendimiento %	Septiembre	Noviembre	Enero	Marzo	Mayo	Julio
Láminas	5.40 \pm 0.13	4.49 \pm 0.12	2.31 \pm 0.16	2.78 \pm 0.10	1.87 \pm 0.14	2.65 \pm 0.06
Estipes	1.03 \pm 0.076	1.04 \pm 0.026	0.84 \pm 0.03	1.33 \pm 0.15	2.07 \pm 0.3	1.50 \pm 0.02

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La EC_{50} (Tabla 4) mostró que los EtOH obtenidos de las láminas presentan una mayor actividad antioxidante comparado con el EtOH obtenido de los estipes. La mayor actividad a lo largo del ciclo se observó en noviembre para las láminas ($EC_{50} = 55 \mu\text{g mL}^{-1}$), la cual fue 3.5 veces menos activa que el ácido ascórbico. En los estipes la mayor actividad fue detectada en mayo ($EC_{50} = 352.83 \mu\text{g mL}^{-1}$), lo cual implica que fue aproximadamente 22 veces menor la actividad que las láminas.

Tabla 4. Actividad antioxidante de los extractos etanólicos crudos obtenidos de láminas y estipes de *Eisenia arborea*. Se reporta la EC₅₀ calculada por el método gráfico de correlación lineal.

	Actividad antioxidante EC₅₀ (µg mL⁻¹)	
	Ácido ascórbico	
	16	
	Láminas	Estipes
Septiembre	83	499
Noviembre	55	584
Enero	122	352
Marzo	116	508
Mayo	113	320
Julio	108	357

FUCOIDAN

RENDIMIENTO DEL FUCOIDAN

El fucoidan obtenido de ambas partes del alga mostró diferencias significativas, siendo mayor en las láminas ($p < 0.05$, Anexo VI). El mayor rendimiento (fig. 3) del fucoidan obtenido de las láminas se presentó en septiembre (20.6 ± 0.5 %) y el menor en julio (7.82 ± 0.5 %). En el caso del fucoidan obtenido de estipes, el mayor rendimiento fue en marzo (8.73 ± 0.5 %), mientras que los demás meses estuvieron en un intervalo de 3.57-4.63 % sin mostrar diferencias significativas.

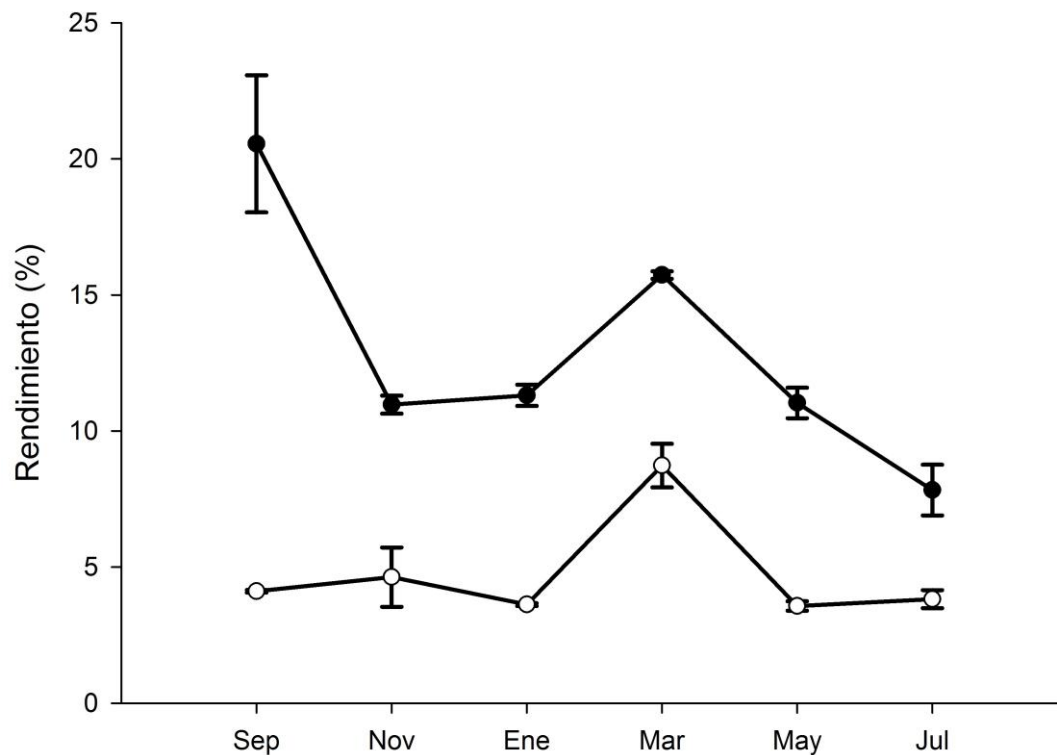


Fig. 3. Rendimiento del fucoidan de láminas y estipes del alga *E. arborea* recolectada durante el periodo de septiembre 2013-julio 2014. Promedio de las réplicas (n=3) y su desviación estándar. ● Láminas y ○ Estipes.

AZÚCARES TOTALES DEL FUCOIDAN

Los azúcares totales mostraron diferencia significativa tanto en partes del alga como en los meses de recolecta. Durante todo el ciclo las láminas tuvieron una mayor concentración de azúcares. Los meses de septiembre ($78.49 \mu\text{g mL}^{-1}$) y marzo ($78.66 \mu\text{g mL}^{-1}$) se observó la mayor concentración en láminas y en el periodo de noviembre a marzo se observó en los estipes (Tabla 5).

Tabla 5. Concentración de azúcares totales del fucoïdan obtenido de láminas y estipes de *E. arborea*. Promedio de las réplicas (n=3) y desviación estándar.

Azúcares totales del fucoïdan ($\mu\text{g mg}^{-1}$)		
	Laminas	Estipes
Septiembre	78.49(\pm 4.76)	20.15 (\pm 5.11)
Noviembre	56.55 (\pm 7.34)	26.68 (\pm 4.59)
Enero	52.19 (\pm 4.16)	29.22 (\pm 4.23)
Marzo	78.66 (\pm 2.96)	26.56 (\pm 4.03)
Mayo	58.69 (\pm 3.68)	17.3 (\pm 0.85)
Julio	45.57 (\pm 2.51)	21.00 (\pm 1.16)

FUCOSA DEL FUCOIDAN

La concentración de fucosa presentó diferencias significativas entre láminas y estipes y entre los meses. Fue mayor en las láminas en los meses de noviembre ($154 \mu\text{g mL}^{-1}$), mayo y julio y en los estipes la mayor concentración se observó en enero y mayo (Tabla 6).

Tabla 6. Concentración de fucosa en el fucoïdan obtenido de láminas y estipes *Eisenia arborea*. Promedio de réplicas (n=3) y desviación estándar.

Fucosa del fucoïdan ($\mu\text{g mg}^{-1}$)		
	Láminas	Estipes
Septiembre	12.04 \pm (2.18)	8.68 (\pm 2.76)
Noviembre	15.14 (\pm 6.03)	10.13 (\pm 2.09)
Enero	12.17 (\pm 1.67)	11.43 (\pm 2.50)
Marzo	12.83 (\pm 2.89)	8.9 (\pm 2.76)
Mayo	17.17 (\pm 1.40)	11.50 (\pm 1.43)
Julio	15.25 (\pm 1.13)	10.22 (\pm 0.90)

ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IRATR)

Los espectros de infrarrojo mostraron bandas características de fucoidan, estas se encuentran cercanas a las señales que están marcadas en la figura 4 y las cuales fueron consistentes en todos los espectros de láminas y estipes (fig. 5, fig. 6).

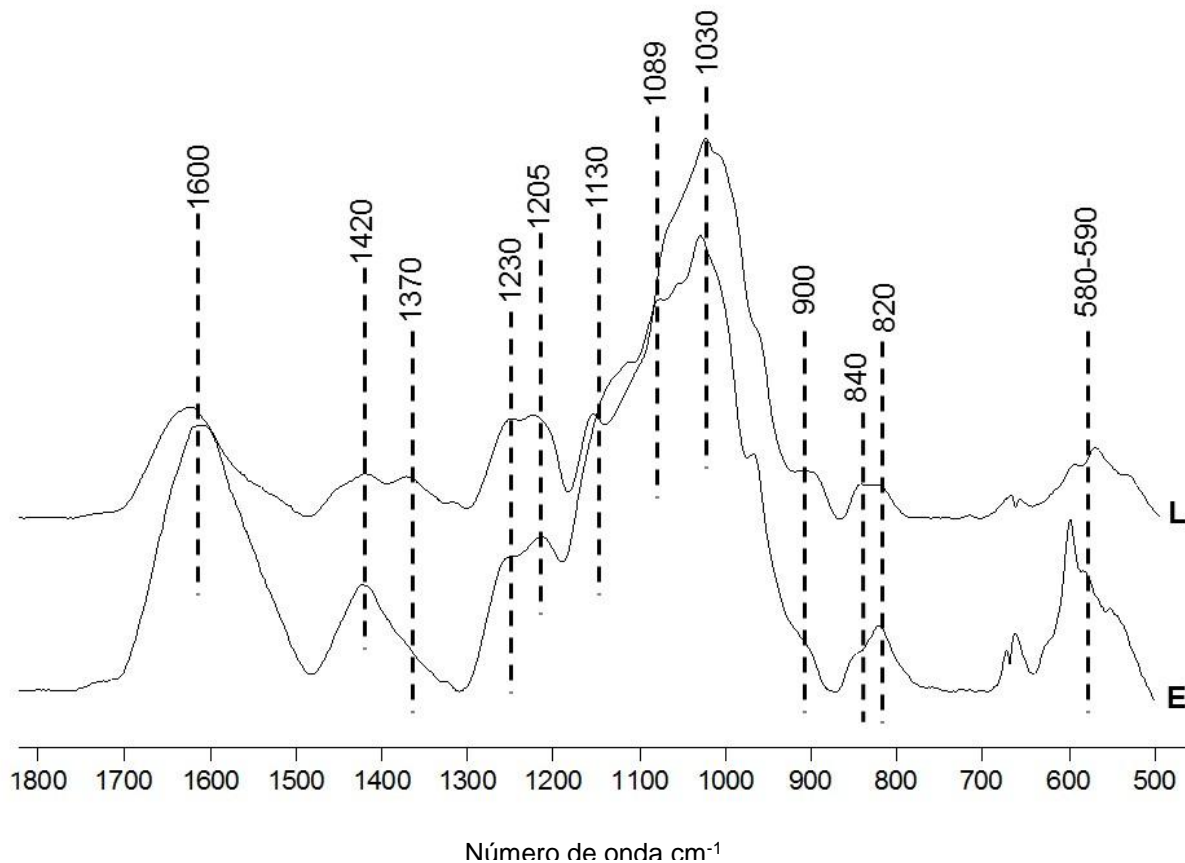


Fig. 4. Espectro de infrarrojo (FT-IRATR) del fucoidan obtenido de láminas (L) y estipes (E) de *Eisenia arborea*. Se muestra las señales de absorbancia aproximadas que presentaron todos los espectros.

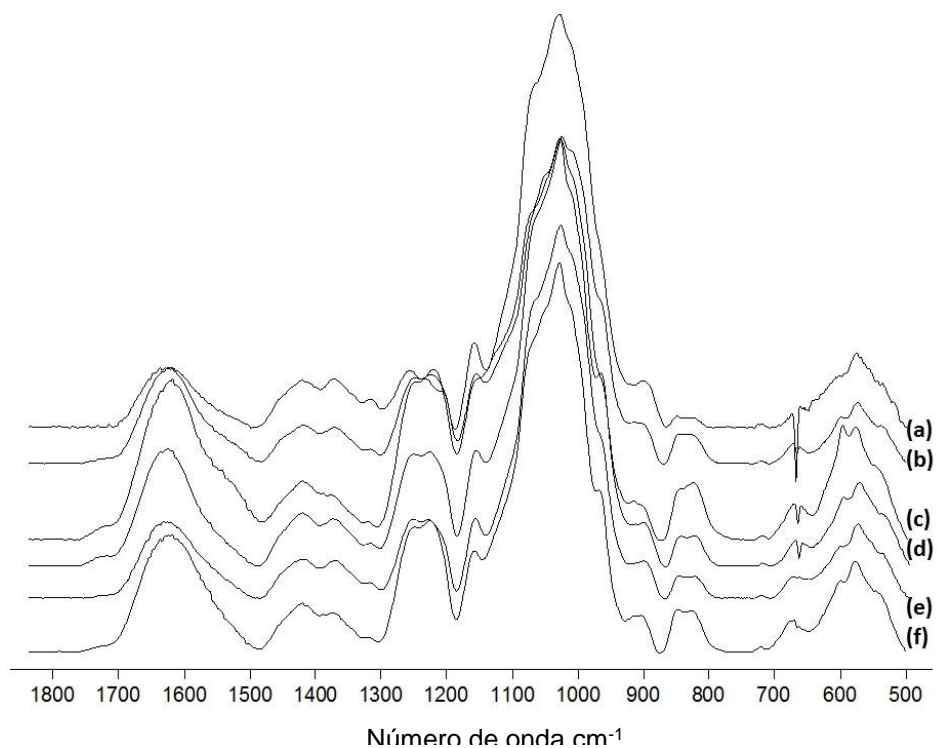


Fig. 5. Espectro de Infrarrojo (FT-IRATR) del fucoidan obtenido de las láminas durante el periodo septiembre 2013 – julio 2014 (a) Septiembre, (b) Noviembre, (c) Enero, (d) Marzo, (e) Mayo y (f) Julio.

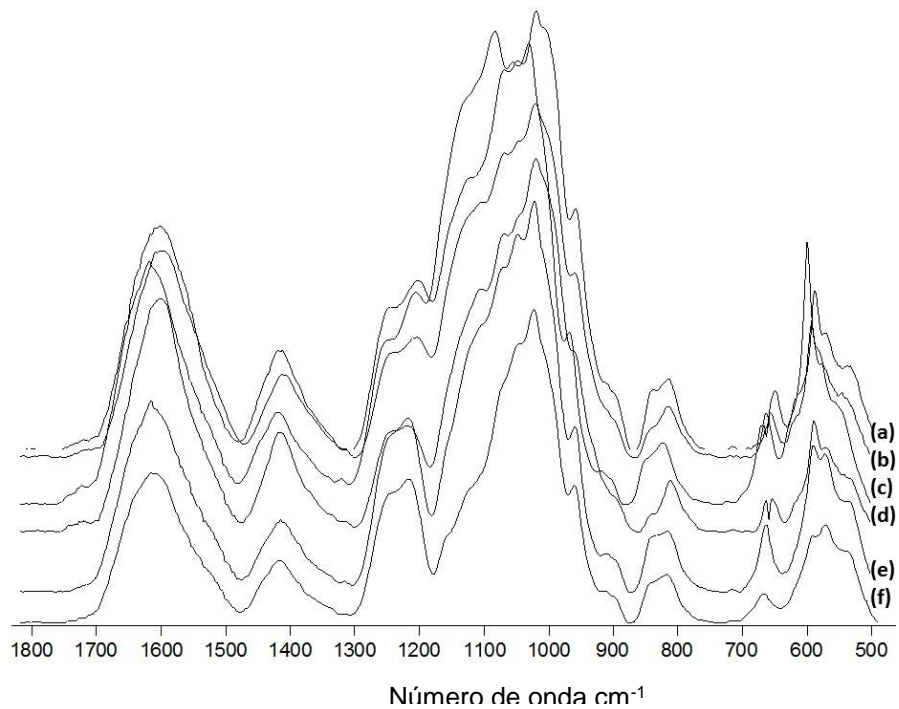


Fig. 6. Espectro de Infrarrojo (FT-IRATR) del fucoidan obtenido de los estipes durante el periodo de septiembre 2013 – julio 2014: (a) Septiembre, (b) Noviembre, (c) Enero, (d) Marzo, (e) Mayo y (f) Julio.

ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE POR ENSAYO DE TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA (TTPA)

Se encontró una alta actividad anticoagulante del fucoidan obtenido tanto en láminas como en estipes. Con las curvas de dosis-efecto se observó que las muestras de mayor actividad en el caso de las láminas fueron las de enero (fig. 7) y en el caso de los estipes las de mayo (fig. 8). Esto se obtuvo empleando la concentración a la que la muestra duplicó al blanco (27 s).

