

PROSES EKSTRAKSI KARAGENAN DARI *Eucheuma cottonii*

Sperisa Distantina¹, Fadilah¹, Rochmadi², Moh. Fahrurrozi², Wiratni²

¹Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sebelas Maret
Jl. Ir Sutami no. 36a Surakarta

²Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Gadjah Mada
Jl. Grafika no. 2 Yogyakarta
distantina@uns.ac.id

Abstract

Kappa carrageenan extraction process was developed for Eucheuma cottonii by investigating the effects of water and KOH solution (concentration 0.1, 0.2, and 0.3N) as the solvent on carrageenan yield and gel properties. Extraction process was carried out with a constant ratio of seaweed weight to solvent volume (1:30; g/mL) at 100°C in water bath equipped by shaker and at different time until the equilibrium was attained (60 minutes). The extract was then precipitated in 3 volume of 90% ethanol, oven dried at 60°C until constant weight. Based on experimental data, pure water was the most efficient solvent with regard to yield but certainly not gel strength. Alkali significantly influenced carrageenan yield and properties. Increasing the KOH concentration leads to carrageenan containing less sulfate content. The gel strength was improved as the increasing KOH concentration. Also, the sulfate content decreased with the increasing extraction time. The extraction product was found to have virtually identical FTIR spectra to the reference samples of kappa-carrageenan.

Keyword: extraction, carrageenan, gel strength, sulfate, *Eucheuma cottonii*.

1. Pendahuluan.

Karagenan adalah polisakarida yang diekstraksi dari beberapa spesies rumput laut atau alga merah (*rhodophyceae*). Karagenan adalah galaktan tersulfatasi linear hidrofilik. Polimer ini merupakan pengulangan unit disakarida. Galaktan tersulfatasi ini diklasifikasi menurut adanya unit *3,6-anhydro galactose* (DA) dan posisi gugus sulfat, seperti yang disajikan di gambar 1 (Campo et al. 2009). Tiga jenis karagenan komersial yang paling penting adalah karagenan iota, kappa dan lambda. Sedangkan karagenan mu adalah prekursor karagenan kappa, karagenan nu adalah prekursor iota. Jenis karagenan yang berbeda ini diperoleh dari spesies *rhodophyta* yang berbeda. Secara alami, jenis iota dan kappa dibentuk secara enzimatik dari prekursornya oleh *sulfohydrolase*. Sedangkan secara komersial, jenis ini diproduksi menggunakan perlakuan alkali atau ekstraksi dengan alkali.

Karagenan komersial memiliki berat molekul massa rerata berkisar 400.000 sampai 600.000 Da. Selain galaktosa dan sulfat, beberapa karbohidrat juga ditemui, seperti *xylose*, *glucose*, *uronic acids*, dan substituen seperti methyl esters dan grup *pyruvate* (Van De Velde, 2002).

Saat ini jenis karagenan kappa didominasi dipungut dari rumput laut tropis *Kappaphycus alvarezii*, yang di dunia perdagangan dikenal sebagai *Eucheuma cottonii*. *Eucheuma denticulatum* (dengan nama dagang *Eucheuma spinosum*) adalah spesies utama untuk menghasilkan jenis karagenan iota. Karagenan lambda diproduksi dari spesies *Gigartina* dan *Condrus* (Van de Velde et al., 2002).

