

204



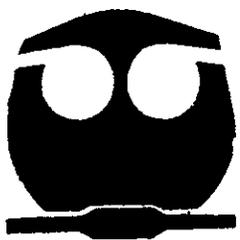
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

COMPOSICION QUIMICA Y PIGMENTOS DE MACROFITAS ACUATICAS PRESENTES EN EL PARQUE ECOLOGICO DE XOCHIMILCO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: QUIMICA DE ALIMENTOS PRESENTA MARISOL MARTINEZ TOMAS



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES FAC. DE QUIMICA

1998

1998 CON FALLA DE ORIGEN

269519



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Presidente
Vocal
Secretario
1er. Suplente
2do. Suplente

Prof. FRIAS RUIZ YOLANDA
Prof. ITURBE CHINAS FRANCISCA
Prof. CARRANCO JAUREGUI MARIA ELENA
Prof. VALDIVIA LOPEZ MARIA DE LOS ANGELES
Prof. BAEZA REYES JOSE ALEJANDRO.

Sitio donde se desarrolló el tema:

Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"
Subdirección General de Nutrición Experimental y de Comunidad.
Departamento de Nutrición Animal.

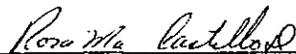
Parque Ecológico de Xochimilco.

Asesor del Tema:



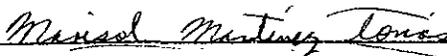
Q.F.B. MARIA ELENA CARRANCO JAUREGUI

Supervisor técnico:



BIOL. ROSA MARIA CASTILLO DOMINGUEZ

Sustentante:



MARISOL MARTINEZ TOMAS

AGRADEZCO:

AL DEPARTAMENTO DE NUTRICION ANIMAL DEL I.N.N.S.Z.

AL PARQUE ECOLOGICO DE XOCHIMILCO

AL INSTITUTO DE BIOLOGIA DE LA U.N.A.M.

ESPECIALMENTE:

AL DR. FERNANDO PEREZ-GIL ROMO

A LA Q.F.B. MARIA ELENA CARRANCO JAUREGUI

A LA BIOL. ROSA MARIA CASTILLO DOMINGUEZ

A LA Q.F.B. CONCEPCION CALVO CARRILLO

AL Q. JOSE LUIS SILENCIO BARRITA

A JOSE ANTONIO ROLDAN

A ADELINA ESCAMILLA LOEZA

A JORGE ENSASTEGUI

A FERNANDO ISOARD

AL DR. ERWIN STEPHAN-OTTO PARODI

AL BIOL. LEANDRO RAMOS VENTURA

AL BIOL. SAMUEL MACIAS

INDICE

CAPITULO	PAGINA
1. RESUMEN	
2. INTRODUCCION.....	1
3. ANTECEDENTES.....	5
3.1. CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS PLANTAS ACUATICAS.....	5
3.1.1. TIPOS DE PLANTAS ACUATICAS.....	5
3.1.2. FORMAS DE VIDA DE LAS PLANTAS ACUATICAS....	6
3.1.3. TASA DE CRECIMIENTO Y PRODUCCION DE BIOMASA.....	10
3.2. USO DE LAS PLANTAS ACUATICAS.....	11
3.3. COMPOSICION QUIMICA DE LAS PLANTAS.....	20
3.4. PIGMENTOS Y SUS FUENTES.....	26
3.4.1. CAROTENOIDES.....	27
3.4.2. CLOROFILA.....	31
3.4.3. ANTOCIANINAS.....	34
3.4.4. FLAVONOIDES.....	36
3.4.5. BETALAINAS.....	38
3.4.6. TANINOS.....	39
4. JUSTIFICACION.....	41
5. OBJETIVOS.....	42
5.1. OBJETIVO GENERAL.....	42
5.2. OBJETIVOS PARTICULARES.....	42
6. MATERIAL Y METODO.....	42
6.1. LOCALIZACION DEL SITIO DE COLECTA DE LAS PLANTAS..	42
6.2. OBTENCION DEL MATERIAL BIOLÓGICO.....	46

6.3.	ANALISIS QUIMICOS.....	46
6.4.	EXTRACCION Y SEPARACION DE PIGMENTOS POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.....	49
6.5	CUANTIFICACION DE LOS PIGMENTOS.....	58
7.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	59
7.1.	RECOLECCION DE PLANTAS.....	59
7.2.	ANALISIS QUIMICO APROXIMADO.....	69
7.3.	FRACCIONES DE FIBRA.....	73
7.4.	PROTEINA VERDADERA Y DIGESTIBILIDAD MULTIENZIMATICA.....	76
7.5.	FACTORES ANTIFISIOLOGICOS.....	78
7.6.	MINERALES.....	82
7.7.	EXTRACCION Y SEPARACION DE PIGMENTOS POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.....	86
7.8.	CUANTIFICACION DE LOS PIGMENTOS.....	97
8.	CONCLUSIONES.....	101
9.	SUGERENCIAS.....	103
10.	BIBLIOGRAFIA.....	104

1. RESUMEN.

Inicialmente, el Valle de México estaba cubierto de agua en una extensa área pero, al paso del tiempo, se ha desecado casi totalmente. Sin embargo, al sur de la Ciudad de México aun sobrevive la zona de Xochimilco en donde existen varios canales que reciben afluentes de la planta de tratamiento de aguas del Cerro de la Estrella.

En estos canales se observa la proliferación en forma abundante de varias especies de plantas acuáticas, las cuales forman parte del habitat de peces, reptiles, insectos y aves silvestres. Además, esta agua se utiliza para el riego de las chinampas en donde se cultivan maíz, hortalizas y flores. A pesar de ser de gran importancia la existencia de los canales para la vida silvestre y humana, la zona de Xochimilco ha sido prácticamente invadida por el crecimiento urbano y en algunas zonas se intenta desecar estos canales para así, construir viviendas.

En 1991, se inició el rescate de una extensa zona que hoy se conoce como el Parque Ecológico de Xochimilco, allí se desarrollan en forma abundante varias especies de plantas acuáticas silvestres que se extraen periódicamente de los canales para controlar su proliferación.

Dentro de los objetivos de la investigación están el análisis químico de la harina de siete especies de plantas acuáticas colectadas en el Parque Ecológico de Xochimilco: *Polygonum mexicanum*, *Lemna gibba*, *Azolla mexicana*, *Nymphaea mexicana*, *Hydrocotyle ranunculoides*, *Typha domingensis* y

Schoenoplectus sp., así como la determinación de los pigmentos presentes en estas plantas para proponer posibles alternativas de uso.

Los resultados obtenidos de la composición de estas siete plantas, en base seca fueron: cenizas 9.35-17.15%; extracto etéreo 1.76-4.13%; proteína cruda 13.73-36.72%; proteína verdadera 13.2-35.5%; la digestibilidad multienzimática de la proteína de las plantas fue de 75.9-81.3%; lignina 3-16.4%; celulosa 7.7-25.4%; sílice 0.90-3.7%; hemicelulosa 5.3-33.6%; minerales en mg/100 g: potasio 2162.54-4380.52; hierro 6.18-101.21; calcio 707.32-1944.35; zinc 1.79-17.71; magnesio 188.22-643.43; sodio 155.61-1612.24, fósforo 39.67-51.67; cobre, plomo, cadmio y cromo no se detectaron.

Los pigmentos determinados en las siete especies de plantas frescas fueron clorofila a 3.63-69.40 mg/l; clorofila b 3.23-31.96 mg/l; β -caroteno 1.30-86.32 mg/100 g y luteína 2.19-72.35 mg/100 g. Algunas de las alternativas de uso para estas plantas son en la alimentación de animales como pollos para que se pigmente la piel y la yema del huevo; como aditivos en la industria de alimentos, entre otros.

2. INTRODUCCION.

En algunas regiones de nuestro país, cercanas a las zonas urbanas, existen grandes volúmenes de material alimenticio, los cuales no son utilizados y llegan a considerarse como fuentes contaminantes, por la única razón de un desconocimiento en cuanto a su valor nutritivo y a la utilidad que pudieran tener, así como su posible aporte económico.

Un caso en particular son las plantas acuáticas que se encuentran en ríos, lagos, canales, etc., y que al no contar con una tecnología propia y adecuada, son ignoradas o en el mejor de los casos, destinadas para la alimentación animal.

En países como los Estados Unidos de Norteamérica, Canadá y la India, entre otros, se utilizan algunas plantas acuáticas para el tratamiento de las aguas residuales, ya que tienen la capacidad de absorber metales pesados. Otras plantas se cultivan y sirven para la alimentación humana o animal (peces, mamíferos, aves) (Lodge, 1991).

En México se han realizado pocos estudios acerca de las características químicas de las plantas acuáticas.

En general, se contaminan los ecosistemas acuáticos o son parcial o completamente desecados porque se ignora el uso potencial que varias especies de plantas pueden tener.

Un ejemplo reciente es el de la Laguna de Yuriria en Guanajuato, en donde en el año de 1993, se realizó una investigación con el fin de conocer su flora y la vegetación acuática vascular existente.

Los resultados indicaban que existían en total 47 especies vegetales, de las cuales 15 eran acuáticas estrictas, 10 subacuáticas y 7 tolerantes. Se advertía que el lirio acuático *Eichhornia crassipes* cubría el 60% de la superficie lacustre y que la laguna podía desaparecer si no se tomaban las medidas para restablecer el equilibrio de la cuenca Lerma-Santiago (Ramos y Novelo, 1993). En 1998, la Laguna de Yuriria ha desaparecido completamente, debido a las nulas o escasas lluvias y a que se utilizó su reserva de agua para el riego de cultivos.

En los canales de Cuemanco y Xochimilco, en el D.F., se desarrollan plantas acuáticas que periódicamente son extraídas en forma mecánica para controlar su proliferación, que en ocasiones es tan abundante, que llegan a invadir completamente el canal. Algunas especies de plantas son utilizadas como abono, forraje o para elaborar artesanías tejidas con las fibras.

En el año 1991, se inició el rescate de un área al sur de la ciudad de México que hoy se conoce como el Parque Ecológico de Xochimilco, allí se preservan varias especies vegetales y animales. Se han organizado dos seminarios Internacionales con el fin de proporcionar información acerca de este ecosistema acuático: flora, fauna, suelo, agua, entre otros temas.

Un aspecto interesante en el estudio de las plantas acuáticas es la determinación de los pigmentos que contienen, ya que algunos de ellos como el β -caroteno y la luteína pueden pigmentar los derivados de origen animal como la yema de huevo y la manteca, si se incluyen plantas los contengan en las

dietas de pollos o vacas.

Además el β -caroteno actúa como provitamina A. En Asia, existe una severa deficiencia de la vitamina A en más de 5 millones de niños, varios de ellos, pierden la visión debido a esta deficiencia.

La ingestión diaria de por lo menos 40 g de hojas verdes por un periodo corto de tiempo, ha mejorado los niveles de vitamina A en el suero de niños en edad preescolar (Dewanji, 1993).

Otra posible alternativa de uso para las plantas acuáticas es la obtención de pigmentos vegetales que pueden ser utilizados como aditivos en los alimentos. En la Comunidad Económica Europea, se permite el uso de extractos de pigmentos vegetales como el β -caroteno (E 160), xantofilas (E 161) y clorofilas (E 140), entre otros, como aditivos en los alimentos. El β -caroteno y β -apo-carotenal se usan en sistemas a base de aceites, pero también se pueden dispersar en medios acuosos si son sometidos a tratamientos químicos como la emulsificación y el encapsulamiento.

En el caso de las clorofilas, se pueden usar para pigmentar alimentos grasos, pero usualmente se convierten a complejos de cobre para obtener un color verde brillante o bien se preparan sales de sodio o potasio solubles en agua, de esta forma, se usan para colorear confitería a base de azúcar, postres congelados y productos lácteos. En los Estados Unidos de Norteamérica sólo se permiten incluir como ingredientes a las especies vegetales que pueden proporcionar el color a los alimentos (Macrae, 1993).

Otro posible uso de las plantas es en la tinción de lana en donde se prepara un extracto con las hojas, tallos, raíces, cortezas o flores de las plantas, con esto, es posible obtener tonos rojos, amarillos, rosas, cafés y verdes. Para fijar el color, se emplea además, un mordente como el sulfato aluminico-potásico o el tartrato ácido de potasio.

Por lo tanto, el estudio de la composición química y de los pigmentos presentes en las siete especies de plantas acuáticas aportará información con la que se podrán evaluar las posibles alternativas de uso.

3. ANTECEDENTES.

3.1. CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS PLANTAS ACUATICAS.

No existe una estricta definición del término macrófitas acuáticas, puesto que ciertas plantas se desarrollan en la zona de transición entre los ambientes terrestres y acuáticos o bien en zonas inundadas durante ciertas épocas del año, por lo que se consideran plantas acuáticas aquellas que crecen asociadas al agua o que al menos están presentes en suelos cubiertos con agua durante la mayor parte de la temporada de crecimiento (Arredondo, 1993).

3.1.1. TIPOS DE PLANTAS ACUATICAS.

Ramos y Novelo (1993), las clasifican en:

Tolerantes: son aquellas plantas que llevan a cabo gran parte de su ciclo de vida en suelos completamente secos, pero que pueden tolerar por corto tiempo el suelo inundado o alta humedad.

Subacuáticas: son las plantas que pasan gran parte de su ciclo de vida en el agua y no pueden sobrevivir por largo periodo de tiempo en suelos completamente secos; generalmente se les encuentra en el margen de los ambientes acuáticos.

Acuáticas estrictas: las plantas que realizan prácticamente todo su ciclo de vida dentro del agua, ya sea sumergidas, emergiendo o flotando.

3.1.2. FORMAS DE VIDA DE LAS PLANTAS ACUATICAS.

Plantas enraizadas al sustrato:

Hidrófitas enraizadas emergentes. Estas plantas se encuentran enraizadas al sustrato, con una porción del tallo sumergido, las estructuras vegetativas y órganos reproductores se encuentran fuera del agua.

Hidrófitas enraizadas sumergidas. Las estructuras vegetativas están inmersas completamente en el agua; sus órganos reproductores pueden estar sumergidos o emerger y quedar por encima de la superficie del agua.

Hidrófitas enraizadas de hojas flotantes. Son plantas con las hojas sobre la superficie del agua y con los órganos reproductores emergiendo.

Plantas flotando libremente en la superficie del agua:

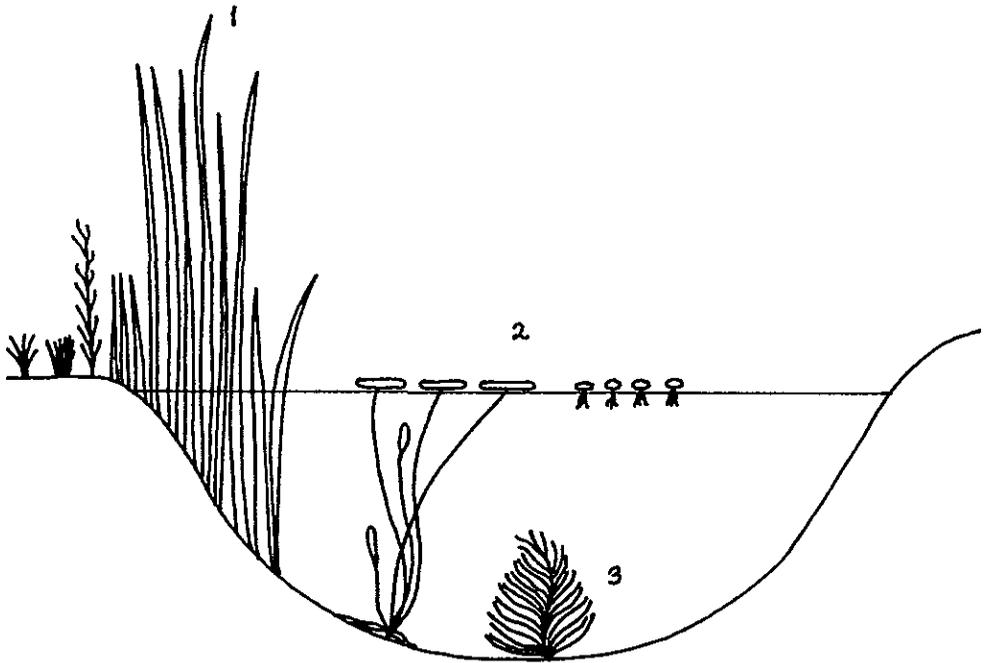
Hidrófitas libremente flotadoras. Sus estructuras vegetativas y órganos reproductores se mantienen por encima del agua; solamente sus sistema radical se encuentra sumergido.