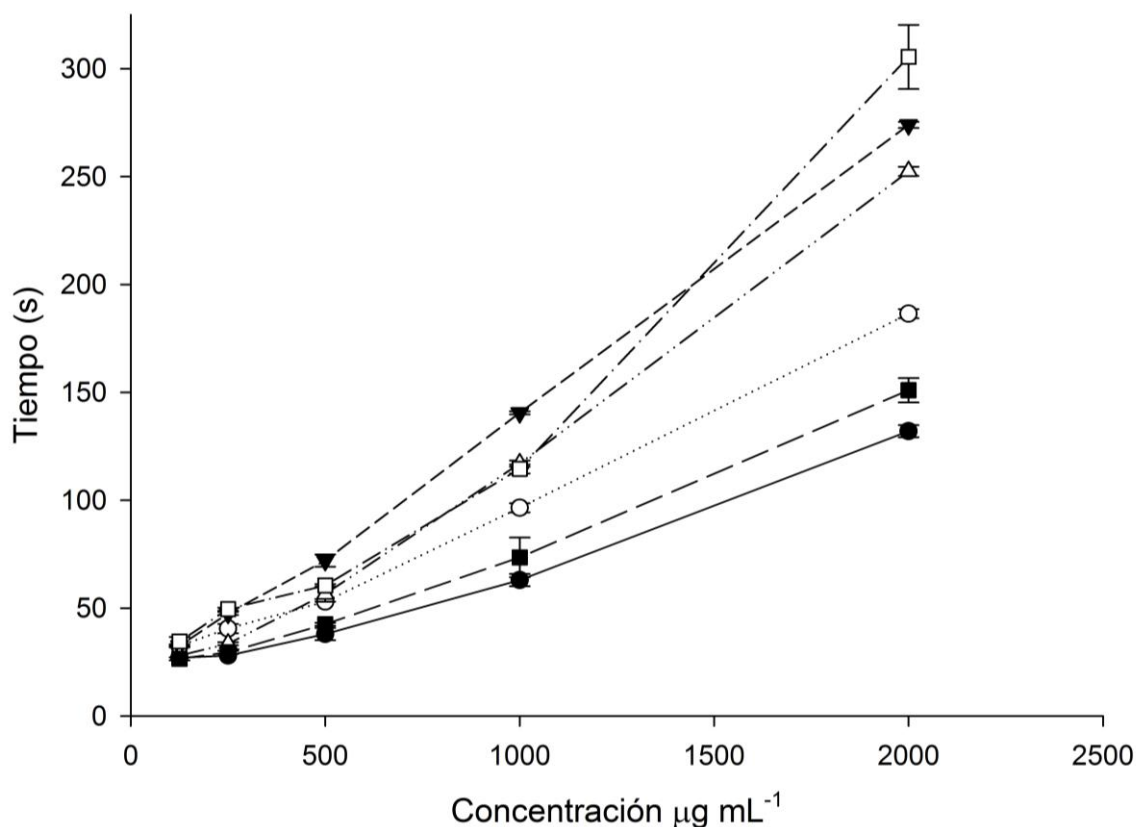


Fig. 7. Curva de dosis-respuesta de la actividad anticoagulante del fucoidan obtenido de las láminas de *E. arborea*. El eje X muestra las concentraciones del fucoidan y en el eje Y el tiempo que tardó en formarse el coágulo por el ensayo de tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA). Septiembre ●, Noviembre ○, Enero ▼, Marzo △, Mayo ■ y Julio □.

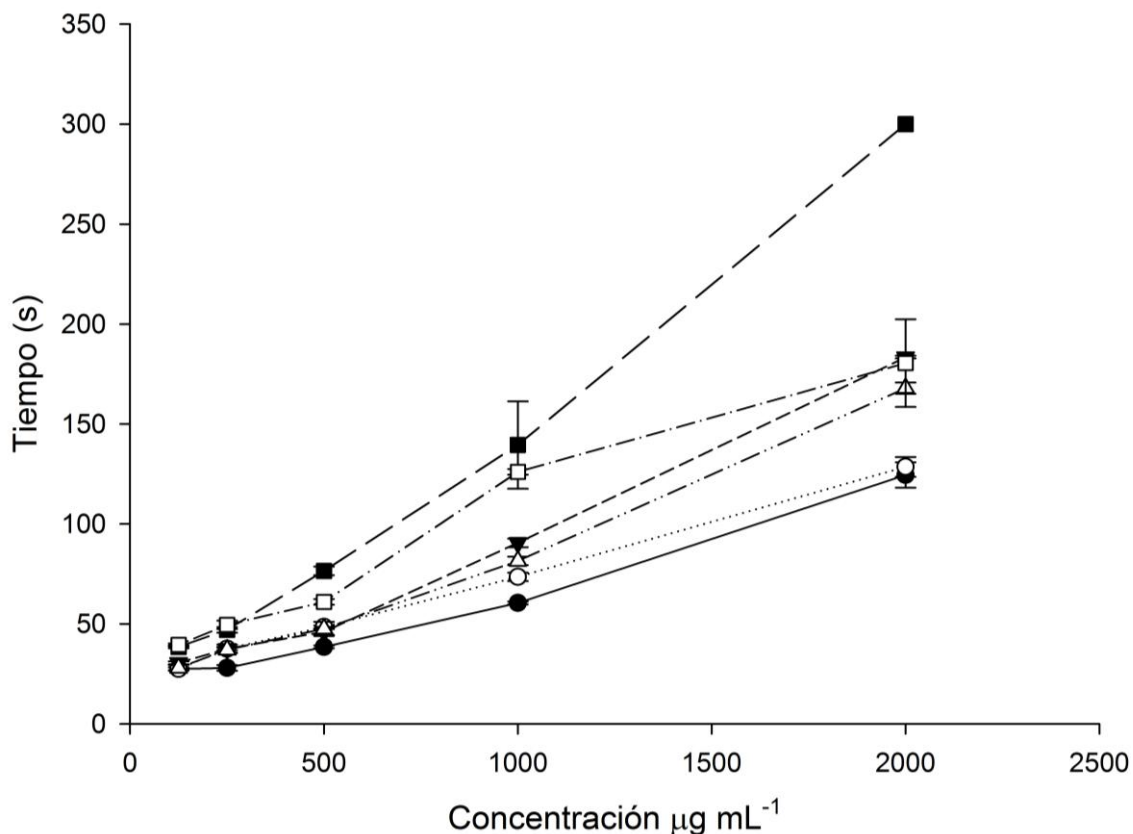


Fig. 8. Curva de dosis-respuesta de la actividad anticoagulante del fucoidan obtenido de los estipes de *E. arborea*. El eje X muestra las concentraciones del fucoidan y en el eje Y el tiempo que tardó en formarse el coágulo por el ensayo de tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA). Septiembre ●, Noviembre ○, Enero ▼, Marzo △, Mayo ■ y Julio □.

ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE POR ENSAYO DE TIEMPO DE PROTROMBINA (TP)

La actividad anticoagulante por este ensayo también fue alta, pese a que no se alcanzó a duplicar el blanco (13 s), se pudo observar la alta actividad que presentaron las muestras por éste ensayo. Las muestras más activas fueron las de láminas de noviembre y estipes de marzo.

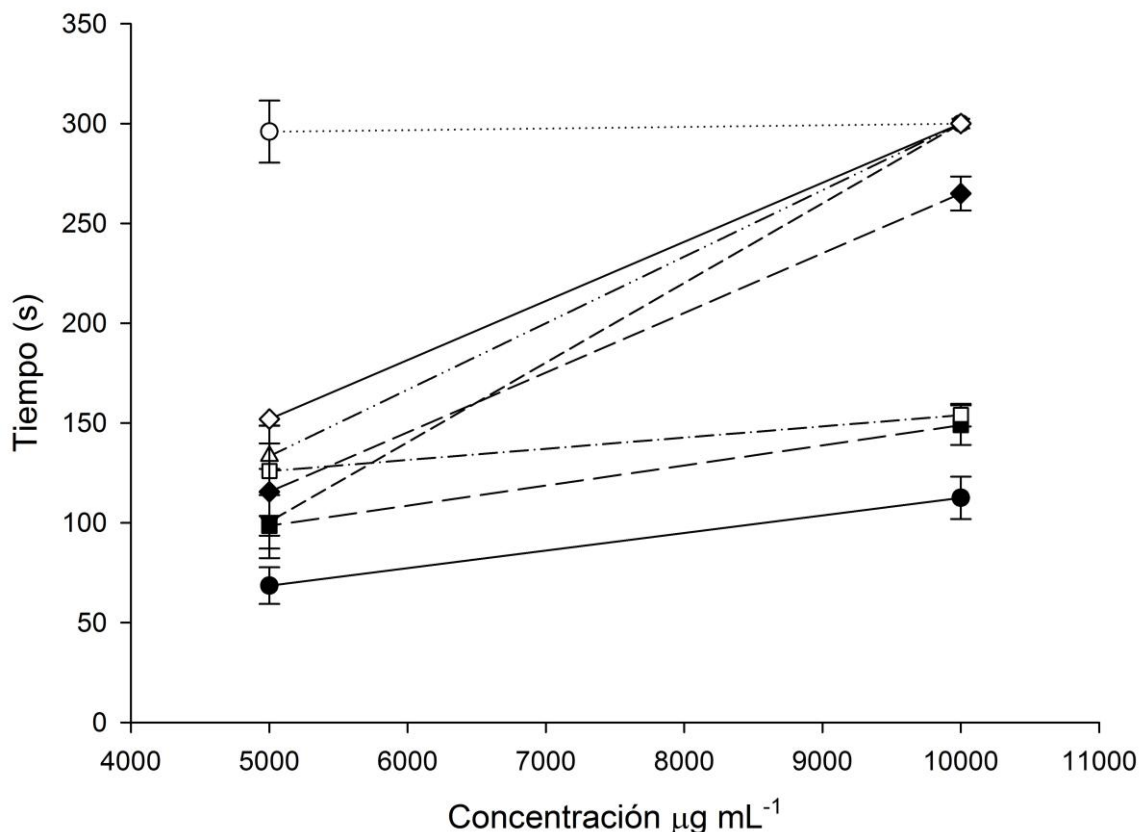


Fig. 9. Actividad anticoagulante del fucoidan obtenido de láminas y estipes de *E. arborea*. El eje X muestra las concentraciones del fucoidan y en el eje Y el tiempo que tardó en formarse el coágulo por el ensayo de tiempo de protrombina (TP). Láminas: Septiembre ●, Noviembre ○, Enero ▼, Marzo △; Estipes: Septiembre ■, Noviembre □, Enero ◆, Marzo ◇.

ALGINATO

RENDIMIENTO DEL ALGINATO

El rendimiento de los alginatos presentó diferencias significativas entre meses y parte del alga. Los estipes presentaron un mayor rendimiento en contraste con las láminas (fig. 10). En los meses de noviembre, enero y marzo es cuando se obtuvieron los mayores rendimientos de alginato, tanto en láminas (21.3, 21.05 y 18.5 %) como en estipes (21.2, 24.5, 21.86 %). La tendencia que sigue es a incrementar de septiembre a enero y posteriormente un decremento hasta mayo.

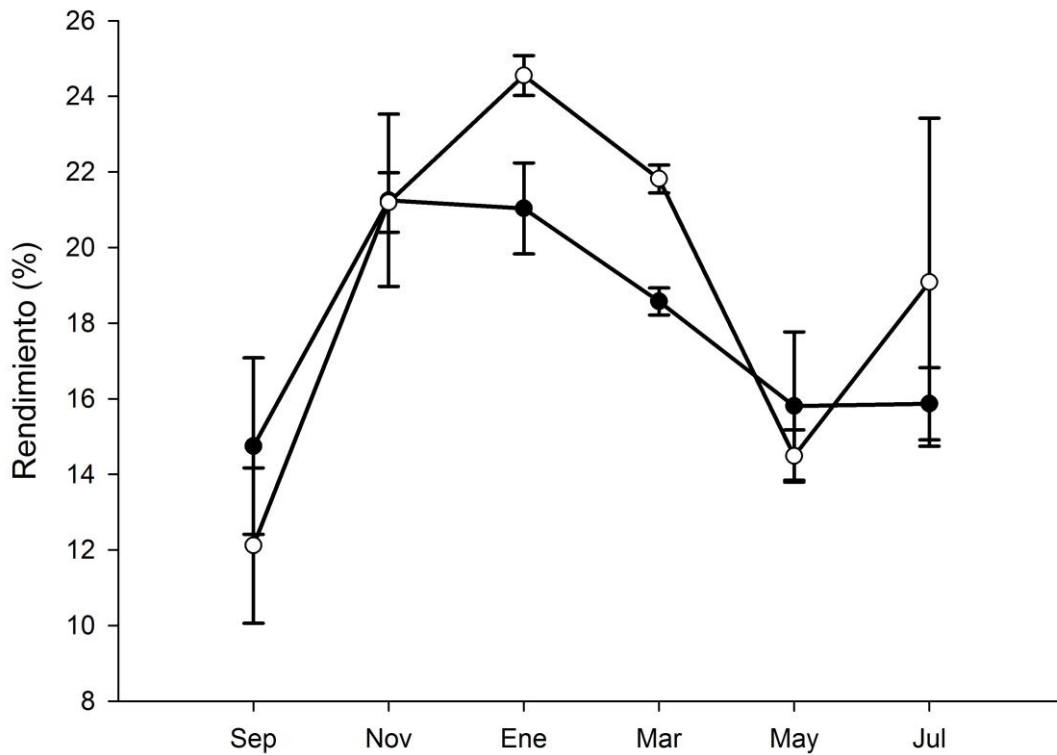


Fig. 10. Rendimiento del alginato de sodio obtenido de Láminas ● y Estipes ○ de *Eisenia arborea* durante el periodo septiembre 2013-julio 2014. Promedio de las réplicas (n=3) y su desviación estándar.

VISCOSIDAD Y FUERZA DE GEL

La viscosidad del alginato obtenido presentó diferencias significativas entre las partes del alga así como entre meses y fue mayor en los estipes (fig. 8). En el caso de los estipes se obtuvo una variación de 440-1009 m Pa s. En el caso de las láminas la variación fue de 140-464 m Pa s. Tanto en láminas como en estipes las mayores viscosidades fueron observadas en enero con valores de 464 y 1008 m Pa s respectivamente.

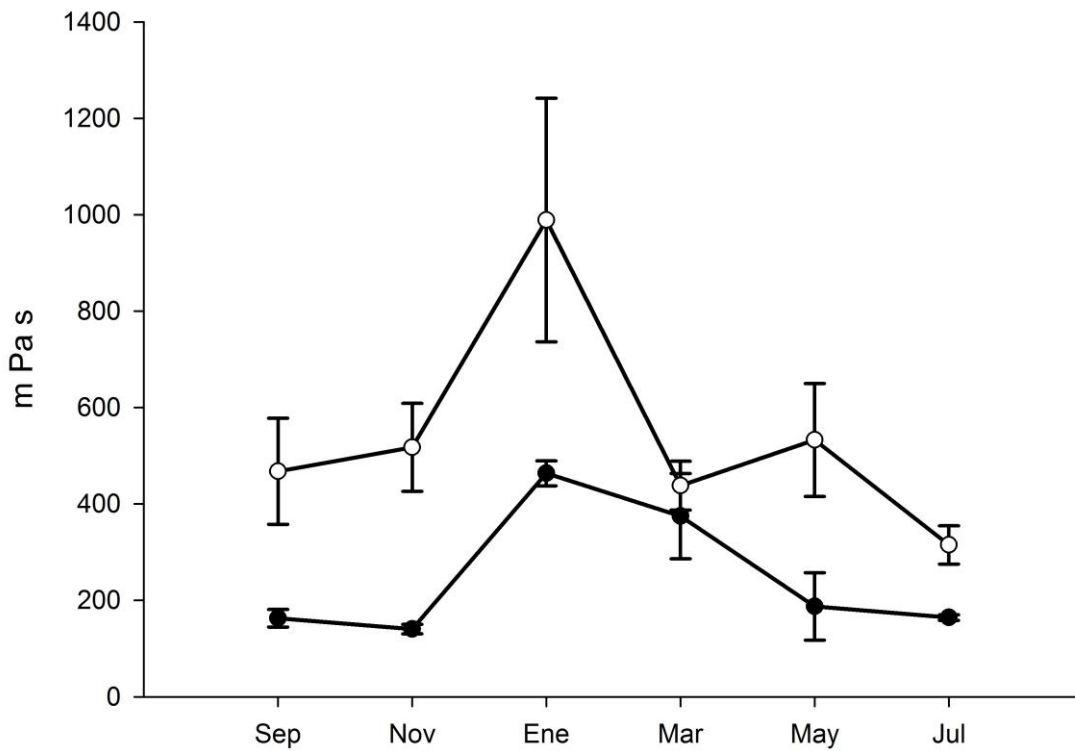


Fig. 11. Viscosidad de los alginatos obtenidos de Láminas (●) y Estipes (○) de *Eisenia arborea* durante el periodo septiembre 2013-julio 2014. Promedio de las réplicas (n=3) y su desviación estándar.

La fuerza de gel del alginato (fig. 12) fue significativamente ($p > 0.05$) diferente entre los meses y entre las partes del talo. Los valores más altos de fuerzas de gel se observaron en enero tanto en láminas (3239 g cm⁻²) cómo en estipes (3336 g cm⁻²).

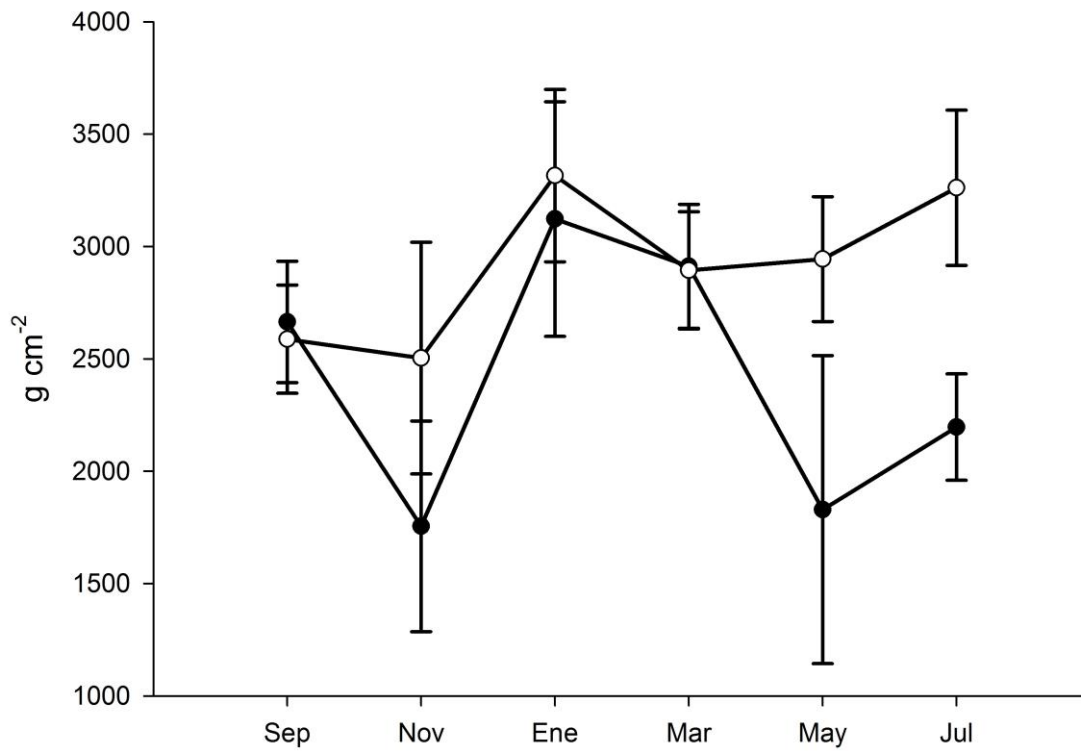


Fig. 12. Fuerza de gel del alginato obtenido de láminas (●) y estipes (○) de *Eisenia arborea* durante el periodo septiembre 2013-julio 2014. Los puntos representan el promedio de las réplicas (n=9) y su desviación estándar.

