



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO COMPARATIVO DEL VALOR NUTRITIVO  
EN ALGUNAS ALGAS DEL VALLE DE MEXICO

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**Q U I M I C O**

P R E S E N T A :

**DANIEL LANDEROS CABALLERO**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS TESIS 1979  
SER M.T. 183  
PROM                       
NOME                       
N°                     



PRESIDENTE: GUADALUPE VELEZ PRATT

VOCAL: ALBERTO OBREGON PEREZ

SECRETARIO: CIRA PIÑA PEREZ

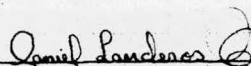
PRIMER SUPLENTE: RUBEN BERRA GARCIA-COSS

SEGUNDO SUPLENTE: MA. DEL CARMEN OLMOS PEREZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: DIVISION DE ESTUDIOS DE  
POSGRADO, FACULTAD DE QUIMICA, U.N.A.M.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUSTENTANTE:

DANIEL LANDEROS CABALLERO



NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL DIRECTOR DE TESIS:

DRA. CIRA PIÑA PEREZ





A LA MEMORIA DE MI MADRE:  
MA. DE JESUS CABALLERO DE LANDEROS

Y DE MI HERMANA:  
MA. DEL REFUGIO LANDEROS C.,

CON MI MAS PROFUNDO AGRADECIMIENTO Y CARIÑO  
A MI SEÑOR PADRE: SOTERO LANDEROS ARRIOLA

A MIS HERMANOS:  
JOSE LANDEROS C.  
RITA LANDEROS C.  
PORFIRIO LANDEROS C.  
MA. DE LOS ANGELES LANDEROS C.  
CELIA LANDEROS C.

DE QUIENES NUNCA ME HA FALTADO COMPRESION Y APOYO

A SOR AMALIA LANDEROS  
MI AGRADECIMIENTO.

A LA SRITA. QUIM. MA. ROSA HUERTA GALLARDO, QUIEN  
CON SU CARIÑO, COMPRENSION Y APOYO HA SIDO DE GRAN  
AYUDA PARA EL FELIZ TERMINO DE MI CARRERA.

A LA SRA. MA. DE LOS ANGELES ARCE  
MI RECONOCIMIENTO.

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN LA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
EN LOS DEPARTAMENTOS DE: QUIMICA  
INORGANICA, ALIMENTOS Y BIOQUIMI  
CA; AGRADEZCO SINCERAMENTE A TODO  
EL PERSONAL DE LOS MISMOS SU FINA  
ATENCION.

A LA DRA. CIRA PIÑA PEREZ  
A LA DRA. MARTHA ORTEGA M.  
A LA PROGRA. GUADALUPE VELEZ DE T.  
A LA PROFRA. MA. DEL CARMEN OLMOS PEREZ  
AL DR. ALBERTO ALARCON  
EN AGRADECIMIENTO A LA AYUDA PRESTADA  
Y AL INTERES QUE MOSTRARON DURANTE LA  
REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

AL H. JURADO

A MIS MAESTROS

A MIS COMPAÑEROS

CON AFECTO PARA:

QUIM. GUILLERMO BARRAZA ORTEGA

I.Q.M. CARLOS RODRIGUEZ CALDERA

I.Q. FRANCISCO MUÑOZ

AL DEPTO. DE ENVASE Y EMBALAJE (IMAI)

A LA FAMILIA HUGUES TREVIÑO

CON MUCHO CARINO.

# I N D I C E

CAPITULOS	PAGINAS
I. INTRODUCCION	1
II. GENERALIDADES	4
QUE SON LAS ALGAS	4
ORIGEN Y EVOLUCION	4
PHORMIDIUM TENUE	5
SPIRULINA MAXIMA	8
CHLORELLA VULGARIS BEIJERINCK	10
ULVA FASCIATA DELILE	11
III. PARTE EXPERIMENTAL	
PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS	13
MEDIOS DE CULTIVO	15
COSECHA	15
SECADO	16
MOLIENDA	16
ANALISIS QUIMICO BROMATOLOGICO	17
DETERMINACION DE AMINOACIDOS	18
IV. RESULTADOS	23
V ESTUDIO COMPARATIVO Y DISCUSION	26
CONCLUSIONES	29
APENDICE	31
BIBLIOGRAFIA	47

C A P I T U L O I

I N T R O D U C C I O N

Ante la urgente necesidad de suplir alimentos para el presente y sobre todo para el futuro, en particular el abastecimiento de proteína comestible, el hombre se ha propuesto estudiar no sólo proteínas de origen animal sino también de origen vegetal, entre estas últimas las algas, consideradas algunas de ellas en los últimos años como fuentes de mayor porcentaje protéico que el de algunos animales, (1, 10, 29, 30).

Se sabe que los ingredientes que componen la alimentación diaria, desde el punto de vista químico son siempre los mismos: proteínas, grasas, hidratos de carbono (azúcares y almidón), vitaminas y minerales. Las grasas junto con los hidratos de carbono son los principales proveedores de energía, y las proteínas son los elementos indispensables de la alimentación. Estructuralmente, las proteínas son polímeros formados por cadenas de unidades más sencillas: los aminoácidos. La calidad de las proteínas depende de la naturaleza y proporción de los aminoácidos que la constituyen, en especial de los aminoácidos esenciales: isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, tirosina, cisteína, metionina, treonina, triptofano y valina.

Cuando en la dieta diaria faltan las proteínas proveedoras de los aminoácidos esenciales, muchas funciones vitales son afectadas a causa de la desnutrición del individuo desde el momento de su concepción hasta el final de su vida, y muy particularmente durante su período de crecimiento y maduración (42). En el caso de los aminoácidos no-esenciales los daños son menores, ya que el organismo los sintetiza a partir de alimentos que contengan nitrógeno, (25).



El interés en el uso de las algas como suplemento para las dietas humanas y de animales, surge en los primeros años de la Segunda Guerra Mundial, desarrollándose investigaciones en los Estados Unidos y en Alemania para obtener alimentos primarios mediante el uso de algas por ser mucho más eficientes que plantas superiores en lo que se refiere a la capacidad de utilizar la energía de la luz solar. El resultado fue que se obtuvieron muchos conocimientos e información valiosa en el cultivo de algas (1,10,12,15).

El presente trabajo trata sobre cuatro algas que crecen en México: *Phormidium tenue*, *Spirulina maxima*, *Chlorella vulgaris* Beijerinck y la *Ulva fasciata* Delile\*. La *Spirulina maxima* y *Chlorella vulgaris* han sido estudiadas extensamente, siendo la primera de índole comercial, *Phormidium tenue* es una alga más bien de interés histórico y la *Ulva fasciata* hasta la fecha no se le ha dado el interés que merece. Mediante el estudio químico bromatológico y el análisis de la calidad en aminoácidos del contenido protéico de estos especímenes, el presente estudio, muestra los resultados obtenidos y tomando en cuenta que las dos primeras algas: *Spirulina* y *Chlorella* tienen una composición aceptable en cuanto aminoácidos esenciales se refiere de acuerdo a los requerimientos estándares de la FAO y el que han sido utilizadas por su valor nutrimental, comparativamente, las algas *Phormidium tenue* y *Ulva fasciata*, son merecedores de un estudio equivalente. Por lo tanto este trabajo es una contribución y al mismo tiempo un motivo de posibles investigaciones

3.

futuras a fin de aprovechar al máximo los recursos bióticos terrestres y marinos de México. Se puede opinar que en este estudio químico preliminar existe la factibilidad de que estas algas, puedan ser en un futuro no lejano, la posible solución al problema de la desnutrición de las clases marginadas.

C A P I T U L O I I

G E N E R A L I D A D E S

### ¿QUE SON LAS ALGAS?

Las algas son vegetales de organización sencilla, sin raíces, tallos, ni hojas.

Abarcan un gran grupo de organismos morfológicamente diverso , que contiene clorofila, por lo que realizan un tipo de fotosíntesis que produce oxígeno (4,7).

Su tamaño se extiende desde formas microscópicas monocelulares, más pequeñas que algunas bacterias, hasta las grandes algas marinas pardas que llegan a medir hasta 30 m. de longitud.

Los tipos que son pluricelulares se componen de tejidos relativamente poco diferenciados. Las algas son predominantemente acuáticas, y se muestran distribuidas en gran cantidad en: lagos, ríos, estanques, pantanos, océanos, (aguas dulces y/o saladas).

Las formas flotantes y nadadoras constituyen el Plancton de los océanos y lagos; en tanto que las que permanecen en el fondo constituyen Bentos.

Las diferentes especies exhiben una gran variedad de formas, tamaños y colores (4,7,8).

### Origen y evolución

Actualmente se piensa que el origen de las algas es con toda probabilidad anterior al de las plantas superiores, suponiéndose

que se han formado en el agua. Existen pocas pruebas de que todas tengan un origen común, esta afirmación sin embargo está en tela de juicio.

Algunos investigadores piensan que las plantas terrestres superiores proceden de la evolución de estas formas primitivas (7,8).

A continuación se describen las características sobresalientes de las especies estudiadas.

Phormidium tenue (ver apéndice Fig. A).

Es una alga Cyanophyta que crece en forma de céspedes compactos, membranosos y mucosos. Al principio sumergidos después se desprenden y flotan en la superficie. Cuando jóvenes son de color azul-verde después pardo amarillento. Los filamentos son de 1.8-2.2  $\mu$  de diámetro, delgados alargados, más o menos rectos, entrelazados y se encuentran localizados en los canales marginales del Lago de Texcoco (5).

Los primeros habitantes del Valle de México dieron diversos nombres a este producto vegetal que se formaba en la superficie del Lago de Texcoco, siendo los Aztecas los que primeramente las utilizaron como alimento. Los nombres que las daban inicialmente eran: "tecutlātl", "cuculín" y "amoxtle"; el primero de ellos desapareció con el tiempo y se le sustituyó por el de "cuculín"

o "cocol de agua", con el que se le conoce actualmente\*.