Hidrófitas libremente sumergidas. Sus estructuras vegetativas y sistema radical se mantienen sumergidos; solamente sus órganos reproductores se encuentran sobre la superficie del agua (Ramos, 1993).

En la bibliografía, generalmente se clasifican las plantas acuáticas como emergentes, flotantes y sumergidas. En la figura 1, se observa su localización en los cuerpos de agua (Seagrave, 1988).

FIGURA 1

PRINCIPALES GRUPOS DE PLANTAS ACUATICAS.



1. PLANTAS EMERGENTES
2. PLANTAS DE HOJAS FLOTANTES
3. PLANTAS SUMERGIDAS

Las plantas sumergidas crecen en un ambiente en donde hay una gran variación en la concentración de oxígeno en el agua y en el tipo de carbono inorgánico disuelto disponible para la fotosíntesis, principalmente en áreas densamente pobladas.

Los órganos fotosintéticos de las plantas sumergidas están cubiertos por disolvente denso y polar que contiene los nutrientes.

La luz es ligeramente atenuada en su paso a través del agua lo cual provoca cambios en la calidad de la luz y en la cantidad al aumentar la profundidad.

Aunque algunas plantas sumergidas pueden llevar a cabo la fotosíntesis y crecer a temperaturas tan bajas como 2°C, generalmente se desarrollan mejor a una temperatura de 20-35°C.

H. verticillata, *M. spicatum*, *C. demersum* y *E. densa* exhiben una fotosíntesis neta entre 10-44°C y una temperatura óptima entre 28-37°C. El pH del agua tiene efectos directos e indirectos en la fotosíntesis y el crecimiento de las plantas sumergidas.

H. verticillata realiza una fotosíntesis neta mayor en un rango de pH 3-6.

Las plantas acuáticas sumergidas se propagan mediante fragmentos vegetativos especializados y no especializados (Cook, 1990).

Las plantas flotantes y emergentes realizan la fotosíntesis en un ambiente aéreo y utilizan como fuente de carbono inorgánico el CO₂, no hay fluctuaciones grandes en el pH ni en el O₂ y las

hojas no están cubiertas por una solución con nutrientes. Se nutren a través de sus raíces, viven en un ambiente en donde hay una rápida difusión de CO_2 , alta irradiación y con un suministro adecuado de agua.

La temperatura óptima para la fotosíntesis de las plantas emergentes es de 18-40°C.

Las plantas acuáticas emergentes tienen una reproducción sexual y una dispersión en un amplio rango mediante diasporas.

Algunas plantas flotantes como *Salvinia biloba* se propagan por esporas. La reproducción vegetativa es común en las plantas emergentes y flotantes (Cook, 1990).

Algunas de las plantas acuáticas se reproducen en gran medida y por eso se les considera en algunas partes como malezas. Es importante señalar que el considerar como maleza a una especie de planta acuática es relativo, pues por ejemplo, *Heteranthera reniformis* se encuentra en la lista de plantas en peligro de extinción en Connecticut (U.S.A.), y es tal vez la peor maleza en los campos de cultivo de arroz del norte de Italia (Cook, 1990).

En un ecosistema acuático la mayoría de las plantas crecen en forma asociada, si alguna especie de ellas desaparece o es retirada, otra especie diferente tomará ese lugar y se desarrollará a su máxima capacidad.

3.1.3. TASA DE CRECIMIENTO Y PRODUCCION DE BIOMASA.

La tasa de crecimiento de una planta acuática se determina bajo condiciones de laboratorio y de campo en climas cálidos y templados, se expresa en unidades de peso por tiempo, ya sea en peso seco o húmedo, o número de plantas, así como los tiempos de duplicación.

Para medir la producción y productividad de una planta acuática se considera su biomasa por unidad de área en un tiempo dado (Olvera et al., 1989).

La Azolla como planta de flotación libre y de reproducción vegetativa por fragmentación, tiene la capacidad de mantener una tasa de crecimiento exponencial en condiciones óptimas. En el laboratorio se han obtenido tasas relativas de crecimiento desde 0.355 a 0.277 g/día (Chi Calan, 1990).

El tiempo de duplicación de Azolla en un ambiente controlado o bajo condiciones de laboratorio puede ser reducida tan poco como 30 h, valor difícil de alcanzar o mantener en cultivos a nivel de campo. Cuando el promedio de temperatura sube de 14 a 20°C, Azolla puede duplicarse en 3 a 5 días (Chi Calan, 1990).

S. molesta tiene una producción máxima de biomasa en un pH=6. *E. crassipes* tiene una producción máxima de biomasa en un intervalo más amplio de pH 4-8 (Cook, 1990).

3.2. USO DE LAS PLANTAS ACUATICAS.

El uso práctico que pueden tener las plantas acuáticas depende de la situación económica y de la posición geográfica de las áreas en las que se desarrollan. Por ejemplo, el lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) se investiga y se utiliza para el tratamiento de aguas residuales en los países occidentales, a la vez que en los Estados Unidos de Norteamérica se aplican medidas estrictas de control en su proliferación ya que interfiere con las actividades económicas y recreativas en los lagos.

En contraste, en los países menos desarrollados, se investiga el uso de este lirio acuático como fertilizante, alimentación humana y animal, para producción de papel, fibra y biogas (Pieterse, 1990).

El principal factor que limita el uso comercial de las plantas acuáticas es su alto contenido de humedad, generalmente es de 85-95%, que resulta en un bajo contenido de materia seca (5-15%) en comparación con los forrajes terrestres (10-30%). Para obtener una tonelada de materia seca, se deben coleccionar y procesar 10 toneladas de planta acuática fresca; para el lirio acuático que tiene 5% de materia seca, se deben coleccionar y procesar 20 toneladas para obtener 1 tonelada de materia seca. Generalmente, una vez coleccionadas las plantas acuáticas, se dejan secar al sol durante algunos días antes de transportarlas a los sitios de procesamiento (Pieterse, 1990).

Los principales usos de las plantas acuáticas son los siguientes:

Biofertilizante: para mejorar la composición del suelo se utilizan las plantas acuáticas como fertilizante, ya que aportan carbono, nitrógeno, fósforo, potasio y otros minerales. Por ejemplo, el helecho de agua *Azolla* tiene en sus frondas cavidades donde habita la cianobacteria *Anabaena azollae* que puede fijar el nitrógeno atmosférico. En Vietnam se siembra este helecho en los campos en enero, después, cuando el arroz comienza a crecer en marzo y abril, *Azolla* muere y se deposita en el fondo liberando su nitrógeno.

La principal limitación en la utilización de las plantas acuáticas como fertilizantes son su bajo contenido de nitrógeno (1.5-4%), fósforo (0.5-1.5%) y potasio (1-2%) en comparación con los fertilizantes minerales comerciales que contienen alrededor de 17% de nitrógeno, 17% de pentaóxido de fósforo y 17% de potasio (fórmula compleja). Entonces, para obtener el mismo beneficio de los fertilizantes minerales deben utilizarse grandes cantidades de plantas. Sin embargo, si las plantas acuáticas crecen en un medio contaminado, se obtienen fertilizantes nocivos para los humanos, los animales y los cultivos (Pieterse, 1990).

Alimentación animal: el contenido de humedad, minerales, fibra, así como la composición nutrimental y la digestibilidad en las plantas acuáticas determinan su aceptabilidad como alimento para animales. Los factores limitantes para producir alimento en gran escala para los animales es el contenido de humedad y de minerales. Sin embargo, mediante el ensilaje, se pueden obtener

alimentos para animales a partir de materia prima con alto contenido de humedad. El ensilado es el producto obtenido en la fermentación controlada de los cultivos de alto contenido de humedad. En la práctica, se pica el forraje durante la recolección, se llena el silo, se compacta en forma adecuada y se cierra.

Los cambios más aparentes durante el ensilado se producen en el color de los productos herbáceos. El color pardo claro del ensilado se debe al efecto de los ácidos orgánicos sobre la clorofila, que se convierte en el pigmento sin magnesio llamado feofitina. La destrucción del pigmento β -caroteno tiene relación con la temperatura y el grado de oxidación. Si ambas son altas, las pérdidas de β -caroteno pueden ser considerables. Sin embargo, en los ensilados bien hechos, las pérdidas de este pigmento suelen ser inferiores al 30%.

La mayoría de las plantas acuáticas, incluyendo el lirio de agua *Eichhornia crassipes* e *Hydrilla*, contienen niveles adecuados de los elementos básicos necesarios de acuerdo a la calidad de un forraje, sin embargo, los niveles de sodio, hierro, potasio y calcio se encuentran 3 a 100 veces más altos en comparación con los forrajes terrestres, por lo tanto, para obtener un adecuado balance mineral en el alimento para animales, se utilizan las plantas acuáticas como suplemento o en mezcla con otros forrajes.

Por otra parte, se utilizan las plantas acuáticas en la crianza intensiva de peces herbívoros, patos, gansos y algunos rumiantes que usualmente se alimentan de ellas y que no serán

afectados en su metabolismo por niveles elevados de algunos minerales (Pieterse, 1990).

En la tabla 1, se presentan los niveles máximos tolerables de algunos minerales para varias especies de animales domésticos:

TABLA 1 NIVELES MAXIMOS TOLERABLES DE MINERALES EN LA DIETA DE ANIMALES DOMESTICOS.^a
(mg/100 g MATERIA SECA)

MINERAL	VACA	BORREGO	CERDO	GALLINA	CABALLO	CONEJO
CADMIO ^b	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
CALCIO ^c	2000	2000	1000	400	2000	2000
CROMO	100	100	100	100	100	100
COBRE	10	2.5	25	30	80	20
HIERRO	100	50	300	100	50	50
PLOMO ^b	3	3	3	3	3	3
MAGNESIO	500	500	300	300	300	300
POSFORO ^c	1000	600	1500	800	1000	1000
POTASIO	3000	3000	2000	2000	3000	3000
SODIO	4000	9000	8000	2000	3000	3000
ZINC	50	30	100	100	50	50

- a Se debe consultar el texto (National Research Council, 1980) antes de aplicar los niveles máximos tolerados en situaciones prácticas ya que la inclusión continua de minerales en la dieta, en sus máximos niveles tolerables, puede provocar efectos adversos a largo plazo (Pond, 1995).
- b Con base en los niveles máximos en alimentos para humanos.
- c La proporción de calcio y fósforo es importante.

Alimentación humana: las partes de las plantas acuáticas que generalmente se consumen son las semillas y frutos (contienen aceite, almidón y proteínas), los tubérculos y raíces (ricos en almidón) así como las hojas frescas. Existe poca información acerca de la composición química de las especies comestibles de plantas acuáticas, por lo general, la gente las recolecta y consume con base en la información empírica que hereda de sus antepasados.

La presencia de factores antifisiológicos como taninos, alcaloides, saponinas, etc., así como de contaminantes en las plantas pueden representar un riesgo para la salud de los consumidores, por eso se debe obtener su composición química y con base en la información obtenida determinar si son adecuadas para el consumo humano o si existe algún proceso para extraer, neutralizar o eliminar los compuestos químicos nocivos. Por ejemplo, es posible extraer algunos alcaloides con agua o con alcohol.

A continuación se describe el uso que tienen algunas especies de plantas acuáticas para elaborar alimentos para consumo humano:

TABLA 2 MACROFITAS ACUATICAS PARA LA ALIMENTACION HUMANA.

PLANTA	PARTE DE LA PLANTA QUE SE UTILIZA	ALIMENTO
<i>Nymphaea caerulea</i> <i>Nymphaea lotus</i> <i>Butomus umbellatus</i> <i>Calla palustris</i> <i>Menyanthes trifoliata</i> <i>Cyrtosperma chamissonis</i> <i>Euryale ferox</i> <i>Typha spp.</i>	semillas semillas, raíces raíces raíces raíces cormos* semillas semillas, polen	Harina, pan
<i>Spirulina spp.</i>	algas	Pastel
<i>Nelumbo nucifera</i> <i>Eleocharis dulcis</i> <i>Trappa spp.</i> <i>Cyrtosperma chamissonis</i> <i>Wolffia arrhiza</i> <i>Ipomoea aquatica</i> <i>Nasturtium officinale</i> <i>Typha spp.</i> <i>Enhalus acoroides</i> <i>Victoria amazonica</i> <i>Ottelia alismoides</i>	frutos, raíces cormos frutos cormos toda la planta tallos, hojas hojas raíces semillas semillas hojas	Vegetal
<i>Cyperus papyrus</i>	caña	Jugo
<i>Sagittaria trifolia</i> <i>Colocasia esculentum</i>	raíces raíces	Tubérculo

* Eje de las plantas superiores constituido por la raíz y el vástago.

Medicinal: en la literatura antigua y en los escritos de los herbolarios existe información acerca de un gran número de trastornos internos y externos que son parcialmente tratados con extractos o productos generados por las macrófitas acuáticas. En muy pocos casos se ha aislado e identificado el principio activo, por eso se cuestiona si el buen éxito del tratamiento se debe a las propiedades curativas de las plantas o a la superstición y la fe.

Con la raíz de *Acorus calamus* se han elaborado preparaciones para el tratamiento de enfermedades de los ojos, flatulencia, indigestión, dolor de muelas, tos y resfriados.

La lechuga de agua *Pistia stratiotes* se utiliza en Egipto para el tratamiento de inflamaciones y abrasiones en la piel, en la India se hierve el jugo de las hojas con aceite de coco, esta preparación se utiliza para enfermedades crónicas de la piel. El extracto de las hojas se combina con azúcar y agua de rosas para tratar la tos y el asma.

Sculthorpe (1985) menciona 25 especies más de plantas con propiedades curativas y advierte que la presencia de sustancias tóxicas en algunas han provocado resultados desafortunados en algunos tratamientos, por ejemplo, para el tratamiento de la hidrofobia, tétanos y mordedura de víbora de cascabel se administraban extractos obtenidos de *Alisma plantago-aquatica*, poco después ocurría la parálisis completa del paciente.

Los extractos metanólicos de *Myriophyllum spicatum* tienen actividad antibiótica contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus globifer* y *Proteus vulgaris* (Horst, 1995).

Control de plagas: Grainge (1988) hace una recopilación de las plantas utilizadas para el control de plagas, en esta base de datos se incluyen algunas especies de plantas acuáticas, en algunos casos se conoce cuál es el principio activo, en qué parte de la planta se encuentra y qué organismos controla.

En la tabla 3 se observa que algunas plantas con propiedades medicinales como *Acorus calamus* y *Pistia stratiotes* también

son utilizadas para el control de plagas.

TABLA 3 MACROFITAS ACUATICAS QUE CONTROLAN PLAGAS.