ESPECTROSCOPIA DE INFRAROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IRATR)

El espectro de infrarrojo (fig. 13) mostró bandas características de alginato entre los 3300-3400 que corresponden a las vibraciones de los grupos -OH. Bandas en los 1407 y 1594 que indican vibraciones de los grupos carboxilos de ácido urónicos. Las bandas en los 1027, 816 y 885 son características de los residuos de ácido manurónico y las bandas en los 1081, 724-730 pertenecen a las vibraciones de los residuos de ácido gulurónico. Dichas bandas fueron observadas en los espectros de todas las muestras (figs. 14, 15).

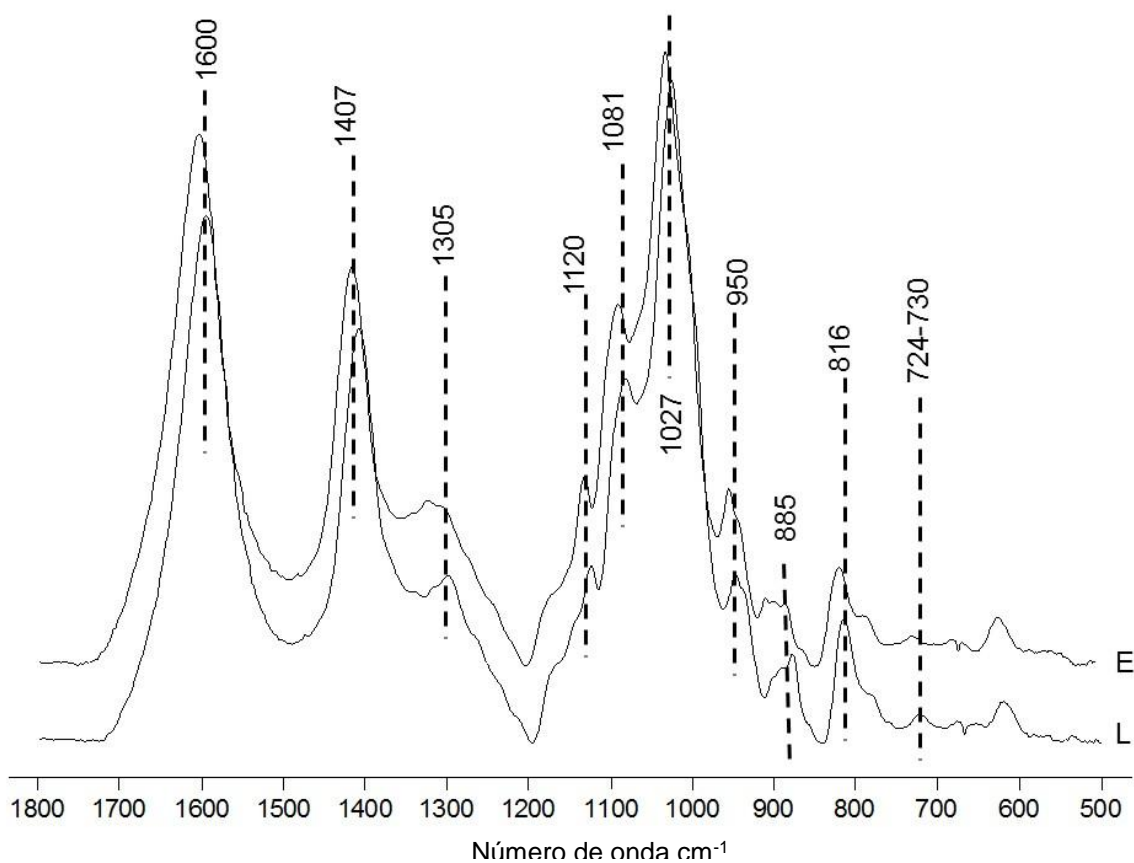


Fig. 13. Espectros de infrarrojo (FT-IRATR) de los alginatos obtenidos de láminas (L) y estipes (E) de *E. arborea*.

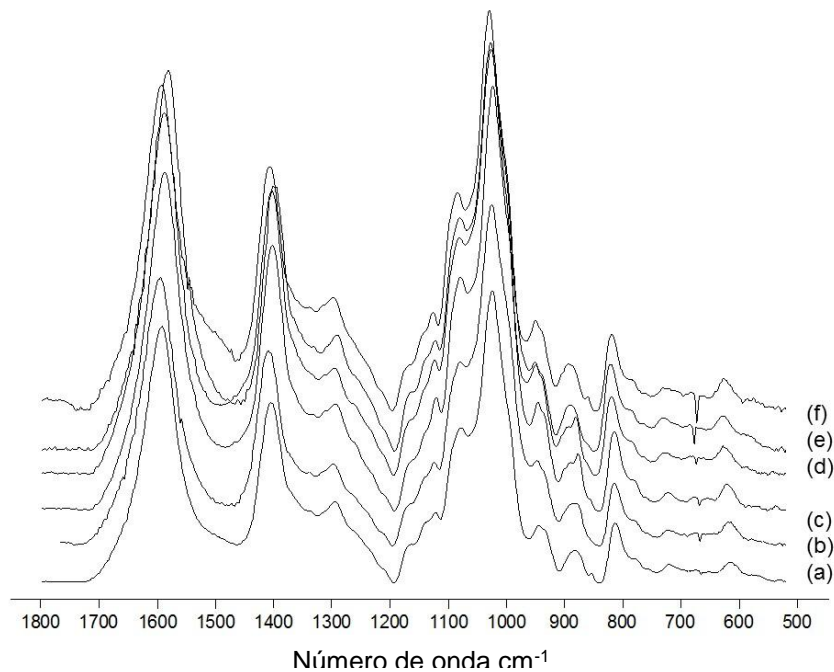


Fig. 14. Espectros de infrarrojo (FT-IRATR) de los alginatos obtenidos de las láminas de *Eisenia arborea*. Entre paréntesis se indica el mes de recolecta: (a) Septiembre, (b) Noviembre, (c) Enero, (d) Marzo, (e) Mayo y (f) Julio.

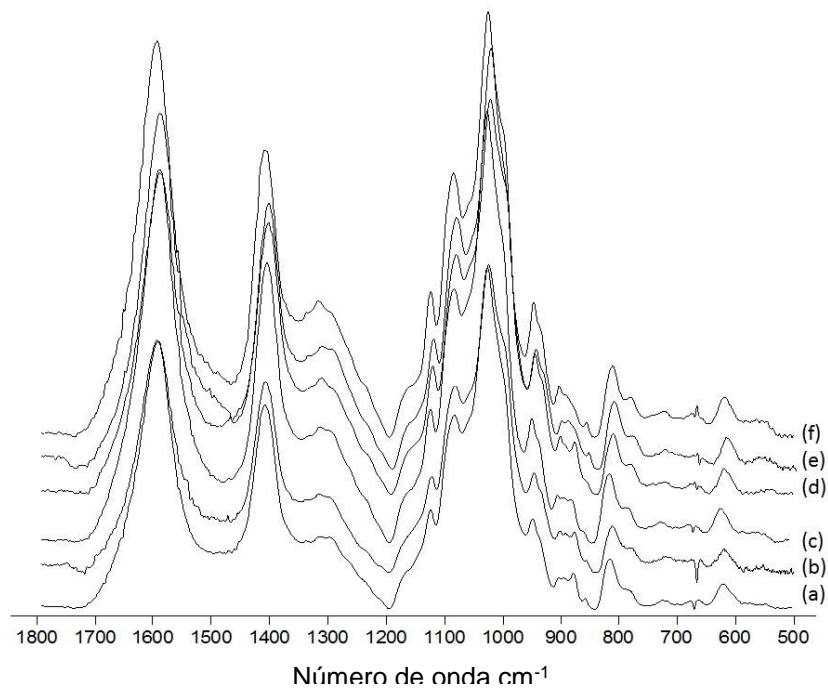


Fig. 15. Espectros de infrarrojo (FT-IRATR) de los alginatos obtenidos de los estipes de *Eisenia arborea*. Entre paréntesis se indica el mes al que pertenecía la muestra: (a) Septiembre, (b) Noviembre, (c) Enero, (d) Marzo, (e) Mayo y (f) Julio.

RELACIÓN M/G DE LOS ALGINATOS

Las absorbancia de las bandas 1125 y 1029 se muestran en la tabla 7. Los alginatos tanto de láminas como de estipes mostraron proporciones M/G menores a 1 (Tabla 8). Los valores indican que los alginatos de ambas estructuras poseen una mayor proporción de bloques de ácido gulurónico. Este patrón se observó durante todo el ciclo.

Tabla 7. Absorbancia de las bandas 1125 y 1029, obtenida de los espectros de infrarrojo de los alginatos.

MES	Absorbancia de las bandas de Infrarrojo			
	Láminas		Estipes	
	A1125	A1029	A1125	A1029
Septiembre	0.026	0.094	0.027	0.084
Noviembre	0.015	0.057	0.007	0.021
Enero	0.023	0.076	0.029	0.088
Marzo	0.021	0.071	0.014	0.041
Mayo	0.02	0.067	0.013	0.04
Junio	0.009	0.033	0.025	0.068

Tabla 8. Proporción M/G del alginato de sodio obtenido de láminas y estipes de *E. arborea*.

	Proporción M/G de los alginatos					
	Sep	Nov	Ene	Mar	May	Jul
Láminas	0.28	0.27	0.30	0.30	0.30	0.28
Estipes	0.32	0.33	0.32	0.34	0.32	0.37

COLOR y pH DE LOS ALGINATOS

Otra característica observada en los alginatos fue la diferencia de color (fig. 16) Se obtuvieron alginatos de color marrón a amarillo claro en las láminas, mientras que en los estipes los alginatos tuvieron colores amarillo claro a blanquecino. Estas tonalidades se pueden observar también los geles que se elaboraron. La tabla 9 muestra la transmitancia a 510 nm de las soluciones de alginato al 1 %. El pH de los alginatos se encontró en el intervalo de 8-9 tanto en láminas como en estipes.

Tabla 9. Transmitancia a 510 nm tomada a las muestras de alginato disueltas en agua al 1 %.

Transmitancia a 510 nm		
	Láminas	Estipes
Septiembre	47	55
Noviembre	21	80
Enero	72	80
Marzo	71	86
Mayo	60	81
Julio	54	81



Fig. 16. Color de los alginatos en solución al 1 % y en gel. Las figuras superiores corresponden a la muestra de enero y las figuras inferiores a la muestra de marzo. Las muestras se encuentran separadas por láminas (L) y estipes (E).

TEMPERATURA SUPERFICIAL DEL MAR

La temperatura en la zona presentó una variación que tuvo un gradiente entre los 17-27 °C (fig. 17). Mostrando dos épocas una cálida en los meses de julio, septiembre y noviembre y una fría en los meses de enero, marzo y mayo.

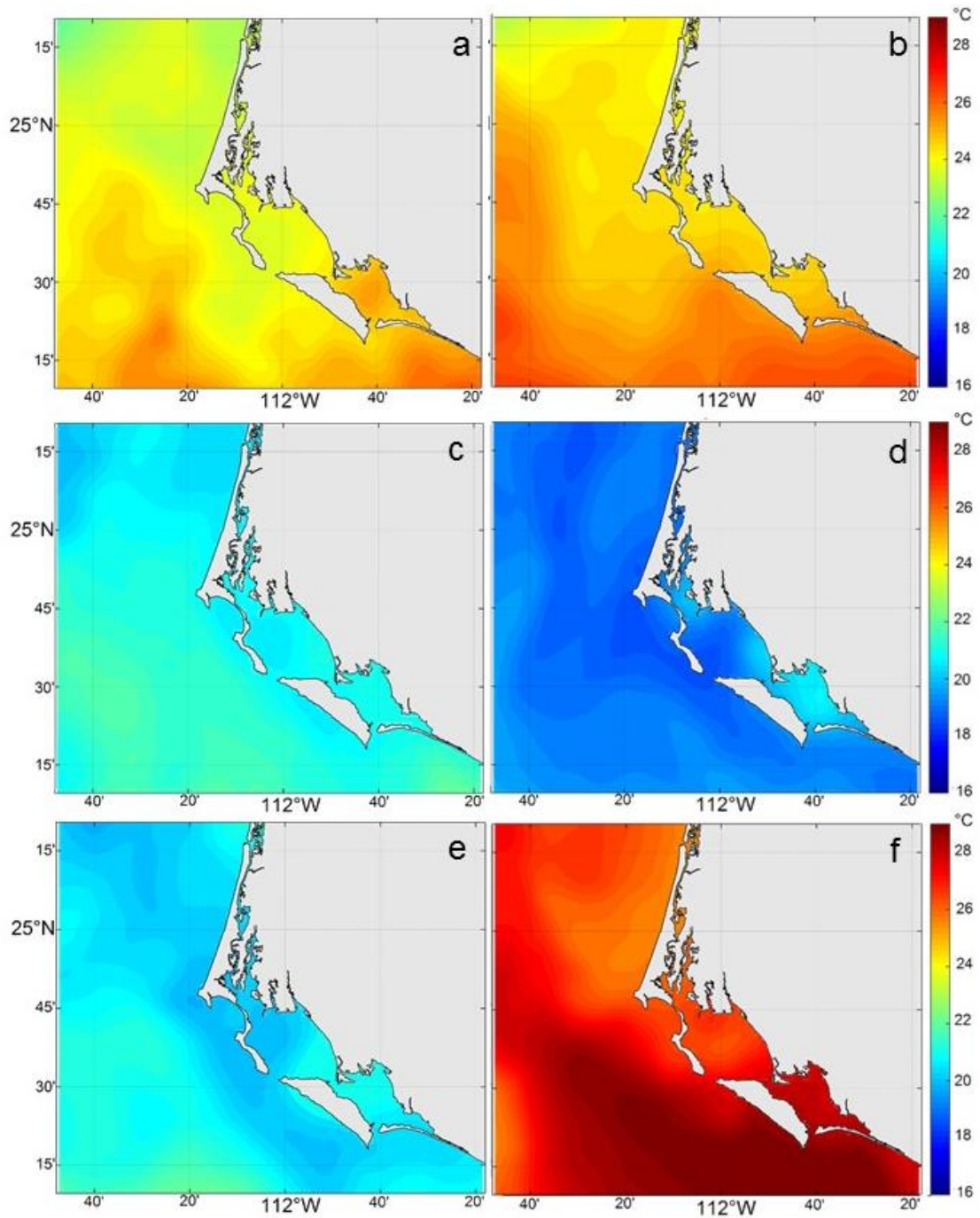


Fig. 17. Temperatura superficial del mar en Bahía Magdalena, durante los días de muestreo. Meses: septiembre (a), noviembre (b), enero (c), marzo (d), mayo (e), julio (f).

DISCUSIÓN

COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL

El análisis de química proximal de *E. arborea*, muestra que la humedad obtenida con el método de secado al sol, se encuentra dentro de los valores requeridos (12%) para que pueda ser almacenada por largos periodos sin ser colonizada por hongos o bacterias, lo cual coincide con lo anteriormente reportado para la misma especie (Arvizu *et al.*, 2007).

Los carbohidratos en *E. arborea*, se encontraron en un intervalo del 44-62 %, lo cual es consistente con los porcentajes reportados para otras especies de algas pardas (Dawes, 1999) y también para la especie (Serviere *et al.*, 2002; Hernández-Carmona *et al.*, 2009; Fleurence *et al.*, 2012). Están constituidos principalmente por azúcares como el manitol, laminaran, fucoidan y alginatos, los cuales al estar en porcentajes altos constituyen una fuente para la producción de biocombustibles (van Hal *et al.* 2014).

En lo referente a las cenizas el porcentaje que se reporta en ambas partes del alga se encuentra en un intervalo de 21-33 % en láminas y 30-37 % en estipes. Dichos intervalos se encuentra en proporciones muy similares a lo reportado en estudios previos con la misma especie, en los cuales se señalan porcentajes del 19-29 % para el talo (Hernández-Carmona *et al.*, 2009), mientras que para las láminas se reportaron un 31.8 % y para estipes un 38.7 %, lo cual confirma que los estipes poseen mayor porcentaje de cenizas (Arvizu *et al.*, 2007).