Quedaron muchos testimonios sobre las cualidades del "cocol de agua" entre ellos se puede nombrar los de Bernardino de Sahagún, de Motolinía, de Bernal Díaz del Castillo, y de G<sup>o</sup> ríbia, secretario de Hernán Cortés y anturalmente el propio Hernán Cortés; todos ellos la calificaron de sabrosa, con un gusto ligeramente salado subrayando el poder alimenticio de este producto desconocido en el Viejo Mundo. En un estudio reciente se expone en forma clara y precisa infinidad de de talles acerca de los usos actuales que tiene el "cocol de agua" así tenemos que las pescaderas lo utilizan para elaborar tama les. El "cocol" sólo se vende en algunos mercados: Coyoacán, La Merced, Zumpango, Xaltocan y Texcoco. Los consumidores son gente del pueblo (5).

La forma en como elaboran el producto llamado "cocol de agua" es la siguiente:

Los pescadores xaltocanos recojen el "cocol" cuando está madu ro o se "cuaja", o sea, cuando la capa de algas es lo suficien temente gruesa. La recolección la efectúan a mano o también con redes de malla fina que ellos mismos elaboran. Posterior mente es lavado a fin de eliminar por completo el fango, lo muelen en molcajetes y lo condimentan con: epazote (*Chenopodium ambosoides* L. ) o perejil (*Petroselinum hortense* Hofman), rajas de chiles verdes (*Capscium annum* L. *acuminatum* Fing) o chile guajillo (*C. annum* L. *Longum* Sendt) y manteca, y por último lo

cuecen al vapor en hojas de "maíz".

El preparado cocido toma un color pardo rojizo, tiene fuerte olor y sabor a humedad. Acompañado de tortillas y mole es agradable al gusto (5).

\* El "cocol de agua" está formado por un complejo de algas e invertebrados de diversos grupos, en el que se distinguen principalmente dos especies de algas azules. *Phormidium tenue* y *Chroococcus turgidus*, siendo dominante la primera.

Spirulina maxima ( Ver apéndice Fig. B).

Es una alga Cyanophyta que crece en forma de espiral cuyas unidades se enganchan unas con otras formando núcleos compactos que facilitan su cosecha. Tienen un diámetro de 0.25 a 0.50 mm. Se encuentran en el Lago de Texcoco de México y en países del Continente Africano, China y Bolivia principalmente. En Kanen y en la República del Tchad es recogida con cestas por los nativos y transportada en jarros, secada al sol sobre la arena y se consume en forma de salsa cocida acompañando las albóndigas de mijo (10).

En el año de 1957 se empezó a cultivar y a utilizar en México. En 1963 el Instituto Francés del Petróleo fué el primero en interesarse en el conocimiento de éstas algas y en 1967 se llevó a escala industrial el cultivo de la espirulina en las instalaciones de Sosa Texcoco.

Actualmente la espirulina se expende en el comercio como condimento alimenticio ya que contiene 10% de nitrógeno, lo que equivale a aproximadamente 60% de proteína en el producto seco, además de que contiene todos los aminoácidos esenciales en la proporción aproximada a la composición tipo establecida por la FAO.

El Instituto Nacional de Nutrición en México, que desde algún tiempo ha venido realizando numerosos estudios sobre las cualidades alimenticias de la espirulina, afirma que dicha alga, es un complemento excelente con el maíz y al mismo tiempo recomienda como fórmula ideal una mezcla del alga con un poco de avena



o arroz (6,10,11,12,13,29,30).

En otros trabajos de investigación con spirulina se comprobó que al ser usada como un complemento alimenticio durante el período de crecimiento de moluscos (caracol de mar, babosa, ostiones), crustáceos (camarones) y pescado (truchas, carpas, salmones) apresuran el crecimiento y la madurez sexual, estimulan la ovulación y la temprana reproducción. Resultados muy favorables se obtuvieron con gusanos, abejas y lombrices (11,29).

Chlorella vulgaris Beijerinck (Ver apéndice Fig. C).

Es una alga Chlorophyta unicelular muy simple, formada por una célula esférica y pequeña que contiene un cloroplasto en forma de copa, un núcleo central y un protoplasma granular rodeado por una membrana y una pared celular.

La reproducción se verifica unicamente por la formación de 2 a 16 esporas inmóviles, originando cada una un nuevo individuo. En México crece en el Desierto de Sonora y en el Estado de Morelos. Siendo una alga que crece en el suelo y rocas del desierto obviamente en condiciones pobres de cultivo, se llevaron a cabo, estudios de medios de cultivo adecuados para el mayor crecimiento de especies "Chlorella", con la finalidad de producir a gran escala una nueva fuente alimenticia (1). Las condiciones de cultivo influyeron probablemente pudiéndose obtener hasta un 50% de proteína.

Un hecho importante en los cultivos de Chlorella vulgaris lo es su flora bacteriana acompañante. Resulta que es prácticamente imposible eliminar la contaminación bacteriana de los cultivos ya que los lavados y centrifugados sucesivos de éstos, producen una disminución notable en la flora bacteriana acompañante, pero no así su completa eliminación (2,3,37). Chlorella vulgaris se puede utilizar como alimento del hombre y animales domésticos (1,7).

Ulva fasciata Delile (Ver apéndice fig. D).

Talo foliáceo ó laminar, lobado y/o acintado, verde brillante, con la porción central algo más pálida, de 1-15 dm de alto. Se fija al sustrato por medio de un pequeño hapterio o disco, se guido de filamentos soldados en forma de un "tallo" corto, del cual se expanden láminas cuneiformes, algunas veces lobadas - irregularmente y/o pinnadas irregularmente. Los lóbulos y/o pinnas se dividen en lígulas ó cintas, las cuales pueden alcanzar varios decímetros de largo y de 0.5 - 2.5 cm de ancho. Los márgenes del talo son enteros o rizados y crenados. Las células examinadas de frente son poliédricas. En corte transversal el talo presenta 2 capas de células dispuestas en palizada; en la región de la línea media, las células son más altas que las del margen y el talo mucho más grueso, alcanzando hasta 100  $\mu$  ó más. Las células están provistas de un cloroplasto parietal y hasta 7 pirenoides.

Estas algas son pantropicales comunes; crecen en playas moderadamente expuestas, adheridas a varias clases de objetos sólidos. En aguas tibias y quietas, los lóbulos pueden ser mucho más anchos y la zona media engrosada oscura; en lugares particularmente expuestos, puede haber plantas enanas con lóbulos cortos.

Existe un estudio cubano muy completo sobre algas marinas que crecen en las costas de la Habana (Cuba) entre las cuales destaca la Ulva fasciata Delile.\*

Los experimentos realizados mostraron resultados satisfactorios de ésta alga y las pruebas biológicas en la alimentación de pollos fueron positivas ya que presentaron mayor crecimiento que el resto de las otras algas.

Ulva fasciata también posee una riqueza excepcional en minerales como hierro y calcio; en vitaminas como el caroteno y la riboflavina y así como un alto contenido de niacina y proteína. Estas algas verdes se encuentran localizadas en varios países y regiones como por ejemplo: Bermudas, Carolina del Norte, Florida, Texas, Cuba, Jamaica, Española, Puerto Rico, Islas Vírgenes, St. Barthélelemy Guadalupe, Colombia, Antillas Nerlandesas, Venezuela, Tobago, Brasil, Uruguay y México. Es muy común encontrar a Ulva fasciata en los trópicos, costas y riberas.

\*Es pertinente mencionar que la Ulva fasciata no es una alga del Valle de México, sino una alga marina del Golfo de México y mar Caribe. La razón de incluirla en este trabajo se debe a que no se ha reportado ningún estudio químico hasta la fecha.

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

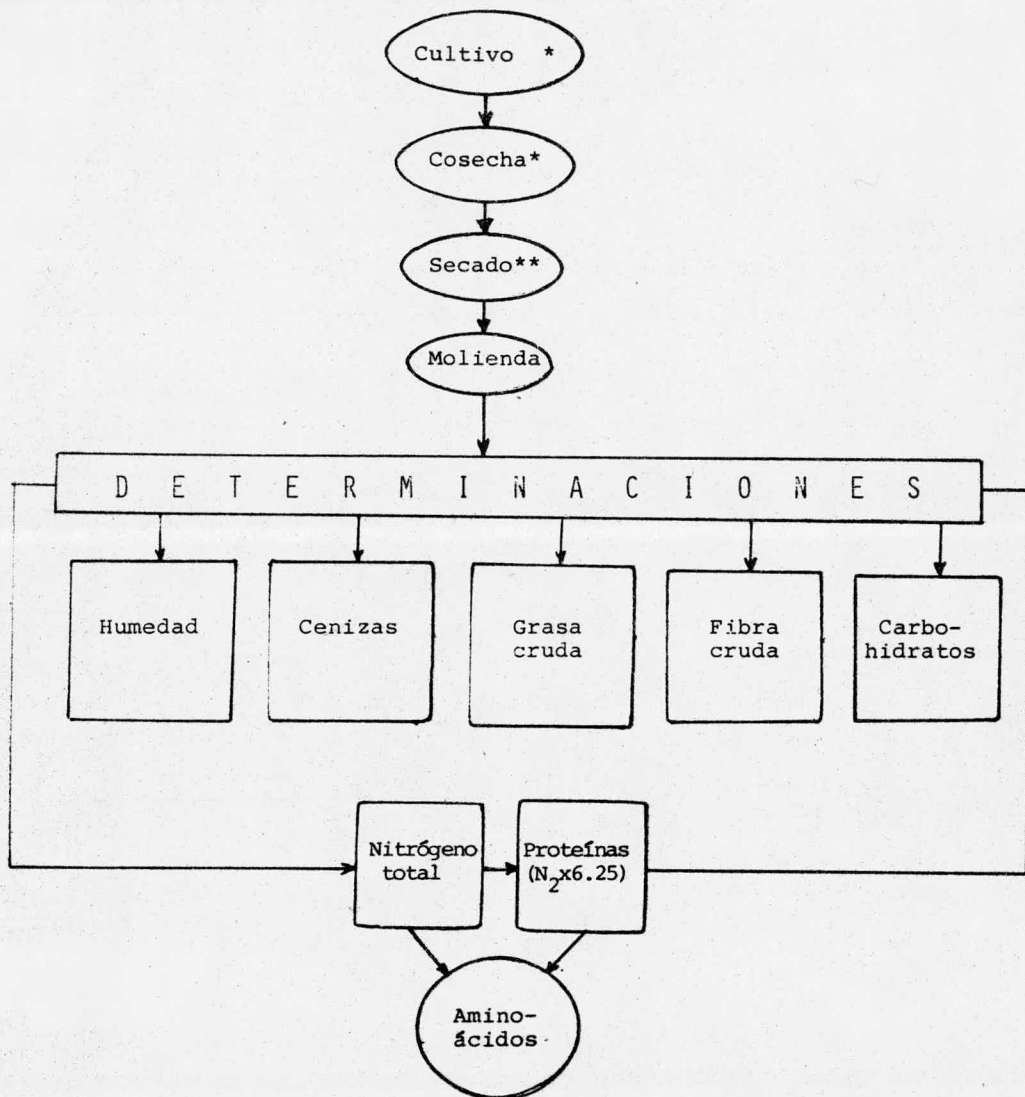
Procedencia de las muestras.