PLANTA Y PARTES QUE SE UTILIZAN	PRINCIPIO ACTIVO	FUNCION	ORGANISMOS QUE CONTROLA
<i>Acorus calamus</i> raíz hojas	taninos saponinas	insecticida	hormigas polillas pulgas moscas mosquitos gorgojo
<i>Pistia stratiotes</i> hojas	azufre	insecticida repelente	mosquitos
<i>Nuphar advena</i> raíz tallo hojas frutos	alcaloide (nufaridina)	antibacteriano	<i>Pseudomonas solanacearum</i>
<i>Nymphaea tuberosa</i> toda la planta	desconocido	antifúngico	<i>Alternaria sp.</i> <i>Fusarium roseum</i>

Producción de fibra y papel: se utilizan el tallo y las hojas de *Typha domingensis* y *Scirpus californicus* para tejer cestos, sogas, tapetes, sillas y juguetes, además, las semillas de *Typha domingensis* tienen una pelusa que es empleada para rellenar cojines (Miranda, 1994).

En Egipto se produce papel en pequeña escala para dibujos y pinturas a partir de *Cyperus papyrus*. En Italia, en 1956, se desarrolló un sistema especializado para cultivar, cosechar, transportar, almacenar y procesar la planta acuática *Phragmites australis* con el fin de obtener una pulpa de alta calidad para producir papel, cartulina y celofán. Esta planta y los residuos

de su molienda también se usan en la producción de pizarrones, furfural y alcohol (Pieterse, 1990).

Producción de biogas: se cortan las plantas acuáticas y se colocan en un tanque cerrado que tiene un inóculo de bacterias anaerobias productoras de metano, así, se produce una mezcla de gas que contiene 70% de metano y 30% de dióxido de carbono, que sirve para cocinar y calefacción, sin embargo, es necesario eliminar el dióxido de carbono si se quiere utilizar en máquinas de combustión. Se ha estimado que una hectárea del lirio acuático puede producir 70 000 m³ de biogas (Pieterse, 1990).

En este caso, el alto contenido de humedad en las plantas es una ventaja porque se necesita en el proceso de fermentación.

Tratamiento de aguas residuales: en las raíces y tallos de las plantas acuáticas se encuentran microorganismos que degradan los compuestos orgánicos presentes en el agua. Además, las plantas acuáticas tienen la capacidad de absorber metales pesados tóxicos y algunos elementos radioactivos. Las especies utilizadas son *Eichhornia crassipes*, *Lemna*, *Spirodela* y *Wolffia* (Pieterse, 1990). Si se utilizan las plantas acuáticas para el tratamiento de aguas con desechos tóxicos entonces se debe disponer de ellas en forma segura.

Ornamental: en los estanques y acuarios crecen plantas acuáticas de las especies *Butomus*, *Cyperus*, *Menyanthes*, *Nelumbo*, *Podetaria*, *Sagittaria*, *Typha* y *Nuphar*, entre otras (Pieterse, 1990).

En la actualidad, se considera más importante el papel de las

plantas acuáticas como depurador del agua en los acuarios y como refugio para los peces, aves, insectos, etc. que como adorno (Horst, 1995).

3.3. COMPOSICION QUIMICA DE LAS PLANTAS.

Cuando se hace un análisis químico de las plantas acuáticas para determinar su composición y proponer posibles alternativas de uso, se deben considerar los siguientes factores que influyen en los resultados de la composición química:

- a) parte de la planta que se analiza: raíz, tallo, hojas, flores.
- b) grado de madurez de la planta.
- c) localización en el cuerpo de agua.
- d) calidad del agua: agua con tratamiento primario, secundario o altamente contaminada.
- e) luz y temperatura: según la estación del año (Arredondo, 1993).

Los factores que hacen variar la concentración de un mineral en estas plantas son los siguientes:

- a) edad de la población.
- b) concentración del mineral en el ambiente.
- c) interacción de otros minerales en el proceso de absorción.
- d) intensidad de la luz.
- e) residuos adheridos a la planta.

Los elementos necesarios para el crecimiento normal y el desarrollo de la mayoría de las plantas son: carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, azufre, magnesio, hierro, manganeso, zinc, boro, cobre y molibdeno.

En las plantas acuáticas los elementos limitantes en el crecimiento y la fotosíntesis son el nitrógeno, fósforo y carbono (Devlin, 1982).

En la tabla 4 se describen algunas de las funciones de los minerales y su contenido en las plantas acuáticas.

TABLA 4 FUNCIONES DE LOS ELEMENTOS EN LAS PLANTAS.

ELEMENTO	FUNCION	CONTENIDO EN PLANTAS ACUATICAS (mg/100 g M.S. *)
Nitrógeno	Forma parte de las moléculas de aminoácidos, purinas y pirimidinas, porfirinas y coenzimas.	1460-3950
Fósforo	Se encuentra en las moléculas de ácidos nucleicos ADN Y ARN, fosfolípidos y de las coenzimas NAD y NADP. También forma parte del ATP.	80-630
Calcio	Forma parte de las paredes celulares en forma de pectato cálcico, activa las enzimas fosfolipasa, quinasa de la arginina, trifosfatasa de adenosina y quinasa de la adenina.	200-8030
Magnesio	Participa en la fotosíntesis (forma parte de la clorofila), es activador de varias enzimas que intervienen en la síntesis de ADN Y ARN así como del metabolismo de los carbohidratos.	80-950
Potasio	Es activador del metabolismo de las proteínas y de los carbohidratos.	420-4560
Azufre	Se encuentra en los aminoácidos cistina, cisteína y metionina así como en algunas vitaminas como la biotina y tiamina. Participa en los enlaces peptídicos y puentes de hidrógeno en las proteínas. Se encuentra en la coenzima A.	110-1580

* M.S. = materia seca de varias especies de plantas acuáticas analizadas por Boyd en 1978 (Pieterse, 1990).

ELEMENTO	FUNCION	CONTENIDO EN PLANTAS ACUATICAS (mg/100 g M.S.)
Hierro	Interviene en la síntesis de proteínas del cloroplasto así como en la síntesis de citocromos y clorofila. Forma parte de las flavoproteínas que intervienen en las oxidaciones biológicas. Se encuentra en las enzimas peroxidadas y catalasas.	13.3-386.6
Manganeso	Activa el metabolismo de la respiración y el del nitrógeno. En la respiración puede ser sustituido por Mg ²⁺ , Co ²⁺ , Zn ²⁺ y Fe ²⁺ . Activa varias enzimas del ciclo de Krebs. Interviene en la oxidación del ácido indolil-3-acético (IAA). Se ha observado que la sensibilidad de la clorofila a la destrucción por la luz aumenta en condiciones de deficiencia de Mn.	12-539
Cobre	Es un componente de las fenolasas, lacasa y oxidasa del ácido ascórbico. El cloroplasto tiene una proteína que contiene cobre, la plastocianina que participa en la fotosíntesis.	0.1-19
Zinc	El zinc interviene en la síntesis de la auxina ácido indolil-3-acético (IAA). Es activador de varias enzimas como la anhidrasa carbónica y la deshidrogenasa alcohólica. También activa a las enzimas transportadoras de fosfato como la quinasa de las hexosas y la deshidrogenasa del triosa-fosfato.	2-26.7
Boro	Participa en el transporte de carbohidratos en las plantas.	0.12-11.2
Molibdeno	Forma parte de la enzima nitrato reductasa y también de la enzima xantina deshidrogenasa que participa en la oxidación del ácido abscísico (ABA).	No determinado

La humedad varía entre 84.2 y 94.8% en plantas sumergidas y entre 76.1 y 89.7% en especies emergentes.

Tienen proteína de alta calidad, ya que su perfil de aminoácidos es comparable con el patrón FAO, dando resultados satisfactorios en el contenido de aminoácidos esenciales (Escamilla, 1998).

En las lemnáceas el contenido de proteína varía entre 16.2-25.7% en base seca.

Las macrófitas acuáticas en general tienen poca fibra. Arredondo (1993), reporta una evaluación comparativa en *Lemna sp.* e *Hydrilla sp.* en donde se encontraron contenidos de fibra menores que en los pastos terrestres como el Naiper y el Guinea; este mismo autor también describe el análisis de 16 especies de plantas acuáticas, concluyendo que las plantas emergentes, por tener una estructura más rígida, poseen más componentes de la pared celular que las flotantes y éstas más que las sumergidas.

En general, las plantas sumergidas, que tienen un contacto estrecho con el agua durante todo su ciclo de vida contienen más cenizas (debido a la presencia de carbonato de calcio, principalmente) que las flotantes y éstas más que las emergentes.

En cuanto al nitrógeno, las plantas sumergidas contienen 3-4% y las emergentes menos del 2.5%. Esto se debe a que las plantas sumergidas tienen una fuente abundante de nitrógeno en el agua en forma de nitratos, amonio y urea.

En la tabla 5, se presentan los datos de la composición química de varias especies de plantas acuáticas (Arredondo, 1993).

TABLA 5 COMPOSICION QUIMICA DE ALGUNAS ESPECIES DE PLANTAS ACUATICAS.

ESPECIE	HUMEDAD %	PROTEINA %	LIPIDOS %	FIBRA BASE SECA %	CENIZAS %	ELN* %	ENERGIA Kcal/g
FLOTANTES							
<i>Wolffia</i> sp.	96.87	9.3	1.44	9.1	7.1	73.06	358.93
<i>Lemna minuscula</i>	95.43	14.06	0.95	6.0	53.30	27.50	199.17
<i>Lemna minuscula</i> (c)	94.15	20.75	1.45	7.4	31.37	39.05	194.18
<i>Pistia stratiotes</i>	93.82	9.3	0.47	14.94	41.42	33.88	192.94
<i>Pistia stratiotes</i> (c)	95.45	17.29	1.28	14.27	24.39	42.77	239.24
<i>Salvinia auriculata</i>	95.26	13.22	0.36	27.93	22.3	36.19	223.53
<i>Salvinia auriculata</i> (c)	92.17	10	0.93	26.35	22.91	39.82	225.01
<i>Azolla mexicana</i>	93.22	13.21	0.31	30.28	22.89	33.32	211.52
<i>Eichhornia crassipes</i>	94.01	9.7	0.42	21.63	16.30	51.93	267.06
EMERGENTES							
<i>Pontederia lanceolata</i>	87.48	12.69	0.71	17.75	17.75	41.31	244.32
<i>Nymphaea ampla</i>	90.29	24.36	2.56	13.98	13.98	47.44	352.93
<i>Marsilea mexicana</i>	89.64	9.3	0.35	28.03	28.03	43.83	231.37
<i>Ludwigia sedoides</i>	88.03	8.0	1.73	11.34	11.34	67.09	330.51
<i>Eleocharis equisetoides</i>	76.60	9.3	1.59	34.06	10.05	45.04	248.05
<i>Hymenocallis caroliniana</i>	88.25	81.1	1.57	23.22	13.52	53.57	275.42
SUMERGIDAS							
<i>Chaza</i> sp.	96.17	9.1	0.61	14.29	28.77	47.22	256.55
<i>Vallisneria americana</i>	85.45	8.1	0.72	8.4	67.18	15.6	115.18

Fuente: Arredondo, 1993. (c) = cultivada *E.L.N. = extracto libre de nitrógeno.

3.4. PIGMENTOS Y SUS FUENTES.

Observamos el color en los pigmentos, debido a que contienen compuestos orgánicos que tienen en su molécula cromóforos (grupo insaturado o sistema conjugado) que es el causante de la absorción Ultravioleta (Pine, 1991).

Los pigmentos de origen vegetal son los siguientes:

- 1) Carotenoides
- 2) Clorofilas
- 3) Antocianinas
- 4) Flavonoides
- 5) Betalaínas
- 6) Taninos

Estos pigmentos pueden estar presentes en derivados de origen animal, cuando en la dieta de los animales se incluyen vegetales ricos en pigmentos (Badui, 1990).

La mayoría de los pigmentos vegetales se encuentran en el protoplasma de las células, dentro de los organelos especializados llamados plástidos, que se pueden observar con el microscopio, ya que forman pequeñas placas o agujas de estructura cristalina; en algunos casos, cuando son solubles en agua, se encuentran disueltos en las vacuolas de las células, y su separación y aislamiento se facilita considerablemente, pero existen otros que sólo se solubilizan en disolventes orgánicos como el hexano, éter, etc. (Badui, 1990).

3.4.1. CAROTENOIDES.

Los colores amarillo, naranja y rojo de varios frutos se debe a la presencia de los carotenoides. Junto con las clorofilas se encuentran en los organismos capaces de llevar a cabo el proceso de fotosíntesis.

Los carotenoides sólo son sintetizados en organismos vegetales y son la fuente de todos los carotenoides de origen animal en donde se acumulan. La leche, la mantequilla y la yema de huevo contienen carotenoides que provienen de los vegetales incluidos en las dietas de los animales.

Los carotenoides se nombran así debido al pigmento más representativo de este grupo el β -caroteno, que fue aislado de las zanahorias por Wackenroder en 1831. Seis años después, Berzelius nombró xantofilas a los pigmentos aislados de hojas amarillas (Gross, 1987).

La estructura química básica de la mayoría de estos compuestos es poliénica de 40 átomos de carbono, formada por ocho unidades de isopreno, cuyo arreglo se hace inverso en el centro y pueden ser de cadena lineal o tener ciclizaciones en los extremos (Badui, 1990).

La zanahoria, contiene una mezcla de α -caroteno (figura 2), β -caroteno (figura 3) y γ -caroteno (figura 4).

FIGURA 2 ESTRUCTURA DE α -CAROTENO.

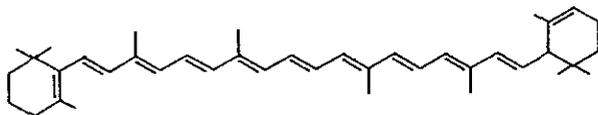


FIGURA 3 ESTRUCTURA DE β -CAROTENO.

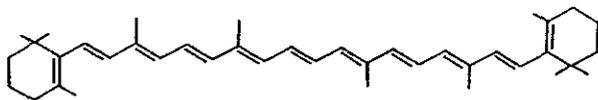
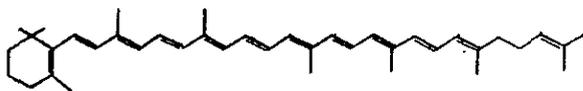


FIGURA 4 ESTRUCTURA DE γ -CAROTENO.

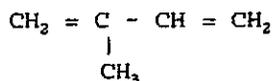


En la naturaleza se han identificado más de 420 carotenoides, y a pesar de que generalmente su color varía de amarillo a naranjado y rojo, una gran proporción de ellos se encuentra en las hojas verdes y sólo aparecen en el invierno cuando la clorofila que es mucho más abundante en primavera y en verano, desaparece.

Existen en forma libre, disueltos en la fracción lipídica del tejido vegetal, formando complejos con proteínas, unidos a hidratos de carbono por medio de un enlace glucosídico, o como ésteres de ácidos grasos; la asociación con proteínas los hace más estables e incluso les cambia el color que tienen de manera libre.

Se han dividido en dos grandes grupos de acuerdo con su estructura química: carotenos y xantofilas. Los primeros tienen características de hidrocarburos, son solubles en éter de petróleo y poco en etanol (Badui, 1990).

Los carotenos, al igual que muchos otros grupos de sustancias de importancia biológica, están contruidos en base a unidades de isopreno:



Por su parte, las xantofilas son la forma oxidada de los carotenos, se presentan como ácidos, aldehídos o alcoholes y son solubles en etanol, metanol y éter de petróleo. Ambos grupos le deben su color a la conjugación de los dobles enlaces, así como a la presencia de los anillos extremos (si existen); en estado

los cuales, la mayor parte es β -caroteno; el α -caroteno y las xantofilas sólo suman de 5 a 10 ppm. Debido a su estructura insaturada, los carotenoides se descomponen por calor, luz, oxígeno, ácidos y álcalis (Badui, 1990).