Las cenizas en las macroalgas integran macroelementos como el calcio, magnesio, sodio, cobre, hierro, manganeso y zinc (Adams *et al.*, 2014; Kumar *et al.*, 2015;). Dichos elementos la hacen una fuente rica en minerales, los cuales son importantes tanto para la dieta del humano cómo para la dieta de otros organismos como el ganado, sumado a que pueden ser importantes para el sector agrario debido a su posible utilidad en la formulación de extractos que funjan como bioestimulantes de

crecimiento en cultivos terrestre (Fleurence *et al.*, 2012; Briceño *et al.*, 2013; Hernández-Herrera *et al.*, 2014).

Al comparar el porcentaje de cenizas de *E. arborea* con el de *Undaria*, *Fucus*, *Ascophyllum*, *Sargassum*, *Costaria costata*, y *Macrocystis pyrifera*, se puede observar que todas se encuentran en un intervalo próximo al de *E. arborea* (Løvstad Holdt & Kraan 2011; Carrillo-Domínguez *et al.*, 2002; Rodríguez-Montesinos & Hernández-Carmona, 1991). Dado que estas especies se venden comercialmente, se sugiere que *E. arborea* podría competir con estos géneros en el mercado por su contenido de cenizas.

En el caso de las proteínas, en las algas pardas se ha reportado que el aporte proteico de éstas es bajo llegando hasta un 15 %. El intervalo de proteína encontrado para *E. arborea* fue de 11.42-12.52 % para láminas y de 8.69-10.23 %, estos intervalos están dentro de lo reportado para *Macrocystis pyrifera* (5-12) *Sargassum wightii* (8-12 %), *Laminaria digitata* (8-15 %) y *Ascophyllum nodosum* (3-15) (Rodríguez-Montesinos & Hernández-Carmona, 1991; Darcy-Vrillon, 1993; Denis *et al.*, 2010; Fleurence *et al.*, 2004; Kumar *et al.*, 2015), Pese a que el aporte proteico es bajo y tendría poco valor para la dieta en humanos, este es adecuado para su uso en la alimentación de algunos rumiantes (Fleurence *et al.*, 2012).

En cuanto a la fibra cruda y los lípidos fueron los constituyentes de menor porcentaje en el alga. La fibra, está generalmente compuesta por fracciones solubles e insolubles, las cuales pueden estar correlacionadas con efectos hipocolesterolémicos e hipoglicémicos, decremento del tiempo en el tránsito intestinal, aumento en los movimientos peristálticos y sensación de saciedad, dichos efectos han sido reportados benéficos en la salud debido a que reducen algunas enfermedades como la obesidad y la diabetes (Gómez-Ordóñez *et al.*, 2012). Por su parte, los lípidos se encontraron por debajo del 1% en el alga, lo cual implica un bajo aporte de grasas por parte de la especie. A pesar de que el porcentaje de lípidos es bajo, estos son importantes ya que se trata de lípidos de gran valor nutricional como el Omega 6 y 3 (Hernández-Carmona *et al.*, 2009).

VARIACIÓN DE CONSTITUYENTES QUÍMICOS PROXIMALES

Todos los constituyentes químicos proximales mostraron variación a lo largo del periodo tanto en la parte del alga como en los meses de recolecta. En el caso de los carbohidratos se observó que en las láminas el intervalo de variación fue de 48.62-61.43 % y que los meses en los que hubo mayor porcentaje fueron septiembre y julio, mientras que en estipes el intervalo fue de 44.77-49.75 %, con su mayor porcentaje mayo y sosteniendo altos porcentajes en los meses de julio, septiembre y noviembre (época cálida). Lo anterior indica que tanto en láminas como estipes los meses de septiembre y julio son los meses en los que se obtendrían los mayores rendimientos de éstos.

En las macroalgas, se ha reportado que los periodos de altas temperaturas coinciden con la mayor síntesis de carbohidratos, con los periodos de máximo crecimiento y un incremento en la actividad fotosintética (Munda & Kremer, 1977; Rosemberg & Ramus, 1982; Perfeto, 1998; Marinho-Soriano *et al.*, 2006). Lo anterior explica los altos porcentajes de carbohidratos observados en los meses de septiembre y julio en láminas, puesto que las mayores temperaturas en Bahía Magdalena correspondieron a los meses de julio, septiembre y noviembre.

Por otra parte, durante los meses de enero, marzo y mayo constituyeron la época fría de la zona y en la que se presentaron tanto en láminas como en estipes las mayores concentraciones de cenizas (30.05-33.7 %, respectivamente), proteínas (12.52 % y 10.23 %) y lípidos (0.25 y 0.30 %). Ésta época se caracteriza por tener una mayor influencia de la Corriente de California, una mayor actividad de surgencias, además mayores concentraciones de nutrientes y bajas salinidades (Cervantes-Duarte *et al.*, 2013; Durazo, 2015). Por lo que podríamos esperar que éstas características del océano promovieran una mayor producción de éstos constituyentes químicos.

El nitrato es la forma del nitrógeno que las macroalgas asimilan (Lobban & Harrison, 1994) y en *E. arborea* se ha reportado que ésta almacena mayores contenidos de nitrógeno en sus tejidos durante la primavera y posteriormente disminuyen de julio a octubre (Hernández-Carmona *et al.*, 2001). Durante ésta época se encuentra el

mayor porcentaje de otros constituyentes cómo las proteínas, que poseen nitrógeno en su estructura. Esto refuerza la tendencia en la especie de asimilar una cantidad de nitratos cuando están en mayor biodisponibilidad.

En el caso de las cenizas, se ha reportado en especies como *Sargassum wightenii*, que tienden a disminuir cuándo hay una influencia de aguas con menor salinidad, que son las que se pueden observar durante ésta época en Bahía Magdalena y que es una característica de la Corriente de California (Durazo *et al.*, 2015). Sin embargo en este caso ocurrió de manera inversa, lo que sugiere que la reducción de salinidad no es un indicativo de encontrar menor contenido de cenizas en *E. arborea*, posiblemente porque los elementos como calcio, sodio y potasio se encuentran en el alga unidos a otro constituyente, que es el ácido algínico.

EXTRACTO CRUDO ETANÓLICO (EtOH) Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los extractos crudos se encuentran catalogados dentro de los productos naturales y contienen una mezcla de diversos compuestos (Sarker *et al.*, 2006). Los extractos pueden variar en su composición así como en su rendimiento de acuerdo a factores como son el organismo empleado y el solvente que es utilizado (Sarker *et al.*, 2006; Bambang *et al.*, 2013) Es por eso que los reportes sobre el rendimiento son importantes ya que permiten cuantificar cuánto obtendremos de un recurso. En este sentido, el rendimiento del extracto crudo etanólico de *E. arborea* obtenido en esta investigación constituye el primer reporte para la especie.

El promedio del extracto crudo de *E. arborea* fue de 3.25 % para láminas y 1.3 % para estipes, es decir que fue 2.5 veces mayor en láminas que en los estipes. El etanol es un solvente que particularmente atrae compuestos polares (Sarker *et al.*, 2006; Matanjun *et al.*, 2007; Bambang *et al.*, 2013), por lo que la diferencia en el rendimiento de ambas partes del alga, podría indicar una mayor presencia de compuestos polares en las láminas.

El extracto crudo generalmente está conformado por una gran variedad de metabolitos secundarios que han adquirido gran valor, debido a su bioactividad. La

actividad antioxidante en *E. arborea*, mostró ser 3.8 veces mayor en las láminas que en los estipes, esto indica la presencia de compuestos mucho más activos en las láminas.

La EC₅₀, es la concentración eficaz media a la que una sustancia induce el 50 % del total de su capacidad inhibitoria. En el ensayo del DPPH, la EC₅₀ promedio de las láminas (99.45 µg mL⁻¹) fue mayor a lo reportado para extractos crudos de especies del género *Laminaria sp.* y *Undaria sp.* (Tabla 10). A diferencia de las láminas, el promedio de la EC₅₀ de los estipes (436.78 µg mL⁻¹) presentó una menor actividad, la cual fue menor incluso a lo reportado para el género *Undaria*.

De la misma forma que en el rendimiento, es posible que la actividad del extracto se vea afectada por el tipo de compuestos que son extraídos con el etanol, ya que la actividad puede variar dependiendo de la especie y el tipo de solvente utilizado para extraer. Por otra parte, los extractos al ser una mezcla compuestos podrían tener un efecto sinérgico o antagónico, el cuál pueda estar enmascarando la actividad real que tengan los compuestos que componen el extracto.

Tabla 10. Comparación de la EC₅₀ de distintos extractos crudos obtenidos de algas pardas. EtOH= extracto etanólico; DCM: M= diclorometano: metanol; M=metanol.

Actividad Antioxidante (DPPH)			
Extracto	Especie	EC50 (µg mL ⁻¹)	Autor
EtOH	<i>Laminaria sp.</i>	860	Ismail & Hong, (2002).
EtOH	<i>Undaria sp.</i>	420	Ismail & Hong, (2002).
70% M	<i>Ecklonia cava</i>	20	Senevirathne <i>et al.</i> , (2006).
DCM:M (1:1)	<i>Alaria esculenta</i>	6430	Zubia <i>et al.</i> , (2009).
DCM:M (1:1)	<i>Dictyota dichotoma</i>	4730	Zubia <i>et al.</i> , (2009).
EtOH	<i>E. arborea</i> láminas	99.4	Este estudio
EtOH	<i>E. arborea</i> estipes	436.7	Este estudio

La actividad antioxidante puede deberse a la presencia de compuestos como fucoxantinas, carotenoides, tocoferoles, aminoácidos, polisacáridos, polifenoles, terpenos, florotaninos y flavonoides, que en las algas pardas han sido reportados con dicha bioactividad (Zubia *et al.*, 2007; Cornish & Garbary, 2010; Ye *et al.*, 2008; Sachindra *et al.*, 2007; Alstyne, 1999). Si bien estos grupos de compuestos pueden estar presentes y ser los responsables de la actividad, existen algunos ya aislados de *E. arborea* como los florotaninos 6.6'-bieckol y el 6,8'-bieckol, que son derivados del floroglucinol (Sugiura *et al.*, 2006, 2008) y que pudieran también estar presentes en éstos extractos.

La función de éstas moléculas antioxidantes en las algas es proporcionarles protección contra la radiación UV o el daño fotodinámico, contra las altas concentraciones de oxígeno que conducen a la formación de radicales libres y otros agentes oxidativos, además de proteger al organismo contra patógenos y epifitos (Matsukawa *et al.*, 1997; Amsler, 2008). Los mayores rendimientos, así como la mayor actividad se observó en las láminas, esto sugiere que es la parte del alga con mayor exposición a estos factores dañinos para el organismo.

En lo que respecta a la variación del extracto crudo observamos que los rendimientos y la actividad antioxidante del extracto proveniente de las láminas son mayores en la época de mayor temperatura, lo cual podría indicar que la producción de los compuestos que integran dichos extractos, está en respuestas a condiciones de estrés por factores abióticos, cómo pudo ser las altas temperaturas, alta irradiancia y baja concentración de nutrientes, así como factores bióticos entre los que podemos mencionar el epifitismo y la herbivoría. (Lobban & Harrison, 1994; Hernández-Carmona, *et al.*, 2000).

El mayor rendimiento de los extractos crudos durante la época cálida también puede ser explicado con la hipótesis del balance carbono-nutrientes (CNB, por sus siglas en inglés). Debido a que la fotosíntesis es el proceso fundamental en dónde las plantas capturan y procesan luz solar y CO₂ como el principal recurso ecológico para el crecimiento y reproducción del individuo (Smith *et al.*, 1992), cuando los nutrientes se encuentran disponibles el carbono fotosintético es destinado a éstos

procesos de supervivencia y por lo tanto la producción de metabolitos secundarios debe ser generada a un bajo costo energético (Tuomi *et al.*, 1988). No obstante, al haber una condición de nutrientes limitada pero con disponibilidad de luz, la producción de metabolitos secundarios se incrementa utilizando los nutrientes disponibles. Esta disponibilidad de luz y bajas concentraciones de nutrientes se encuentran presentes en ésta zona durante la época en que los rendimientos de los extractos fueron mayores.

En el caso de los estipes, el mayor rendimiento (2.07 %) y la mayor actividad antioxidante ($EC_{50} = 320.29 \mu\text{g mL}^{-1}$) se observaron en mayo, el mes típicamente más frío y con alta concentración de nutrientes. De acuerdo a lo planteado por la hipótesis CNB, éste sería un mes de baja producción de metabolitos secundarios debido a que la producción de carbono fotosintético estaría destinado al crecimiento del organismo. Empero, en *E. arborea*, la zona meristemática de crecimiento se encuentra próxima a las láminas, por lo que el crecimiento es principalmente en ésta parte del alga y los productos de metabolismo primario son posteriormente traslocados a los estipes. Esto sugiere que en los estipes existe una producción de metabolitos secundarios durante el crecimiento ya que el metabolismo primario está enfocado en crecer.

Cabe mencionar que en las muestras de las láminas de septiembre y noviembre se presentaron epífitos, principalmente briozoarios y rhodophytas no identificados (*obs. pers.*), algunos isópodos de la especie *Paracerceis sculpta* (Méndez-Trejo, *coms. pers.*) y asociaciones de diatomeas epífitas, dominadas por *Pteroncola* sp., las cuales tuvieron sus mayores abundancias en la muestra de septiembre (Siqueiros-Beltrones *et al.*, no publicado). Dado que el epifitismo estimula la producción de metabolitos secundarios (Amsler, 2008), estas observaciones sugieren que algunos de éstos grupos pudieran estar estimulando la síntesis de compuestos con actividad antioxidante puesto que en éstas muestras fue en las que se observó la mayor actividad antioxidante, sin embargo, dado que las interacciones epífitos-alga no fueron el objetivo de ésta investigación es requerido precisar estas interacciones en *E. arborea*.

FUCOIDAN: RENDIMIENTO, CARACTERIZACIÓN Y ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE

El rendimiento en las láminas estuvo en el orden de 7.8-20 % y en el caso de los estipes este fue menor, 3.7-8.7 %. Pese a que los valores de rendimiento de fucoidan, sobre todo en láminas, pueden llegar hasta el 20 %, es importante destacar que se trata de fucoidan crudo, en el que probablemente se estén cuantificando residuos de otros componentes ya sean otros azúcares como la galactosa, manosa, xilosa o ácidos urónicos e incluso proteínas (Berteou & Mullay, 2003). Muñoz-Ochoa *et al.*, (2009), extrajeron fucoidan de *E. arborea* y realizaron una precipitación fraccionada, con lo que obtuvieron rendimientos del orden de 0.65 al 2.50 % con base al peso seco. Dado que el método de extracción utilizado fue el mismo que los autores (*op. cit*), esto confirma la presencia de residuos distintos al fucoidan en la especie y sugiere que conforme se purifica el fucoidan el rendimiento disminuye. A pesar del hecho de que el fucoidan no ha pasado por un proceso de purificación, podemos asegurar que todas las muestras extraídas fueron fucoidan crudo, basado en la caracterización parcial realizada.

La espectroscopia de infrarrojo (FT-IRATR) indicó que tanto el fucoidan de las láminas como el de los estipes presentaban bandas entre los 3400 cm^{-1} debidas a las vibraciones de los enlaces O-H; las bandas entre los 1606, 1620 y 1420 cm^{-1} corresponden las vibraciones de los enlaces de los grupos carboxilo, las bandas entre los 1030 y 1089 correspondieron a las vibraciones de los anillos hemiacetálicos de azúcar; las bandas entre los 1224, 1205, 1250 y 1220 cm^{-1} correspondieron a las vibraciones de los grupos éster sulfatos. Las bandas entre los 900, 918, 960 corresponden a los poliuronatos (Bruno & Svoronos, 1989; Sartori *et al.*, 1997; Ronghua *et al.*, 2003; Sinhong *et al.*, 2004; Muñoz-Ochoa, 2006; Mao *et al.*, 2008; Pereira *et al.*, 2013; Shanmugam *et al.*, 2013; Shanti *et al.*, 2014).

Tanto el fucoidan de las láminas como el de los estipes presentaron bandas en los 820-824 lo cual corresponde con grupos sulfatos en posición ecuatorial en C3 y C4 del anillo de fucosa y bandas entre los 847 y 849 indican la presencia de sulfatos

axiales en posición O-4 del anillo de fucosa (Patankar, *et al.*, 1993; Chevolot *et al.*, 1999; Chizhov *et al.*, 1999; Muñoz-Ochoa, 2006; Muñoz-Ochoa *et al.*, 2009)

La principal diferencia del fucoídano entre estructuras, fue que la intensidad de las bandas fue menor en los estipes, lo cual indica que las proporciones de los distintos grupos que conforman al fucoídano se encuentran en menor concentración en los estipes. Esto pudo confirmarse con las determinaciones cuantitativas, en las que se observó que la concentración de azúcares totales y fucosa fue menor en los estipes durante todo el ciclo.

El fucoídano es un carbohidrato, y cómo tal es un producto del metabolismo de las macroalgas, en general se encuentran acumulado hacia las partes distales del organismo, dónde posteriormente son traslocados hacia las zonas meristemáticas, esto es consecuencia del crecimiento alométrico y de la acción de los meristemas intercales que normalmente resultan en tejidos con distintas actividades metabólicas (Gómez, 2012), lo que sugiere que su concentración sea más baja en los estipes.