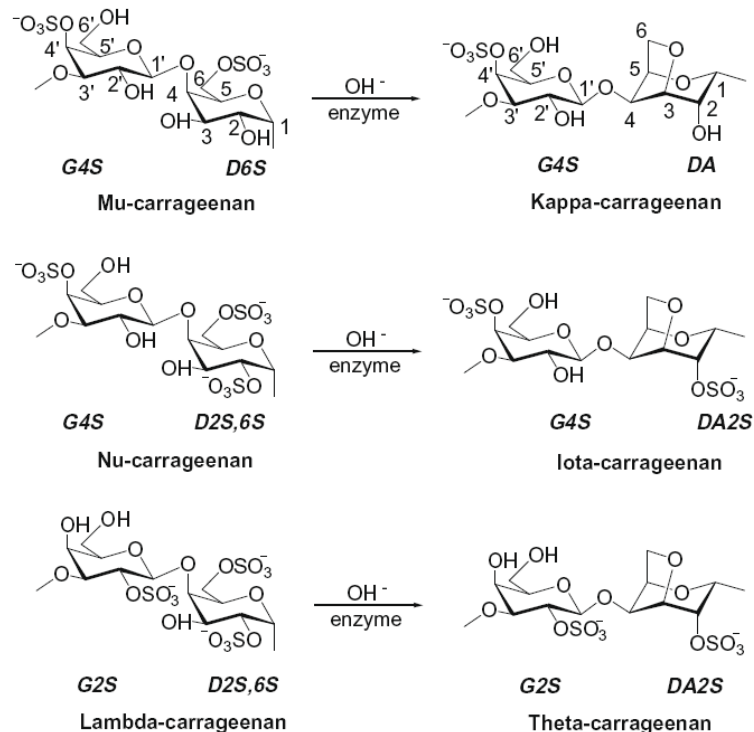
Polimer alam ini memiliki kemampuan untuk membentuk gel secara *thermo-reversible* atau larutan kental jika ditambahkan ke dalam larutan garam sehingga banyak dimanfaatkan sebagai pembentuk gel, pengental, dan bahan penstabil di berbagai industri seperti pangan, farmasi, kosmetik, percetakan, dan tekstil (Van de Velde et al., 2002; Campo et al., 2009).

Pembentukan DA atau pengurangan sulfat merupakan reaksi penting dan dikenal sebagai reaksi karagenan seperti yang ditunjukkan gambar 1, serta digunakan untuk meningkatkan sifat gelasi (Campo et al., 2009). Studi kecepatan reaksi pembentukan DA yang pernah dilakukan (Ciancia et al.; 1993; 1997; Navarro et al. 2005; 2007) mereaksikan ekstrak karagenan dengan alkali, dan belum meninjau peristiwa ekstraksi dan reaksi secara simultan. Dalam prakteknya, penambahan alkali dilakukan saat ekstraksi rumput laut. Montolalu et al. (2008) mempelajari pengurangan berat molekul dengan meningkatnya suhu (50-70°C) dan waktu ekstraksi (1, 3, 5 jam) *Eucheuma cottonii*.

Penelitian ini bertujuan mempelajari pengaruh penggunaan alkali pada pemungutan karagenan dari rumput laut *Eucheuma cottonii* terhadap kecepatan ekstraksi dan pengurangan sulfat secara simultan dan sifat gel karagenan.

Gambar 1. Skema struktur pengulangan disakarida pada karagenan komersial.

2. Bahan dan Metode Penelitian.



2.1. Penyiapan bahan baku

Rumput laut *Eucheuma cottonii* kering diperoleh dari PT SEAPlant Network, Sulawesi Selatan dan sebagai pembanding digunakan karagenan komersial (*Type I commercial grade SIGMA*). Semua rumput laut dibersihkan dari kotoran seperti pasir dan garam dengan cara dicuci menggunakan air, kemudian dipotong-potong

menjadi ± 1 cm, selanjutnya dikeringkan di bawah sinar matahari sampai berat konstan.