Se trabajó con cuatro tipos de algas comestibles mexicanas, dos de ellas Cyanophytas: *Phormidium tenue* y *Spirulina maxima*, se localizan en el Lago de Texcoco y las otras dos Clorofitas: *Chlorella vulgaris* y *Ulva fasciata*, son originarias del Edo. de Morelos y de Coatzacoalcos (Veracruz) respectivamente. (ver apéndice Tabla No. 1 ).

*Phormidium tenue* y la *Chlorella vulgaris* venían en forma de cultivo puro en matraces Earlen-Meyer. Estas muestras fueron proporcionadas por personal del Instituto de Biología. Departamento de Botánica U.N.A.M.

En lo que respecta a *Spirulina maxima*, se utilizó una muestra comercial, la cual venía en una bolsa de polietileno pigmentado de color negro, presentando una consistencia de polvo fino de color verde oscuro intenso, y por último, el alga marina *Ulva fasciata* Delile procedente de Coatzacoalcos (Veracruz) previamente secada al sol por 24 hrs. después de haber sido lavada en agua de mar y agua potable.

## DIAGRAMA DEL PROCESO

\* *Phormidium tenue* y *Chlorella vulgaris*\*\* Excepto *Spirulina*

### Medios de cultivo.

Se emplearon solamente para las algas *Phormidium tenue* y para *Chlorella vulgaris* para obtener mayor contenido de muestra. Estos medios de cultivo fueron el medio Detmer para *Chlorella vulgaris* y el Medio # 1 para *Phormidium tenue*.

En los medios de cultivo realizados para *Chlorella vulgaris* el máximo crecimiento se obtuvo entre el noveno y décimo día de incubación a una temperatura de 22-25°C y con iluminación fluorescente de 40 watts (1,3,23). La composición química del medio Detmer se encuentra reportada en la Tabla No. 2 (Ver apéndice).

En el medio de cultivo utilizado para el alga azul-verde *Phormidium tenue* se obtuvo una muy buena densidad de población algal en un tiempo relativamente corto. Durante 15 días. El medio utilizado se encuentra reportado en la Tabla No. 3 (Ver apéndice).

Hay que hacer notar que continuamente se tuvieron que hacer resiembras de *Phormidium tenue* y de *Chlorella vulgaris* ya que la cantidad con la que se contaba inicialmente era mínima.

### Cosecha.

Los medios de cultivo para *Phormidium* y *Chlorella* fueron esterilizados en autoclave a 120°C durante 15 minutos, posteriormente se efectuaron resiembras y se cosecharon estos organismos filtrando al vacío en buchner. Es importante señalar que para *Chlorella* fue necesario centrifugar a 2600 rev. durante 10 minutos ya que las partículas de esta alga son bastante finas.



Secado.

Las algas *P. tenue* y *C. vulgaris* después de filtradas al vacío así como la *Ulva fasciata* se secaron a una temperatura de 82°C durante 7 horas en estufa de vacío. La *Spirulina maxima* se utilizó tal como venía de la planta Sosa Texcoco, para las determinaciones.

Molienda.

Las muestras previamente secadas se pulverizan en mortero de ágata obteniéndose un polvo fino y con olor característico. Como resulta muy difícil el describir un color exactamente, ya que se obtienen tonalidades diferentes aún siendo un mismo color, se empleó para mayor facilidad el Código Universal de Colores Seguy, (27). Esto se ve más claro en el cuadro siguiente:

Clasificación del color con el Código Universal de Colores Seguy.

Alga (Nombre científico)	Alga (Nombre común)	Color	Lámina	No.
<i>Phormidium tenue</i>	Azul	Verde	P1 XXIV	386
<i>Spirulina maxima</i>	Azul	Verde	P1 XXV	373
<i>Chlorella vulgaris</i> (Beijerinck)	Verde	Verde	P1 XXV	367
<i>Ulva fasciata</i> (Delile)	Verde	Verde	Pa XXIX	421

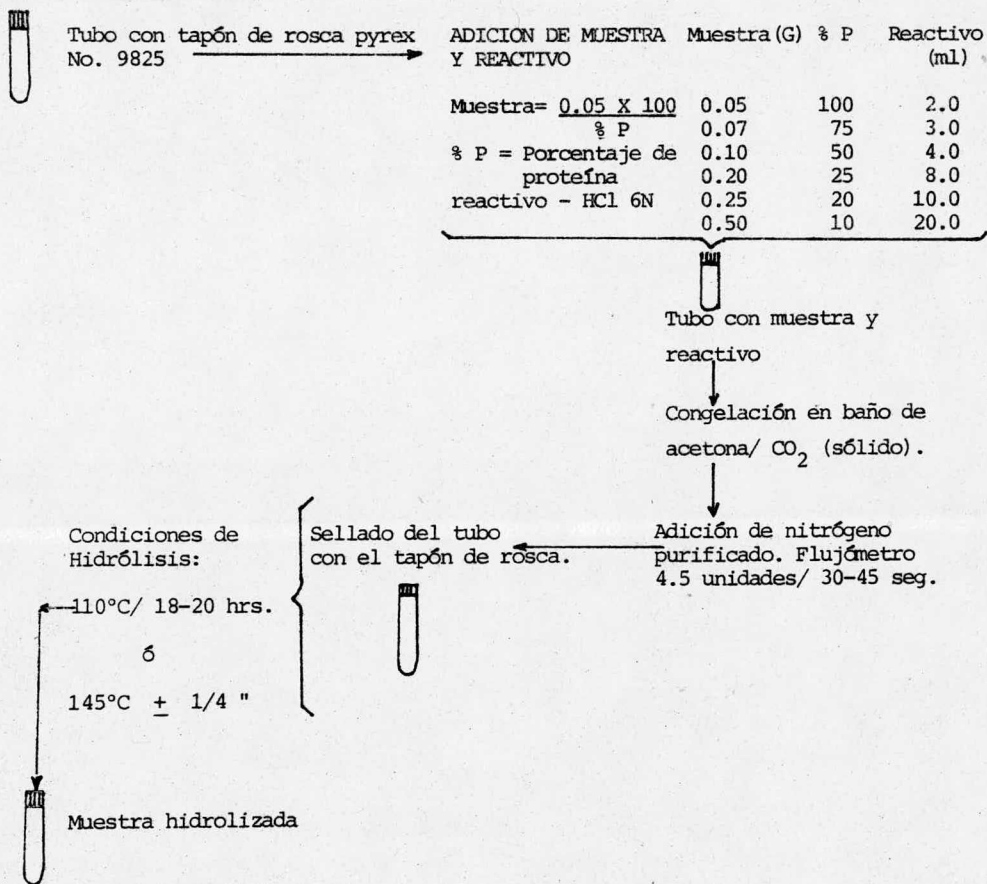
## DETERMINACION DEL ANALISIS QUIMICO BROMATOLOGICO

- 1.- Humedad: Esta determinación se efectuó por arrastre con tolueno, para *Spirulina maxima*. (ya que esta alga no fue secada previamente). Se basa en que el agua y el tolueno son inmiscibles, el tolueno es más ligero que el agua, hierve 4°C por encima del agua. El aparato consta de un matraz de bola, una trampa (es un tubo que tiene una porción angosta graduada en décimas de mililitro) a la cual se le conoce como de Bidwell - Sterling (trompa de H<sub>2</sub>O); y un refrigerante. (Ver apéndice fig. f). Esta operación se llevó a cabo durante 24 horas.
  
- 2.- Cenizas: Por destrucción de la materia orgánica (en mechero) y calcinación a 550° C hasta peso constante.
  
- 3.- Grasa cruda: Por extracción con benceno en un extractor micro-Soxhlet durante 24 horas. (Ver apéndice Fig. g).
  
- 4.- Fibra cruda: La muestra es hidrolizada con una solución ácida y después con una alcalina y como se usa una muestra desengrasada, el residuo de dicha hidrólisis serán los carbohidratos no degradables.
  
- 5.- Carbohidratos: Es un dato teórico que se obtiene por diferencia, restando de 100, la suma de los valores de humedad, cenizas, proteínas, grasas y fibra cruda.

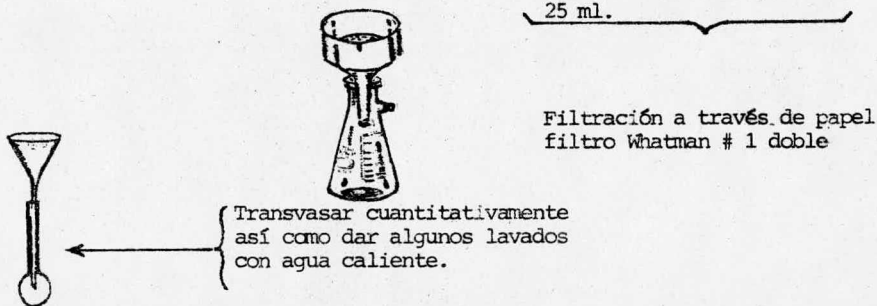
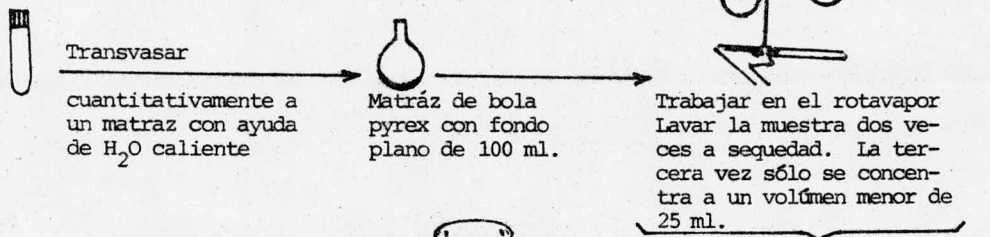
- 6.- Nitrógeno total: Por el método de microkjeldahl, usando como catalizador óxido de mercurio. La mezcla digestiva ( $H_2SO_4$  ;  $H_3PO_4$  y  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) oxida la materia orgánica convirtiendo el nitrógeno a sulfato ácido de amonio ( $NH_4HSO_4$ ), que corresponde a la digestión, mientras que en la destilación, lo que se trata es de liberar el amoniaco de dicha sal, con una solución concentrada de NaOH, recibién dose en ácido bórico, con el que forma el borato de amonio, el cual se titula con una solución valorada de ácido clorhídrico. Los indicadores que se utilizan son: fenoftalefna, verde de bromocresol y rojo de metilo. (Ver apéndice Fig. h).
- 7.- Proteínas: Se obtuvo su valor multiplicando el porcentaje de nitrógeno total por el factor 6, 25.
- 8.- Aminoácidos: Se utilizó un Autoanalizador de aminoácidos NC-2P (Technicon TM Amino Acid Analyser System). El método utilizado para poder detectar a los diferentes aminoácidos, se puede ver en el diagrama ilustrativo para la hidrólisis ácida aplicada a las algas *P. tenue* y a la *Ulva fasciata* Delile. Los cuatro pasos fundamentales para ésta determinación son los siguientes:

- 10.- Separación de los aminoácidos en columnas de resinas sin téticas de intercambio iónico.
- 20.- Formación de un complejo de color azul con el reactivo de ninhidrina, para la detección de cada uno de los aminoácidos ya separados.
- 30.- Determinación de la intensidad de la coloración formada, para la cuantificación de cada aminoácido.
- 40.- Lectura del aminograma correspondiente a cada aminoácido.  
(Ver apéndice: aminogramas). (31, 43, 44, 45, y 46).

DIAGRAMA ILUSTRATIVO DE LA HIDROLISIS ACIDA EFECTUADA  
A LAS ALGAS FORMIDIUM TENUE Y A ULVA FASCIATA DELILE



Nota.- Si el hidrolizado no se va a continuar trabajando de inmediato se debe guardar en el congelador para posteriormente trabajarlo.



Aforar a 25 ml procurando transvasar cuantitativamente (Se debe usar un embudo de cuello largo y delgado que penetre en el matraz aforado para evitar el derrame del hidrolizado lavado y limpio.



Pasar a un recipiente de plástico y rotularlo con los siguientes datos:

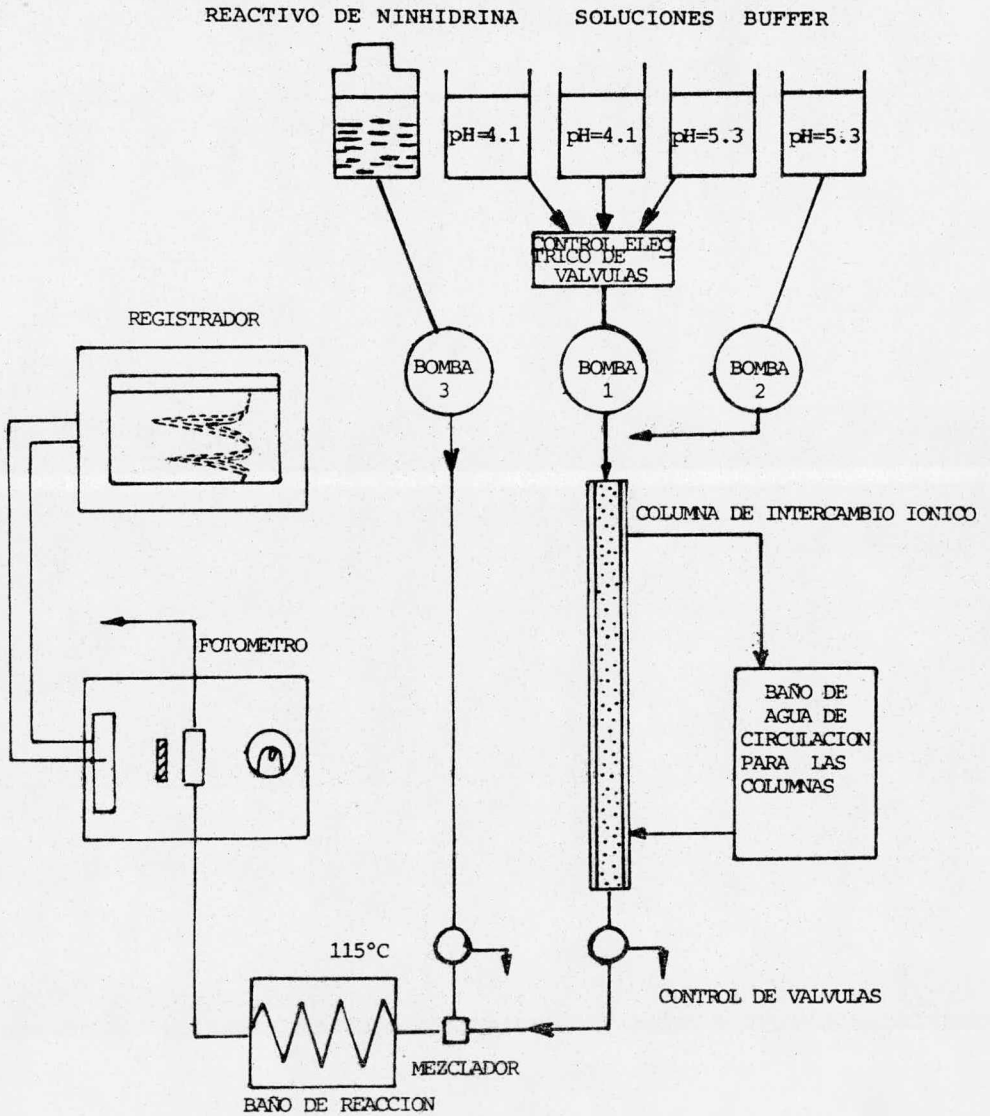
- . Nombre de la muestra
- . Cantidad de la muestra en gramos
- . % de Nitrógeno o proteína (en caso de ser factor dif. a 6.25 para la conversión de N<sub>2</sub> a proteínas especificarlo).
- . Fecha.

Nota.- Cuando la muestra vaya a permanecer mucho tiempo en el congelador antes de analizarla es conveniente ajustar el pH = 7.0 ó ligeramente ácido.

Para inyectar en el Autoanalizador se procede a diluir el hidrolizado con buffer pH = 1.50 (HCl/NaCl) 1 : 1 para tener un aforo de 50 ml.

Se inyecta al Autoanalizador de 0.1 ml a 0.15 ml o sea de 100 a 150.  $\lambda$

DIAGRAMA DE BLOQUES DEL SISTEMA DE FLUJO DEL ANALIZADOR DE AMINOACIDOS



CAPITULO IV

RESULTADOS



Los resultados obtenidos en el análisis químico bromatológico se suman en la Tabla IV-1. Estas cifras se reportan en base seca. Los valores son el promedio de por los menos tres experimentos.

T A B L A IV-1

Análisis químico bromatológico de las algas mexicanas\*

Muestra No.	Humedad (g%)	Cenizas (g%)	Grasa Cruda (g%)	Fibra Cruda (g%)	Carbohidratos (g%)	Nitrógeno Total (g%)	Proteínas (N <sub>2</sub> x 6.25) (g%)
1. <i>Formidium tenue</i>	-	46.21	1.43	6.10	35.33	1.75	10.94
2. <i>Espirulina maxima</i>	10	6.33	4.40	4.05	14.19	9.76	61.03
3. <i>Chlorella vulgaris</i>	-	10.47	7.12	6.34	23.57	8.40	52.50
4. <i>Ulva fasciata</i> Delile	-	26.21	1.80	9.61	44.65	2.87	17.94

\* Sobre 100 g base seca.

Los resultados obtenidos en la determinación de aminoácidos (Cromatografía de Intercambio Iónico) para las algas *Phormidium tenue* y *Ulva fasciata* Delile se muestran en la Tabla IV-2. También se incluyen los datos teóricos para las algas *Spirulina maxima* y *Chlorella vulgaris*. Todos los datos anteriores se comparan contra un estándar propuesto por la FAO.

Se incluyen para las algas *Phormidium tenue* y *Ulva fasciata* los aminogramas correspondientes. (Ver apéndice aminogramas No. 1 y No. 2 ).

T A B L A IV-2

Composición de aminoácidos en P. tenue, S. maxima, C. vulgaris y U. fasciata comparada con la composición estándar de la FAO.

g AMINOACIDOS/ 100 g PROTEINA	FAO	(1) <u>P. tenue</u>	(2) <u>S. maxima</u>	(2) <u>C. vulgaris</u>	(1) <u>U. fasciata</u>
* Isoleucina	4.2	5.23	6.03	3.5	3.21
* Leucina	4.8	14.68	8.02	6.1	6.03
* Lisina	4.2	6.99	4.59	10.2	4.57
* Fenilalanina	2.8	10.66	4.97	2.8	3.73
* Tirosina	2.8	5.18	3.95	2.8	2.89
* Cisteína	4.2	0.70	0.40	0.2	0.72
* Metionina	2.2	2.94	1.37	1.4	1.61
* Treonina	2.8	12.92	4.56	2.9	4.31
* Triptofano	1.4	0.2	1.40	2.1	0.22
* Valina	4.2	11.37	6.49	5.5	5.18
Alanina		7.95	6.80	7.7	6.06
Acido glutámico		19.46	12.60	7.8	10.94
Glicina		7.95	4.75	6.2	6.06
Acido aspártico		15.03	8.60	6.4	10.75
Arginina		10.27	6.50	15.8	10.27
Serina		12.66	4.20	3.3	6.01
Prolina		5.72	3.90	7.2	5.72
Histidina		2.02	1.77	3.3	1.68

(1) Presente estudio  
 (2) Gordon, J.F. Ref. (1)

\* Aminoácidos esenciales

CAPITULO V  
ESTUDIO COMPARATIVO Y DISCUSION

La cantidad de cenizas del P. tenue fué muy superior a todas las demás algas, esto es debido posiblemente a la gran cantidad de impurezas que presenta, además de su alto contenido de sílice, arena y otros minerales (5). Si la comparamos con la S. máxima, que es también una alga azul vemos que es más de siete veces mayor la cantidad de cenizas para el P. tenue que para S. maxima, la cual fué la que obtuvo un porcentaje menor a todas. Otra alga que mostró un elevado contenido en cenizas fué U. fasciata, ya que contiene más del doble de lo que presenta Ch. vulgaris.