El fucoídano obtenido tanto de láminas cómo estipes mostró una alta actividad anticoagulante por los ensayos de Tiempo de Protrombina (TP) y Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA), con tiempos superiores a los 300 s. En el proceso de coagulación, interfieren una serie de procesos fisiológicos que han sido denominados en conjunto como la cascada de coagulación, la cual consta de la activación de factores y proteínas que son activados y liberados para actuar por las vía intrínseca y vía extrínseca de dicho proceso (Butenas & Man, 2002). Dado lo anterior, el fucoídano de los estipes y de las láminas de *E. arborea* pueden ser útiles para su aplicación como anticoagulante por ambas vías.

Los meses de mayor actividad para las láminas fueron enero y julio, mientras que para los estipes fue marzo. Se ha señalado que factores cómo la concentración de fucosa, grupos sulfatos y el peso molecular del fucoídano se encuentran relacionados con la actividad anticoagulante (Nishide *et al.*, 1990; Nishino & Naguno, 1991; Chizhov *et al.*, 1999; Jiao *et al.*, 2011). En este sentido, las muestras que tuvieron la mayor actividad no fueron las que tuvieron la mayor concentración de fucosa. Por

ejemplo, la concentración para la muestra de láminas de enero fue de $124 \pm 17 \mu\text{g mL}^{-1}$, mientras que la de septiembre fue de $123 \pm 22 \mu\text{g mL}^{-1}$, ésta última fue la muestra menos activa para las láminas, por ende la concentración de fucosa no es relevante para la actividad anticoagulante por la vía extrínseca (TTPA) del fucoidan obtenido de láminas. En el caso de los estipes ocurrió algo parecido, en este se observó que las mayores concentraciones de fucosa se encontraron en los meses de enero y mayo ($117 \mu\text{g mL}^{-1}$), pese a que fueron las concentraciones más altas de fucosa sólo mayo tuvo una alta actividad.

Por lo tanto es posible que la actividad esté más relacionada con la concentración de grupos sulfatos o el peso molecular del polisacárido. En ésta investigación sólo se realizó una caracterización parcial, por lo que el fraccionamiento, purificación y reevaluación de la actividad anticoagulante deben ser precisados para entender mejor la relación estructura-bioactividad.

Se ha sugerido que el fucoidan tiene un papel estructural en las algas pardas (Kloareg & Quatrano, 1988). Se ha sugerido que los movimientos de masa de agua tienen una gran influencia en éstos cambios (Kraemer & Chapman, 1991), por lo que es posible que los picos observados en marzo tanto en láminas como estipes sean una respuesta a los movimientos de masas de agua, principalmente derivados de la actividad de surgencias que ocurren durante ésta época en Bahía Magdalena (Zaitsev *et al.*, 2003; Zaitsev *et al.*, 2007; Cervantes-Duarte *et al.*, 2010; Durazo, 2015).

También es posible que otros factores estuvieran explicando éstas diferencias, particularmente para los estipes, que no tuvieron grandes diferencias en la variación del rendimiento y sólo muestra un pico en marzo. Sin embargo el conocimiento *per se* del fucoidan aún no deja claro su papel biológico o fisiológico (Jiao *et al.*, 2011), lo cual dificulta entender su variación particularmente dentro del mismo organismo y refuerza la necesidad de que esto sea investigado.

Finalmente, se sugiere que el fucoidan sea obtenido de las láminas en el mes de marzo y septiembre, puesto que los mayores rendimientos son durante ésta época.

ALGINATOS: RENDIMIENTO, PROPIEDADES Y CARACTERIZACIÓN

El rendimiento de alginato obtenido tanto en láminas como en estipes mostró un contraste significativo con lo reportado anteriormente para muestras obtenidas en la misma zona. Hernández-Carmona (1985) reportó un rendimiento de 26.2 % en verano a 28.6% en otoño, esto es una variación de 2.8%. Arvizu-Higuera *et al* (2007), encontraron una variación aún menor (0.9%). Estos autores concluyeron que la especie no presentaba variaciones significativas en temporadas. En este estudio se demuestra que la variación estacional del contenido de alginatos es del orden del 5 % en láminas y del 13 % en estipes, lo cual demuestra que los estudios con baja frecuencia de muestreos no permiten observar variaciones en los constituyentes químicos, por lo que no son apropiados para seleccionar épocas de cosecha.

En general el rendimiento de los alginatos de *E. arborea* es menor al de muchas especies, que son utilizadas comercialmente particularmente como especies de *Laminaria* y *Undaria* (Tabla 11). Pese a que sea menor, resulta interesante, ya que al tener rendimientos por arriba del 20% en una época del año representa que por cada 5 kg de alga seca se puede obtener 1 kg de alginato de *E. arborea*

Respecto a la viscosidad, el promedio anual de los estipes fue dos veces mayor (538 m Pa s) que el de la viscosidad observada en láminas (252 m Pa s). Los intervalos de viscosidad de las láminas (140-464 m Pa s) y de los estipes (315-1009) fueron menores a lo reportado anteriormente por Arvizu-Higuera *et al.*, (2007) tanto en láminas (1270-2210 m Pa s) como estipes (793-1260 m Pa s), quienes además señalan que la viscosidad es mayor en las láminas que en los estipes en más de un 30%. El comportamiento de la viscosidad en este trabajo fue inverso a lo señalado por los autores (*Op. cit.*), puesto que durante todo el ciclo las láminas presentaron menor viscosidad que los estipes.

Los resultados muestran que los alginatos de las láminas poseen una viscosidad baja y los estipes una viscosidad media-alta (Protan 1986; Hernández-Carmona *et*

al., 2012). El éxito de uso de los alginatos depende de sus propiedades como espesantes o estabilizantes de soluciones, por lo tanto los alginatos de *E. arborea* de las láminas tendrían aplicaciones para la impresión textil en equipos de alta velocidad de rodillo (McHug *et al.* 2003) y en el caso del alginato obtenido de estipes bien podría encontrar aplicación como espesante, elaboración de jarabes y cubiertas para helado los cuales requieren una viscosidad entre 400-800 m Pa s (McHugh, 1987).

Respecto a la fuerza de gel, existen pocos reportes que hayan medido la fuerza de gel que poseen los alginatos. En *E. arborea* ésta fue mucho mayor tanto en láminas como en estipes en contraste con especies como *Costaria costata* y especies del género *Sargassum* (tabla 11).

Los alginatos mostraron además distintas coloraciones. La coloración de los alginatos se atribuye a la presencia de compuestos como la fucoxantina y polifenoles, los cuáles en algunas ocasiones se remueven dejando al tejido en una solución de formol (Hernández-Carmona *et al.*, 1999b). En la industria generalmente el color se quita mediante un proceso de blanqueado con cloro. Por lo que la coloración de los alginatos representaría un gasto menor de cloro u otros reactivos utilizados para blanquear.

Cabe mencionar, que las muestras utilizadas para la obtención de alginato pasaron por un proceso de extracción etanólico y posteriormente la extracción de fucoidan, lo cual reduce la coloración del alginato al haberse extraído parte de éstos compuestos previamente.

Las proporciones de ácido M/G encontradas con la espectroscopia de infrarrojo indicaron que los alginatos de *E. arborea* tienen una mayor proporción (M/G <1) de bloques de ácido gulurónico que manurónico (Sakawa *et al.*, 2004), lo cual indica que éstos geles son fuertes y rígidos. Esto los hace apropiados para la encapsulación celular para aplicaciones biomédicas o ambientales (Cruz *et al.*, 2013).

Tabla 11. Comparación del rendimiento, viscosidad y fuerza de gel de alginatos obtenidos de distintas especies.

Especie	Rendimiento (%)	Viscosidad (m Pa s)	Fuerza de gel (g cm⁻²)	Autor
<i>Alaria fistulosa estipes</i>	14.1			Usov <i>et al.</i> , (2005)
<i>A. fistulosa láminas</i>	27.5			Usov <i>et al.</i> , (2005)
<i>Costaria costata</i>	22-29		980-1449	Wu <i>et al.</i> , 2014
<i>Eisenia arborea</i>	24.6-28.6			Hernández-Carmona (1985)
<i>E. arborea estipes</i>	23.3	793-1260		Arvizu-Higuera <i>et al.</i> , (2007)
<i>E. arborea láminas</i>	22.8	1270-2210		Arvizu-Higuera <i>et al.</i> , (2007)
<i>E. bicyclis</i>	34			Asakawa <i>et al.</i> , (1984)
<i>Laminaria digitata estipes</i>	44.01			Fertah <i>et al.</i> , (2014)
<i>L. japónica</i>	17-25			Honya <i>et al.</i> , (1993)
<i>L. valdosa estipes</i>	4.6-11.2			Chandía <i>et al.</i> , (2004)
<i>L. digitata láminas</i>	51.8			Fertah <i>et al.</i> , (2014)
<i>Lessonia valdosa láminas</i>	7.5-17.6			Chandía <i>et al.</i> , (2004)
<i>Lobophora variegata</i>	27.57			Viswanathan & Nallamuthu, (2014)
<i>Macrocystis pyrifera</i>	25.8	1,350		Russell & Sivrastava, (1984)
<i>M. pyrifera</i>		1,016		Hernández <i>et al.</i> , (1999)
<i>Nereocystis luetkeana</i>	23.4	1,498		Russell & Sivrastava, (1984)
<i>Padina spp.</i>	16.93			Mushollaeni, (2011)
<i>S. cymosum</i>	15.9		709	Camacho & Hernández-Carmona, (2012)
<i>S. sinicola</i>	7.2-13-7	58.7-191.7		Rodríguez-Montesinos <i>et al.</i> , (2008)
<i>Sargassum crassifolium</i>	30.3	39		Mushollaeni, (2011)
<i>Undaria pinnatifida láminas</i>	51			Skriptsova <i>et al.</i> , (2004)
<i>E. arborea láminas</i>	15-21	140-464	1755-3122	Este estudio
<i>E. arborea estipes</i>	12-25	315-1009	2504-3516	Este estudio

Esta mayor proporción de ácidos gulurónicos que manurónicos contrasta con lo anteriormente reportado por Arvizu *et al.*, 2007 y Murillo-Álvarez & Hernández-Carmona, (2007), quienes encontraron que las proporciones de bloques M/G se encuentra en valores mayores a 1, es decir, que los geles del alginato reportados por estos autores poseían una mayor cantidad de bloques de ácido manurónico por lo que se esperaba que los geles de alginato de *E. arborea* fueran suaves y quebradizos, sin embargo, este estudio encontró que los geles formados por los alginatos de *E. arborea* recolectada en Bahía Magdalena son geles fuertes y elásticos, derivados de sus altas proporciones de ácidos gulurónicos.

El mayor rendimiento así como la mayor viscosidad y fuerza de gel de los alginatos se observaron en la temporada de noviembre a marzo, por lo que si el interés de aprovechamiento de este recurso son los alginatos se sugiere realizar extracciones durante la temporada de enero a marzo. A pesar de que *E. arborea* es una especie perenne, si se extrae el recurso durante esta temporada tampoco se interrumpiría sus máximas épocas de reproducción que son en los meses de julio a noviembre (McPeak, 1978).

CONCLUSIONES

En Bahía Magdalena el alga parda *Eisenia arborea* presenta cambios temporales y entre estructuras en su composición química. Estos cambios solo se pueden detectar con muestreos de alta frecuencia.

Las láminas recolectadas durante la época cálida (julio-noviembre) presentan altos porcentajes de fucoidan, carbohidratos y extracto etanólico crudo. Mientras que en la época fría (enero-mayo) se obtienen los más altos porcentajes de cenizas, proteínas, lípidos y alginatos.

Las láminas de *E. arborea* pueden ser consideradas para su uso en forraje e incluso para consumo humano, debido a que son una fuente de altos aportes de energía (carbohidratos) y minerales, baja en grasa. Además posee propiedades antioxidantes y anticoagulante, lo cual les da un valor nutricional agregado.

Los estipes se pueden aprovechar principalmente para la obtención de alginatos, ya que tienen un alto rendimiento y sus propiedades de viscosidad y fuerza de gel les permiten competir en los mercados como aditivos alimenticios, farmacéuticos, ambientales e industriales.

Solo si el interés del recurso son los alginatos, pueden utilizarse ambas partes del alga. Para su uso en la alimentación y búsqueda de moléculas bioactivas, sólo es necesario utilizar las láminas, realizando cosechas arriba de la parte meristemática o de crecimiento (CONAPESCA, 2012).

RECOMENDACIONES

Debido a que *Eisenia arborea* habita en una zona de cambios estacionales significativos se sugiere realizar estudios que incluyan medidas *in situ* de factores como la temperatura, nutrientes, salinidad, irradiancia y surgencias, que permitan realizar inferencias más precisas sobre la variabilidad. Así mismo estar monitoreando de forma constante para observar también las variaciones interanuales.

Tanto para ésta especie, como para cualquier organismo que habite en zonas pesqueras es requerido un permiso de recolecta otorgado por la CONAPESCA, el cuál puede tardar en llegar hasta un año, por lo que es importante considerar esto, para evitar realizar extracciones ilícitas. Acercarse a las cooperativas pesqueras es otra opción, puesto que ellos cuentan con permisos y además con el equipo de pesca.

Para todo ensayo se debe considerar un mínimo de 5 réplicas para poder obtener un tamaño de muestra (n) con la cual sea posible hacer pruebas estadísticas robustas para cada mes.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, I.A. & J. Hollenberg. 1976. *Marine Algae of California*. Stanford University Press. 827 pp
- Adams, J. M. M., A. B. Ross, K. Anastasakis, E. M. Hodgson, J. A. Gallagher, J. M. Jones & I. S. Donnison. 2011. Seasonal variation in the chemical composition of the bioenergy feedstock *Laminaria digitata* for thermochemical conversion. *Bioresource technol.*, 102: 226-234.
- Agostini de Moraes, M. & M. Masumi Beppu. 2013. Biocomposite Membranes of Sodium Alginate as Silk Fibroin Fibers for Biomedical Applications. *J. Appl. Polym. Sci.*, 10: 3451-3457.
- Aguilar–Rosas, R., I. Pacheco–Ruiz y L. E. Aguilar–Rosas. 1990. Algas marinas de las islas Todos Santos, Baja California, México. Marine algae from the Todos Santos Islands, Baja California, México. *Cienc. Mar.*, 16:117–129.
- Ale, M. T., J. D. Mikkelsen & A. S. Meyer. 2011. Important determinants for fucoidan bioactivity: a critical review of structure-function relations and extraction method for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. *Mar. Drugs*, 9:2106-2130.
- Alencar, D., S. Da Silva, K. M. S. Pires-Cavalcante, R. de Lima, F. N. Pereira-Junior, M. B. De Sousa, F. A. Viana, C. S. Nagano, K. Do Nascimento, B. S. Cavada, A. H. Shampaio & S. Saker-Sampaio. 2014. Antioxidant potencial and cytotoxic activity of two red seaweed species, *Amansia multifida* and *Mesistiella echinocarpa*, from the coast of Northeastern Brazil. *Ann. Acad. Brasileira Sci.*, 86(1): 251-263.

- Alstyne, K. L., J.J. McCarthy III, C. L. Hustead & D. O. Duggins. 1999. Geographic variation in polyphenolic levels of Northeastern Pacific kelps and rockweeds. *Mar. Biol.*, 133: 371-379.
- Álvarez-Borrego, S., L. Galindo-Bect & A. Chee-Barragan. 1975. Características hidroquímicas de Bahía Magdalena, B. C. S. *Cienc. Mar.*, 2 (2): 94-110.
- Amsler, C. D. 2008. *Algal Chemical Ecology*. Springer, U. S. A., 311 pp.
- Andersen, L., O Skipnes, O Smidsrød, K Østgaard, P.C Hemmer. 1977. Some biological functions of matrix components in benthic algae in relation to their chemistry and the composition of seawater. *ACS Symp. Ser.*, 48: 361–381
- AOAC international. 1995. Official methods of analysis of AOAC (Association of official analytical chemists)-15th Edition. Edited by Jenneth.
- Arvizu, D. L., Y. E. Rodríguez, G. Hernández-Carmona & J. I. Murillo. 2007. Chemical constituents of *Eisenia arborea* Areschoug from Baja California Sur, México. *Investigaciones Mar. Valp.*, 35 (2): 63-69.
- Arvizu-Higuera, D. L., G. Hernández-Carmona & Y. E. Rodríguez-Montesinos. 2002. Parámetros que afectan la conversión de ácido algínico en alginato de sodio. *Cienc. Mar.*, 28(1): 27-36.
- Asakawa, A., K. Ohwwada & N. Tanaka. 1984. The seasonal variation in chemical composition of several Brown algae, *Eisenia bicyclis*, *Sargassum horneri*, *Sargassum piluriferum* and *Hydroclathrus clathratus*, collected at Ago Bay. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult. Japan*, 6: 65-69.
- Bakun, A. & C. S. Nelson. 1977. Climatology of upwelling related processes off Baja California. CALCOFI Report, 19: 107-127.
- Barsanti, L. & P. Gualtieri, 2006. *Algae: anatomy, biochemistry and biotechnology*. Edit. Taylors & Francis Group. U.S.A. 301 pp.

