

COMPOSICIÓN ESTACIONAL DE ÁCIDOS GRASOS DE *HALYMENTIA FLORESII* (RHODOPHYTA) DE YUCATÁN, MÉXICO

JOSÉ LUIS GODÍNEZ ORTEGA^{a*}, DANIEL ROBLEDO RAMÍREZ^b, YOLANDA FREILE PELEGRÍN^b
Y TIRSO RÍOS CASTILLO^c

(Recibido Junio 2012; Aceptado Septiembre 2012)

ABSTRACT

Seasonal variation of fatty acid composition of *Halymenia floresii* (Rhodophyta algae) was determined by conventional methods and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Three saturated fatty acids (SAFA) were identified (C14:0, C16:0, C18:0) and a monounsaturated (MUFA) C18:1 Δ9. Results indicated a constant SAFA/MUFA proportion throughout the year (dry and rainy season), except in the windy season where MUFA increased and particularly oleic acid. In general, *H. floresii* has a good supply of fatty acids compared with commercial algae such as nori (*Porphyra* sp.) and dulse (*Palmaria palmata*). www.relaquim.com

Key words: *Halymenia floresii*, Rhodophyta, fatty acids, GC-MS, Saturated fatty acid (SAFA), Monounsaturated fatty acids (MUFA).

RESUMEN

La variación estacional sobre la composición de ácidos grasos de *Halymenia floresii* (algas Rhodophyta) se determinó a través de métodos convencionales y por cromatografía gases-masas de alta resolución (CG-EM). Tres ácidos grasos saturados (AGS) fueron identificados (C14:0, C16:0, C18:0) y un monoinsaturado (AGMI) C18:1 Δ9. La proporción de AGS/AGMI indicó condiciones de mayor síntesis de AGS a lo largo de año (secas y lluvias) excepto en la época de nortes donde aumentaron los AGMI y particularmente el ácido oléico. En general *H. floresii* tiene un buen aporte de ácidos grasos comparado con algas comerciales como el nori (*Porphyra* sp.) y el dulce (*Palmaria palmata*). www.relaquim.com

Palabras clave: *Halymenia floresii*, Rhodophyta, ácidos grasos, CG-EM, Ácidos grasos saturados (AGS), Ácidos grasos monoinsaturados (AGMI).

^a Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 70-233, C.P. 04510, México, D.F., México.

^b Departamento de Recursos del Mar Cinvestav, Km 6 carretera antigua a Progreso, Cordemex, Apdo. Postal 73, C.P. 97310, Mérida, Yucatán, México.

^c Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, 04510 México, D.F., México

*Autor para correspondencia: e-mail: jlgo@unam.mx, Teléfono: (52) 56229114. Fax: 55501760.

INTRODUCCIÓN

Se tiene documentado que las algas marinas han sido utilizadas como alimento desde el siglo IV en Japón y desde el siglo VI en China. Actualmente estos dos países, junto con la República de Corea, son los mayores consumidores de algas marinas como alimento y sus necesidades constituyen la base de una importante industria (McHugh, 2002). China es el principal productor de algas marinas comestibles, principalmente de "kombu" (*Laminaria japonica*), cuyo cultivo ocupa cientos de hectáreas en el mar. La producción japonesa de algas asciende a unas 600,000 toneladas, de la que el 75% corresponde al "nori" (*Porphyra* spp., McHugh, 2002), el cual se vende en paquetes de hojas finas de 20 por 20 cm, ligeramente horneadas, y se utiliza para formar el envoltorio exterior del "sushi" (Chapman, 1970). Otro ejemplo de algas comestibles son el "dulse" (*Palmaria palmata*), que aunque su producción no se compara con la descrita anteriormente, su consumo es importante en algunos países como Canadá. La producción de "dulse" en el periodo de 1982-1991 fue de 38 toneladas (Chopin, 1998).

El consumo de algas marinas a nivel mundial cada día está más sujeto a una regulación específica y los detalles de la composición química y variaciones de una misma especie se requieren para obtener la autorización para su uso en la alimentación humana (Mabeau y Fleurence, 1993). La determinación de la composición química es el primer paso para evaluar el valor nutricional de un alga utilizada como producto alimenticio (Darcy-Vrillon, 1993). Francia fue el primer país europeo en establecer una regulación específica sobre el uso de algas para el consumo humano. En la actualidad, 11 macroalgas y una microalga (*Spirulina* sp.) están autorizadas como verduras y condimentos.