Los carotenos, además de servir como precursores de la vitamina A en el organismo humano, también cumplen una función biológica protectora contra la formación y la acción de los radicales libres (Wingrove, 1984).

3.4.2 CLOROFILA.

Las plantas verdes deben su color a la presencia de clorofilas que participan en el proceso de la fotosíntesis, la transformación de la energía luminosa en energía química.

Todas las plantas verdes superiores contienen clorofila a y b, la clorofila c y d son de origen microbiano.

En 1906, Tswett separó por primera vez las clorofilas a y b, haciendo eluir un extracto de hojas a través de una columna que contenía polvo de gis. La clorofila a es la menos polar y tiene un color azul-verde, la clorofila b es la más polar y su color es amarillo-verde (Gross, 1987).

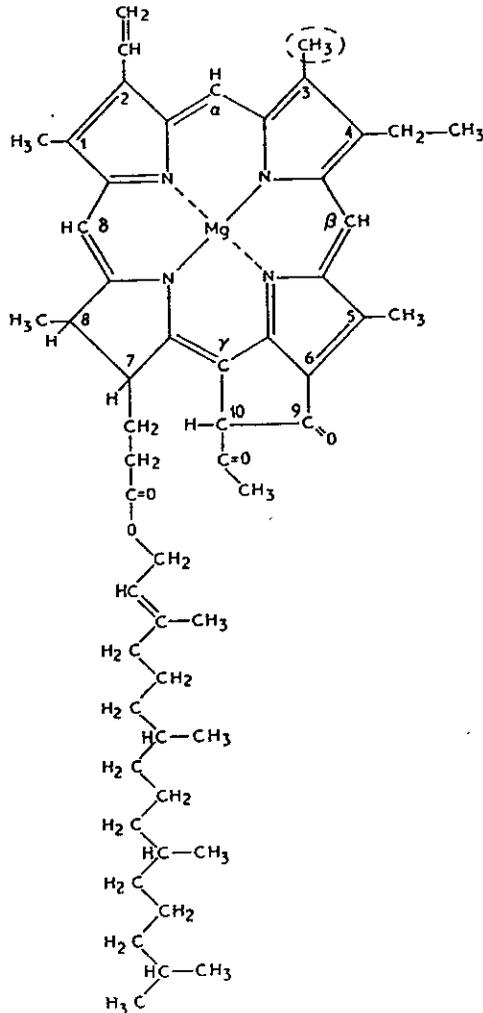
Las clorofilas son porfirinas. Este pigmento tiene un anillo porfirínico con un átomo de magnesio y el alcohol fitol que se esterifica a una molécula de ácido propiónico; los anillos pirrólicos están unidos por medio de dobles enlaces, creando una estructura planar.

El magnesio central está ligado por dos de los nitrógenos de los anillos pirrólicos de manera covalente, mientras que los

otros dos nitrógenos lo unen por un sistema de coordinación (Badui, 1990).

En la figura 7 se muestra la estructura de la clorofila; la clorofila a tiene un grupo metilo en el átomo del carbono 3 mientras que la clorofila b tiene un grupo aldehído.

FIGURA 7 CLOROFILAS A Y B.



Las hojas de la mayoría de las plantas deben su color verde a la clorofila, pero ésta va desapareciendo al acercarse a la senectud, para dejar paso a otros pigmentos como los carotenoides; este mismo proceso se presenta en los frutos inmaduros, que siendo verdes, se tornan amarillos, rojos, etc., por la pérdida de la clorofila y la síntesis de otras sustancias coloridas en la etapa de maduración (Mayer, 1947).

Este pigmento no está disuelto en la célula, sino que se localiza en unas estructuras bien definidas llamadas cloroplastos; éstos a su vez, están integrados por partículas (granatas) más pequeñas ($0.2-2 \mu$); las granatas se componen de unas laminillas, cuyo tamaño oscila entre 0.01 y 0.02μ , y son conglomerados de subunidades esféricas (cuantosomas) en arreglo cristalino en las que se encuentra la clorofila unida a lípidos, proteínas y lipoproteínas y, en ocasiones, a algunos carotenoides.

La clorofila sólo es soluble en disolventes orgánicos como benceno, éter, acetona. Su estructura química es muy compleja y fácilmente alterable por agentes como los oxidantes (tanto oxígeno como peróxidos), las altas temperaturas, la luz, el pH y algunas enzimas (Schwartz *et al.*, 1981).

Mediante el proceso de la fotosíntesis se puede transformar la energía radiante en energía química, de esta manera las plantas pueden elaborar su alimento y a su vez formar parte de la cadena alimenticia (Badui, 1990).

3.4.3. ANTOCIANINAS.

Se encuentran en las uvas, manzanas, rosas, fresas y en muchos otros productos de origen vegetal, principalmente frutas y flores. Generalmente se encuentran en la cáscara o piel, como en el caso de las peras y manzanas, pero también se pueden localizar en la pulpa, como en las fresas y ciruelas.

Son pigmentos hidrosolubles con características de glucósidos; están constituidos por una molécula de antocianidina, que es la aglucona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico.

El color de las antocianinas depende de los sustituyentes químicos que contenga y de la posición de los mismos. Además, el color depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema en que se encuentran, en pH ácido su color es rojo y en pH alcalino es azul.

Las antocianinas también cambian de color cuando forman complejos con otros compuestos fenólicos o con algunos polisacáridos, ya que se favorece un desplazamiento de la absorción a longitudes de onda mayores (Badui, 1990).

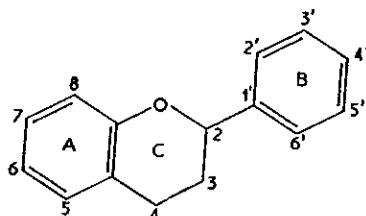
Estos pigmentos son hidrolizados por glucosidasas y fenolasas, el tiempo de vida media de las antocianinas en una conserva de fresas es de 1 hora a 100°C, 10 días a 38°C y 54 días a 20°C, por lo que extrapolando, el tiempo de vida media sería de 11 meses a 0°C. Los factores que favorecen la degradación de las antocianinas son la luz, oxígeno, temperatura y la interacción con algunos azúcares como fructosa, arabinosa, lactosa y

sorbosa. La interacción de ácido ascórbico y antocianinas generan compuestos incoloros (Markakis, 1982).

Las antocianinas, cuando se les hidroliza producen un azúcar y una aglicona, llamada antocianidina. Los residuos de los carbohidratos más comunes hallados son: glucosa, ramnosa, galactosa y genobiosa.

Las antocianidinas poseen una estructura básica en común, que consiste en un núcleo de benzopirilio y un anillo fenólico, los dos juntos reciben el nombre de flavilio:

FIGURA 8 CATION FLAVILIO.



Los pigmentos de antocianinas modifican su color con los cambios de pH. La cianina, por ejemplo, es roja en solución ácida, morada a pH neutro y azul en medio alcalino (Braverman, 1980).

3.4.4. FLAVONOIDES.

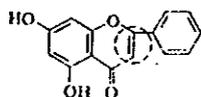
Son compuestos fenólicos que abundan en la naturaleza; dado que tienen una estructura química muy parecida a la de las antocianinas normalmente se encuentran en diversos frutos junto con ellas ya que ambos grupos de pigmentos siguen un proceso biosintético común.

Son glucósidos formados por una aglucona, que en muchos casos deriva de la 2-fenilbenzopirona; entre las principales agluconas se encuentra el flavonol y la flavona que dan origen a los flavonoles y a las flavonas, además de la isoflavona, la flavonona, el flavononol, las chalconas y los biflavonilos. Las diferencias químicas básicas entre las diferentes agluconas se muestran en la figura 9. Los azúcares más importantes son la glucosa, la ramnosa, la galactosa, la arabinosa y la xilosa, y en ocasiones también se encuentran la apiosa y la rutinosa; estos se unen a la aglucona por medio de los carbonos 7, 5 y 4', principalmente. Estos pigmentos son generalmente amarillos, y a pesar de que existe un número muy grande de ellos, no contribuyen de manera importante al color de los alimentos; se localizan en diversas frutas como peras, fresas, manzanas, cerezas, duraznos, naranjas y limones. Sin embargo, sí son responsables en gran medida de la astringencia de diversos productos, como el té.

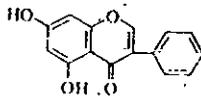
Normalmente, los flavonoides son más estables al calor y a las reacciones de oxidación que las antocianinas y resisten la mayoría de los tratamientos térmicos que se emplean en la producción de alimentos enlatados (Badui, 1990).

FIGURA 9

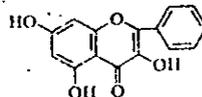
DIFERENCIAS BASICAS DE LAS AGLUCONAS DE LOS
FLAVONOIDES.



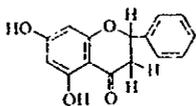
FLAVONA



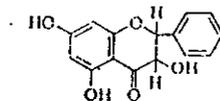
ISOFLAVONA



FLAVONOL



FLAVANONA

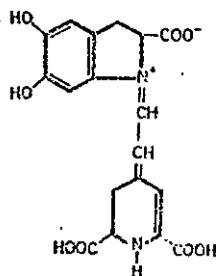


FLAVANONOL

3.4.5. BETALAINAS.

Este término se refiere a un grupo de aproximadamente 70 pigmentos hidrosolubles, con estructuras de glucósidos, derivados de la 1,7-diazooheptametina, y que se han dividido en dos grandes clases; los rojos o betacianinas, y los amarillos o betaxantinas. Se encuentran en pocas plantas y flores, entre las que destacan el betabel y la tuna roja y otras ocho familias del orden Centrospermae. Las más estudiadas son las del betabel, que se localizan en las vacuolas, y cuya betacianina principal recibe el nombre de betanina que representa hasta 95% del total de los pigmentos; la betanina esta constituida por la aglucona betanidina a la cual se enlaza una molecula de β -D-glucosa en el hidroxilo 5, como lo muestra la figura 10; en ocasiones se unen al hidrato de carbono algunos ácidos como el glucurónico, el cafeico y el ferúlico. La betanina puede transformarse y perder su coloración por la influencia de factores como el pH, las temperaturas altas, el oxígeno, la luz y la actividad acuosa.

FIGURA 10 ESTRUCTURA DE LA BETANIDINA.



3.4.6. TANINOS.

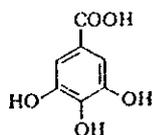
Los taninos son una clase de compuestos fenólicos incoloros o amarillo-café, que de acuerdo con su estructura y reactividad con agentes hidrolíticos, particularmente ácidos, se han dividido en dos grupos; los hidrolizables y los no hidrolizables o condensados. Los primeros son sustancias poliméricas complejas que a su vez se clasifican en galotaninos, cuando contienen ácido gálico, y elagitaninos, cuando está presente el ácido elágico; el ácido gálico puede estar en forma de glucósido al unirse a una molécula de glucosa, o esterificarse consigo mismo produciendo ácidos di y trigálicos. De hecho, una forma de expresar el contenido de taninos en los vinos es por su equivalente de ácido gálico; el rojo de mesa contiene 750 mg de equivalentes/litro, mientras que el de tipo jerez y el rosado presentan 150 y 110, respectivamente. En la figura 11 se muestra la estructura del ácido gálico.

Por su parte, los taninos no hidrolizables o condensados son generalmente dímeros de la catequina (flaván-3-ol) o de antocianidinas (flaván-3,4-diol); algunos de ellos producen una antocianidina coloreada cuando se tratan con ácidos calientes.

Su peso molecular varía normalmente de 500 a 3000 daltones; por su estructura presentan propiedades reductoras y actúan como antioxidantes protegiendo a los vinos tintos; sirven de sustrato en las reacciones de oscurecimiento enzimático, sobre todo en productos como el café y el cacao, y son los responsables de la astringencia de muchos frutos inmaduros, como el plátano, la

pera, la uva, la manzana, etc., debido a que tienen la propiedad de reducir las características de lubricación de la saliva pues precipitan las proteínas y las glucoproteínas que contiene ésta.

FIGURA 11 ESTRUCTURA DEL ACIDO GALICO.



La importancia de los pigmentos antes descritos se debe a que uno de los atributos más importantes de la calidad sensorial de un alimento es el color. Independientemente del valor nutritivo, sabor o textura de un alimento, es poco probable que se consuma si no tiene el color correcto.

La aceptabilidad del color de un alimento cualquiera se ve influenciada por muchos factores, culturales, geográficos y sociales de la población. Sin embargo, con independencia de las características o hábitos de una zona determinada, ciertos grupos de alimentos son solamente aceptables si están comprendidos dentro de una cierta escala de color. Además, la aceptación se ve reforzada por su valor económico puesto que en muchos casos el valor de las materias primas alimentarias se juzga por el color.

4. JUSTIFICACION.

En México no existe una cultura que promueva la preservación de ríos, lagunas y lagos en donde se desarrollan flora y fauna acuáticas, por lo general, se contaminan y desecan paulatinamente estos cuerpos de agua.

Uno de los factores que intervienen para la desaparición de la flora acuática es la escasa o nula información que se tiene acerca de sus características químicas y de la importancia de controlar su desarrollo en lugar de erradicarlas por completo.

El presente trabajo pretende proporcionar información acerca de la composición química de algunas especies de plantas acuáticas así como de sus pigmentos con el fin de proponer posibles alternativas de utilización.

5. OBJETIVOS.

5.1. OBJETIVO GENERAL.

Caracterización química e identificación de pigmentos en 7 plantas acuáticas presentes en el Parque Ecológico de Xochimilco.

5.2. OBJETIVOS PARTICULARES.

Determinar: análisis químico aproximado, energía bruta, fracciones de fibra, proteína verdadera, digestibilidad multienzimática, algunos factores antifisiológicos y minerales en las 7 plantas acuáticas.

Determinar la concentración de los pigmentos presentes en las 7 plantas acuáticas.

Con base en la información obtenida acerca de la composición química y el contenido de pigmentos, proponer posibles alternativas de uso para las plantas acuáticas analizadas.

6. MATERIAL Y METODO.

6.1. LOCALIZACION DEL SITIO DE COLECTA DE LAS PLANTAS.

La colecta de las plantas se realizó en el Parque Ecológico de Xochimilco (PEX) que se encuentra situado en la zona sureste del D.F., en la Delegación Xochimilco, al pie de la sierra Chichinautzin, entre los paralelos 19° 15' 00" y 19° 17' 20" de

5. OBJETIVOS.

5.1. OBJETIVO GENERAL.

Caracterización química e identificación de pigmentos en 7 plantas acuáticas presentes en el Parque Ecológico de Xochimilco.

5.2. OBJETIVOS PARTICULARES.

Determinar: análisis químico aproximado, energía bruta, fracciones de fibra, proteína verdadera, digestibilidad multienzimática, algunos factores antifisiológicos y minerales en las 7 plantas acuáticas.

Determinar la concentración de los pigmentos presentes en las 7 plantas acuáticas.

Con base en la información obtenida acerca de la composición química y el contenido de pigmentos, proponer posibles alternativas de uso para las plantas acuáticas analizadas.