2.2. Pemungutan karagenan dengan pelarut akuades

Rumput Laut *Eucheuma cottonii* kering dengan berat 2,5 g direndam dalam akuades selama 15 menit. Setelah itu disaring dengan kain kemudian rumput laut diekstraksi. Ekstraksi dilakukan dalam erlenmeyer yang dipanaskan dalam *shacker water bath*. Mula-mula pelarut dipanaskan terlebih dahulu, setelah mencapai suhu 90°C rumput laut dimasukkan dan waktu ekstraksi mulai dihitung. Rasio rumput laut kering – pelarut adalah 1:30 (g/mL). Volum pelarut dijaga konstan dengan cara menambahkan akuades panas setiap saat. Setelah waktu tertentu, ekstraksi dihentikan dengan cara filtrat dipisahkan dari ampas rumput laut. Filtrat ini ditampung ke dalam gelas beker yang berisi etanol teknis 90% dengan 3 kali volum filtrat, sambil diaduk sehingga terbentuk serat-serat hidrokoloid (serat karagenan). Setelah didiamkan sekitar 30 menit, serat ini disaring dan dicuci dengan akuades sampai air cucian ber-pH netral. Karagenan basah dikeringkan dalam oven 60°C sampai beratnya konstan sehingga diperoleh karagenan kering (kertas karagenan). Semua tahap di atas diulang untuk variasi waktu ekstraksi.

2.3. Pemungutan karagenan dengan pelarut KOH

Pemungutan karagenan dengan pelarut KOH dilakukan seperti pemungutan karagenan dengan akuades, tetapi rumput laut kering yang digunakan sebanyak 5 g. Percobaan ini dilakukan dengan variasi konsentrasi pelarut KOH yaitu 0,1N, 0,2 N serta 0,3N.

2.4. Analisis karagenan

Rendemen karagenan merupakan rasio berat karagenan kering yang dihasilkan dengan berat rumput laut kering.

Analisis kadar sulfat dalam karagenan menggunakan metode hidrolisis dilanjutkan pengendapan sulfat sebagai barium sulfat. Sampel 0,5g (W1) dihidrolisis dengan 50 mL 0,1N HCl selama 15 menit pada suhu didih. Sejumlah 10 mL BaCl_2 0,25M ditambahkan sedikit demi sedikit sambil dididihkan selama 5 menit. Setelah didinginkan selama 5 jam, endapan disaring menggunakan kertas saring Whatman (no. 42 ashless) dan

selanjutnya dibakar dalam furnace pada 700°C selama 1 jam. Berat abu putih merupakan berat barium sulfat (W2). Kadar sulfat dihitung dengan :

$$\% \text{ sulfat} = (W2/ W1) \times 100 \times 0,4116$$

Kekuatan gel, suhu pembentukan gel dan suhu pelelehan gel ditentukan menggunakan metode Falshaw et al. (1998) dengan sedikit modifikasi. Karagenan kering dilarutkan dalam akuades dengan pemanasan sehingga diperoleh larutan 1,5% (berat/volum). Untuk menentukan kekuatan gel (*gel strenght*, GS), larutan karagenan 1,5% sebanyak 10 mL dituang dalam gelas (diameter 3 cm) dengan ketinggian larutan berkisar 1,2 – 1,4 cm. Setelah didiamkan selama semalam pada suhu kamar, gelas diletakkan di atas timbangan. Batang silinder stainless (luas penampang=0,786 cm²) diletakkan di atas sampel, kemudian ditekan menggunakan tangan sampai gel pecah dan berat dicatat. GS adalah selisih berat gel sebelum pecah dan setelah pecah dibagi luas penampang silinder stainless.