El alga que presentó el porcentaje más alto de grasa fué Ch. vulgaris (7.12), a ella le siguen la S. maxima (4.40), por último tenemos que para el alga marina U. fasciata presentó un valor semejante a la del alga azul Ph. tenue.

S. maxima (como S. geitleri) contiene también importantes cantidades de ácidos gamma linolénico y palmítico (32).

Es importante hacer notar que los valores de fibra cruda varían considerablemente presentando la U. fasciata el valor más alto (9.61), Ch. vulgaris equivalente al Formidium (634 y 610 resp.) y Spirulina maxima el valor más bajo (4.05).

U. fasciata y Ph. tenue resultaron ser las que tuvieron mayor cantidad de carbohidratos, siendo dominante la primera. A ella le siguen Ch. vulgaris y por último tenemos a S. maxima con un porcentaje menor a todas ellas.

S. maxima presentó un elevado contenido de nitrógeno (9.76), a ella le siguieron Ch. vulgaris con un porcentaje también muy bueno (8.40), después tenemos a la U. fasciata (2.87) y por último se encuentra Ph. tenue con el valor más bajo de nitrógeno (1.75).

Tanto S. maxima como Ch. vulgaris son extraordinariamente ricas en proteínas ya que ambas tuvieron un porcentaje elevado de nitrógeno total el cual traducido a porcentaje protéico (Factor 6.25) dá como resultado el contar con valores muy significativos: U. fasciata presenta 18% de proteínas, cantidad que es considerada como buena. Por último se encuentra el alga Ph. tenue con un 11% aproximadamente.

Con el propósito de comparar a los aminoácidos de cada una de las algas estudiadas contra el patrón de la FAO se elaboró la Tabla IV-2. Esta tabla contiene datos teóricos para dos algas (Ch. vulgaris y S. maxima) para las cuales lógicamente no fué necesario hacerles ésta determinación.

Se incluyen así mismo los valores obtenidos experimentalmente en éste trabajo para las otras dos algas restantes (Ph. tenue y U. fasciata).

Al comparar dichos valores para el aminoácido isoleucina tenemos que Ph. tenue y S. maxima son las únicas algas que pasan ligeramente al valor propuesto por la FAO.

En tanto que Ch. vulgaris y U. fasciata, están abajo de este valor en una diferencia de 0.7 y 1.0 respectivamente.

Los aminoácidos esenciales de las algas estudiadas que fácilmente superan lo propuesto por la FAO son: leucina, lisina, fenilalanina (en el límite *Chlorella v.*), treonina y valina.

El único aminoácido que no logró superar al estándar de la FAO fué la cisteína, pues tuvo un valor muy bajo en las cuatro muestras estudiadas. En *Ph. tenue* vemos que el único aminoácido que supera al valor patrón propuesto por la FAO con respecto a las demás algas es metionina.

*S. maxima* y *Ch. vulgaris* poseen un porcentaje adecuado de triptofano. Mientras que en *Ph. tenue* y en *U. fasciata* es muy bajo.

Se puede afirmar en general, que las presentes algas mexicanas llenan los requerimientos nutricionales señalados por la FAO, lo que sugiere que se les proporcione mayor atención para investigaciones futuras pudiendo ser utilizadas como complemento de otros productos alimenticios que posean los aminoácidos de que carecen en las proporciones adecuadas.

C O N C L U S I O N E S



El medio de cultivo Detmer modificado fué excelente para obtener una cantidad suficiente de Chlorella vulgaris.

El medio de cultivo ensayado para el alga Phormidium tenue (Medio # 1), dió muy buenos resultados.

Las algas en estudio, Cianofitas y Clorofitas después de molidas presentaban tonalidades cercanas por lo que se clasificaron con ayuda del Código Universal de Colores quedando comprendidas dentro del color verde con número muy cercanos.

El contenido de cenizas variaron de 6.33% en S. maxima a 46.21 en Ph. tenue.

El porcentaje de grasa cruda varió de 1.43 en Ph. tenue a 7.12 en C. vulgaris

La fibra cruda varió de 4.05 en S. maxima a 9.61 en U. fasciata

El contenido de carbohidratos varió de 14.19 en S. maxima a 44.65 en U. fasciata.

El  $N_2$  y por ende el contenido proteico varió de 10.94% en Ph. tenue a 61.03 en S. maxima.

El análisis químico bromatológico señala que son dignas de tomarse en cuenta las algas Phormidium tenue y Ulva fasciata Delile.

Otras algas que pasaron satisfactoriamente el examen bromatológico fueron Ch. vulgaris y S. maxima y por consiguiente se puede afirmar con gran optimismo que se les puede emplear como alimento tanto de animales como del hombre mismo.

En la composición de los aminoácidos esenciales de las muestras comparadas con la composición estándar de la FAO, el Ph. tenue cubre los requisitos excepto para Cisteína y triptofano. La S. maxima también cubre los requisitos excepto en cisteína y metionina.

En el caso de la Ch. vulgaris todos excepto isoleucina, cisteína y metionina. Y para la U. fasciata no se ajusta al estándar en isoleucina, cisteína, metionina y triptofano.

Sin embargo estos valores son próximos a los establecidos por la FAO. En general se puede afirmar que al comparar el valor de cada aminoácido de todas y cada una de las algas estudiadas (Ph. tenue, S. maxima, Ch. vulgaris y U. fasciata) cumplen satisfactoriamente el patrón estándar de la FAO, ya que contienen un muy buen porcentaje de aminoácidos esenciales.

La flora marina de México, en especial una de las algas vistas como es Ulva fasciata Delile alga marina verde, merece que se le tome mayor interés ya que se cuenta con grandes cantidades de ésta alga y aún no se le ha dado ninguna aplicación, desperdiciándose así estos vegetales por toneladas y en este estudio se demostró que efectivamente contienen un porcentaje aceptable de proteína y además una buena composición de sus aminoácidos esenciales, unido a su bajo valor en grasas y a su elevada riqueza en carbohidratos y cenizas (minerales), hacen posible que se tomen en consideración a éstos recursos bióticos marinos mexicanos como una posible fuente potencial en la alimentación animal y humana.

## A P E N D I C E

## T A B L A No. 1

## CLASIFICACION DE LAS MUESTRAS EMPLEADAS Y SU LUGAR DE ORIGEN

DIVISION	NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	ORIGINARIA
Cyanophyta	Phormidium tenue	Alga verde- azulada	Lago de Texcoco
Cyanophyta	Spirulina maxima	Alga verde- azulada	Lago de Texcoco
Chlorophyta	Chlorella vulgaris Beijerinck	Alga verde	Cañón de Lobos Edo. de Morelos
Chlorophyta	Ulva fasciata Delile	Alga verde	Coatzacoalcos Veracruz

## T A B L A No. 2

MEDIO DE CULTIVO UTILIZADO PARA CHLORELLA VULGARIS BEIJERINCK

DETMER LIQUIDO

Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-----	1.00 g/l
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-----	0.25 g/l
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	-----	0.25 g/l
Fe Cl <sub>2</sub>	-----	vestigios (0.01 - 0.1 g/l)

-----

Las sales se solubilizan y se llevan a un litro con agua destilada. pH = 7 (6-8), (NaOH/KOH) 1 N al 40%.

Después de ajustar el pH se esterilizó a 120°C durante 15 minutos en autoclave (2,3,19,23).

En la figura III-A-C, se muestran los tres diferentes agitadores que se utilizaron para el mejor crecimiento de los medios de cultivo evitando así mismo la sedimentación.

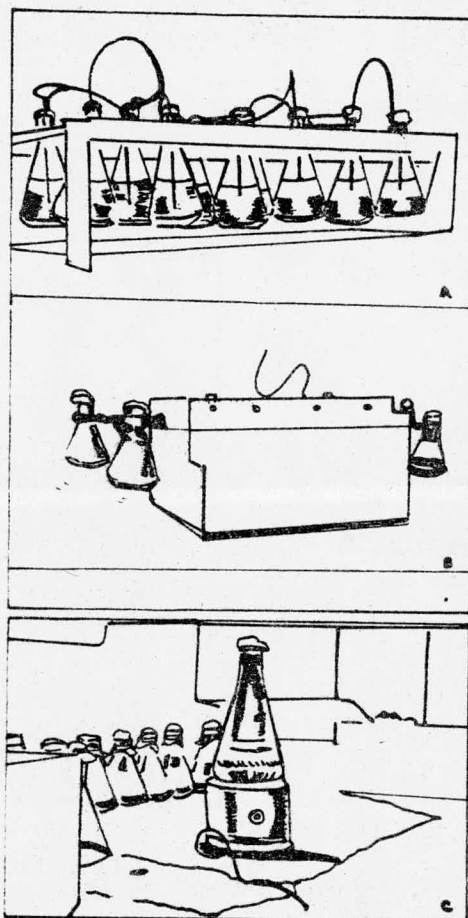


FIG. III: A - C AGITADORES  
A. AGITADOR HORIZONTAL ILUMINADO  
B. AGITADOR CON ACCION DE MUÑECA  
C. AGITADOR MAGNETICO

## T A B L A No. 3

MEDIO DE CULTIVO EMPLEADO PARA PHORMIDIUM TENUE

## MEDIO # 1 (MEDIO BASAL)

Crecimiento en luz pH = 6.8 (g/l)

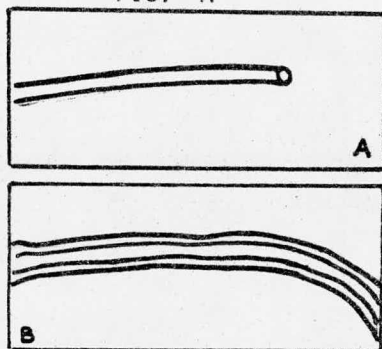
$K_2HPO_4$	-----	0.1 g/l
$KH_2PO_4$	-----	0.1 g/l
$NH_4NO_3$	-----	0.3 g/l
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	-----	0.3 g/l
$CaCl_2$	-----	0.04 g/l
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	-----	0.01 g/l
Citrato de sodio $2H_2O$	-----	0.5 g/l
Solución en trazas de metal	-----	10 ml.