- Berteau, O. & B. Mulloy. 2003. Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. *Glycobiology J.*, 13 (6): 29R-40R.
- Black, W. A. P. 1950. Seasonal variation and chemical composition of the common British Laminariaceae. *J. Mar. Bio. Assoc.*, 29:45-72.
- Blunt, J. W., R. B. Copp, R. A. Keyzers, M. H. G. Munro & M. R. Prinsep. 2008. Marine Natural products. *Nat. Prod. Rep.*, 31: 160-258.
- Blunt, J. W., R. B. Copp, W. P. Hu, M. H. G. Munro, P. T. Northcote & M. R. Prinsep. 2014. Marine Natural products. *Nat. Prod. Rep.*, 25: 35-94.
- Briceño-Domínguez D., G. Hernández-Carmona, M. Moyo, W. Stirk y J. van Staden. 2013. Plant growth promoting activity of seaweed liquid extracts produced from *Macrocystis pyrifera* under different pH and temperature conditions. *J. Appl. Phycol.*,
- Bruno, T. J. & P. D. N. Svoronos. 1989. *Handbook of basic tables for chemical Analysis*. Press. 517 pp. U. S. A.
- Camacho, O. & G. Hernández-Carmona. 2012. Phenology and alginates of two *Sargassum* species from the Caribbean coast of Colombia. *Cienc. Mar.* 38(2): 381-393.
- Carrillo-Domínguez S, M. M. Casas-Valdés, F. Ramos-Ramos, F. Pérez-Gil y I. Sánchez-Rodríguez. 2002. Algas marinas de Baja California Sur, México: Valor nutrimental. *Arch. Latinoam. Nutr.* 52(4):400–405.
- Cervantes-Duarte, R., S. López-López, E. González-Rodríguez & S. Futema-Jiménez. 2010. Ciclo estacional de nutrientes, temperatura, salinidad y clorofila a en Bahía Magdalena, BCS, México (2006-2007). *Oceán.* 25(2): 111-120.

- Cervantes-Duarte, R., R. Prego, S. López-López, F. Aguirre-Bahena & N. Ospina-Álvarez. 2013. Annual patterns of nutrients and chlorophyll in a subtropical coastal lagoon under the upwelling influence (SW of Baja-California Peninsula). *Estuar. Coast. Shelf S.*, 120: 54-63.
- Cervantes-Duarte, R., S. López-López & E. González-Rodríguez. 2007. Características Hidrológicas de Bahía Magdalena, B. C. S. México, en el periodo 2001-2003. *Oceán.*, 22 (1,2): 1-11.
- Chandía N. P., B. Matsuhira, E. Mejías & A. Moenne. 2004. Alginic acids in *Lessonia vadosa*: Partial hydrolysis and elicitor properties of the polymannuronic acid fraction. *J. Appl. Phyc.*, 16:127-133.
- Chapman, V. J. & Chapman D. J. 1980. *Seaweed and their uses*. Chapman and Hall, London, 334.
- Charzeddine, L. & M. Fariñas. 2001. Propiedades Bioactivas de Algas Marinas del Nororiente de Venezuela. Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. *Boletín Científico*: 1-6.
- Chevolot L., A. Foucault, F. Chaubet, N. Kervarec, C. Siquin, A. M. Fisher y C. Boisson-Vidal. 1999. Further data on the structure of brown seaweed fucans: relationships with anticoagulant activity. *Carbohydr. Res.*, 319: 154–165
- Chizhov, A. O., A. Dell, H. R. Morris, S. M. Haslam, R. A. McDowell, A. S. Shashkov, N. E. Nifant'ev, E. A. Khatuntseva y A. I. Usov. 1999. A study of fucoidan from the brown seaweed *Chorda filum*. *Carbohydr. Res.*, 320: 108–119.
- Cornish, M. Lynn, and David J. Garbary. 2010. "Antioxidants from Macroalgae: Potential Applications in Human Health and Nutrition." *Algae* 25(4): 155–71.
- Darcy-Vrillon, B. 1993. Nutritional aspects of the developing use of marine macroalgae for the human food industry. *Int. J. Food. Sci. Nutr.*, 44: S23-S35.
- Dawes, J. C. 1999. *Botánica marina*. Edit. Limusa. México. 673 pp.

- Dayton, P. K. 1985. The ecology of kelp communities. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 16: 215-245.
- Dayton, P. K., M. J. Tegner, P. E. Parnell & P. B. Edwards. 1992. Temporal and Spatial Patterns of Disturbance and Recovery in a Kelp Forest. *Community Ecol. Monogr.*, 62(3): 421-445.
- Denis, C., M. Morançais, L. Min, E. Deniaud, P. Gaudin & G. Wielgosz Collin. 2010. Study of the chemical composition of edible red macroalgae *Grateloupia turuturu* from Brittany (France). *Food Chem.*, 119: 913-917.
- Denny, M. & L. Roberson. 2002. Blade motion and nutrient flux to the kelp *Eisenia arborea*. *Biol. Bull.*, 203: 1-13.
- Dische, Z. 1955. New color reaction for determination of sugars in polysaccharides. *Methods Biochem. Anal.*, 2: 313-358.
- DOF. 2012. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Acuerdo por el que se da a conocer el Plan de manejo para la pesquería de Macroalgas en Baja California. Diario Oficial de la Federación.
- Draget, K. I., O. Smidsrød & G. Skjåk-Bræk. 2005. Chapter 1 Alginates from seaweed. 1-30 pp. In: Steinbüchel and S. K. Rhee. 2005. *Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry*. Properties, Production and Patents. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Druehl, L. D. 1970. The pattern of Laminariales distribution in the northeast Pacific. *Phycology*, 9 (3/4): 237-247.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J.K Hamilton, P. A. Rebers y F. Smith. 1956. Colorimetric methods for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28: 350-356.
- Durazo, R. 2015. Seasonality of the transitional region of the California Current System off Baja California. *J. Geophys. Research-Oceans*. 119: 1-51 pp.

- Durazo, R. & T. Baumgartner. 2002. Evolution of oceanographic conditions off Baja California: 1997-1999. *Prog. Oceanogr.* 54:7-31.
- Edwards, M. S. & G. Hernández-Carmona. 2005. Delayed recovery of giant kelp near its southern range limit in the North Pacific following El Niño. *Mar. Biol.*, 147: 273-279.
- Erlandson, J. M. 2001. The archeology of aquatic adaptations paradigms for a new millennium. *J. Archaeol. Res.*, 9(4): 287-350.
- Fertah, M., A. Belfkira. Dahmane E., Taourirte M. & Brouillette F. 2014. Extraction and Characterization of Sodium Alginate from Moroccan *Laminaria digitata* Brown Seaweed. *Arabian J. Chem.*, dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.05.003.
- Filippov, M P, and R Kohn. 1974. "Determination of Composition of Alginates by Infrared Spectroscopic Method." *Chemicke Zvesti* 28(6): 817–19.
- Fleurence, J. 1999. Seaweed Proteins. *Trends Food Sci. Tech.*, 10(1): 25–28.
- Fleurence, J. 2004. Seaweed proteins. In R. Y. Yada (Ed.), *Proteins in food processing* (pp. 197-2013). Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Fleurence, J. 2012. What Are the Prospects for Using Seaweed in Human Nutrition and for Marine Animals Raised through Aquaculture?. *Trends Food Sci. Tech.* 27(1): 57–61.
- Freile-Pelegrín, Y. 2001. Algas en la "botica". *Avances y Perspectivas*. Departamento de Recursos del Mar de la Unidad Mérida del CINVESTAV. México. Volumen 20. Págs. 283-292.
- Frikha, F., M. Kammoun, N. Hammami, R. A. Mchirgui, L. Belbahri, Y. Gargouri, N. Miled & F. Ben-Rebah. 2011. Chemical composition and some biological activities of marine algae collected in Tunisia. *Cienc. Mar.*, 37 (2): 113-124.

- Funes-Rodríguez, R., J. Gómez-Gutiérrez & R. Palomares-García. 2007. Estudios ecológicos en Bahía Magdalena. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional, México, 289 pp.
- Goupy P., M. Hugues, P. Boivin y M.J. Amiot. 1999. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. *J. Sci. Food Agr.*, 79: 1625-1634.
- Hernández-Carmona, G. 1985. Variación estacional del contenido de alginatos en tres especies de feofitas de Baja California Sur, México. *Inv. Mar.*, 2(1): 29-45.
- Hernández-Carmona, G., D. J. McHugh, D. L. Arvizu-Higuera & Y. E. Rodríguez-Montesinos. 1999a. Pilot plant scale extraction of alginate from *Macrocystis pyrifera*. 1. Effect of pre-extraction treatments on yield and quality of alginate.
- Hernández-Carmona, G., D. L. Arvizu-Higuera & Y. E. Rodríguez-Montesinos 1999b: Manual de técnicas de control de calidad para el ácido algínico y sus derivados. *CICIMAR-IPN.*, La Paz, B.C.S., México, 20 p.
- Hernández-Carmona, G., D. Robledo & E. Serviere-Zaragoza. 2001. Effect of nutrient availability on *Macrocystis pyrifera* recruitment and survival near its southern limit of Baja California. *Bot. Mar.*, 44: 221-229.
- Hernández-Carmona, G., M. M. Casas-Valdez & M. Aguirre-Vilchis. 1991. Proceso mejorado para la obtención de alginato de sodio a partir de *Macrocystis pyrifera*. *Investigaciones Marinas CICIMAR*, 6(2):259-266.
- Hernández-Carmona, G., O. García, D. Robledo & M. Foster. 2000. Restoration techniques for *Macrocystis pyrifera* populations at the southern limit of their distribution in Mexico. *Bot. Mar.*, 43: 273-284.
- Hernández-Carmona, G., S. Carrillo-Domínguez, D. L. Arvizu-Higuera, Y. E. Rodríguez-Montesinos, J. I. Murillo-Álvarez, M. Muñoz-Ochoa & R. M. Castillo-Domínguez. 2009. Monthly variation in the chemical composition of *Eisenia arborea* J. E. Areschoug. *J. App. Phycol.*, 21: 607-616.

- Hernández-Carmona, G., Y. E. Rodríguez-Montesinos, D. L. Arvizu-Higuera, R. Reyes-Tisnado, J. I. Murillo-Álvarez & M. Muñoz-Ochoa, 2012. Avances tecnológicos en la producción de alginatos en México. *Ing. Inv. Tecnol.*, 13(2): 155-168.
- Hernández-Herrera R.M., F. Santacruz-Ruvalcaba, M.A. Ruíz-López, J. Norrie y G. Hernández-Carmona. 2014. Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*). *J. Appl. Phycol.*, 26: 619-628.
- Hollenberg, G. J. 1939. Culture studies of marine algae. I. *Eisenia arborea*. *Amer. J. Bot.*, 26:34-41.
- Honya, M., Kinoshita, T., Ishikawa, M., Mori, H., and Nisizawa, K. (1993). Monthly determination of alginate, M/G ratio, mannitol and minerals in cultivated *Laminaria japonica*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 295–299
- Ismail, Amin &, and T. Siewhong Tan. 2002. Antioxidant Activity of Selected Commercial Seaweeds. *Malays. J. Nutr.*, 8(2): 167–77.
- Jiao, G., G. Yu, J. Zhang & H. Stephen. 2011. Chemical Structures and Bioactivities of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae. *Mar. Drugs*, 9(2): 196–233.
- Kilin, H. 1913. Biochemistry of sea algae. *Phycol. Chem.*, 83: 171-197.
- Kraemer, G. P., & Chapman J. 1991. Effects of tensile force and nutrient availability on carbon uptake and cell wall synthesis in blades of juvenile *Egregia menziesii* (Turn.) Aresch. (Phaeophyta). *J. Phycol.*, 27: 47-53.
- Kumar, S., D. Saboo, I. Levine. 2015. Assessment of nutritional value in a Brown seaweed *Sargassum wightii* and their seasonal variations. *Algal Res.*, 9: 117-125 pp.
- Ladah, L. B., J. A. Zertuche-González & G. Hernández-Carmona. 1999. Giant kelp (*Macrocystis pyrifera*, Phaeophyceae) recruitment near its southern limit in Baja

- California after mass disappearance during ENSO 1997-1998. *J. Phycol.*, 35: 1106-1112.
- Li B., F Lu, X. Wei y R. Zhao. 2008. Fucoidan: Structure and Bioactivity. *Molecules*, 13: 1671-1695.
- Lijour, Y., G. E. Deslandes & J. Guezennec. 1994. Estimation of the sulfate content of hydrothermal vent bacterial polysaccharides by Fourier transform infrared spectroscopy. *Anal. Biochem.*, 220: 244-248.
- Lluch-Belda, D., M. Hernández-Rivas, R. Saldierna-Martínez & R. Guerrero-Caballero. 2000. Variabilidad de la temperatura superficial del mar en Bahía Magdalena, B. C. S. *Oceán.*, 15(1): 1-23.
- Lobban, C.S y P.J. Harrison. 1994. *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press. Cambridge, 266 pp.
- Løvstad-Holdt, S. & S. Kraan. 2011. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *J. Appl. Phycol.*, 23:543-597.
- Lynn, R. J. & J. J. Simpson. 1987. The California Current System: The seasonal variability of its physical characteristics. *J. Geophys. Res.* 92:12947-12966.
- Mak, W., N. Hamid, T. Liu, J. Lu, W. L. White. 2013. Fucoidan from New Zealand *Undaria pinnatifida*: Monthly variations and determination of antioxidant activities. *Carbohydr. Polym.*, 95: 606-614.
- Mann, K. H.1973. Seaweeds: Their productivity and strategy for growth. *Science*, 182: 975-981.
- Mao WJ, F. Fang, H. Y. Li, X. H. Qui, H. H. Sun, Y. Chen, 2008. Heparinoid-active two sulfated polysaccharides isolates from marine green algae *Monostroma nitidum*. *Carbohydr. Polym.*, 74:834-839.

- Marinho-Soriano, E., P. C. Fonseca, M. A. A. & W. S. C. Moreira. 2006. Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds. *Bioresource Technol.*, 97: 2402-2406.
- Matson, P. G. & M. S. Edwards. 2006. Latitudinal variation in stipe hollowing in *Eisenia arborea* (Phaeophyceae, Laminariales). *Phycologia*, 45: 343-348.
- Matson, P. G. & M. S. Edwards. 2007. Effects of ocean temperature on the southern range limits of two understory kelps, *Pterygophora californica* and *Eisenia arborea* at multiple life stages. *Mar. Biol.*, 151: 1941-1949.
- Matsukawa, R., Z. Dubinsky, E. Kishimoto, K. Masaki, Y. Masuda, T. Takeuchi, M. Chihara, y. Yamamoto, E. Niki & I. Karube. 1997. A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. *J. Appl. Phycol.*, 9: 29-35.
- McConico L. A. & M. S. Foster. 2005. Population biology of the intertidal kelp, *Alaria marginata* Postels and Ruprecht: A non-fugitive annual. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 324: 61-75.
- McHugh, D. J. 1987. Production, properties and uses of alginates. In McHugh D. J. (ed.), FAO/GLOBEFISH. *Production and utilization of products from seaweeds*. Food and Agriculture Organization of UN, Rome, pp. 58-115.
- McHugh, D. J. 2003. *A guide to the seaweed industry*. FAO Fisheries Technical Paper. Ed. FAO Publications. Rome, 118 pp.
- McPeak, R. H. 1978. Fruiting in several species of Laminariales from Southern California. *Proc. Int. Seaweed Symp.*, 8:405-409.
- Munda, I. M. & B. P. Kremer. 1977. Chemical composition and physiological properties of fucoids under condition of reduced salinity. *Mar. Biol.*, 42: 9-15.
- Muñoz Ochoa, M. 2006. Extracción y caracterización de polisacáridos con actividad anticoagulante a partir de algas colectadas en Baja California Sur, México. Tesis de maestría. 64 pp.

- Muñoz-Ochoa M. 2010. Potencial farmacológico de algas marinas de Baja California Sur, México. Tesis de Doctorado CICIMAR-IPN. 72 pp.
- Muñoz-Ochoa, M., J. I. Murillo-Álvarez, Y. E. Rodríguez-Montesinos, G. Hernández-Carmona, D. L. Arvizu-Higuera, J. Peralta-Cruz & M. J. Lizardi. 2009. Anticoagulant screening of marine alga from Mexico, and partial characterization of the active sulfated polysaccharide from *Eisenia arborea*. *Oceán.*, 24: 41-51.
- Murillo-Álvarez, J. I., & G. Hernández-Carmona. 2007. Monomer Composition and Sequence of Sodium Alginate Extracted at Pilot Plant Scale from Three Commercially Important Seaweeds from Mexico. *J. App. Phycol.*, 19(5): 545–48.
- Mushollaeni, W. 2011. The physicochemical characteristics of sodium alginate from Indonesian brown seaweeds. *Afr. J. Food Sci.*, 5(6): 349-352.
- Nagayama, K., T. Shibata, K. Fujimoto, T. Honjo & T. Nakamura. 2003. Algicidal effect of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome* on red tide microalgae. *Aquaculture*, 218: 601-611.
- Nakumara, T., K. Nagayama, K. Uchida & R. Tanaka. 1996. Antioxidant activity of phlorotannins isolated from the Brown alga *Eisenia bicyclis*. *Fish. Sci.*, 62: 923-926.
- Nishide, E., H. Anzai, N., Uchida & K. Nisizawa. 1990. Sugar of constituents of fucose-containing polysaccharides from various Japanese brown algae. *Hydrobiologia*, 204(205): 573-576.
- Nishino, T., G. Yokoyama, K. Dobashi, M. Fujihara & T. Nagumo. 1989. Isolation, purification, and characterization of fucose-containing sulfated polysaccharides from the brown seaweed *Ecklonia kurome* and their blood-anticoagulant activities. *Carbohydr. Res.*, 186: 119–129.