6. MATERIAL Y METODO.

6.1. LOCALIZACION DEL SITIO DE COLECTA DE LAS PLANTAS.

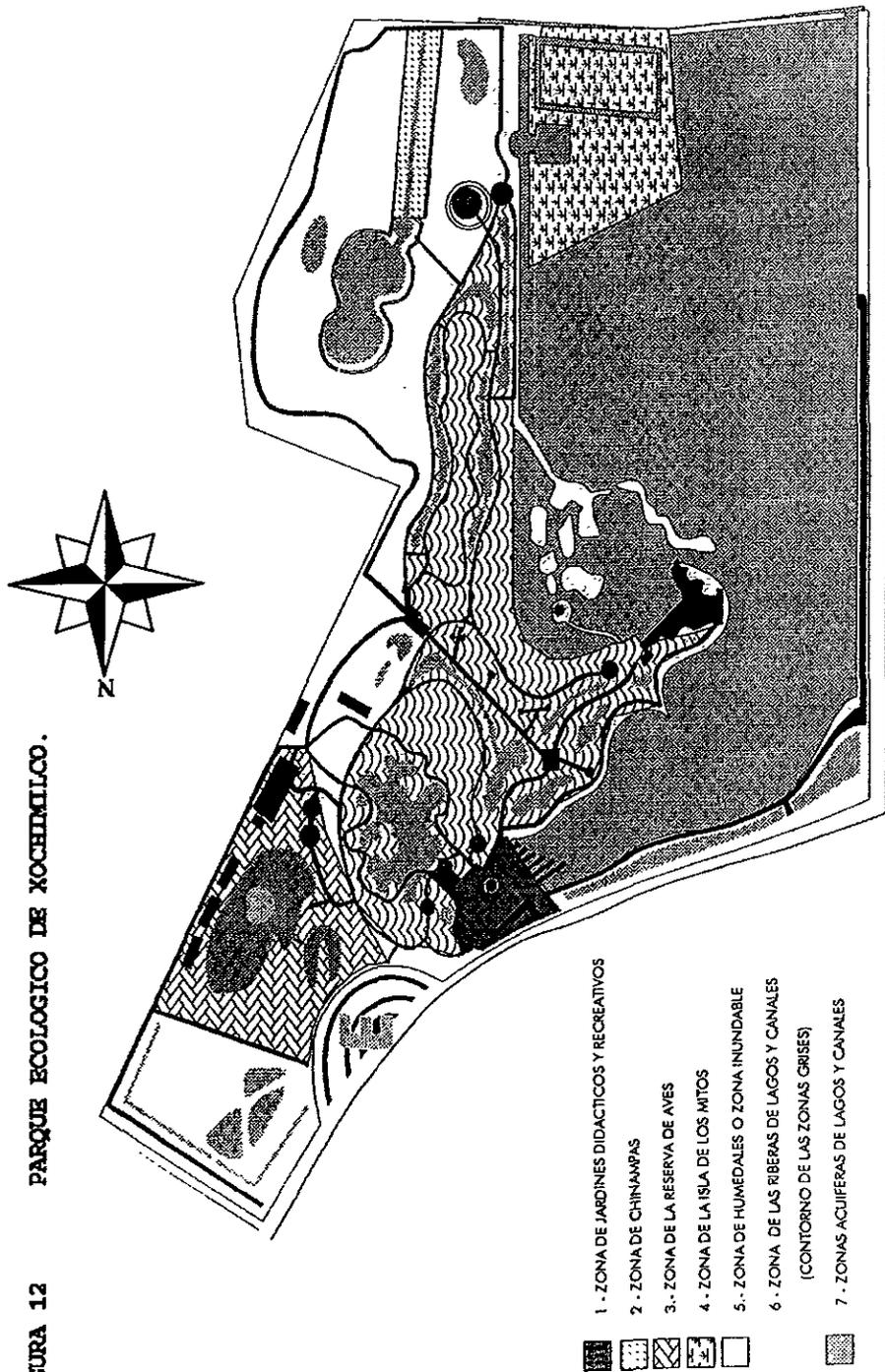
La colecta de las plantas se realizó en el Parque Ecológico de Xochimilco (PEX) que se encuentra situado en la zona sureste del D.F., en la Delegación Xochimilco, al pie de la sierra Chichinautzin, entre los paralelos 19° 15' 00" y 19° 17' 20" de

latitud norte y el meridiano $99^{\circ} 04' 00''$ de longitud oeste, a una altitud de 2238 m s n m. Colinda al norte con el Periférico Sur, al este con el Canal de Chalco, al sur con el Canal del Bordo y al oeste con el Canal de Cuemanco en la colonia Ciénega Grande.

El parque tiene una superficie de 190 hectáreas, 50 de las cuales están ocupadas por distintos cuerpos de agua como lagos, canales y ciénegas que sirven de nicho a diversas especies de plantas y animales residentes. El sur de la Cuenca de México es una zona netamente lacustre y el parque topográficamente hablando, se ubica en un área semi-plana correspondiente a una enorme llanura aluvial y lacustre del antiguo vaso desecado.

El clima que predomina, según la clasificación de Köppen, modificada por García (1964) es $C(W_1)(W)$: templado subhúmedo con un régimen de lluvias en verano, una precipitación pluvial de 700 a 900 mm en promedio anual y con una temperatura media de 15.9°C , con heladas ocasionales (Figura 12).

FIGURA 12 PARQUE ECOLOGICO DE KOCHIMILCO.



Fuente: Parque Ecológico de Kochimilco, 1997.

La calidad del agua en el Parque Ecológico de Xochimilco se evaluó en los años 1994-1995, los resultados obtenidos aportan la siguiente información: el color del agua del afluente es transparente, el agua de los lagos es de color verde claro a verde oscuro, debido a la presencia de algas clorofíceas, en tanto que el agua de chinampas, humedales y cárcamo tienen un color que va de amarillo a café. El pH del afluente es de 7-7.5, para las otras zonas (chinampas, humedales y cárcamo) es de 9.5-9.9. La salinidad es de 2.74 mmhos (mho: unidad de conductancia eléctrica). El agua del afluente es moderadamente dura, pero en los humedales, canales y lagos es muy dura. En general, se observó que en el afluente, la concentración de carbonatos y bicarbonatos era baja, pero estas sales tienen la tendencia a acumularse y concentrarse en los humedales, canales y lagos del parque (Ensastegui et al., 1996; Aguayo, 1994).

6.2. OBTENCION DEL MATERIAL BIOLÓGICO.

Para obtener las muestras de plantas acuáticas flotantes *Azolla mexicana* y *Lemna gibba* se usó una red o saranda para extraerlas del agua, se lavaron con agua corriente, se limpiaron manualmente de insectos, gusanos y de materia extraña. Se secaron en una estufa con corriente de aire a 60°C durante 72 horas.

Polygonum mexicanum, *Hydrocotyle ranunculoides* y *Nymphaea mexicana*, se colectaron sólo las hojas, cortándolas con tijeras. También se lavaron y limpiaron de materia extraña y se secaron a 60°C por 48 horas.

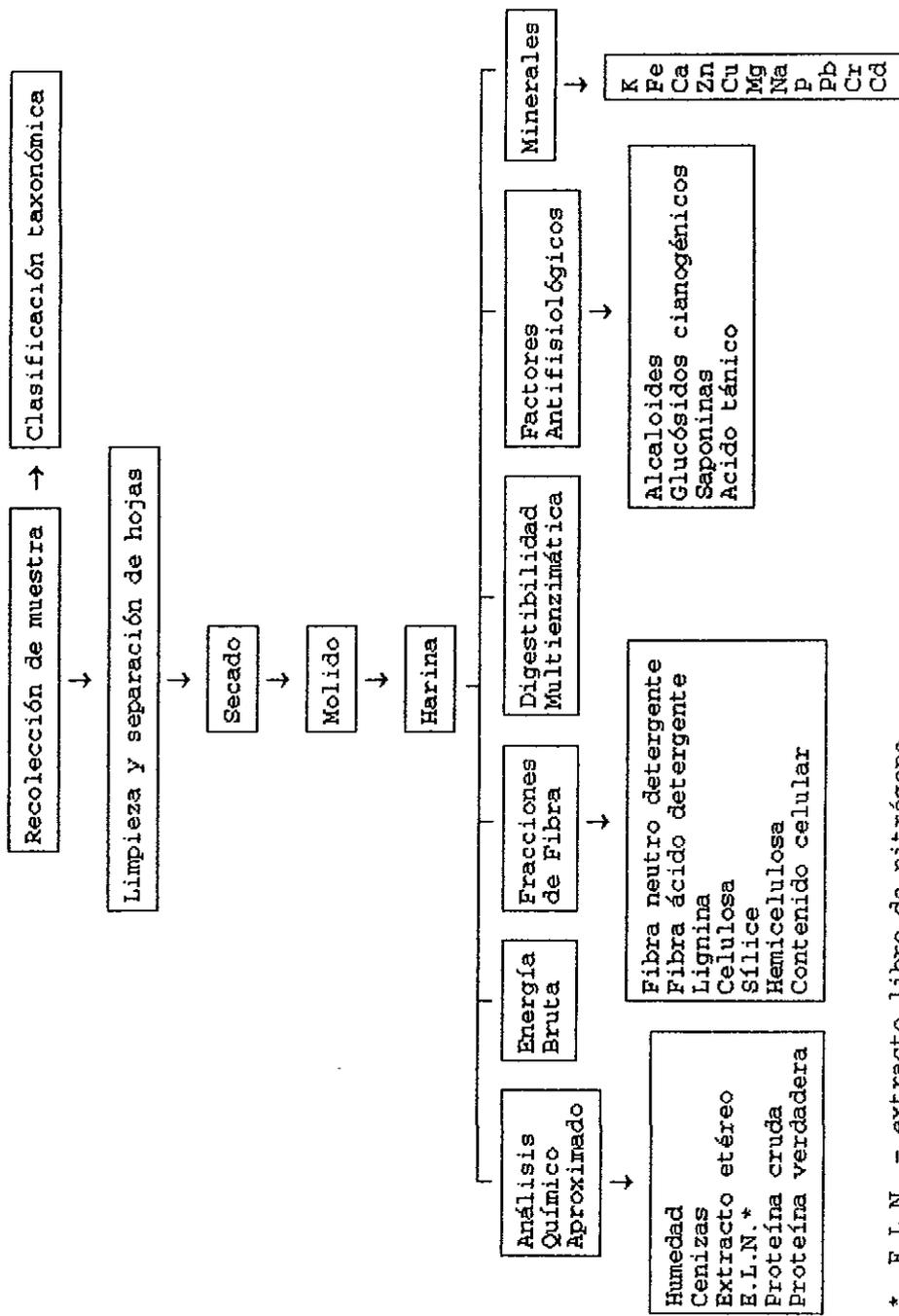
Las plantas más fibrosas como *Typha domingensis* y *Schoenoplectus* sp. se cortaron con ayuda de un machete. Se limpiaron y secaron a 60°C durante 24 horas.

Se molieron en un molino de cuchillas con tamaño de malla # 20 y se almacenaron en frascos transparentes de plástico con tapa. Se elaboró un herbario y se llevó al Departamento de Botánica del Instituto de Biología de la U.N.A.M. para clasificarlas taxonómicamente.

6.3. ANALISIS QUÍMICOS.

En la figura 13 se muestra el diagrama de flujo de los análisis químicos realizados a la harina de 7 especies de plantas acuáticas.

FIGURA 13 ANALISIS QUIMICO DE 7 PLANTAS ACUATICAS.



* E.L.N. = extracto libre de nitrógeno.

Se realizó el análisis químico aproximado según los métodos descritos por A.O.A.C. (1990): humedad (930.04), cenizas (930.05), extracto etéreo (930.09), proteína cruda (955.04).

Los carbohidratos totales se obtuvieron al sustraer de 100 la suma de los valores de las determinaciones de humedad, cenizas, extracto etéreo y proteína cruda.

La energía bruta se determinó con la bomba calorimétrica Parr, según el método descrito en el instructivo (Manual del I.N.N.S.Z., 1984).

Para fracciones de fibra se siguió la técnica de Van Soest y Wine (1967).

La determinación de nitrógeno no proteico se hizo por el método de Hayward, J.W. (1975). La digestibilidad multienzimática por el método de Hsu et al., (1977).

Los minerales (K, Fe, Ca, Zn, Cu, Mg y Na) se determinaron por Espectrofotometría de absorción atómica, A.O.A.C. (1990) método 975.03 y fósforo por colorimetría, A.O.A.C. (1990), método 965.17.

Alcaloides, método cualitativo (Webb, 1949)*; Taninos, A.O.A.C. (1990), método 9.5203; glucósidos cianogénicos, A.O.A.C. (1990), método 936.11 y las saponinas por la técnica cualitativa de Monroe (1952). * Mencionado por Domínguez (1974).

Con los datos obtenidos se llevó a cabo un análisis estadístico de media y desviación estándar.

6.4. EXTRACCION Y SEPARACION DE PIGMENTOS POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.

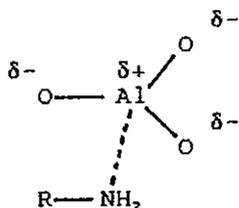
Para separar los pigmentos presentes en una muestra vegetal se pueden utilizar la cromatografía en papel (Jeffrey, 1961), en capa fina (Harbone, 1984) o la cromatografía en columna (Strain, 1945). Con la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) se pueden determinar y cuantificar los pigmentos, los isómeros y productos de descomposición presentes en una muestra vegetal (Almela *et al.*, 1992; Cano, 1991; Eskins y Dutton, 1979; Fuke *et al.*, 1985; Khachik *et al.*, 1986; Khalyfa *et al.*, 1992; Mahanta y Baruah, 1992; Mínguez y Hornero, 1993).

La cromatografía es la separación de una mezcla de dos o más compuestos (en algunos casos iones) por medio de su distribución entre dos fases, una fase estacionaria y una fase móvil. Se pueden realizar varios de tipos de cromatografía, dependiendo de la naturaleza de las dos fases que participan: sólido-líquido (columna, capa fina, y papel), líquido-líquido y (gas-líquido).

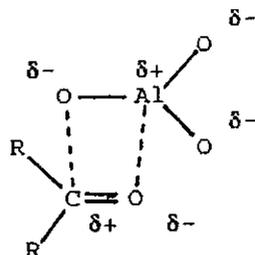
El fundamento de la cromatografía en capa fina es el grado de adsorción de los compuestos en la fase estacionaria así como el grado solubilidad en la fase móvil.

Por lo general, se utilizan alúmina ($Al_2O_3 \cdot xH_2O$) o sílica gel ($SiO_2 \cdot xH_2O$) como fase estacionaria, si se le adiciona una disolución que contiene compuestos orgánicos, algunos de ellos serán adsorbidos en la alúmina debido a diferentes fuerzas intermoleculares como las que se muestran en la figura 14.

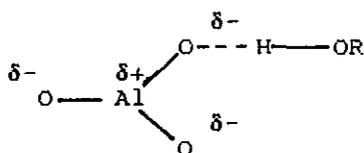
FIGURA 14 POSIBLES INTERACCIONES DE LOS COMPUESTOS ORGANICOS CON ALUMINA.



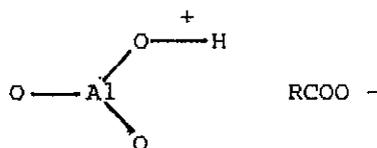
COORDINACION
(BASES DE LEWIS)



DIPOLO-DIPOLO
(MOLECULAS POLARES)



PUENTES DE HIDROGENO
(COMPUESTOS HIDROXILICOS)



FORMACION DE SALES
(ACIDOS)

La fuerza de las interacciones varían en el siguiente orden:

formación de sales > coordinación > puentes de hidrógeno > dipolo-dipolo > Van der Waals

De esta manera, un compuesto con un grupo funcional polar (por ejemplo ácido carboxílico o alcohol) formará un enlace más fuerte con la alúmina o la sílica gel que un compuesto con un grupo funcional no polar (alcanos o alquenos).

En la tabla 6 se muestra la secuencia de elución de las clases de compuestos orgánicos:

TABLA 6 SECUENCIA DE ELUCION DE LOS COMPUESTOS ORGANICOS.