Stock de solución con trazas de metal (mg/litro)

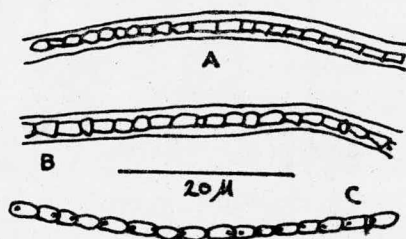
$H_3BO_3$	-----	100 mg
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	-----	100 mg
$MgSO_4 \cdot 4H_2O$	-----	40 mg
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	-----	20 mg
$Na_2MoO_4 \cdot 6H_2O$	-----	20 mg
$Cu SO_4$	-----	4 mg

(18,23).

FIG. A



PHORMIDIUM TENUE (MENEHINI) GOMONT ,  
1250 X APROX.; A. REGION APICAL DE UN  
FILAMENTO; B. FILAMENTO CON NECRIDIOS.



PHORMIDIUM TENUE (MENEHINI) GOMONT:  
A, REGION APICAL DE UN FILAMENTO; FI-  
LAMENTO CON VARIOS NECRIDIOS EN EL TRI-  
COMA. C, TRICOMA CON GRANULACIONES A  
NIVEL DE LOS TABIQUES TRANSVERSALES.



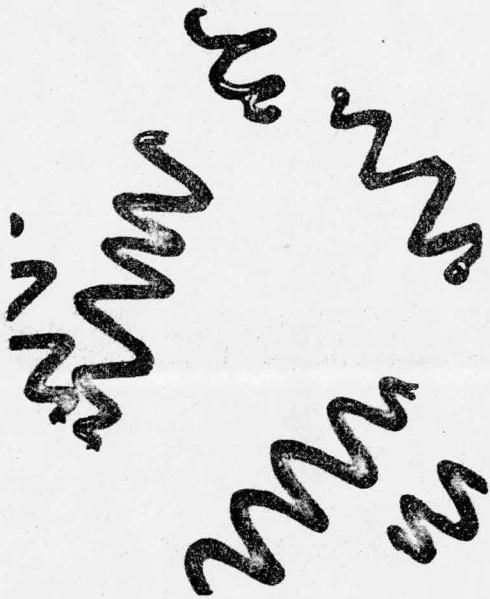


FIG. B    SPIRULINA MAXIMA

ORIGINARIA: CANALES MARGINALES DE LAGO DE TEXCOCO.

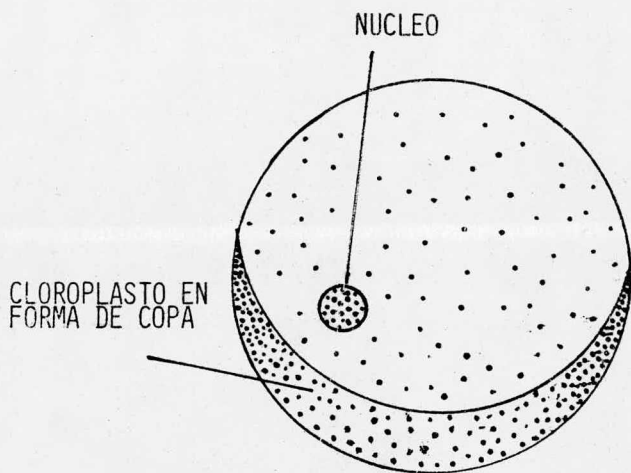


FIG. C CHLORELLA VULGARIS  
ORIGINARIA: CAÑON DE LOBOS EDO. DE MORELOS  
Y DESIERTO DE SONORA.

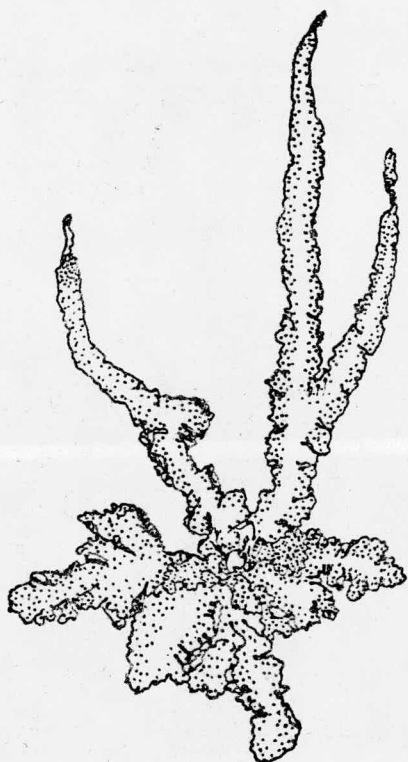


FIG. D *ULVA FASCIATA* DELILE: EJEMPLAR JOVEN  
ORIGINARIA: COATZACOALCOS, VERACRUZ (MEXICO)

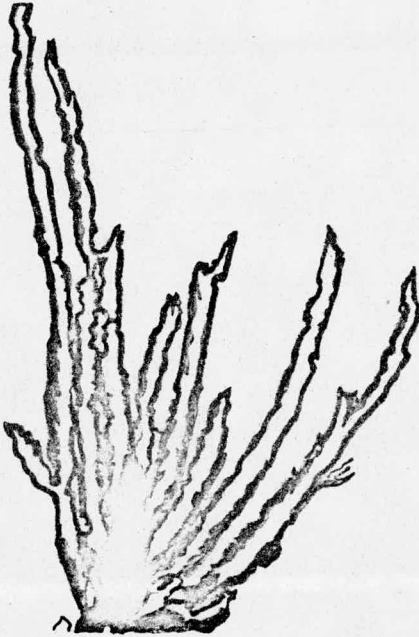


FIG. E ULVA FASCIATA: EJEMPLAR JOVEN  
ORIGINARIA: LA HABANA CUBA

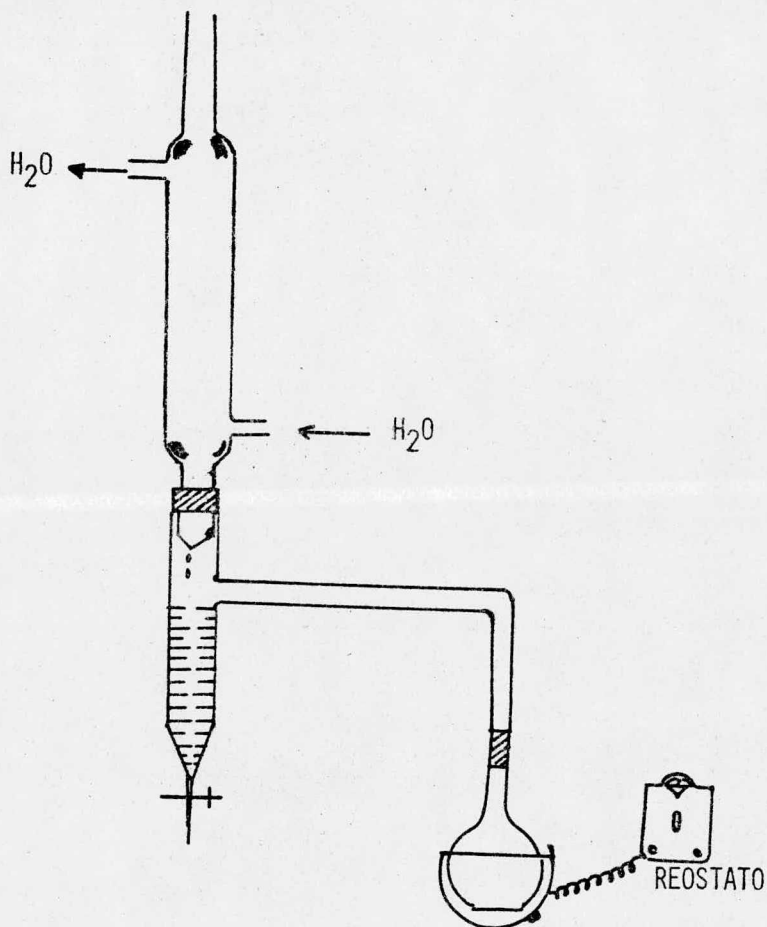


FIG. F ESQUEMA DEL APARATO USADO PARA LA DETERMINACION DE HUMEDAD. (TROMPA DE AGUA DE BIDWELL-STERLING)

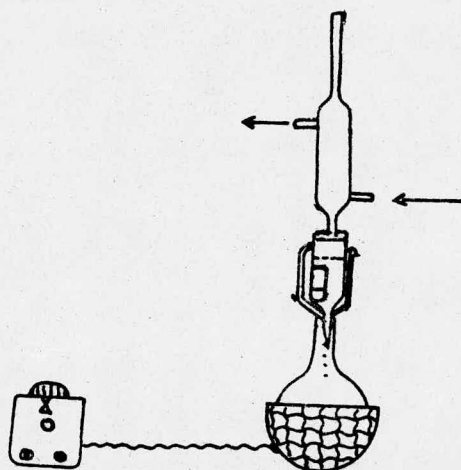


FIG. 6 ESQUEMA DEL EQUIPO UTILIZADO PARA LA DETERMINACION DE GRASA CRUDA. (MICRO-SOXHLET).