- Ojeda-Ruiz, M.A. & M. Ramírez-Rodríguez. 2012. Interacciones de pesquerías ribereñas en Bahía Magdalena-Almejas, Baja California Sur. *Región y Sociedad*, 53: 189-204.
- Oliveira, A. C., I. B. Valentin, M. O. F. Goulart, C. A. Silva, E. J. H. Bechara & M. T. S. Trevisan. 2009. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Quim. Nova*, 32: 689-702.
- Ortegón-Aznar, I. Y. Freile-Peigrín & D. Robledo-Ramírez. 2010. Especies I Diversidad Vegetal: Algas. En Durán-García, R & M. M. González. *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán*. 8 Edición. CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA. Mérida, Yuc. 496 pp.
- Parada, G. M., R. Riosmena-Rodríguez, E. A. Martínez & G. Hernández-Carmona. 2009. Dinámica poblacional de *Eisenia arborea* Areschoug (Laminariales: Ochrophyta) en el intermareal de Punto Eugenia, Baja California Sur, México. *Ciencia y Mar*, 13(39): 3-13.
- Parada, G. M., R. Riosmena-Rodríguez, E. A. Martínez & G. Hernández-Carmona. 2012. Morphological variability of intertidal *Eisenia arborea* (Laminariales, Ochrophyta). *Algae*, 27(2): 109-114.
- Park, Y.H., Jang D.S. and Kim S.B., 1997. *Chapter 4 Utilization of marine products*. In: *Seaweed composition*. 2nd edition. Ed. Hyoungsul press, 283-336 pp.
- Patankar, S., S. Oehniger, T., Barnett, R. L. Williams & G. F. Clark. 1993. A revised structure for fucoidan may explain some of its biological activities. *J. Biol. Chem.*, 268: 21770-21776.
- Percival, E. and McDowell, R.H. 1967. *Chemistry and enzymology of marine algal polysaccharides*. Academic Press, London and New York, 6-28 & 73-96 & 157-174.

- Pereira, L., A. Sousa, H. Coelho, A. M. Amado & P. J. A. Ribeiro-Claro. 2003. Use of FTIR, FT-Raman and ^{13}C -NMR spectroscopy for identification of some seaweed phycocolloids. *Biomol. Eng.*, 20: 223-228.
- Plaza, M, A. Cifuentes & E. Ibañez. 2008- In the search of new functional food ingredients from algae. *Food Sci Tech.*, 19: 31–39.
- Protan. 1986. Alginates. *Chilton's Food Eng.Int.*, 11(2):60
- Reyes-Tisnado, R., F. López-Gutiérrez, G. Hernández-Carmona, J. Vernon-Carter y P. Castro Moroyoqui. 2004. Sodium and Potassium alginates extracted from *Macrocystis pyrifera* algae for use in dental impression materials. *Cienc. Mar.*, 30(3): 189-199.
- Roberson, L. M. & J. A. Coyer. 2004. Variation in blade morphology of the kelp *Eisenia arborea*: incipient speciation due to local water motion?. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 282: 115-128.
- Rodríguez-Montesinos, Y.E., D. L. Arvizu-Higuera y G. Hernández-Carmona. 2008. Seasonal variation on size and chemical constituents of *Sargassum sinicola* Setchell from Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. *Phycol. Res.*, 56: 33-38.
- Rodríguez-Montesinos, Y. E. & G. Hernández-Carmona. 1991. Variación estacional y geográfica de la composición química de *Macrocystis pyrifera* en la costa Occidental de Baja California. *Cienc. Mar.*, 17(3): 91-107.
- Ronghua, H., D. Yumin & Y. Jianhong. 2003. Preparation and *in vitro* anticoagulant activities of alginate sulfate and its quarterized derivatives. *Carbohydr. Polym.*, 52: 19-24.
- Rosemberg, G. & J. Ramus. 1984. Uptake of inorganic nitrogen and seaweed surface: volume ratio. *Aquat. Bot.*, 19: 65-72.

- Sachindra, N. M., E. Sato, H. Maeda, M. Hosokawa, Y. Niwano, M. Kohno & K. Miyashita. Radical scavenging and singlet oxygen metabolites. *J. Agric. Food Chem.*, 55:8516-8522.
- Sánchez-Montante, O. 2004. *Hidrodinámica y transporte de masa en el Sistema lagunar Bahía Magdalena-Bahía Almejas, Baja California México: modelación y experimentación*. Tesis Doctorado. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, Baja California Sur, México. 237 pp.
- Sarker, S. D., Z. Latif & A. I. Gray. 2006. *Methods in Biotechnology: Natural Product Isolation*. Satyajit D., Ed. Human Press Inc: Totowa, NJ, USA, pp. 528.
- Sartori, C., Finch, D. S. and Ralph, B. 1997. Determination of the cation content of alginate thin films by FTIR spectroscopy. *Polymer.*, 38:43-51.
- Schiener, P., K. D. Black, M. S. Stanley & D. H. Green. 2015. The seasonal variation in the chemical composition of the kelp species *Laminaria hyperborean*, *Saccharina latissima* and *Alaria esculenta*. *J. Appl. Phycol.*, 27: 363-373.
- Senevirathne, M., S. K. Kim, N. Siriwardhana, J. H. Ha, K. W. Lee & Y. J. Jeon. 2006. Antioxidant potential of *Ecklonia cava* on reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition. *Food Sci Tech Int.*, 12:27–38.
- Serviere-Zaragoza, E., D. Gómez-López & G. Ponce-Díaz. 2002. Gross chemical composition of three common macroalgae and sea grass on the pacific coast of Baja California, Mexico. *Hidrológica*, 12:113-117.
- Serviere-Zaragoza, E., V. García-Hernández & D. A. Siqueiros-Beltrones. 2003. Distribution of macroalgae associated to abalone (*Haliotis* spp.) habitats in Baja California Sur México. *Bull. Mar. Sci.*, 73: 725–740.
- Shalaby, E. 2011. Algae as promising organisms for environment and health. *Plant Signal Behav.* 6 (9): 1338-1350.

- Shanmugam, A., P. Seedeivi, S. Sudharsan, S. Vasanth Kumar, A. Srinivasan & S. Vairamani. 2013. Isolation and characterization of sulphated polysaccharides from *Codium tomentosum* (J. Stackhouse, 1797) collected from southeast coast of India. *Adv. Appl. Sci. Res.*, 4(5): 72-77.
- Shanthi, N, T. Eluvakkal, and K. Arunkumar. 2014. Characterization of Galactose Rich Fucoidan with Anticoagulation Potential Isolated from *Turbinaria Decurrens* Bory de Saint-Vincent occurring along the Coast of Gulf of Mannar (Pamban), India. *J. Pharmacog. Phytochem.*, 3(2): 132–37.
- Singthong J., S. W. Cui, S. Ningsanond, H. D. Goff, 2004. Structural characterization, degree of esterification and some gelling properties of Krue Ma Noy (*Cissampelos pareira*) pectin. *Carbohydr. Polym.* 58:391-400.
- Siqueiros -Beltrones, D. A., U. Argumedo -Hernández & C. Landa-Cansigno. No publicado. Uncommon species diversity values in epiphytic diatom assemblages of the kelp *Eisenia arborea* J. E. Areschoug. Sometido. *Hidrobiológica*
- Siraj, O., A. Norasmah & A. Fasihuddin. 1988. Composition of alginates from seaweeds, *Sargassum* and *Padina* spp. *Pertanika*, 79-85.
- Skriptsova, A., V. Khomenko & V. Isakov. 2004. Seasonal changes in growth rate, morphology and alginate content in *Undaria pinnatifida* at the northern limit in the Sea of Japan (Russia). *J. Appl. Phycol.*, 16: 17–21
- Smith, W. K., T. C. Vogelmann & C. Critchley. 1992. *Photosynthetic adaptcion chloroplast to landscap*. Edit. Springer, U.S.A. 316. pp.
- Sugiura, Y., K. Matsuda, T. Okamoto, M. Kakinawa & H. Amano. 2008. Anti-allergic effects of the brown alga *Eisenia arborea* on Brown Norway rats. *Fish. Sci.*, 74:180-186.
- Sugiura, Y., K. Matsuda, T. Okamoto, Y. Yamada, K. Imai, T. Ito, M. Kakinuma & H. Amano. 2009. The inhibitory effects of components from a Brown Alga, *Eisenia*

- arborea* on degranulation of mast cells and Eicosanoid Synthesis. *J. functional foods*, 1(4): 387-393.
- Sugiura, Y., K. Matsuda, Y. Yamada, M. Nishikawa, K. Shioya, H. Katsuzaki, K. Imai & H. Amano. 2006a. Isolation of a new anti-allergic phlorotannin, phlorofuroeckol-B from edible brown algae *Eisenia arborea*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70(11): 2807-2811.
- Sugiura, Y., K. Matsuda, Y. Yamada, M. Nishikawa, K. Shioya, H. Katsuzaki, K. Imai & H. Amano. 2007. Anti-allergic phlorotannins from the edible brown alga, *Eisenia arborea*. *Food. Sci. Technol. Res.*, 13: 54-60.
- Sugiura, Y., R. Tanaka, H. Katsuzaki, K. Imai & T. Matsushita. 2013. The Anti-Inflammatory effects of phlorotannins from *Eisenia arborea* on mouse ear edema by inflammatory inducers. *J. Functional foods*, 5 (4): 2019-2023.
- Sugiura, Y., Y. Takeuchi, M. Kakinuma & H. Amano. 2006b. Inhibitory effects of seaweeds on histamine release from rat basophile leukemia cells (RBL-2H3). *Fish. Sci.*, 72: 1286-1291.
- Tuomi, J., V. Jormalainen & H. Ilvessalo. 1988. Does the aquatic isopod *Idotea báltica* minimize the survival costs of reproduction?. *Oikos*, 52: 245-249.
- Usov, A. I., G. P. Smirnova y G. Klochkora. 2005. Polysaccharides of algae: The polysaccharide composition of the pacific brown alga *Alaria fistulosa* (Alariaceae, Laminariales). *Russian Chem. Bull.*, 54 (5): 1282-1286.
- Usov, A.I. & I. Bilan. 2009. Fucoidans-Sulfated polysaccharides of brown algae. *Russ. Chem. Rev.*, 78: 785–799.
- Van den Hoek, C., D. G. Mann & H. M. Jahns. 1995. *Algae: An introduction to phycology*. Cambridge University Press, United Kingdom.

- Van Hal, J. P., W. J. J. Huijgen & A. M. López-Contreras. 2014. Opportunities and challenges for seaweed in the biobased economy. *Trends Biotechnol.*, 32(5): 231-233.
- Vinayak, R. C., S. A. Sabu & A. Chatterji. 2011a. Bioprospecting of a few brown seaweeds for their cytotoxic and antioxidant activities. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 2011: 1-9.
- Vinayak, R. C., S. A. Sudha & A. Chaterjia. 2011b. Bioscreening of a few green seaweeds from India for their cytotoxic and antioxidant potential. *J. Sci. Food Agric.*, 91: 2471-2476.
- Viswanathan, S. & T. Nallamuthu. 2014. Extraction of sodium alginate from selected seaweeds and their physiochemical and biochemical properties. *Int. J. Innov. Res. Sci. Eng. And Tech.*, 3(4):10998-11003.
- Wang T, R. Jónsdóttir & G. Ólafsdóttir. 2009. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chem.*, 116: 240-248.
- Wu, X., G. Wang & X. Fu. Variation in the chemical composition of *Costaria costata* during harvest. *J. Appl. Phycol.*, 26: 2389-2396.
- Yangthong M, N. Hutadilok-Towatana & W. Phromkunthong. 2009. Antioxidant activities of four edible seaweeds from the southern coast of Thailand. *Plant Food Human. Nutr.*, 64: 218-223.
- Ye, H., K. Wang, C. Zhou, J. Liu & X. Zeng. 2008. Purification, antitumor and antioxidant activities in vitro of polysaccharides from the brown seaweed *Sargassum pallidum*. *Food Chem.*, 111: 428-432.
- Zaitsev, O., O. Sánchez & J. Robinson. 2007. Características del ambiente hidrofísico de la plataforma continental y zona oceánica adyacente al sistema lagunar Bahía Magdalena-Almejas. En: Funes, R., J. Gómez & J. R. Palomares

- (eds). Estudios ecológicos en Bahía Magdalena, pp. 29-43. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, La Paz
- Zaitsev, O., O. Sánchez-Montante & M. Saldivar-Reyes. 2010. Seasonal variations of the thermohaline structure in the Magdalena-Almejas Bay lagoon system and adjacent sea. *Cienc. Mar.* 36(4):413-432.
- Zaitsev, O., A. Trasviña-Castro, J. Linero-Cueto, G. Gaxiola-Castro & J. Cepeda-Morales. 2014. Oceanographic conditions over the continental shelf off Magdalena Bay (Mexico) in 2011-2012. *Cienc. Mar.* 40(2):89-112.
- Zaitsev, O., R. Cervantes-Duarte, O. Sánchez-montante & A. Gallegos. 2003. Coastal upwelling activity on the Pacific Shelf of the Baja California Peninsular. *J. Oceanogr.* 59:489-502.
- Zertuche-González, J. A., M. Sánchez-Barredo, J. M. Guzmán-Calderón & Z. Altamirano-Gómez. 2013. *Eisenia arborea* J. E. Areschoug as abalone diet on an IMTA farm in Baja California, México. *J. Appl Phycol*
- Zubia, M., D. Robledo & Y. Freile-Peigrín. 2007. Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatán Peninsula, Mexico. *J. Appl. Phycol.*, 19:449–458.

ANEXOS

Anexo I. Códigos de muestras

Las muestras recolectadas pertenecen al laboratorio de química de algas del IPN-CICIMAR, dichas muestras pueden ser localizadas con los siguientes códigos:

Fecha de recolecta	Códigos de muestra
28-septiembre-2013	CLC-13021-L; CLC-13021-E
10-noviembre-2013	CLC-14003-L; CLC-14003-E
31-enero-2014	CLC-14005-L; CLC-14005-E
16-marzo-2014	CLC-14006-L; CLC-14006-E
21-mayo-2014	CLC-14015-L; CLC-14015-E
21-julio-2014	CLC-14026-L; CLC-14026-E

Dónde:

CLC: son las iniciales del autor.

XXXX: son el ID correspondiente con la bitácora de recolectas.

E: para señalar que la muestra provenía de los estipes.

L: para señalar que la muestra provenía de las láminas.

Anexo II. Gasto etanólico en la obtención de extractos.

Muestra		alga seca (g)	Gasto de etanol (mL)	Extracto crudo seco (g)	Rendimiento (%)
Septiembre M1 CLC-13021	CLC-13-021-L (1)	300	542	15.9265	5.30883333
	CLC-13-021-L (R1)	300	627	16.8758	5.62526667
	CLC-13-021-L (R2)	300	465	15.9042	5.3014
	Media		540.6380319	16.2292649	5.40975495
	Desviación estándar		81.03291512	0.55462815	0.18487605
	CLC-13-021-E (1)	160	309	1.6826	1.051625
	CLC-13-021-E (R1)	160	293	1.5213	0.9508125
	CLC-13-021-E (R2)	160	264	1.7622	1.101375
	Media		288.0558341	1.65228001	1.03267501
	Desviación estándar		22.81081615	0.12273729	0.07671081
Noviembre M2 CLC-14003	CLC-14003-L(1)	300	1051	13.1663	4.38876667
	CLC-14003-L(R1)	300	1061	13.3661	4.45536667
	CLC-14003-L(R2)	300	1133	13.9029	4.6343
	Media		1081.05885	13.474871	4.49162368
	Desviación estándar		44.73626419	0.38093172	0.12697724
	CLC-14003-E (1)	80	125	0.8286	1.03575
	CLC-14003-E (R1)	80	135	0.8569	1.071125
	CLC-14003-E (R2)	80	117	0.8154	1.01925
	Media		125.4516991	0.83345456	1.0418182
	Desviación estándar		9.018499506	0.02120291	0.02650364
Enero M3 CLC-14005	CLC-14005-L(1)	300	558	7.5154	2.50513333
	CLC-14005-L(R1)	300	556	6.717	2.239
	CLC-14005-L(R2)	300	566	6.6218	2.20726667
	Media		559.9833839	6.94013368	2.31337789
	Desviación estándar		5.291502622	0.49075224	0.16358408
	CLC-14005-E(1)	80	115	0.67885	0.8485625
	CLC-14005-E(R1)	80	112	0.6478	0.80975
	CLC-14005-E(R2)	80	127	0.7099	0.887375
	Media		117.8256546	0.67837627	0.84797034
	Desviación estándar		7.937253933	0.03105	0.0388125
MarzoM4-CLC14006	CLC-14006-L(1)	300	549	8.4889	2.82963333
	CLC-14006-L(1)	300	561	8.5871	2.86236667
	CLC-14006-L(1)	300	571	8.0164	2.67213333
	Media		560.2610592	8.36037528	2.78679176

	Desviación estándar		11.01514109	0.30512237	0.10170746
	CLC-14006-E(1)	80	140	0.9334	1.16675
	CLC-14006-E(R1)	80	143	1.1865	1.483125
	CLC-14006-E(R2)	80	146	1.0892	1.3615
	Media		142.9790179	1.06450504	1.33063131
	Desviación estándar		3	0.12767181	0.15958976
Mayo M5-CLC14015	CLC-14015-L(1)	300	563	5.1889	1.72963333
	CLC-14015-L(1)	300	565	5.6469	1.8823
	CLC-14016-L(1)	300	600	6.0564	2.0188
	Media		575.7527633	5.61952986	1.87317662
	Desviación estándar		20.80865205	0.4339759	0.14465863
	CLC-14015-E(1)	80	120	1.3949	1.743625
	CLC-14015-E(R1)	80	124	1.7356	2.1695
	CLC-14015-E(R2)	80	124	1.9031	2.378875
	Media		122.6520672	1.6639928	2.07999099
	Desviación estándar		2.309401077	0.25897232	0.3237154
Julio M6-CLC14026	CLC-14026-L(1)	300	517	7.7735	2.59116667
	CLC-14026-L(1)	300	520	8.1679	2.72263333
	CLC-14026-L(1)	300	525	7.9705	2.65683333
	Media		520.6562228	7.96900673	2.65633558
	Desviación estándar		4.041451884	0.19720003	0.06573334
	CLC-14026-E(1)	80	181	1.232	1.54
	CLC-14026-E(R1)	80	182	1.229	1.53625
	CLC-14026-E(R2)	80	185	1.1892	1.4865
	CLC-14026-E(R3)	80	180	1.2013	1.501625
	Media		181.9904291	1.21273872	1.5079818
	Desviación estándar		2.160246899	0.0209783	0.02550398