COMPUESTO	ORDEN DE ELUCION
alcano	<p>rápido</p>  <p>incremento en la polaridad</p> <p>lento</p>
alqueno	
alquino	
éter	
hidrocarburo halogenado	
hidrocarburo aromático	
cetona	
aldehído	
éster	
alcohol	
amina	
ácido carboxílico, base fuerte	

En la tabla 7 se muestran las características de polaridad de la fase estacionaria y fase móvil utilizadas en la cromatografía de adsorción:

TABLA 7 ADSORBENTES Y DISOLVENTES UTILIZADOS EN LA CROMATOGRAFIA DE ADSORCION.

ADSORBENTE	ADSORCION DE COMPUESTOS POLARES	DISOLVENTE	GRADO DE POLARIDAD
papel		éter de petróleo	↓
celulosa		hexano	
almidón		ciclohexano	
azúcares		tetracloruro de carbono	
silicato de magnesio		benceno	
sulfato de calcio		cloroformo	
ácido silícico	↑	cloruro de metileno	↑
sílica gel	↑	éter dietílico	↑
florisil	↑	acetato de etilo	↑
óxido de magnesio	↑	acetona	↑
alúmina	↑	piridina	↑
carbón activado	↑	etanol	↑
	↑	metanol	↑
	↑	agua	↑
	↑	ácido acético	↑

Por lo tanto, en la cromatografía en capa fina, es importante elegir la fase estacionaria y los disolventes adecuados de la fase móvil de acuerdo con las características de la muestra.

Por ejemplo, en la separación de los pigmentos presentes en una planta verde se utilizó como fase estacionaria sílica gel activada, como fase móvil una mezcla de disolventes en la siguiente proporción: éter de petróleo/acetato de etilo/dietilamina (58:30:12). Los compuestos obtenidos y sus valores de R_f fueron los siguientes: β -caroteno (0.87), feofitina a (0.82), clorofila a (0.77), clorofila b (0.60), luteína (0.42), violaxantina (0.37) y neoxantina (0.23).

Por las características no polares de la molécula del β -caroteno (figura 3,) es poco adsorbido en la sílica gel, entonces eluye más rápido que la luteína (figura 5) que tiene características polares al tener en su molécula un grupo hidroxilo y quedar fuertemente adsorbido en la fase estacionaria (Stahl, 1965).

Cuando ya se han logrado separar las bandas de cada uno de los pigmentos se procede a obtener su espectro de absorción mediante la espectroscopía en el ultravioleta que detecta los cambios electrónicos en los niveles de energía de los pares de electrones no compartidos o electrones en los enlaces π por la aplicación de luz UV (Fogiel, 1988).

Las regiones UV y visible del espectro electromagnético, son adyacentes entre sí: Ultravioleta (200-400 nm) y visible (400-800

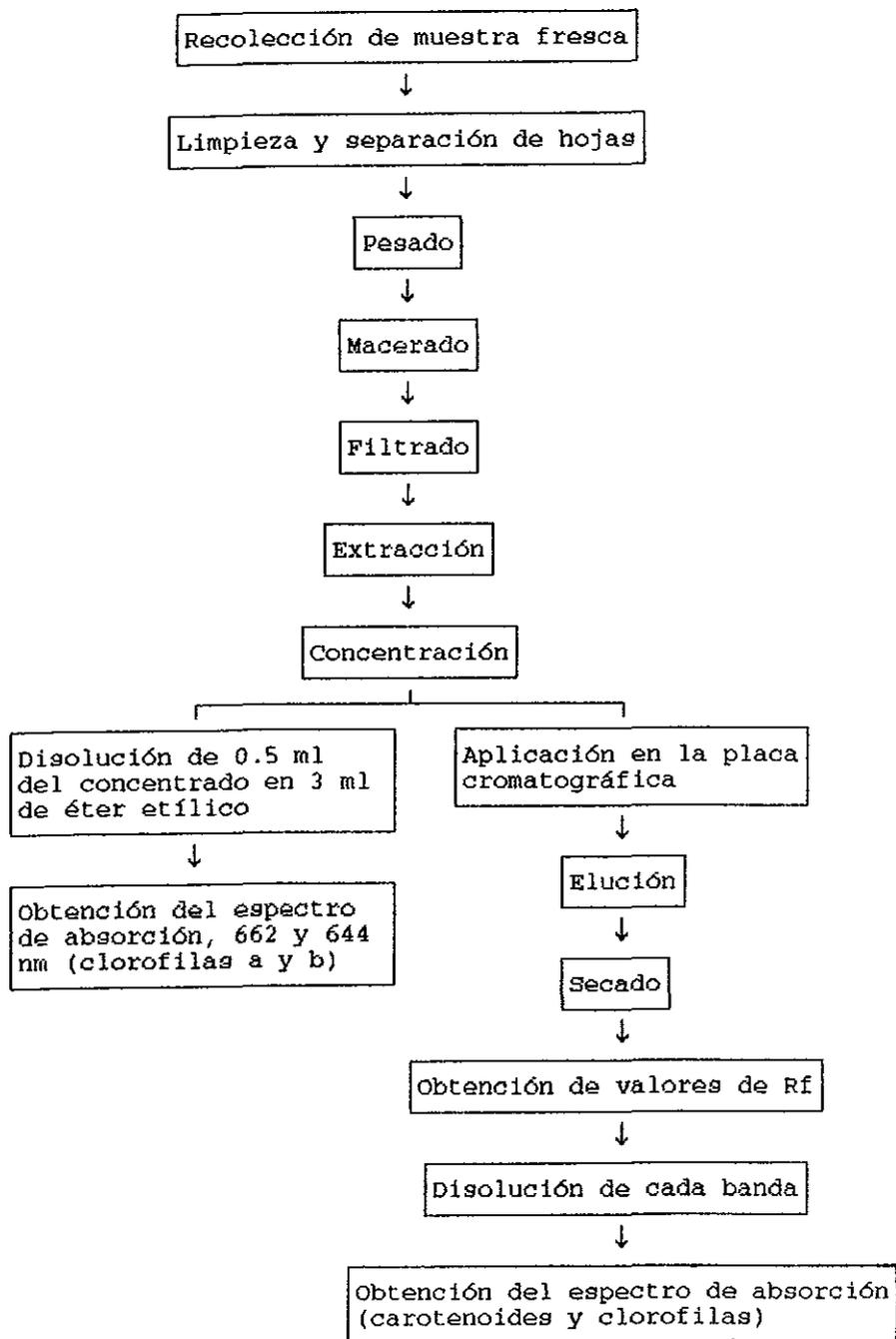
nm). Dependiendo de las características de la molécula en estudio, la absorción de energía puede ocurrir en la región del ultravioleta, en el visible o en ambas (Pine, 1991).

Partiendo de la técnica descrita por Fessenden (1983) se llevó a cabo la extracción y separación de pigmentos.

En la figura 15 se muestra el diagrama de flujo del análisis de pigmentos de las 7 plantas acuáticas.

FIGURA 15

ANALISIS DE PIGMENTOS DE 7 PLANTAS ACUATICAS.



Se colectó la planta fresca, se pesaron aproximadamente 5 g de las hojas de cada muestra, se maceró en un mortero con aproximadamente 20 ml de etanol y 40 ml de éter etílico. Se agregó una pizca de tierra de diatomeas para ayudar a la molienda y se filtró en papel Whatman # 3.

Si la planta todavía contenía pigmentos, que se detectó visualmente, se agregó más etanol y éter etílico, se maceró y volvió a filtrar. Se repitió este paso hasta que las fibras de las plantas tuvieron un color blanco. Para la extracción de los pigmentos se trabajó en el laboratorio con luz tenue, los recipientes que contenían los extractos se cubrieron con papel aluminio y se almacenaron en congelación.

En un embudo de separación con 40 ml de éter etílico, se agregó un poco del extracto obtenido y se lavó varias veces con una solución saturada de NaCl para evitar la formación de emulsiones. Se agitó en redondo y se dejó reposar.

Después se separó la fase orgánica de la acuosa. La fase orgánica se vació en un vaso de precipitados y éste se calentó a fuego suave, no más de 40°C para evaporar el éter etílico y concentrar la muestra. Para calcular el contenido de clorofilas a y b se disolvió un volumen pequeño del extracto de cada muestra en 3 ml de éter etílico, y se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro Beckman DU-70 a las longitudes de onda de 662 y 644 nm, usando como blanco éter etílico.

Por otro lado, se realizó una cromatografía en capa fina según la técnica descrita por Fessenden (1983); con un tubo

capilar graduado de 100 μ l, se aplicó el extracto de cada planta, formando un círculo, a 2.5 cm del borde de una placa cromatográfica de vidrio (20 x 20 cm) cubierta con sílica gel G-25 HR y con indicador fluorescente UV₂₅₄, previamente activada (calentamiento a 110-120°C, durante 30 minutos). También se aplicaron en la placa cromatográfica los estándares de β -caroteno (extraído de la zanahoria, *Daucus carota*) y de luteína (extraído de flor de cempasúchil, *Tagetes erecta*).

Se colocó la placa cromatográfica en una cámara de cromatografía previamente saturada con hexano/éter etílico/acetona (6:2:3). Se eluyó durante 50 minutos o hasta que el frente del disolvente estuviera a 1 cm del borde superior de la placa. Se sacó la placa, se marcó el frente del disolvente, se dejó secar la placa protegiéndola de la luz y se observaron los colores de cada banda obtenida en luz visible y luz ultravioleta.

Se midió el frente del disolvente y la distancia recorrida por cada soluto para obtener los valores de R_f. Se raspó con una espátula cada banda y se vació a un tubo de centrifuga, se disolvió con aproximadamente 3 ml de acetona/agua (80:20) y se centrifugó durante 10 minutos.

Se obtuvo el espectro de absorción de cada banda, en el espectrofotómetro Beckman DU-70, de 200 a 750 nm, utilizando como blanco acetona/agua (80:20). La velocidad de barrido fue de 2400 nm/min.

6.5. CUANTIFICACION DE LOS PIGMENTOS.

Una vez obtenido el espectro de absorción de cada banda, se registró la longitud de onda máxima y el valor de absorbancia (Santos, 1995).

El contenido de carotenoides se determinó con la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{g carotenoides}}{100 \text{ g muestra}} = \frac{A \times D}{100 \times G \times d \times E}$$

A = Absorbancia

D = Volumen total x dilución

G = Peso de la muestra

d = 1 para una celda de 1 cm de espesor

E = Coeficiente de extinción: para β -caroteno en etanol, 2620 y para luteína en ese mismo disolvente, 2550 (Goodwin, 1976).

El contenido de clorofilas se determinó con la ecuación de Smith y Benitez para extractos en dietileter (Gross, 1987):

$$\text{clorofila a (mg/l)} = 10.1 A_{662} - 1.01 A_{644}$$

$$\text{clorofila b (mg/l)} = 16.4 A_{644} - 2.57 A_{662}$$

7. RESULTADOS Y DISCUSION.

7.1. RECOLECCION DE PLANTAS.

Se realizó un recorrido por el Parque Ecológico de Xochimilco para determinar cuáles plantas acuáticas existen, en qué lugar y si son abundantes. Por otro lado, se consultó el herbario del Instituto de Biología de la U.N.A.M., para determinar las plantas existentes en su acervo.

El muestreo se hizo completamente al azar.

Las muestras una vez colectadas, se llevaron al Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán", Depto. de Nutrición Animal para sus análisis.

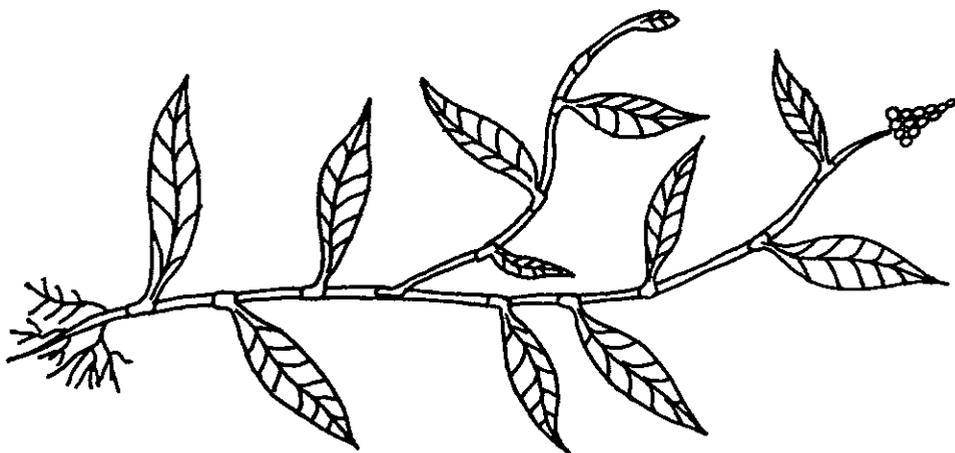
Una vez en el laboratorio, se procedió a separar y limpiar las hojas de las plantas, enjuagándolas con agua, eliminando hojas marchitas, insectos, caracoles, gusanos y todo material ajeno al estudio. Se escurrieron para eliminar el exceso de agua y se secaron en una estufa con corriente de aire a 60°C durante 24, 48 y 72 horas, según la cantidad de humedad de la planta.

Se molieron en un molino de cuchillas con tamaño de malla # 20 y se almacenaron en frascos transparentes de plástico con tapa.

Para obtener la clasificación taxonómica de las plantas se elaboró un herbario, prensando las hojas en periódico para secarlas y así conservarlas. *Azolla mexicana* y *Lemna gibba*, por su alto contenido de humedad, se conservaron en un frasco con metanol al 70%.

CARACTERISTICAS Y CLASIFICACION TAXONOMICA DE LAS PLANTAS
ACUATICAS COLECTADAS:

FIGURA 16 *Polygonum mexicanum* (Small)



NOMBRE COMUN: Chilillo, Sangrina

NOMBRE CIENTIFICO: *Polygonum mexicanum* (Small)

Clase: Magnoliatae

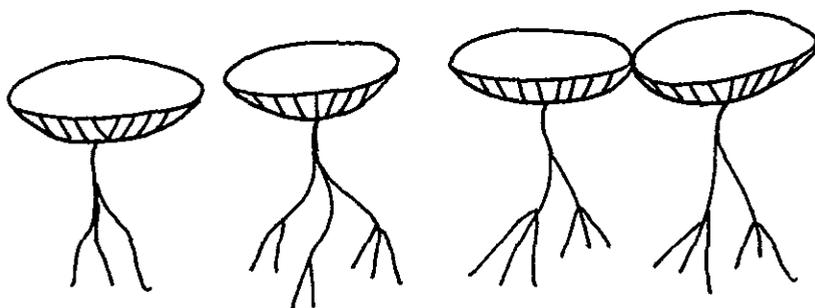
Subclase: Caryophyllidae

Orden: Polygonales

Familia: Polygonaceae

Es una hidrófita enraizada emergente, dicotiledónea, adaptable, que usualmente se encuentra en agua estática o que fluye lentamente.

La planta tiene un rizoma trepador que produce tallos de 30 cm a 1 m de alto. Las hojas son ovales/oblongas de hasta 10 cm de largo por 4 cm de ancho. Sus flores se encuentran en racimos, su color es blanco o ligeramente rosa (Pieterse y Murphy, 1990).



NOMBRE COMUN: Amoyo, Aclasole, Chicastle, Lenteja,
Chichicastle, Lentejilla de agua.

NOMBRE CIENTIFICO: *Lemna gibba* (L.)