Se encuentra documentado que en la región tropical mexicana las algas *Eucheuma*

sp., *Gracilaria blodgettii*, *Gracilaria cornea* y *Hydropuntia crassissima* de Quintana Roo, han sido utilizadas al menos por un siglo por comunidades de pescadores de la región y cuyo origen se remonta durante la colonización o migración inglesa al Caribe (Espinoza Ávalos, 1994-1995). Sin embargo en costas de la península de Yucatán crecen 48 especies de algas con potencial de ser utilizadas económicamente (Ortegón Aznar et al., 2010), entre las cuales, *Halymenia floresii* puede ser una propuesta factible como alga comestible rica en ácidos grasos; en primera instancia por sus convenientes características morfológicas como tamaño (50 cm), agradable aspecto y coloración. Además de las ventajas que representa la el desarrollo de especies nativas en la acuacultura. Littler y Littler (2000) señalan su presencia sobre sustratos sólidos como rocas o corales en planicies arenosas profundas de 5-40 m. Hasta donde sabemos, no se han realizado estudios sobre ácidos grasos presentes en *Halymenia floresii*, que valoren su calidad nutricia y exploren su posible aplicación en la alimentación humana, sin embargo se encuentran algunos estudios de otras especies como *H. venusta*, *H. porphyroides* y *H. gelinaria* recolectadas en otras regiones del mundo (Shameel, 1990; Sridharan et al., 1991).

Los estudios realizados en otras algas muestran claramente que la composición de ácidos grasos varía según la especie, área geográfica, la estación y las condiciones ambientales: luz, salinidad y temperatura (Levy et al., 1992; Floreto y Teshima, 1998). Por lo tanto, para la evaluación de los ácidos grasos *H. floresii*, ésta se recolectó de una región tropical (Yucatán, México), y su variación estacional fue un paso esencial en el conocimiento de las características de esta alga.

El objetivo de este estudio fue la evaluación estacional de los ácidos grasos presentes en *H. floresii* con el fin de comparar esta especie con otras algas comestibles como son el "nori" y el "dulce".

MATERIAL Y METODOS

El material algal se colectó mediante buceo autónomo en tres épocas del año (secas, lluvias y nortes) en Punta Holchit, Yucatán ($21^{\circ} 37' 34.5''$ N; $88^{\circ} 07' 54.9''$ W) durante los años 2002-2003. Solo se colectó una muestra en la época de nortes debido a las extremas condiciones climáticas (fuertes vientos y una alta turbidez). Se escogieron los individuos de las poblaciones más abundantes y saludables, localizados entre 3-4 m de profundidad sobre sustrato rocoso. El material se lavó con agua de mar filtrada para eliminar impurezas y se secó en estufa a 60°C . Posteriormente se molvió en molino eléctrico.

Los lípidos totales se trajeron mediante maceración de una muestra seca y molida (50 mg) con una mezcla de agua, metanol y cloroformo (2:5:2.5 v/v) (Bligh y Dyer, 1959). Se mezcló y se agitó en forma intermitente durante 15 min. Posteriormente se evaporó el disolvente a baño María y flujo de nitrógeno, se pesó y se calculó su porcentaje.

Los lípidos totales de cada muestra se saponificaron con NaOH 1.2 N (2 mL, en metanol al 50 %) calentando en tubos cerrados por 30 min. Los ácidos grasos obtenidos, se metilaron añadiendo 0.6 ml de HCl 10 N y 1 ml de trifluoruro de boro en metanol y calentando a 80°C por 60 minutos. Transcurrido ese tiempo, se añadieron 1 ml de hexano: dietileter (1:1) y 3 ml de hidróxido de sodio 0.3 N. Se separó la fase orgánica y se evaporó completamente el disolvente por medio de una corriente de nitrógeno. El residuo se trató con 0.5 ml de hexano y se recogió la parte soluble en un vial, se llevó a sequedad, se pesó y redissolvió en diclorometano para su análisis por cromatografía de gases.