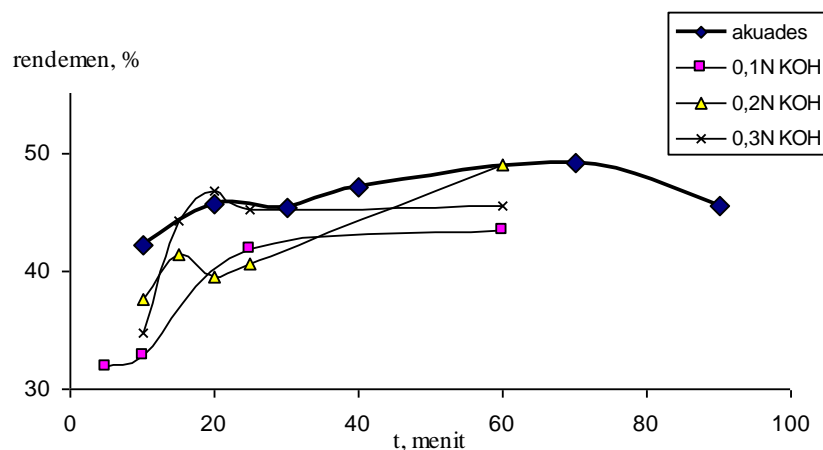
Untuk menentukan suhu pembentukan gel dan suhu pelelehan gel, larutan karagenan 1,5% dituang dalam tabung reaksi (diameter = 1,3 cm) dan didiamkan selama semalam pada suhu kamar dengan posisi vertikal. Sebuah bola plastik (diameter 5mm) diletakkan di atas gel dan tabung dipanaskan dalam *water bath* yang kecepatan pemanasannya 2°C/menit. Suhu pelelehan gel (T_m) adalah suhu *water bath* dimana bola mulai tenggelam sampai ke dasar tabung. Sampel yang sama selanjutnya dianalisis suhu pembentukan gelnya. Untuk menentukan suhu pembentukan gel, pemanasan *water bath* dimatikan dan setiap menit tabung reaksi diposisikan horisontal. Suhu pembentukan (T_g) adalah suhu *water bath* dimana larutan mulai membentuk gel sampai tidak mengalir lagi.

Identifikasi komposisi kimia karagenan dengan spektrum Fourier Transform Infrared (FTIR) menggunakan FTIR spectrometer Shimadzu.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Rendemen karagenan

Gambar 2 menunjukkan hubungan waktu ekstraksi dan rendemen karagenan yang dihasilkan dari ekstraksi dengan pelarut akuades dan pelarut KOH 0,1, 0,2 dan 0,3 N. Pelarut akuades menghasilkan rendemen terbanyak dibandingkan pelarut alkali. Tampak dari gambar 2, waktu ekstraksi untuk mencapai keadaan seimbang adalah berkisar 30 - 40 menit. Ada kecenderungan konsentrasi KOH semakin tinggi maka rendemen yang dihasilkan semakin meningkat pula.



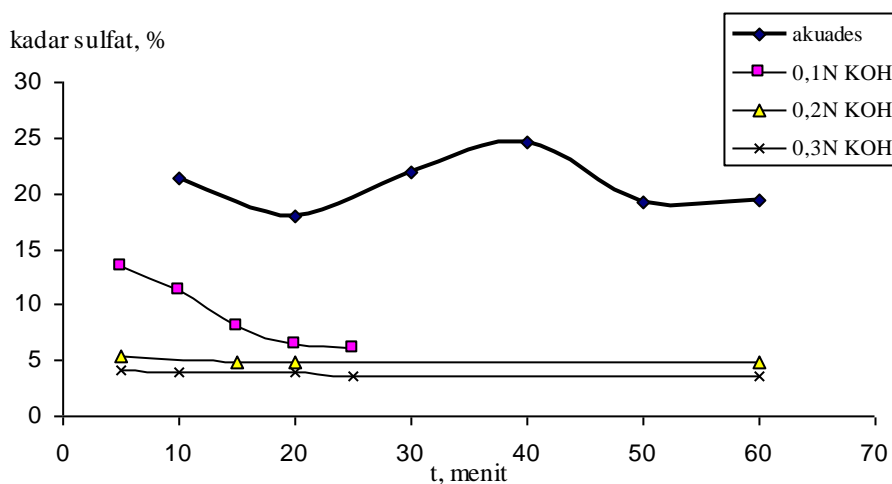
Gambar 2. Rendemen karagenan yang dihasilkan dari pelarut dengan konsentrasi KOH berbeda dan akuades.