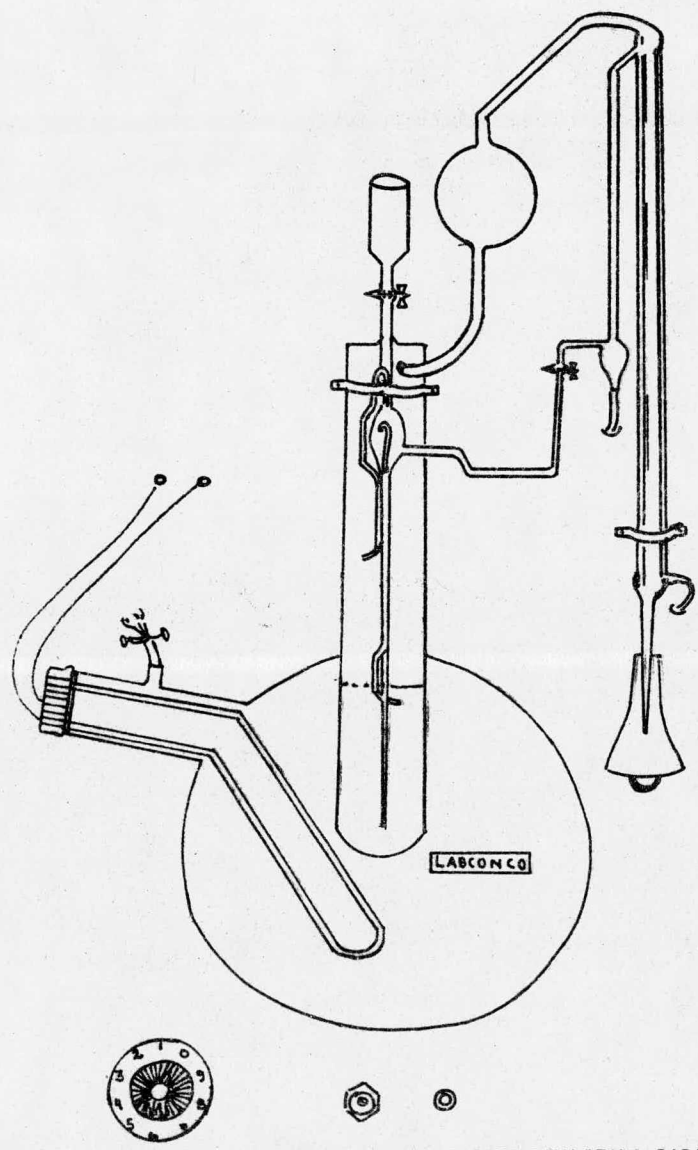


FIG. H ESQUEMA DEL APARATO UTILIZADO PARA LA DETERMINACION DE NITROGENO, (MICROKJELDAHL).

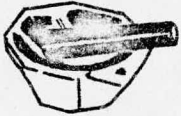


FIG. I MORTERO DE AGATA

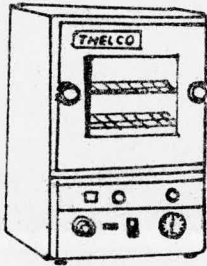


FIG. J ESTUFA AL VACIO

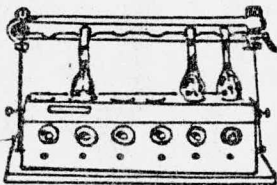


FIG. K DIGESTOR PARA MICROKJELDAHL.



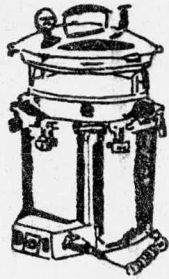


FIG. L AUTOCLAVE

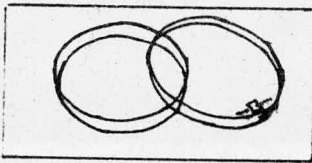


FIG. M CAJAS PETRI \*



FIG. N DESECADOR

\* SE UTILIZARON PARA HACER LAVADOS A LOS MEDIOS DE CULTIVO CUANDO ESTOS SE ENCONTRABAN CONTAMINADOS.

COPYRIGHT - 1957 - THE CONCENTRATED CORPORATION DARTMOUTH NEW YORK

No. 811-8173-01

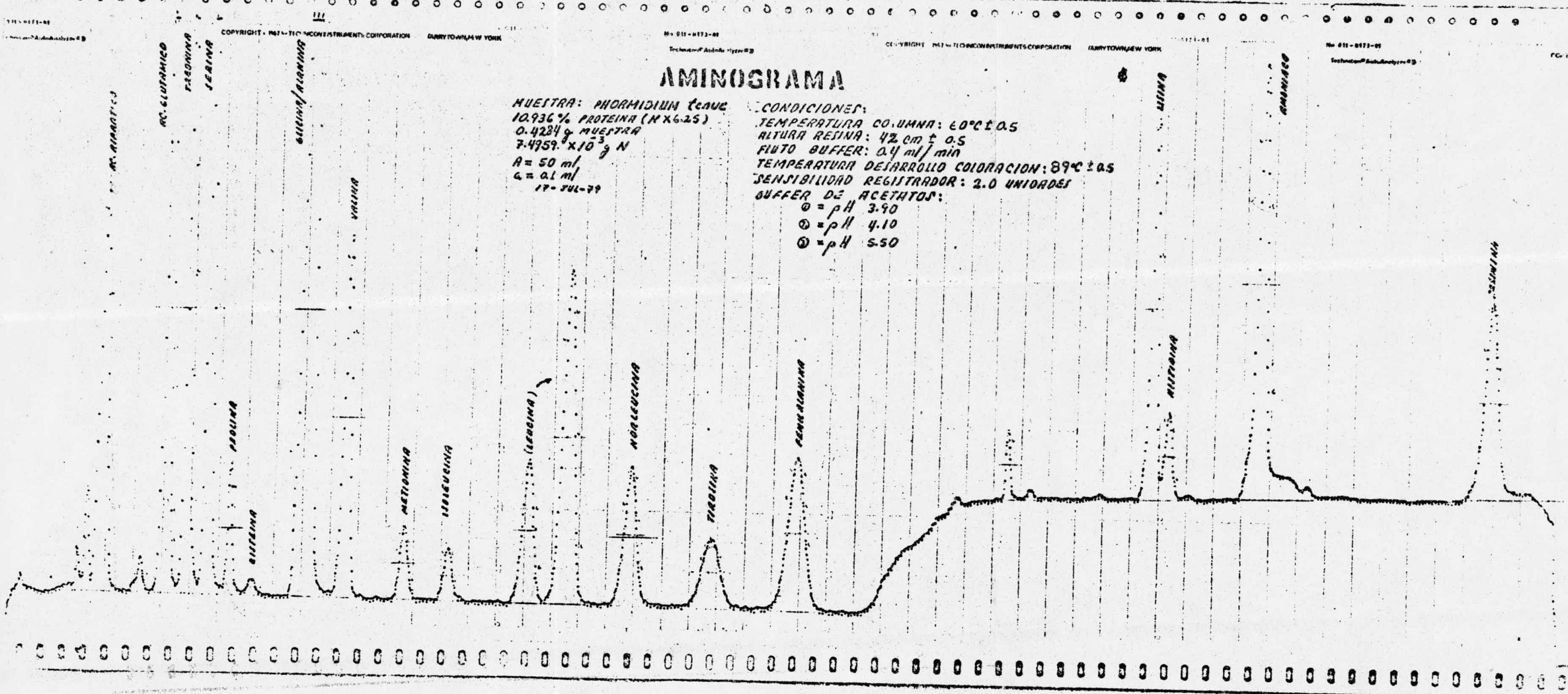
COPYRIGHT - 1957 - THE CONCENTRATED CORPORATION DARTMOUTH NEW YORK

No. 811-8173-01

### AMINOGRAMA

MUESTRA: PHORMIDIUM tenue  
 10.936% PROTEINA (N X 6.25)  
 0.4234 g MUESTRA  
 7.4959 x 10<sup>3</sup> N  
 A = 50 ml  
 G = 0.1 ml  
 17- JUL-79

CONDICIONES:  
 TEMPERATURA COLUMNA: 60°C ± 0.5  
 ALTURA RESINA: 42 cm ± 0.5  
 FLUJO BUFFER: 0.4 ml/min  
 TEMPERATURA DESARROLLO COLORACION: 89°C ± 0.5  
 SENSIBILIDAD REGISTRADOR: 2.0 UNIDADES  
 BUFFER DE ACETATOS:  
 ⊖ = pH 3.90  
 ⊕ = pH 4.10  
 ⊙ = pH 5.50



PC-1 C-1

Model 600-2113-1

Model 600-2113-1

COPYRIGHT © 1967 by TECHNIC INSTRUMENTS CORPORATION, HARTY TOWN, N. Y.

No. 600-2113-1

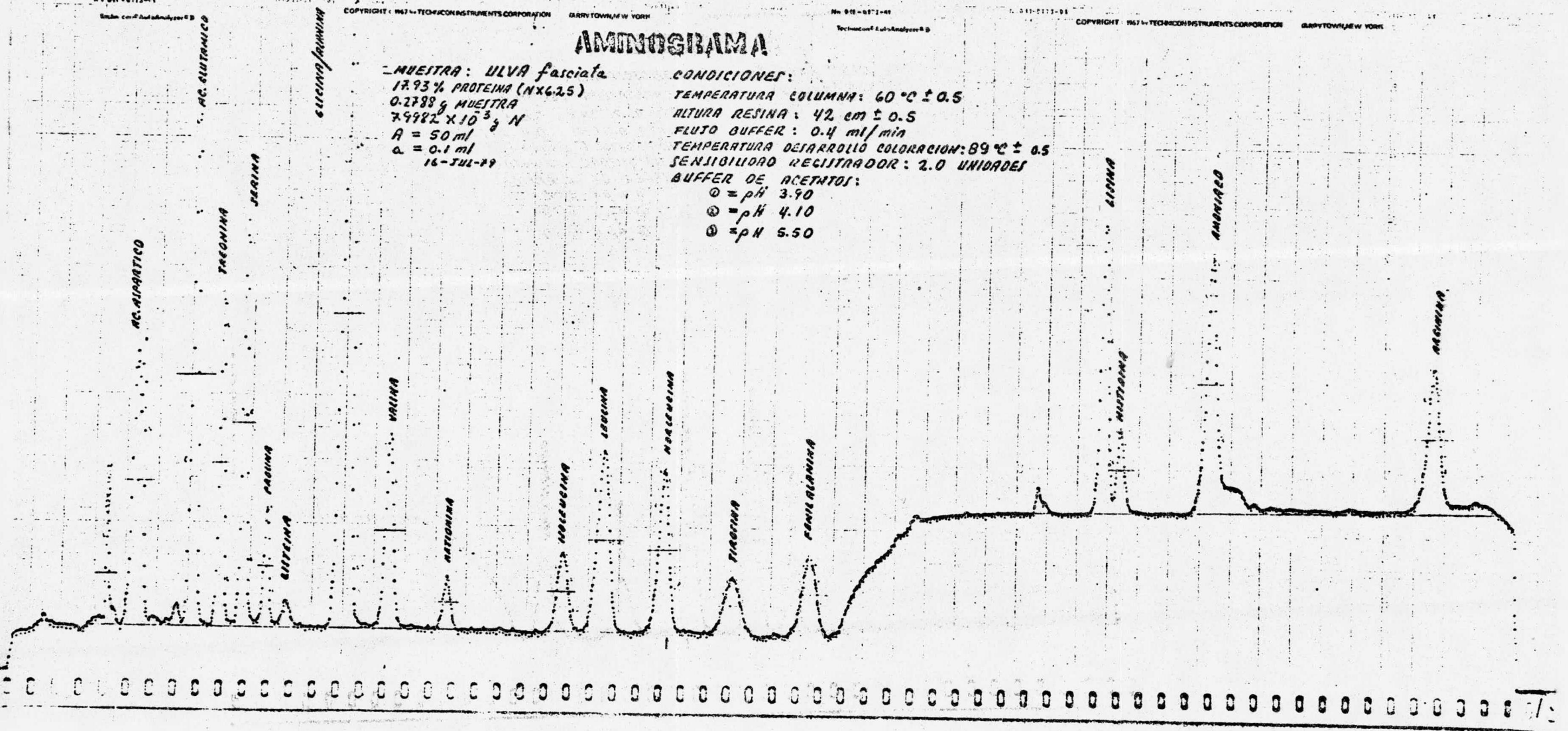
Technic Inst. Analyzer 8-D

COPYRIGHT © 1967 by TECHNIC INSTRUMENTS CORPORATION, HARTY TOWN, N. Y.