Clase: Liliatae

Subclase: Arecidae

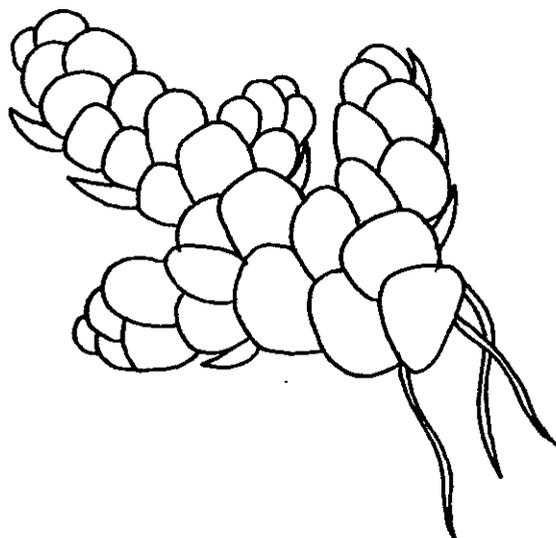
Orden: Arales

Familia: Lemnaceae

Hidrófita libremente flotadora, monocotiledónea, flotante, perenne, frondas solitarias o en grupos de 4, obovadas o elípticas, de 2.3 a 5.6 mm de largo por 1.5 a 4.5 mm de ancho, las frondas pueden encontrarse casi sin tejido esponjoso en el envés, que vistas de perfil dan el aspecto de ser casi planas o bien presentar ese tejido bien desarrollado hasta de 4 mm de espesor. Tiene raicillas de más de 2 cm. Vive en ambientes de agua dulce tranquilos (Dahlgren, 1985).

FIGURA 18

Azolla mexicana (Lumkin)



NOMBRE COMUN: Azolla, Helecho de agua, Chilacastle.

NOMBRE CIENTIFICO: *Azolla mexicana* (Lumkin)

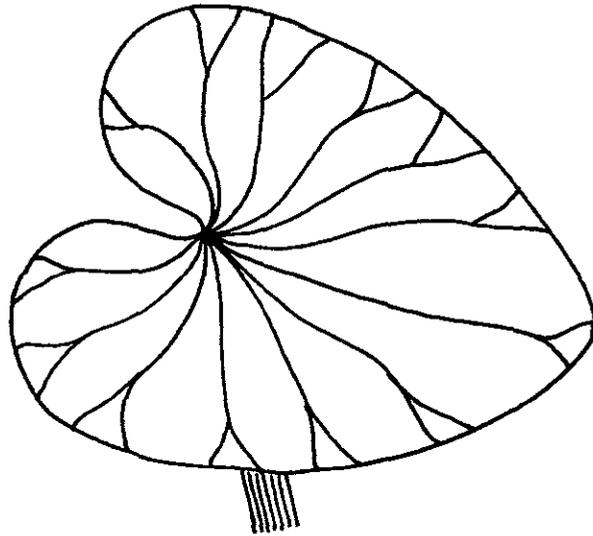
Clase: Filicopsida

Subclase: Pteridophyta

Orden: Salviniales

Familia: Azollaceae

Hidrófita libremente flotadora, de 1.5 a 2.5 cm de diámetro, las hojas son alternadas, cada una se divide en dos lóbulos, el lóbulo dorsal es ancho, verde y se encuentra fuera del agua; el lóbulo ventral es delgado, incoloro, en contacto con el agua, con cavidades en donde habita la cianobacteria *Anabaena azollae* que puede fijar el nitrógeno atmosférico, lo cual resulta importante en el balance de este elemento en los lagos, pantanos y arrozales inundados (Pieterse y Murphy, 1977).



NOMBRE COMUN: Apapatla, Cabeza de negro, Ninfa.

NOMBRE CIENTIFICO: *Nymphaea mexicana* (Zucc.)

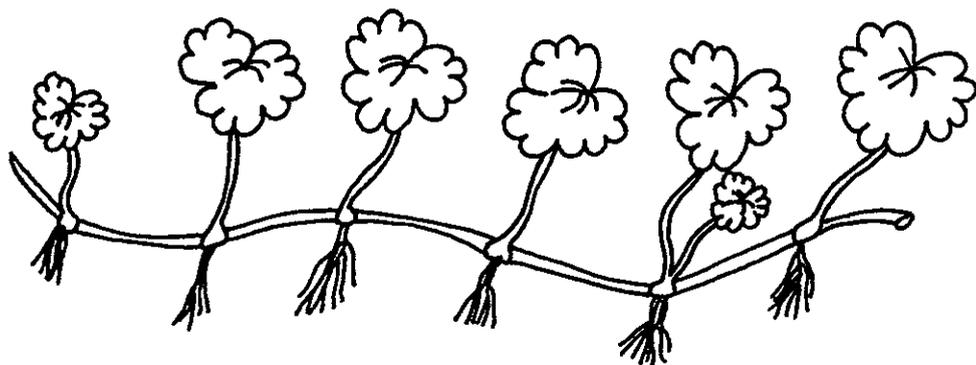
Clase: Magnoliatae

Subclase: Magnoliidae

Orden: Nymphaeales

Familia: Nymphaeaceae

Hidrófita enraizada de hojas flotantes, dicotiledónea, con rizoma erecto, alargado de color verde claro o café, hojas de 10 a 20 cm de largo por otro tanto de ancho, haz verde, envés café o rojizo; flores de color amarillo de 6 a 13 cm de diámetro, flotantes o frecuentemente sobresaliendo del agua. Se usa como planta de ornato (Rzedowski y Rzedowski, 1990).



NOMBRE COMUN: Amalote, Paraguilla, Ombligo de Venus.

NOMBRE CIENTIFICO: *Hydrocotyle ranunculoides* (L.f.)

Clase: Magnoliatae

Subclase: Rosidae

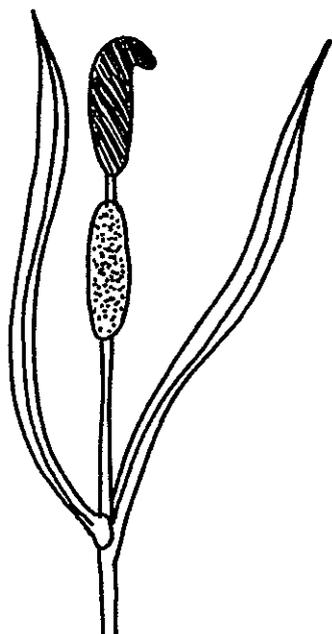
Orden: Umbellales

Familia: Umbelliferae

Hidrófita enraizada emergente, dicotiledónea con tallos flotantes o rastreros de 5 a 25 cm de alto, con raíces en la mayoría de los nudos, hojas con peciolo delgado, hojas con 5-7 cm de diámetro. Es muy abundante desde Estados Unidos hasta Sudamérica (Rzedowski y Rzedowski, 1990).

FIGURA 21

Typha domingensis (Pers.)



NOMBRE COMUN: Tule, Espadaña, Masa de agua.

NOMBRE CIENTIFICO: *Typha domingensis* (Pers.)

Clase: Liliatae

Subclase: Commelinidae

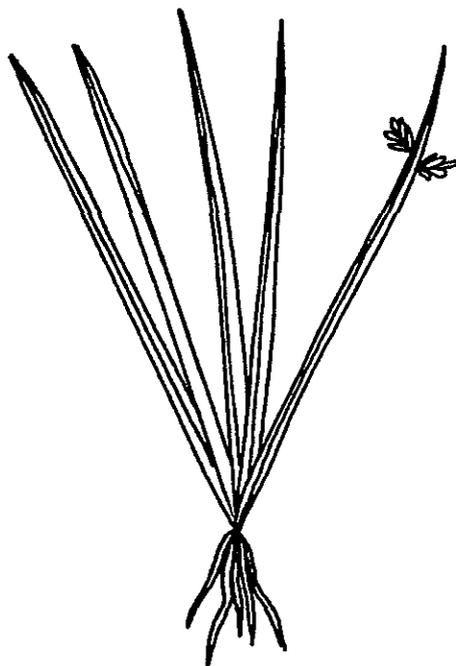
Orden: Typhales

Familia: Typhaceae

Hidrófita enraizada emergente, monocotiledónea, de hasta 2.5 m de altura; hojas generalmente igualando o excediendo la altura de las espigas, las hojas tienen 1.5 m de largo y 0.8 a 1.3 cm de ancho, envés ligeramente convexo cerca de la vaina y plano hacia el ápice que es agudo. Sus flores son ovaladas de color café (Rzedowski y Rzedowski, 1990; Seagrave, 1988).

FIGURA 22

Schoenoplectus sp. (Pers. y Volkart)



NOMBRE COMUN: Tule cuadrado, shacaltule.

NOMBRE CIENTIFICO: *Schoenoplectus sp.* (Pers. y Volkart)

Clase: Liliatae

Subclase: Commelinidae

Orden: Cyperales

Familia: Cyperaceae

Hidrófita enraizada emergente, monocotiledónea, perenne, con tallos que crecen hasta 3 m de alto y 1 cm de ancho.

El rizoma crece lentamente y se distribuye cerca de la superficie del fango. Las flores se producen en junio-julio y son de color rojo/café (Rzedowski y Rzedowski, 1990).

En la tabla 8 se presentan los datos de la colecta de las plantas que posteriormente fueron secadas y molidas para obtener harina.

TABLA 8 PLANTAS ACUATICAS COLECTADAS PARA SU CARACTERIZACION QUIMICA.

PLANTA	FECHA	LUGAR	CANTIDAD DE PLANTA FRESCA (Kg)
<i>Polygonum mexicanum</i>	Marzo 20 1996 Marzo 27 1996 Mayo 22 1996	Lago Huetzalin	4.18
<i>Lemna gibba</i>	Mayo 24 1996 Mayo 29 1996 Julio 25 1996	Canal a un lado del kiosco de los ajolotes	67.72
<i>Azolla mexicana</i>	Agosto 31 1996 Septiembre 5 1996	Paseo periférico de las ciénegas	100.80
<i>Nymphaea mexicana</i>	Abril 29 1996 Agosto 7 1996	Canal del Bordo	3.27
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	Marzo 15 1996 Mayo 18 1996	Lago Huetzalin	10.93
<i>Typha domingensis</i>	Mayo 18 1996 Julio 25 1996	Lago Acitlalin	56.40
<i>Schoenoplectus sp.</i>	Febrero 22 1996 Mayo 18 1996	Canal a un lado del kiosco de los ajolotes	21.57

En la tabla 9 se muestran los datos de la colecta de las plantas que se utilizaron para obtener extractos de pigmentos.

TABLA 9 PLANTAS ACUATICAS COLECTADAS PARA OBTENER EXTRACTOS DE PIGMENTOS.

PLANTA	FECHA	LUGAR	CANTIDAD DE PLANTA FRESCA (g)
<i>Polygonum mexicanum</i>	Octubre 27 1997	Lago Huetzalin	10.30
<i>Lemna gibba</i>	Octubre 27 1997	Canal del Bordo	20.60
<i>Azolla mexicana</i>	Mayo 14 1997	Paseo periférico de las ciénegas	23.08
<i>Nymphaea mexicana</i>	Octubre 30 1997	Canal del Bordo	34.54
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	Octubre 27 1997	Lago Huetzalin	10.27
<i>Typha domingensis</i>	Octubre 30 1997	Lago Acitlalin	38.39
<i>Schoenoplectus sp.</i>	Octubre 30 1997	Canal a un lado del kiosco de los ajolotes	41.57

7.2. ANALISIS QUIMICO APROXIMADO.

Para realizar los análisis químicos a cada una de las plantas, se realizó primero la limpieza, el secado y la molienda de cada una de ellas.

Esto se hizo con el objeto de evitar la descomposición de las muestras, ya que tienen un porcentaje de humedad que varía desde 76.12% para *Polygonum mexicanum*, 76.83% para *Schoenoplectus sp.*, 81.71% para *Hydrocotyle ranunculoides*, 82.27% para *Typha domingensis*, 84.73% para *Nymphaea mexicana*, 95.04% para *Azolla mexicana*, hasta 95.57% para *Lemna gibba*.

En la harina, el contenido de cenizas fue alto para *Lemna gibba*, 17.15% y *Azolla mexicana*, 16.25%.

Buckingham (1978) determinó el contenido de cenizas en *Azolla filiculoides*, obtuvo un valor de 15.54%.

Para una muestra de *Lemna gibba* colectada en Lima, Perú, el contenido de cenizas fue de 22.1% (Haustein, 1994).

El contenido de cenizas en la harina de plantas puede variar dependiendo de la época de colecta, si las plantas se enjuagaron o no antes de secarlas y molerlas, además, los altos niveles de cenizas encontrados en la mayoría de las plantas acuáticas son en gran parte ajeno y muchas de estas cenizas son CaCO_3 (Muztar et al., 1978).

Polygonum mexicanum tuvo un contenido de cenizas de 8.35%.

Hydrocotyle ranunculoides y *Schoenoplectus sp.* tuvieron contenidos de cenizas de 11.18% y 11.34%, respectivamente, estos valores son similares al contenido de cenizas en la alfalfa

deshidratada, 11.15% en base seca (Pond, 1995).

Lemna gibba reportó el mayor contenido de extracto etéreo, 4.13%, se reporta un valor de extracto etéreo de 3.9% para esta planta colectada en Perú (Haustein, 1994).

Azolla mexicana tuvo un 3.15% de extracto etéreo; para *Azolla filiculoides* se reporta un contenido de 5.05% (Buckingham, 1978).

Polygonum mexicanum, *Nymphaea mexicana* e *Hydrocotyle ranunculoides* mostraron valores de extracto etéreo de alrededor de 3%.

Typha domingensis reportó el menor contenido de extracto etéreo, 1.76%. La alfalfa deshidratada contiene alrededor de 3.77% de extracto etéreo (Pond, 1995).

Los valores de proteína cruda en estas plantas acuáticas, variaron desde 36.72% para *Hydrocotyle ranunculoides* hasta 13.73% para *Schoenoplectus* sp.

De todas las plantas acuáticas analizadas, *Hydrocotyle ranunculoides* tuvo el valor más alto de proteína cruda (36.72%), seguido de *Azolla mexicana* (30.90%). Este helecho acuático tiene una relación simbiótica con la cianobacteria *Anabaena azollae* que tiene la capacidad de fijar 2-4 Kg de N₂/ha./día (Chi Calan, 1990).

Para *Azolla filiculoides*, el contenido de proteína cruda fue de 27.93% (Buckingham, 1978).

Para *Lemna gibba* colectada en Perú, se reportó un contenido de proteína cruda de 32.9% (Haustein, 1994).

En la alfalfa deshidratada, el contenido de proteína cruda es de 22.2% (Pond, 1995).

Schoenoplectus sp. y *Typha domingensis* fueron las plantas con el más alto contenido de carbohidratos totales: 68.04% y 63.14%, respectivamente.

En la tabla 10 se observa que el valor de la energía fue de alrededor de 3 Kcal/g para la mayoría de las plantas.

Lemna gibba tuvo 3.23 Kcal/g, para esta planta colectada en Perú, el valor reportado fue de 3.80 Kcal/g (Haustein, 1994).

Pond (1995) reporta un valor de energía de 4.84 kcal/g para la alfalfa deshidratada.

Para la alimentación de vacas lecheras en la etapa intermedia de lactancia, los requerimientos mínimos de proteína cruda en la dieta son del 16-17%, por otra parte, para gallinas ponedoras Leghorn se recomienda 17% (Pond, 1995). *Schoenoplectus sp.* sólo tiene 13.73% de proteína cruda, por eso se tendría que utilizar una mayor cantidad de esta planta para satisfacer estos requerimientos. Las demás especies de plantas acuáticas analizadas, tienen valores superiores al mínimo requerido.