Dibandingkan dengan akuades, rendahnya rendemen pada ekstraksi menggunakan KOH disebabkan pemecahan polimer oleh alkali, sehingga produk dengan berat molekul rendah tidak dapat diendapkan pada tahap presipitasi dengan alkohol. Namun, kenaikan konsentrasi KOH justru tidak menimbulkan pemecahan polimer. Hal ini ditandai dengan meningkatnya rendemen dengan naiknya konsentrasi alkali. Kecenderungan ini juga ditunjukkan ekstraksi *Fulcellaria lumbricalis* dengan KOH 0,1 – 1N (Tuvikene et al., 2006). Dengan demikian ekstraksi dengan konsentrasi alkali rendah dapat menyebabkan degradasi karagenan.

3.2. Kadar sulfat

Gambar 3 menjelaskan hubungan waktu ekstraksi dan kadar sulfat dalam karagenan yang dihasilkan dari ekstraksi dengan pelarut akuades dan pelarut KOH 0,1, 0,2 dan 0,3 N. Kadar sulfat dalam karagenan yang dihasilkan dengan pelarut air dapat diasumsikan sebagai kadar sulfat dalam rumput laut *Euचेuma cottonii*. Asumsi ini sesuai penjelasan pengaruh alkali dalam reaksi pengurangan sulfat dalam karagenan, seperti yang ditunjukkan dalam gambar 1. Meskipun tidak ada reaksi, kadar sulfat dalam rumput laut tampak bervariasi dari 17,9% sampai dengan 24,7%. Hal ini disebabkan bervariasinya rumput laut yang diekstraksi, mengingat dalam percobaan setiap ekstraksi menggunakan rumput laut yang tidak sama, meskipun sudah diusahakan membuat bahan baku lebih homogen.

Pengaruh konsentrasi KOH terhadap kecepatan pengurangan sulfat dalam karagenan terlihat pada kurva gambar 3. Konsentrasi KOH semakin besar menghasilkan kecepatan pengurangan sulfat semakin cepat, hal ini ditunjukkan dengan selisih antara kadar sulfat setiap saat dengan kadar sulfat awal dalam rumput laut. Ciancia et al. (1993) mereaksikan larutan NaOH (1,0 – 6,0 M) dan karagenan (yang diekstrak dari *Gigartina skottsbergii* menggunakan pelarut air), dan melaporkan bahwa reaksi pembentukan DA merupakan reaksi order 1 semu. Dijelaskan pula, bahwa konsentrasi NaOH (1-6M) semakin besar, konstanta kecepatan reaksinya semakin besar pula.



Gambar 3. Kadar sulfat dalam karagenan yang dihasilkan dari pelarut dengan konsentrasi KOH berbeda dan akuades.

Pada penggunaan KOH 0,1N, dengan waktu ekstraksi semakin lama terlihat bahwa kadar sulfat dalam karagenan semakin berkurang. Pada artikel ini, kinetika reaksi pengurangan sulfat belum dipelajari, tetapi secara visual terlihat bahwa kecepatan pengurangan sulfat terjadi sangat cepat pada 20 menit pertama. Setelah 20 menit, pengurangan sulfat menurun sehingga pada kondisi ini sudah mencapai keadaan reaksi keseimbangan.