Anexo III. Gasto de reactivos en la extracción de alginatos

Muestra		Alga seca (g)	Formaldehído al 1% (mL)	HCL (mL)	Carbonato de sodio (mL)	Peso del alginato de sodio (g)	Rendimiento (%)	
M1 CLC-13021	CLC-13-021-L (1)	20	180	0.5	25	3.1351	15.6755	
	CLC-13-021-L (R1)	20	180	0.4	25	3.4685	17.3425	
	CLC-13-021-L (R2)	20	180	0.4	25	3.0306	15.153	
	Media					3.2114	16.057	
	Desviación estándar						0.22870367 3	1.14351836
	CLC-13-021-E (1)	20	180	0.8	25	2.8797	14.3985	
	CLC-13-021-E (R1)	20	180	0.6	25	2.4044	12.0022	
	CLC-13-021-E (R2)	20	180	0.7	23	2.0601	10.3005	
	Media					2.44806666 7	12.2337333	
	Desviación estándar						0.41154115 6	2.05878769
M2 CLC-14003	CLC-14003-L(1)	20	180	1	27	4.6207	23.1035	
	CLC-14003-L(R1)	20	180	0.8	26	4.4298	22.149	
	CLC-14003-L(R2)	20	180	0.7	26	3.7521	18.7605	
	Media					4.26753333 3	21.3376667	
	Desviación estándar						0.45646943 3	2.28234717
	CLC-14003-E (1)	20	180	1	35	4.3559	21.7795	
	CLC-14003-E (R1)	20	180	0.8	30	4.3061	21.5305	
	CLC-14003-E (R2)	20	180	0.8	35	4.0608	20.304	
	Media					4.24093333 3	21.2046667	
	Desviación estándar						0.15797475 5	0.78987378
M3 CLC-14005	CLC-14005-L(1)	20	180	0.8	45	4.4884	22.442	
	CLC-14005-L(R1)	20	180	0.8	35	4.0994	20.497	
	CLC-14005-L(R2)	20	180	0.8	35	4.0496	20.248	
	Media					4.21246666 7	21.0623333	
	Desviación estándar						0.24025905 5	1.20129527
	CLC-14005-E(1)	20	180	0.9	35	4.8988	24.494	
	CLC-14005-E(R1)	20	180	0.9	35	4.9925	24.0625	
	CLC-14005-E(R2)	20	180	0.9	30	5.0237	25.1185	
	Media					4.97166666 7	24.5583333	
	Desviación estándar						0.06500402 6	0.53093134
M4-CLC14006	CLC-14006-L(1)	20	180	0.7	30	3.7887	18.9435	
	CLC-14006-L(1)	20	180	0.7	30	3.6726	18.363	

	CLC-14006-L(1)	20	180	0.7	25	3.677	18.385
	Media					3.71276666 7	18.5638333
	Desviación estándar					0.06579698 6	0.32898493
	CLC-14006-E(1)	20	180	0.6	35	4.3174	21.587
	CLC-14006-E(R1)	20	180	0.6	35	4.3262	21.631
	CLC-14006-E(R2)	20	180	0.6	35	4.4497	22.2485
	Media					4.36443333 3	21.8221667
	Desviación estándar					0.07397407 2	0.36987036
M5- CLC1401 5	CLC-14015-L(1)	20	180	0.6	20	2.8328	14.1614
	CLC-14015-L(1)	20	180	0.6	20	3.0954	15.48
	CLC-14016-L(1)	20	180	0.6	20	3.6056	18.028
	Media					3.17793333 3	15.8898
	Desviación estándar					0.39295518	1.96560447
	CLC-14015-E(1)	20	180	0.5	25	2.7506	13.753
	CLC-14015-E(R1)	20	180	0.5	25	2.9274	14.637
	CLC-14015-E(R2)	20	180	0.5	25	3.0227	15.1135
	Media					2.90023333 3	14.5011667
	Desviación estándar					0.13806927	0.69034635
M6- CLC1402 6	CLC-14026-L(1)	20	180	0.4	35	3.7097	18.5485
	CLC-14026-L(1)	20	180	0.4	30	3.3104	16.552
	CLC-14026-L(1)	20	180	0.4	30	3.2091	16.04
	Media					3.40973333 3	17.0468333
	Desviación estándar					0.26467040 5	1.32543883
	CLC-14026-ECH(1)	20	180	0.5	25	3.5133	17.5665
	CLC-14026-ECH(R1)	20	180	0.5	25	3.009	15.045
	CLC-14026-ESH(1)	20	180	0.5	25	4.3155	21.5775
	CLC-14026-ESH(R1)	20	180	0.5	20	4.6508	23.254
	Media					3.99176666 7	19.9588333
	Desviación estándar					0.86745562 6	4.33727813

Anexo. IV. Rendimientos de fucoidan

Muestra		Alga seca (g)	Fucoidan (g)	Rendimiento (%)
M1 CLC-13021	CLC-13-021-L (1)	20	3.7183	18.5915
	CLC-13-021-L (R1)	20	4.6937	23.4685
	CLC-13-021-L (R2)	20	3.9814	19.907
	Media	20	4.111167665	20.55583833
	Desviación estándar		0.504644769	2.523223847
	CLC-13-021-E (1)	20	0.8234	4.117
	CLC-13-021-E (R1)	20	0.8331	4.1655
	CLC-13-021-E (R2)	20	0.8114	4.057
	Media		0.822585406	4.11292703
	Desviación estándar		0.822314054	0.05435148
M2 CLC-14003	CLC-14003-L(1)	20	2.1266	10.633
	CLC-14003-L(R1)	20	2.2017	11.008
	CLC-14003-L(R2)	20	2.2588	11.294
	Media		2.19503059	10.97498679
	Desviación estándar		0.066303921	0.331497109
	CLC-14003-E (1)	20	1.1711	5.85
	CLC-14003-E (R1)	20	0.9298	4.649
	CLC-14003-E (R2)	20	0.7308	3.654
	Media		0.926674802	4.631922864
	Desviación estándar		0.22048839	1.099609173
M3 CLC-14005	CLC-14005-L(1)	20	2.1741	10.8705
	CLC-14005-L(R1)	20	2.2936	11.468
	CLC-14005-L(R2)	20	2.3251	11.6255
	Media		2.263321648	11.31660824
	Desviación estándar		0.07965917	0.398295849
	CLC-14005-E(1)	20	0.7336	3.668
	CLC-14005-E(R1)	20	0.7296	3.648
	CLC-14005-E(R2)	20	0.7138	3.569
	Media		0.725616078	3.628080391
	Desviación estándar		0.010469639	0.052348193
M4-CLC14006	CLC-14006-L(1)	20	3.1174	15.587
	CLC-14006-L(1)	20	3.1723	15.8615
	CLC-14006-L(1)	20	3.1507	15.7535
	Media		3.146718874	15.73359437
	Desviación estándar		0.027657006	0.138285032
	CLC-14006-E(1)	20	1.6002	8.001
	CLC-14006-E(R1)	20	1.9919	9.5955
	CLC-14006-E(R2)	20	1.7206	8.605

	Media		1.7709	8.733833333
	Desviación estándar		0.200635964	0.805019306
	Muestra	Alga seca (g)	Fucoidan (g)	Rendimiento (%)
M5- CLC14015	CLC-14015-L(1)	20	2.2963	11.4815
	CLC-14015-L(1)	20	2.32206	11.603
	CLC-14016-L(1)	20	2.1136	10.568
	Media		2.243986667	11.07341429
	Desviación estándar		0.11365037	0.565754585
	CLC-14015-E(1)	20	0.727	3.635
	CLC-14015-E(R1)	20	0.7412	3.706
	CLC-14015-E(R2)	20	0.6759	3.3795
	Media		0.714141201	3.570706003
	Desviación estándar		0.034343704	0.17171852
M6- CLC14026	CLC-14026-L(1)	20	2.5024	12.512
	CLC-14026-L(1)	20	2.1356	10.678
	CLC-14026-L(1)	20	2.0801	10.4005
	Media		2.2317915	11.1589575
	Desviación estándar		0.229477588	1.147387939
	CLC-14026-E(1)	20	0.8498	4.249
	CLC-14026-E(R1)	20	0.7956	3.978
	CLC-14026-E(R2)	20	0.7205	3.6025
	CLC-14026-E(R3)	20	0.706	3.53
	Media		0.765795036	3.82897518
	Desviación estándar		0.067214204	0.336071018

Anexo V. Análisis de varianza

Análisis de Varianza para EtOH - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Parte del alga	42.9613	1	42.9613	3554.38	0.0000
B:Mes	10.7696	5	2.15392	178.20	0.0000
INTERACCIONES					
AB	15.0771	5	3.01542	249.48	0.0000
RESIDUOS	0.302171	25	0.0120869		
TOTAL (CORREGIDO)	69.155	36			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Análisis de Varianza para Fucoïdan - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Parte del alga	611.563	1	611.563	749.14	0.0000
B:Mes	233.508	5	46.7017	57.21	0.0000
INTERACCIONES					
AB	142.348	5	28.4695	34.87	0.0000
RESIDUOS	20.4087	25	0.816349		
TOTAL (CORREGIDO)	1008.32	36			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Análisis de Varianza para Alginato - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Parte del alga	9.31676	1	9.31676	2.67	0.1150
B:Mes	391.917	5	78.3834	22.43	0.0000
INTERACCIONES					
AB	57.7739	5	11.5548	3.31	0.0199
RESIDUOS	87.3474	25	3.4939		
TOTAL (CORREGIDO)	545.155	36			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Análisis de Varianza para Viscosidad - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Parte del alga	819440.	1	819440.	87.59	0.0000
B:Mes	927599.	5	185520.	19.83	0.0000
INTERACCIONES					
AB	228383.	5	45676.6	4.88	0.0030
RESIDUOS	233892.	25	9355.69		
TOTAL (CORREGIDO)	2.17306E6	36			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Análisis de Varianza para Fuerza de gel - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Parte del alga	7.19106E6	1	7.19106E6	46.55	0.0000
B:Mes	1.3455E7	5	2.69099E6	17.42	0.0000
INTERACCIONES					
AB	7.53122E6	5	1.50624E6	9.75	0.0000
RESIDUOS	1.63741E7	106	154473.		
TOTAL (CORREGIDO)	4.72488E7	117			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

ANEXO VI. Pruebas de Tukey

Pruebas de Múltiple Rangos para EtOH por Mes

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Mes	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Enero	6	1.58285	0.0448829	X
Julio	7	1.93486	0.0419841	X
Marzo	6	2.06258	0.0448829	X
Mayo	6	2.26676	0.0448829	X
Noviembre	6	2.76743	0.0448829	X
Septiembre	6	3.22322	0.0448829	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Enero - Julio	*	-0.352015	0.18944
Enero - Marzo	*	-0.479737	0.195653
Enero - Mayo	*	-0.683913	0.195653
Enero - Noviembre	*	-1.18458	0.195653
Enero - Septiembre	*	-1.64037	0.195653
Julio - Marzo		-0.127722	0.18944
Julio - Mayo	*	-0.331899	0.18944
Julio - Noviembre	*	-0.832564	0.18944
Julio - Septiembre	*	-1.28836	0.18944
Marzo - Mayo	*	-0.204176	0.195653
Marzo - Noviembre	*	-0.704842	0.195653
Marzo - Septiembre	*	-1.16063	0.195653
Mayo - Noviembre	*	-0.500665	0.195653
Mayo - Septiembre	*	-0.956458	0.195653
Noviembre - Septiembre	*	-0.455792	0.195653

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para EtOH por Parte del alga

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Parte del alga	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Estipe	19	1.22531	0.0253676	X
Láminas	18	3.38726	0.0259132	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Estipe - Láminas	*	-2.16195	0.0746852

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Fucoïdan por Parte del alga

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Parte del alga	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Estipe	19	4.78736	0.208478	X
Láminas	18	12.9443	0.212962	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Estipe - Láminas	*	-8.15694	0.613784

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Fucoïdan por Mes

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Mes	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Julio	7	5.83317	0.345038	X
Mayo	6	7.46	0.368861	X
Enero	6	7.475	0.368861	X
Noviembre	6	7.84333	0.368861	X
Marzo	6	12.2302	0.368861	X
Septiembre	6	12.3533	0.368861	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Enero - Julio	*	1.64183	1.55688
Enero - Marzo	*	-4.75517	1.60793
Enero - Mayo		0.015	1.60793
Enero - Noviembre		-0.368333	1.60793
Enero - Septiembre	*	-4.87833	1.60793
Julio - Marzo	*	-6.397	1.55688
Julio - Mayo	*	-1.62683	1.55688
Julio - Noviembre	*	-2.01017	1.55688
Julio - Septiembre	*	-6.52017	1.55688
Marzo - Mayo	*	4.77017	1.60793
Marzo - Noviembre	*	4.38683	1.60793

Marzo - Septiembre		-0.123167	1.60793
Mayo - Noviembre		-0.383333	1.60793
Mayo - Septiembre	*	-4.89333	1.60793
Noviembre - Septiembre	*	-4.51	1.60793

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Alginato por Parte del alga

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Parte del alga	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Láminas	18	17.9361	0.440574	X
Estipe	19	18.9429	0.431298	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Estipe - Láminas		1.00679	1.26979

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Alginato por Mes

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Mes	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Septiembre	6	13.5533	0.763096	X
Mayo	6	15.1917	0.763096	XX
Julio	7	17.6237	0.713811	XX
Marzo	6	20.1967	0.763096	XX
Noviembre	6	21.2667	0.763096	X
Enero	6	22.805	0.763096	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Enero - Julio	*	5.18129	3.22085
Enero - Marzo		2.60833	3.32648
Enero - Mayo	*	7.61333	3.32648
Enero - Noviembre		1.53833	3.32648
Enero - Septiembre	*	9.25167	3.32648
Julio - Marzo		-2.57296	3.22085
Julio - Mayo		2.43204	3.22085
Julio - Noviembre	*	-3.64296	3.22085
Julio - Septiembre	*	4.07037	3.22085
Marzo - Mayo	*	5.005	3.32648
Marzo - Noviembre		-1.07	3.32648
Marzo - Septiembre	*	6.64333	3.32648
Mayo - Noviembre	*	-6.075	3.32648
Mayo - Septiembre		1.63833	3.32648
Noviembre - Septiembre	*	7.71333	3.32648

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Viscosidad por Parte del alga

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Parte del alga	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Láminas	18	251.917	22.7983	X
Estipe	19	550.5	22.3182	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Estipe - Láminas	*	298.583	65.7076

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Viscosidad por Mes

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Mes	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Julio	7	239.75	36.9374	X
Septiembre	6	319.833	39.4877	XX
Noviembre	6	331.667	39.4877	XX
Mayo	6	369.0	39.4877	XX
Marzo	6	410.667	39.4877	X
Enero	6	736.333	39.4877	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Enero - Julio	*	496.583	166.669
Enero - Marzo	*	325.667	172.135
Enero - Mayo	*	367.333	172.135
Enero - Noviembre	*	404.667	172.135
Enero - Septiembre	*	416.5	172.135
Julio - Marzo	*	-170.917	166.669
Julio - Mayo		-129.25	166.669
Julio - Noviembre		-91.9167	166.669
Julio - Septiembre		-80.0833	166.669
Marzo - Mayo		41.6667	172.135
Marzo - Noviembre		79.0	172.135
Marzo - Septiembre		90.8333	172.135
Mayo - Noviembre		37.3333	172.135
Mayo - Septiembre		49.1667	172.135
Noviembre - Septiembre		11.8333	172.135

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Fuerza de gel por Parte del alga

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Parte del alga	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Láminas	54	2466.79	53.4846	X
Estipes	64	2969.8	50.74	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Estipes - Láminas	*	503.01	146.164

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Fuerza de gel por Mes

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Mes</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Noviembre	18	2187.14	92.6381	X
Mayo	19	2451.9	90.2925	XX
Septiembre	18	2636.78	92.6381	XX
Julio	27	2804.22	80.227	X
Marzo	18	2942.13	92.6381	XX
Enero	18	3287.61	92.6381	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Enero - Julio	*	483.394	355.681
Enero - Marzo		345.483	380.239
Enero - Mayo	*	835.709	375.456
Enero - Noviembre	*	1100.47	380.239
Enero - Septiembre	*	650.828	380.239
Julio - Marzo		-137.911	355.681
Julio - Mayo	*	352.315	350.563
Julio - Noviembre	*	617.072	355.681
Julio - Septiembre		167.433	355.681
Marzo - Mayo	*	490.226	375.456
Marzo - Noviembre	*	754.983	380.239
Marzo - Septiembre		305.344	380.239
Mayo - Noviembre		264.757	375.456
Mayo - Septiembre		-184.882	375.456
Noviembre - Septiembre	*	-449.639	380.239

* indica una diferencia significativa.

Anexo VII. Curvas de calibración de glucosa y fucosa.