Métodos cromatográficos

La mezcla ácidos grasos metilados, se analizó en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard (CG-EM) modelo 580 Serie II acoplado a un espectrómetro de masas

Jeol JMS-A X505. Se utilizó una columna capilar Hewlett-Packard de 25 m, 0.2 mm y $0.33\mu\text{m}$. Las muestras fueron inyectadas a 290°C (1-3 μL). La temperatura de la columna fue programada de 40°C a 290°C con incrementos de $8^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Como gas acarreador se utilizó helio. La detección se llevó a cabo en un intervalo de m/z de 10-610 Da. La energía de ionización fue de 70 eV. Los compuestos fueron identificados por comparación de los patrones de fragmentación con aquellos en la base de datos del espectrómetro (*National Institute of Standards and Technology Mass Spectral database*, NIST, versión 2.0).

La normalidad de las variables (ácido palmitíco, oleico y lípidos totales) fue determinado mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene. Las diferencias de las medias entre estaciones climáticas (secas y lluvias) fue analizada por la prueba de *t*-student para muestras independientes con el programa SPSS, versión 17.0 para Windows.

RESULTADOS

Los resultados de la composición bianual (2002-2003) de ácidos grasos se muestran en la Cuadro 1. El porcentaje total de lípidos de *Halymenia floresii*, en un periodo de dos años, varió entre 0.53 y 1.74 %. La mayor proporción de lípidos totales se reportó en la estación de nortes (1.74%), siguiendo la estación lluvias (0.58-1.11%) y secas (0.53-0.59%); no se encontraron diferencias significativas entre la estación de lluvias y secas (t : 1.069; $p=0.397$). Los análisis revelaron la presencia de ácidos grasos saturados y uno insaturado. El ácido palmitíco (C16:0) fue el más abundante en las muestras colectadas durante las estaciones de lluvias (76.67-76.89%) y secas (80.51-84.02%) y ligeramente menor en la estación de nortes (64.06 %); no se encontraron diferencias significativas

Cuadro 1. Composición estacional (2002-2003) de ácidos grasos de *Halymenia floresii*.

Ácidos grasos (%)	Identificación*	Media bianual	Secas (Jun. 02)	Lluvias (Oct. 02)	Secas (Jun. 03)	Lluvias (Sep. 03)	Nortes (Dic. 03)
C14:0 (Ácido mirístico)	94.90%	4.05±0.24	-	3.81	-	4.29	-
C16:0 (Ácido palmítico)	98.46%	76.43±3.37	84.02	76.89	80.51	76.67	64.06
C18:0 (Ácido esteárico)	92.68%	4.37±0.89		6.64	4.90	3.29	2.66
C18:1 Δ9 (Ácido oléico)	92.43%	15.35±0.84	15.98	12.67	14.60	15.76	17.76
AGS	-	81.55±3.75	84.02	87.34	85.41	84.25	66.72
AGMI	-	15.35±0.84	15.98	12.67	14.60	15.76	17.76
AGS/AGMI	-	5.42±0.51	5.26	6.89	5.85	5.35	3.76
Lípidos totales (%), ps	-	0.91±0.23	0.59	0.58	0.53	1.11	1.74

* La identificación de las sustancias fue a través de la comparación de los espectros de masas con el banco de datos del sistema de CG-EM de NIST, versión 2.0. Se calcula el % de similitud.

Metil ester (%), media ± ES (n=5); AGS = ácidos grasos saturados; AGMI = ácidos grasos monoinsaturados. ps = peso seco.

entre la estación de lluvias y secas ($t: 3.119; p=0.089$). Al comparar los niveles bianuales de ácidos grasos SAFA estos son significativamente más altos ($81.55\pm3.75\%$) que los insaturados MUFA ($15.35\pm0.84\%$). El ácido mirístico (C14:0, $4.05\pm0.24\%$) y esteárico (C18:0, $4.37\pm0.89\%$) se presentaron en menor proporción comparados con el ácido palmítico (C16:0, $76.43\pm3.37\%$). De los monoinsaturados solo se detectó el ácido oleico (C18:1, $15.35\pm0.84\%$); no se encontró diferencias significativas entre la estación de secas y lluvias para el ácido oleico ($t: 0.635; p=0.590$). La proporción AGS/AGMI fue mayor en la época de secas y lluvias ($5.26-6.89\%$) en comparación con la estación de nortes (3.76%). La proporción bianual promedio (AGS/AGMI) fue $5.42\pm0.51\%$.