3.3. Sifat gel

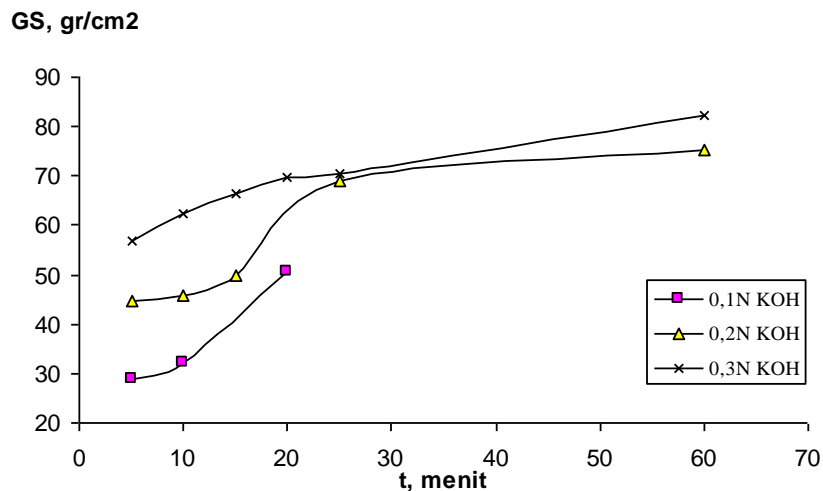
Viskositas dan kekuatan gel karagenan merupakan sifat utama yang diperlukan untuk diterapkan di industri pangan dan farmasi. Menurut Campo et al. (2009) pembentukan gel merupakan hasil *crosslinking* antara rantai heliks yang berdekatan, dengan grup sulfat menghadap ke bagian luar. Kelarutan dalam air sangat dipengaruhi kadar grup sulfat (bersifat hidrofilik) dan kation dalam karagenan. Kation yang terionisasi yang dijumpai dalam karagenan adalah sodium (Na), potasium (K), kalsium (Ca), dan magnesium (Mg). Banyaknya fraksi sulfat dan keseimbangan kation dalam air menentukan kekentalan atau kekuatan gel yang dibentuk karagenan (Campo et al., 2009).

Gambar 4 menampilkan data percobaan pengaruh jenis pelarut dalam ekstraksi terhadap kekuatan gel (GS) karagenan yang dihasilkan. Pada percobaan, larutan karagenan 1,5% (berat/volum) yang diekstrak menggunakan akuades tidak dapat membentuk gel. Oleh karena itu, analisis sifat gel karagenannya tidak dapat dilakukan. Hal ini menunjukkan bahwa kekuatan gel karagenan yang dihasilkan dengan pelarut akuades sangat rendah. Sementara itu, dalam waktu satu malam, gel dari karagenan yang dihasilkan dengan pelarut KOH sudah terbentuk.

Pada penelitian ini, penggunaan konsentrasi KOH lebih tinggi menyebabkan kadar sulfat dalam karagenan berkurang lebih banyak, dan sebagai akibatnya kekuatan gelnya juga semakin tinggi. Sesuai penjelasan Campo (2009), pengurangan sulfat menyebabkan terbentuknya konformasi DA yang dapat menyebabkan *crosslinking* sehingga terbentuk fase gel.

Pada konsentrasi KOH yang sama, waktu ekstraksi berpengaruh terhadap kekuatan gel karagenan yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pengurangan sulfat yang terjadi, dimana waktu ekstraksi semakin lama maka kandungan sulfat semakin kecil. Akibatnya, kekuatan gel juga semakin tinggi.

Pada KOH 0,2N, peningkatan kekuatan gel tidak terlalu besar setelah 30 menit ekstraksi. Sedangkan pengurangan kadar sulfat mulai menurun pada waktu ekstraksi 20 menit. Hal ini menunjukkan ada korelasi yang signifikan antara kadar sulfat dengan kekuatan gel.



Gambar 4. Kekuatan gel (GS) karagenan yang dihasilkan dari pelarut dengan konsentrasi KOH berbeda dan akuades.

Sifat gel lainnya, yaitu suhu pelelehan dan suhu pembentukan gel pada variasi jenis pelarut disajikan di tabel 1. Karagenan yang dihasilkan dengan pelarut KOH 0,3N pada waktu ekstraksi 60 menit akan mulai meleleh pada suhu 55 °C dan benar-benar mencair sempurna pada suhu 47°C. Karagenan ini akan mulai membentuk gel pada 47°C dan benar-benar membeku sempurna pada suhu 32°C. Ada kecenderungan bahwa konsentrasi KOH semakin tinggi, suhu mulai meleleh dan suhu mulai membentuk gel lebih tinggi.