# AMINOGRAMA

MUESTRA: *ULVA fasciata*  
 17.93% PROTEINA (N x 6.25)  
 0.2788 g MUESTRA  
 $7.9982 \times 10^{-3}$  g N  
 A = 50 ml  
 a = 0.1 ml  
 16-JUL-79

CONDICIONES:  
 TEMPERATURA COLUMNA:  $60^{\circ}\text{C} \pm 0.5$   
 ALTURA RESINA:  $42 \text{ cm} \pm 0.5$   
 FLUJO BUFFER: 0.4 ml/min  
 TEMPERATURA DESARROLLO COLORACION:  $89^{\circ}\text{C} \pm 0.5$   
 SENSIBILIDAD REGISTRADOR: 2.0 UNIDADES  
 BUFFER DE ACETATOS:  
 ① = pH 3.90  
 ② = pH 4.10  
 ③ = pH 5.50



## B I B L I O G R A F I A

- 1.- Gordon, J.F. Algal Proteins and The Human Diet In Proteins as Human Food.  
The Avi Publishing Company. Inc.  
University of Nottingham (1969).
- 2.- Palacios-Mayorga. S. etl al.  
Estimación del crecimiento de Chlorella Vulgaris en cuatro tipos de suelos, bajo condiciones de laboratorio.  
Revista lat-amer. Microbiol. 19: 105- III (1977).
- 3.- Palacios-Mayorga. S. et.al.  
Algunas modificaciones al aislamiento y cultivo de Chlorella vulgaris Beijerinck.  
Rev. lat-amer. Microbiol. 19 : 95-103 (1977).
- 4.- Brock, T.D. Biología de los Microorganismos.  
Ed. Omega S.A. pags. 635-405.  
Barcelona (1973).
- 5.- Ortega, M.M. Estudio de las algas comestibles del Valle de México.  
Rev. lat-amer. Microbiol. 14: 85-97, (1972).
- 6.- Bezares, S.A. et al.  
Valor pigmentante y nutritivo del alga espirulina en dietas para gallinas en postura. Técnica pecuaria en México; Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. Secretaría de Agricultura y Ganadería. No. 30 Enero-Junio (1976).
- 7.- Peczar, J.M., Reid, D.R.  
Microbiología pags. 273-289  
Ed. Mc. Graw-Hill México (1978).
- 8.- Nason, A. Biología  
Ed. Limusa, S.A. pág. 86  
México, (1973).

- 9.- Mac-Gregor, A.N. & Johnson, D.E.  
Capacity of desert algal crusts to fix atmospheric nitrogen.  
U.S.A. (1971).
- 10.- Chastel, D.H. La espirulina una fuente de proteínas.  
Naturaleza, Vol. 2 págs. 16-21 (1971).
- 11.- Black, G. and Mitsui, A. Blue- Green Algae: The Spirulina  
Handbook of Biosolar Resources. Vol. I. Fundamental  
Principles. CRC. Press. Inc. (1978).
- 12.- Durand Chastel, H. and Clement, G.  
El alga espirulina alimento del mañana. Ier. Congreso Interna-  
cional de Nutrición. México (Sin publicar). 1972.
- 13.- Clement, G., Giddey, C. and Menzi, R.  
The Spirulina, J. Sci. Fd. Agric. 18, 497 (1967).
- 14.- Fett, B. & Neváková M. A Monograph of the genus Chlorella  
The fresh waterspecies. Pag. 10-59. Stuttgart (1969).
- 15.- Burlew, J.S. In Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant,  
Ed. by J.S. Burlew. Washington D.C., Carnegie Inst. of  
Washington Publ. 600, p. 2 (1953).
- 16.- Spoehr, H.A. and Milner, H.W. Pl, Physiol, 24, 120 (1949).
- 17.- Halperin, D.R. de: Mendoza, M.L.; Caire, G.Z. de: Mulé, M.C.Z.  
y Cano M.S. Fijación de nitrógeno por una cyanophyta unicelular  
Alphanothece atagnina (Sprengel) A. Braun.  
Centro de Investigación de Biología marina. Estación Puerto  
Deseado. Contribución científica No. 145. Buenos Aires. (1977).
- 18.- Sanger, R.U. and Granicj, S. Nutritional Control of sexuality  
in Chlamydomonas reinhardi, J. Gen. Physiol. 37: 729-742 (1954).
- 19.- Fegg, G.E. and Stewart, W.D.P. et al. The blue- green algae  
Academic Press. London. Chap: 7 Culture, nutrition and growth  
(1973).
- 20.- Official Methods of Analysis. II a. Edición. Washington ,  
U.S.A. (1970).



- 21.- Piferrer, D.M., López H. Taxonomía, Ecología y valor nutrimental de algas marinas cubanas. Institute Coubano de Investigaciones Tecnológicas/ICIT págs. 4-69. La Habana, Cuba. Enero, (1959).
- 22.- Fisher, A.W. and Burlew, J.S. In Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant. Ed. by J. S. Burlew. Washington Publ. 600, p. 303 (1953).
- 23.- Venkataraman, S.G. The cultivation of algae. Indian Council of Agricultural Research. New Delhi (1959).
- 24.- Chamorro, G., Estudio de Toxicidad de Spirulina, Informe UNIDO Mayo (1978).
- 25.- Heredia, M. La soya en la alimentación. Naturaleza Vol. 3 págs. 1 24- 30. (1972).
- 26.- Bussan, F. Spirulina Platensis et Spirulina Geitleri, Cyanophyceés Alimentaires, Marseille, Service de Santé Parc du Pharo.
- 27.- Séguy, E. Code Universal des Couleurs. Ed. Paul Lechevalier Paris. (1936).
- 28.- Taylor, W.R. Marine algae of the eastern tropical and subtropical Coasts of the americas. págs. 62-67. The University of Michigan. Press. USA, (1960).
- 29.- Durand-Chastel, H., Santillán, Caludio, The tecuitlatl and the Aquaculture, F.A.O. Technical Conference on Auaculture, Kyoto, Japan. (1975).
- 30.- Durand- Chastel, H., Production and Use of Spirulina in México Seminar on Production and Use of Micro-Algae Biomass, Acre, Israel, Sept. (1978).
- 31.- López, M.Y.E. Proteínas y Aminoácidos de la leche de madres del Medio Rural, Mich., México. Tesis (1972).
- 32.- Busson, F. Spirulina platensis (Gcm). Geitler et Spirulina geitleri, J. de Toni, Cyanophyceés alimentaires. Marseille, France., (Sin publicar). (1970).

- 33.- Estudio de la composición química de *Codium Fragile* (Suringar) Hariot (Clorophyta) de Puerto Deseado (Provincia de Santa Cruz, Argentina).  
Centr. tecn. Centro Inv. Biol. Mar. No. 31 Buenos Aires (1977).
- 34.- Healey, F.P. and Stewart, W.P.D. Inorganic Nutrient Uptake and Deficiency in Algae.  
Critical Reviews in Microbiology. 3 I, 69-112 Sep. (1973).
- 35.- Siegel, B.Z. and Siegel, S.M. The chemical composition of algal cell walls.  
Critical Reviews in Microbiology 3 1, 1-49 (1973).
- 36.- Delevoryas, T. Diversificación Vegetal  
Compañía Editorial Continental, S.A. págs. 27-35. México (1976).
- 37.- Tchan, Y.T. and Gould, J. Use of Antibiotics to purify Blue-Green Algae. Nature Vol. 192 parte 2. pág. 1274 (1972).
- 38.- Milner, H.W. "The chemical Composition of Algae", en Ref. 15 págs. 285-302.
- 39.- Madlener, J.C. The seaweetable book.  
Clarkson, N. Petter, INC./Publishers. págs. 150-151. New York (1977).
- 40.- Myers, J. Algas, Cultivo, Enciclopedia de Tecnología Química. Kirk-Othmer Vol. I. U T E H A.
- 41.- Algae Abstracts. A guide to the literature Volume # 1 (1969)  
I F I/Plenum Volume # 2 (1970-1972 ).
- 42.- Cravioto, J. M.D., M.P.H. D. Sc. El problema de la desnutrición y sus repercusiones para el individuo y la comunidad  
Instituto Nacional de Ciencias y Tecnología dela Salud del Niño-DIF México (1979).
- 43.- Grenstein, J.P. and Winitz, M.  
Chemistry of the amino acids (Vol. 1 )  
John Willy, N.Y. pp. 2316-2324. (1961).

- 44.- Nevreth, N.  
The proteins (Composition, Structure and function).  
Vol. I, Academic Press, N.Y. (1963). pp. 1-39 .
- 45.- Schmidt, O.I.  
Techniques in amino acid analysis  
Technicon Internacional Divisi6n, Geneva (1966) pp. 71-72
- 46.- Spackman, et. al.  
Automatic recording applicated for use in the chromatography  
of amino acids.  
Anal. Chem. 30, 1 30 (1958).