DISCUSIÓN

Un aumento de la proporción de AGS/AGMI indica concentraciones elevadas de ácidos saturados (AGS), pero una disminución muestra concentraciones mayores de ácidos grasos insaturados (AGMI). En el

cuadro 1 vemos que en nortes los insaturados (AGMI) son ligeramente más elevados (17.76%) que en lluvias ($12.67-15.76\%$). Algunos estudios han documentado que el incremento de los ácidos grasos insaturados esta relacionado con la disminución de la temperatura (Cohen *et al.*, 1988; Nelson *et al.*, 2002; Ivesa *et al.*, 2004). En el área de estudio las más bajas temperaturas se registraron en la época de nortes ($23-24^{\circ}\text{C}$); en lluvias se registran máximos de temperatura de 27.93°C (Estación Metereológica de la Comisión Nacional del Agua). Bajas temperaturas y concentraciones menores de nitrógeno en el medio también influyen en elevados niveles de ácidos grasos insaturados (Mirshra, 1993). Esto es más evidente en las algas de las regiones árticas y antárticas donde la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados en macroalgas marinas se reporta extremadamente alta, en algunos casos 60 a 80% de los ácidos grasos totales (Graeve *et al.*, 2002). Sin embargo en los trópicos es más difícil observar este patrón ya que sus diferencias son menos marcadas. Las diferencias estacionales en las concentraciones de ácidos grasos puede deberse a la existencia de rutas metabólicas

Cuadro 2. Comparativo de los principales ácidos grasos en *Halymenia floresii* y otras algas.

Ácidos grasos	<i>H. floresii</i>	<i>H. porphyroides</i> ¹	Nori ²	Dulse ²
C14:0	4.05±0.24	3.86	0.53 ³	10.42
C16:0	76.43±3.37	76.41	44.20	65.19
C18:0	4.37±0.89	2.27	2.27	5.25
C18:1 Δ9	15.35±0.84	1.42	22.57	19.15
AGS	81.55±3.75	85.54	47	80.86
AGMI	15.35±0.84	1.42	22.57	19.15
AGS/AGMI	5.42±0.51	58.12	2.08	4.22

¹ India, Shameel (1990)² Los porcentajes fueron obtenidos del análisis de muestras comerciales de nori (*Porphyra* sp.) y dulse (*Palmaria palmata*).³ *Porphyra* sp. (Península Ibérica, Sánchez Machado *et al.*, 2004)

en algas marinas rojas que mantienen la homeostasis de su composición de ácidos grasos bajo diferentes condiciones ambientales (Floreno *et al.*, 1993). Estos autores señalan también que diferencias cualitativas en la composición de ácidos grasos en algas marinas rojas pueden tener un origen genético; similarmente Levy *et al.* (1992) sugieren que la heterogeneidad morfológica y fisiológica de los talos de algas marinas influye en la compleja composición de los ácidos grasos.

En general al comparar las concentraciones de ácidos grasos presentes en *Halymenia floresii* con las algas comerciales como el “nori” y “dulse” (Cuadro 2) se encontró que *H. floresii* es rica en ácidos grasos saturados (AGS). Los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), en especial el ácido oléico, en *H. floresii* (15.35±0.84%) presenta valores cercanos al “dulse” (19.15%) y al “nori” (22.57%), y valores elevados en comparación con *H. porphyroides* (1.42%).

Son requeridas mayores investigaciones sobre la composición de ácidos grasos en rodofitas, principalmente de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) que son muy inestables por la presencia de insaturaciones y su sensibilidad a cambios en la temperatura.

CONCLUSIONES

H. floresii produce la mayor concentración de ácidos grasos monoinsaturados en la estación de nortes y saturados el resto del año (secas y lluvias). Con base en las comparaciones con algas comerciales se puede decir que *H. floresii* es rica en ácidos grasos y puede competir con algas que se venden en el mercado mundial, lo que sería una propuesta factible en su probable comercialización. Los resultados obtenidos en este trabajo también proporcionan un punto de partida sobre el conocimiento básico de la variación estacional de ácidos grasos en *Halymenia floresii*, lo cual puede tomarse en consideración en futuros estudios para la explotación de las poblaciones naturales.

AGRADECIMIENTOS

A Ma. Luisa Zaldivar Romero y Ma. Crescencia Chávez Quintal por su apoyo en el laboratorio. A Javier Pérez por su ayuda en los análisis CG-EM. Gracias a Kenneth Cervera-Cervera y Roberto Hernández Landa por su ayuda en el trabajo de buceo.