Tabel 1. Suhu pelelehan dan pembentukan gel karagenan dari beberapa variasi jenis pelarut.

waktu , menit	0,1N KOH		0,2N KOH		0,3N KOH	
	Tm, °C	Tg, °C	Tm, °C	Tg, °C	Tm, °C	Tg, °C
5	45-53	38-29	43-49	39-29	44-51	43-31
10	46-49	40-30	38-49	39-29	45-52	43-30
15	48-54	42-30.5	45-50	39-29	46-54	42-31
20	46-50	39-32	45-53	39-29	47-54	45-33
25	46-49	41-29	46-54	40-30	46-54	46-31
60	47-49	36-28	47-54	41-31	47-55	47-32

3.4. Spectra FTIR

Dalam spectra 1500-500 cm⁻¹, FTIR spectroscopy menunjukkan adanya berkas absorpsi yang sangat kuat pada daerah 1210-1260 cm⁻¹ (karena ikatan S=O pada eseter sulfat) dan daerah 1010-1080 cm⁻¹ (dianggap ikatan Glycosidic) pada semua jenis karagenan. Perbedaan utama karagenan kappa dan iota ditunjukkan dengan lebar spektrum 840-850 cm⁻¹ (galactose-4-sulfate) yang dimiliki karagenan jenis kappa, sedangkan spektrum 800-805 cm⁻¹ (3,6-anhydrogalactose-2-sulfate) yang dimiliki karagenan iota (Uy et al., 2005). Spectra FTIR menunjukkan bahwa karagenan baik hasil penelitian ini (dengan pelarut KOH 0,3N) maupun produk Sigma memperlihatkan struktur kimia karagenan jenis kappa. Karagenan yang dihasilkan dari *Eucheuma cottonii* pada penelitian ini menunjukkan spektrum 1234 cm⁻¹ (ester sulfat), 925 cm⁻¹ (3,6-anhydrogalactose), dan 848,68 cm⁻¹ (galactose-4-sulfate). Karagenan produksi Sigma memiliki spektrum 1257 cm⁻¹ (ester sulfat), 925 cm⁻¹ (3,6-anhydrogalactose) dan 848,68 cm⁻¹ (galactose-4-sulfate).

Data percobaan menunjukkan kadar sulfat dalam karagenan produksi Sigma adalah 13,17%, kekuatan gel adalah 102,56 g/cm² dan Tm berkisar 54-57°C serta kisaran Tg adalah 49-32°C. Meskipun kadar sulfatnya lebih tinggi (13,17%) dibandingkan karagenan yang dihasilkan dari penelitian dengan KOH 0,3N yang berkisar 4%, tetapi kekuatan gelnya lebih besar. Hal ini bisa dijelaskan dengan hasil analisis FTIR. Jika dilihat dari

analisis FTIR, rasio absorptansi(A) DA terhadap glycosidic atau $A(925,83)/A(1072,42)$ untuk karagenan *Eucheuma cottonii* adalah 0,499, sedangkan untuk Sigma adalah 0,806. Nilai ini menunjukkan kadar DA dalam karagenan Sigma lebih tinggi dibanding karagenan pada penelitian ini. Rasio absorptansi ester sulfat terhadap glycosidic atau $A(1257,29)/A(1072,29)$ untuk karagenan Sigma adalah 0,898, sedangkan untuk karagenan penelitian ini adalah 0,706. Nilai ini mengidentifikasi bahwa kadar ester sulfat dalam karagenan Sigma lebih banyak dibandingkan karagenan dari *Eucheuma cottonii* yang dihasilkan penelitian ini. Oleh karena itu, meskipun karagenan sigma memiliki ester sulfat yang tinggi, tetapi kadar DA juga tinggi, hal inilah yang menyebabkan kekuatan gelnya besar. Hal ini bisa dipahami mengingat jenis dan kualitas bahan baku rumput laut serta metode pengolahan yang digunakan berbeda.

4. Kesimpulan.

Spektra yang ditunjukkan FTIR menyatakan bahwa karagenan yang dihasilkan dari *Eucheuma cottonii* dan Sigma Type I merupakan karagenan jenis kappa. Kualitas karagenan sangat dipengaruhi metode pemungutannya. Pada penelitian ini, karagenan diekstraksi dari *Eucheuma cottonii*. Penggunaan pelarut air akan menghasilkan rendemen yang tinggi, tetapi sifat gel yang kurang baik. Sementara itu, penggunaan KOH 0,1-0,3N mampu mengurangi sulfat dalam rumput laut, sehingga mampu meningkatkan beberapa sifat gel karagenan. Kecepatan pengurangan sulfat lebih cepat dicapai pada konsentrasi KOH yang lebih tinggi. Pada penelitian ini, ekstraksi dijalankan dengan rasio volum pelarut -berat rumput laut adalah 1:30 (g/mL) pada 90°C menggunakan *shacker water bath* menunjukkan peningkatan yield mulai menurun setelah sekitar 30 menit ekstraksi, sedangkan pengurangan sulfat mulai menurun pada kisaran waktu ekstraksi 20 menit.

Ucapan terimakasih.

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini melalui hibah penelitian Strategis Nasional Universitas Sebelas Maret 2010.

Daftar Notasi.

Tg = suhu pembentukan gel karagenan, °C.

Tm = suhu pelelehan gel karagenan, °C.

GS = kekuatan gel, g/cm².

t = waktu ekstraksi, menit.

Daftar Pustaka.

- Campo, V.L., Kawano, D.F., Silva Júnior, D.B., Ivone Carvalho, I., 2009, "Carrageenans: Biological Properties, Chemical Modifications and Structural Analysis", *Carbohydrate Polymers*, 77, 167-180.
- Ciancia, M., Nosedà, M.D., Matulewicz, M.C., and Cerezo, A.S., 1993, "Alkali-modification of Carrageenans: Mechanism and Kinetics in the kappa/iota-, mu/nu- and lambda-series", *Carbohydrate Polymers* 20, 95-98.
- Ciancia, M., Matulewicz, M.C. and Cerezo, A.S., 1997, "Alkaline Modification of Carrageenans. Part III. Use of mild alkaline media and high ionic strengths", *Carbohydrate Polymers*, 32, 293-295
- Falshaw, R., Furneaux, R.H., and Stevenson, D.E., 1998, "Agars from Nine Species of Red Seaweed in the Genus *Curdie* (*glacilariaceae*, *rhodophyta*)", *Carbohydrate Research*, 308, 107-115.
- JECFA, 2001, Processed *Eucheuma cottonii*, www.marinalg.org, diunduh 23 Juni 2010.
- Montolalu, R.I., Tashiro, Y., Matsukawa, S., and Ogawa, H., 2008, "Effect of Extraction Parameters on Gel Properties of Carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta)", *J. App. Phycol.*, 20, 521-526.
- Navarro, D.A., Stortz, C.A., 2005, "Microwave-assisted Alkaline Modification of Red Seaweed galactans", *Carbohydrate Polymers*, 62, 187-191.
- Navarro, D.A., Flores, M.L., Stortz, A.C., 2007, "Microwave-assisted Desulfation of Sulfated Polysaccharides", *Carbohydrate Polymers*, 69, 742-747.
- Tuvikene, R., Truus, K., Vaher, M., Kailas, T., Martin, G., and Kersen P., 2006, "Extraction and Quantification of Hybrid Carrageenans from the Biomass of the Red Algae *Fulcellarian lumbricalis* and *Cocotylus truncatus*", *Proc. Estonian Acad. Sci. Chem.*, 55, 1, 40-53.
- Uy, F.S., Easteal, A.J., and Fard, M.M., 2005, "Seaweed Processing Using Industrial Single-mode Cavity microwave heating : a preliminary investigation", *Carbohydrate Research*, 340, 1357-1364.
- Van de Velde, F., Knutsen, S.H., Usov, A.I., Romella, H.S., and Cerezo, A.S., 2002, "1H and 13 C High Resolution NMR Spectroscopy of Carrageenans: Application in Research and Industry", *Trend in Food Science and Technology*, 13, 73-92.