REFERENCIAS

- Bligh, E.G., Dyer. W.J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* **37**: 911-917.
- Blouin, N., Calder, B.L., Perkins, B., Brawley, S.H. (2006) Sensory and fatty acid analyses of two Atlantic species of *Porphyra* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* **18**: 79-85.
- Chapman, V.J. (1970) Seaweeds and their uses. Methuen & Co. LTD, London, 304 pp.
- Cohen, Z., Vonshak, A., Richmond, A. (1988) Effect of environmental conditions on fatty acid composition of the red alga *Porphyridium cruentum*: correlation to growth rate. *Journal of Phycology* **24**: 328-332.
- Chopin, T. (1998) The seaweed resources of eastern Canada. In Critchley, A.T., Ohno, M. (eds) Seaweed resources of the world. Yokosuka: Japan International Cooperation Agency, pp. 273-382.
- Darcy-Vrillon, B. (1993) Nutritional aspects of developing use of marine macroalgae for the human food industry. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **44**: 523-525.
- Espinosa Ávalos, J. (1994-1995) Seaweed as food in the Caribbean. *Applied Phycology Forum* **11**: 13.
- Floreto, E.A.T., Teshima, S. (1998) The fatty acid composition of seaweeds exposed to different levels of light intensity and salinity. *Botanica Marina* **41**: 467-481.
- Floreto, E.A.T., Hirata, H., Ando, S., Yamasaki, S. (1993) Fatty acid composition of *Ulva pertusa* Kjellman (Chlorophyta) and *Gracilaria incurvata* Okamura (Rhodophyta) in Japanese coastal water. *Botanica Marina* **36**: 217-222.
- Graeve, M., Kattner, G., Wiencke, C., Karsten, U. (2002) Fatty acid composition of Arctic and Antarctic macroalgae: indicator of phylogenetic and trophic relationships. *Marine Ecology Progress Series* **231**: 67-74.
- Ito, K., Hori, K. (1989) Seaweed: Chemical composition and potential food uses. *Food Reviews International* **5**: 101-144.
- Iveša, L., Blažina, M., Najdek, M. (2004) Seasonal variation in fatty acid composition of *Caulerpa taxifolia* (M. Vahl) C. Ag. in the northern Adriatic Sea (Malinska, Croatia). *Botanica Marina* **47**: 209-214.
- Khotimchenko, S., Yakovleva, I.M. (2005) Lipid composition of red alga *Tichocarpus crinitus* exposed to different levels of photon irradiance. *Phytochemistry* **66**: 73-79.
- Levy, I., Maxim, C., Friedlander, M. (1992) Fatty acid distribution among some red algal macrophytes. *Journal of Phycology* **28**: 299-304.
- Littler, D.S., Littler, M.M. (2000) *Caribbean Reef Plants. An identification guide to the reef plants of the Caribbean, Bahamas, Florida and Gulf of Mexico*. OffShore Graphics, Inc., Washington, D.C., 542 pp.
- Mabeau, S., Fleurence, J. (1993) Seaweed in food products: Biochemical and nutritional aspects. *Trends in Food Science & Technology* **4**: 103-107.
- McHugh, D.J. (2002) Perspectivas para la producción de algas marinas en los países en desarrollo. FAO Circular de Pesca. No. 968, Roma.
- Nelson, M.M., Phleger, C.F., Nichols, P.D. (2002) Seasonal lipid composition in macroalgae of the northeastern Pacific ocean. *Botanica Marina* **45**: 58-65.
- Ortegón Aznar, I., Freile Pelegrín, Y. Robledo, D. (2010) Capítulo 4. Especies Diversidad vegetal Algas. In Durán R., Méndez, M. (eds) Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. Yucatán: CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA, pp. 162-164.

- Sánchez Machado, D.I., López Cervantes, J., López Hernández, J., Paseiro Losada, P. (2004) Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry* **85**: 439-444.
- Shameel, M. (1990) Phycochemical studies on fatty acids from certain seaweeds. *Botanica Marina* **33**: 429-432.
- Sridharan, R., Moses Babu, J., Triverdi, G.K., Mathur, H.H. (1991) Fatty-acid composition of some marine algae from Indian waters. En: Thompson, M.F., Sarojini, R., Nagabhushanam, R. (eds) Bioactive compounds from marine organisms with emphasis on the Indian Ocean. India: An Indo-United States Symposium, pp. 201-204.