TABLA 10 ANALISIS QUIMICO APROXIMADO Y ENERGIA BRUTA DE LA HARINA DE 7 PLANTAS ACURTICAS.
(g/100 g MATERIA SECA)

PLANTA	CENIZAS	EXTRACTO ETereo	PROTEINA CRUDA (NX6.25)	CARBOHIDRATOS TOTALES	ENERGIA Kcal/g
<i>Polygonum mexicanum</i>	8.35 ± 0.32	3.06 ± 0.02	23.02 ± 0.17	65.57	3.57484 ± 0.075
<i>Lemna gibba</i>	17.15 ± 0.45	4.13 ± 0.12	29.79 ± 0.22	48.93	3.23325 ± 0.026
<i>Azolla mexicana</i>	16.25 ± 0.23	3.15 ± 0.11	30.90 ± 0.11	49.70	3.49182 ± 0.031
<i>Nymphaea mexicana</i>	9.38 ± 0.21	3.75 ± 0.13	27.19 ± 0.13	59.68	3.70957 ± 0.029
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	11.18 ± 0.25	3.67 ± 0.12	36.72 ± 0.11	48.43	3.69399 ± 0.079
<i>Typha domingensis</i>	10.09 ± 0.06	1.76 ± 0.03	17.49 ± 0.13	70.66	3.56538 ± 0.079
<i>Schoenoplectus sp.</i>	11.34 ± 0.21	2.31 ± 0.08	13.73 ± 0.04	72.62	3.21938 ± 0.050

Se reporta la media y desviación estandar de 3 repeticiones.

7.3. FRACCIONES DE FIBRA.

La determinación del contenido de fibra neutro detergente (FND) aporta información acerca del porcentaje de paredes celulares en una muestra vegetal. Estas paredes celulares están formadas por celulosa, hemicelulosa, lignina y sílice. Al sustraer de 100 el valor de paredes celulares se obtiene el contenido celular que incluye N₂, carbohidratos solubles, minerales, vitaminas y lípidos (Van Soest y Wine, 1967). De las muestras de plantas acuáticas analizadas (Tabla 11), *Typha domingensis* tuvo un contenido de FND de 64.76%, que es el valor más alto de todas las plantas. Por lo tanto, esta especie tuvo el menor porcentaje de contenido celular que puede ser aprovechado por animales monogástricos. *Schoenoplectus* sp. en segundo lugar con 54.62%. Estas dos plantas fueron las que presentaron mayor dificultad en la molienda por ser muy fibrosas.

Azolla mexicana tuvo un contenido de FND de 51.15%, *Lemna gibba* de 34.16%; Chanda et al., (1991) reporta un valor de 56.12% para *Lemna perpusilla*, colectada en Calcuta, India. *Hydrocotyle ranunculoides* tuvo el menor contenido con 19.65%.

La determinación de fibra ácido detergente (FAD) es un paso preliminar para determinar lignina, celulosa y sílice en una muestra.

Además se puede conocer el contenido de hemicelulosa al hacer la diferencia: FND-FAD (Van Soest y Wine, 1967).

TABLA 11 FRACCIONES DE FIBRA DE LA HARINA DE 7 ESPECIES DE PLANTAS ACUATICAS.

(g/100 g MATERIA SECA)

PLANTA	FIBRA NEUTRO DETERGENTE	FIBRA ACIDO DETERGENTE	LIGNINA	CELULOSA	SILICE	HEMICELULOSA
<i>Polygonum mexicanum</i>	32.27 ± 0.65	20.75 ± 0.29	7.19 ± 0.47	12.26 ± 0.39	1.83 ± 0.35	12.26 ± 0.39
<i>Lemna gibba</i>	34.16 ± 0.67	27.09 ± 0.33	6.40 ± 0.53	17.05 ± 0.67	2.18 ± 0.59	7.06 ± 0.98
<i>Azolla mexicana</i>	51.15 ± 0.57	31.84 ± 0.22	16.37 ± 0.52	11.57 ± 0.22	3.67 ± 0.50	19.20 ± 0.41
<i>Nymphaea mexicana</i>	24.21 ± 0.21	11.82 ± 0.27	2.42 ± 0.10	9.63 ± 0.58	2.88 ± 0.13	12.39 ± 0.07
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	19.65 ± 0.21	14.35 ± 0.56	5.37 ± 0.29	7.69 ± 0.03	0.90 ± 0.68	5.29 ± 0.36
<i>Typha domingensis</i>	64.76 ± 2.00	31.16 ± 0.11	4.48 ± 0.18	25.37 ± 0.12	2.10 ± 0.61	33.60 ± 2.07
<i>Schoenoplectus sp.</i>	54.62 ± 1.57	32.08 ± 0.37	3.03 ± 0.28	25.41 ± 0.57	1.38 ± 0.21	22.53 ± 1.64

Se reporta la media y desviación estandar de 3 repeticiones.

Schoenoplectus sp. tuvo el mayor contenido de FAD con 32.08%, *Azolla mexicana* 31.84%, *Typha domingensis* 31.16% y el menor contenido en *Nymphaea mexicana* con 11.82%, *Lemna gibba* 27.09% de FAD y *Lemna perpusilla* 44.17% (Chanda et al., 1991).

La lignina es un polifenol que forma parte de la estructura de las plantas, se ha determinado que junto con el sílice disminuyen la digestibilidad de la pared celular en los rumiantes.

Los porcentajes de lignina y sílice se incrementan en una planta al tener un mayor grado de madurez (Van Soest y Wine, 1967).

Azolla mexicana reportó los mayores contenidos de lignina 16.37% y de sílice 3.67% y el menor contenido fue para *Nymphaea mexicana* con 2.42% de lignina.

Typha domingensis y *Schoenoplectus sp.* tuvieron los contenidos más altos de celulosa y hemicelulosa, por esta razón sólo los rumiantes pueden aprovecharlas. *Hydrocotyle ranunculoides* fue la planta con menores contenidos de celulosa (7.69%), de sílice (0.90%) y de hemicelulosa (5.29%).

En la alimentación de vacas lecheras, se recomienda que el forraje incluido en la dieta tenga un contenido de FND de 23-25% (Pond, 1995). Sólo *Nymphaea mexicana* se encuentra en este intervalo, *Hydrocotyle ranunculoides* tiene un valor inferior y las demás especies de plantas acuáticas tienen valores superiores.

7.4. PROTEINA VERDADERA Y DIGESTIBILIDAD

MULTIENZIMATICA.

Al determinar el contenido de nitrógeno por el método de Kjelhdal y luego multiplicarlo por el factor de 6.25, se obtiene el valor de proteína cruda reportado en la tabla 10; sin embargo, no se conoce con certeza si parte del nitrógeno es de tipo no proteico, es decir, que proviene de bases nitrogenadas como por ejemplo, los alcaloides, entre otros.

Por esta razón, se realizó la determinación de nitrógeno no-proteico para conocer el contenido de proteína verdadera en las plantas. Los resultados obtenidos (Tabla 12) muestran que el contenido de nitrógeno no-proteico es bajo.

TABLA 12 PROTEINA VERDADERA Y DIGESTIBILIDAD MULTIENZIMATICA DE LA HARINA DE 7 PLANTAS ACUATICAS.

(g/100 g MATERIA SECA)

PLANTA	PROTEINA VERDADERA (N X 6.25)	DIGESTIBILIDAD MULTIENZIMATICA
<i>Polygonum mexicanum</i>	22.13 ± 0.17	80.25 ± 0.09
<i>Lemna gibba</i>	28.83 ± 0.18	76.56 ± 0.51
<i>Azolla mexicana</i>	30.02 ± 0.09	76.04 ± 1.53
<i>Nymphaea mexicana</i>	26.37 ± 0.16	81.28 ± 1.6
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	35.52 ± 0.09	80.08 ± 0.67
<i>Typha domingensis</i>	16.42 ± 0.07	75.91 ± 0.63
<i>Schoenoplectus sp.</i>	13.17 ± 0.03	79.35 ± 0.37
CASEINA*	94.30	89.22

* Fuente: Hsu et al., 1977.

La mayoría de las plantas acuáticas analizadas tuvieron alrededor de 2% de nitrógeno no-proteico.

En cuanto a la digestibilidad de esta proteína mediante la acción de 3 enzimas: tripsina, quimotripsina y peptidasa, *Nymphaea mexicana* tuvo el más alto porcentaje (81.28%), *Polygonum mexicanum* 80.25% e *Hydrocotyle ranunculoides* 80.08%, *Typha domingensis* reportó el menor valor de digestibilidad multienzimática (75.91%). Como referencia, la caseína tiene un porcentaje de digestibilidad de 89.22% (Hsu et al., 1977).

pond (1995) reporta un valor de digestibilidad de 63% en la proteína de un ensilado de alfalfa.

7.5. FACTORES ANTIFISIOLÓGICOS.

Con el método de Webb (1949) sólo es posible realizar la determinación cualitativa de los alcaloides en las plantas.

En todas las especies de plantas acuáticas analizadas, la presencia de alcaloides fue abundante y se observó al formarse un precipitado para los reactivos de Mayer, Dragendorf, Wagner y Somenschein (Tabla 13).

La presencia de alcaloides en forma abundante en las plantas acuáticas son una limitante para su uso en la alimentación humana o animal. Sin embargo, la alfalfa (*Medicago sativa*) que usualmente se utiliza para la alimentación animal, también contiene alcaloides como por ejemplo, la homoestaquidrina y la estaquidrina (Grainge, 1988).

Los alcaloides son un grupo muy heterogéneo de bases vegetales nitrogenadas, con acción fisiológica más o menos intensa sobre los animales, provocan desórdenes gastrointestinales, vómito, diarrea, confusión mental, convulsiones y muerte (Raffauf, 1970). La dificultad para determinar los alcaloides en una muestra vegetal se debe a que son heterogéneos y existe un gran número de ellos.

La mayoría de los alcaloides se encuentran en los vegetales como sales de ácidos orgánicos, algunos alcaloides se encuentran en forma de glicósidos de la ramnosa, galactosa y glucosa. Otros alcaloides se encuentran en forma de ésteres de ácidos orgánicos.

TABLE 13 FACTORES ANTIFISIOLÓGICOS DE LA HARINA DE 7 PLANTAS ACUÁTICAS.

PLANTA	ALCALOIDES*	SAPONINAS	GLUCOSIDOS CIANOGENICOS	ACIDO TANICO ¹ g/100 g
<i>Polygonum mexicanum</i>	+++	N.D.	N.D.	2.32 ± 0.21
<i>Lemna gibba</i>	+++	N.D.	N.D.	0.81 ± 0.25
<i>Azolla mexicana</i>	+++	N.D.	N.D.	1.48 ± 0.24
<i>Nymphaea mexicana</i>	+++	N.D.	N.D.	2.46 ± 0.28
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	+++	N.D.	N.D.	1.91 ± 0.15
<i>Typha domingensis</i>	+++	N.D.	N.D.	1.32 ± 0.20
<i>Schoenoplectus sp.</i>	+++	N.D.	N.D.	1.49 ± 0.51

* (-) no detectado; (+) escaso; (++) moderado; (+++) abundante

N.D. = No detectado

¹ Se reporta la media y desviación estandar de 3 repeticiones.

Las soluciones de varios ácidos de metales pesados, como el silicotúngstico, cloroplatínico, fosfomolibdico, al igual que el mercuri-yoduro de potasio, el yoduro de bismuto o el yodo-yoduro de potasio forman precipitados con la mayoría de los alcaloides. Las anteriores soluciones, preparadas en condiciones específicas, forman parte de los llamados reactivos de alcaloides, aunque los precipitados también pueden ser causados por proteínas, purinas, betaínas, cumarinas y algunos polifenoles (Domínguez, 1974).

Las saponinas son glucósidos que se encuentran en una amplia variedad de plantas, tienen un gusto amargo, forman espuma en soluciones acuosas y pueden hemolizar los glóbulos rojos (Liener, 1969). La determinación de saponinas en la harina de las plantas acuáticas también se realizó en forma cualitativa (Monroe, 1952), y no se detectaron en ninguna de ellas (tabla 13).

Los glucósidos cianogénicos se encuentran en concentraciones relativamente altas en pastos, raíces y semillas de algunos frutos. La hidrólisis de glucósidos cianogénicos produce un carbohidrato (di ó monosacárido), un aldehído o cetona y HCN.

El HCN actúa como un asfixiante químico en el organismo humano al formar un enlace con el átomo de Fe^{3+} de la enzima ferricitocromo oxidasa y con esto, impide que haya una reducción a Fe^{2+} , de esta forma, la enzima no puede actuar en el transporte de electrones y los tejidos no reciben oxígeno de la sangre.

En ninguna de las harinas de plantas acuáticas se detectó la presencia de glucósidos cianogénicos, posiblemente se debe al proceso de secado a 60°C que destruyó las enzimas y a la liberación gradual de HCN de las plantas que habían sido cortadas en pequeños trozos para facilitar el secado (Liener, 1969)(Tabla 13).

Se define como tanino a cualquier sustancia polifenólica que tiene un peso molecular mayor que 500 g/mol. Los taninos tienen efectos adversos en la digestibilidad de materia seca y de proteína. Los taninos forman un enlace con las enzimas tripsina y α -amilasa y así interfieren con el proceso de digestión, también forman un enlace con la proteína dietaria haciéndola indigestible (Liener, 1969).

Nymphaea mexicana tuvo el mayor contenido de ácido tánico (2.46%); *Polygonum mexicanum* (2.32%), *Hydrocotyle ranunculoides* (1.91%) y *Lemna gibba* con el menor contenido (0.81%) (Tabla 13).

Existen variedades de sorgo que contienen cerca de 5% de taninos condensados que hacen a las espigas resistentes a las aves (Liener, 1969).

7.6. MINERALES.

Hydrocotyle ranunculoides tiene el mayor contenido de potasio con un valor de 4380.52 mg/100 g y *Nymphaea mexicana* el menor con 2162.54 mg/100 g (Tabla 14). Arredondo (1993), describe la determinación que hizo Boyd en 1978, en 20 especies de plantas acuáticas, obteniendo valores de contenido de potasio desde 1000 hasta 6000 mg/100 g, comparando con las siete especies de plantas acuáticas, observamos que sus valores se encuentran dentro de este rango.

El contenido de hierro en *Azolla mexicana* fue de 101.21 mg/100 g, en *Lemna gibba* de 34.51 mg/100 g y en *Nymphaea mexicana* de 6.18 mg/100g. Palacios et al., (1996), al determinar el contenido de hierro en *Azolla* y *Lemna* se encontró con valores menores de este mineral: 15.98 mg/100 g y 1.65 mg/100 g, respectivamente.

Una buena fuente de calcio pueden ser *Lemna gibba* e *Hydrocotyle ranunculoides* que tuvieron 1944.35 y 1600.86 mg/100 g, respectivamente. *Schoenoplectus sp.* tuvo el menor contenido de calcio (707.32 mg/100 g). Los valores para calcio encontrados para las siete especies de plantas acuáticas están dentro del rango determinado por Boyd en 1978: 1000-3000 mg/100 g (Arredondo, 1993).

Azolla mexicana reportó 3.60 mg/100 g de Zn, *Lemna gibba* 17.71 mg/100 g y el resto de las plantas menos de 5 mg/100 g de este mineral. El contenido de zinc para *Azolla* fue de 5.20 mg/100 g y para *Lemna* 5.24 mg/100 g (Palacios et al., 1996).

TABLA 14 CONTENIDO DE MINERALES DE LA HARINA DE 7 PLANTAS ACUATICAS.

(mg/100 g materia seca)

PLANTA	K	Fe	Ca	Zn	Cu	Mg	Na	P
<i>Polygonum mexicanum</i>	2426.45 ± 63.12	19.56 ± 0.73	1338.47 ± 27.34	2.01 ± 0.01	N.D.	643.43 ± 12.74	297.99 ± 11.01	43.18 ± 0.25
<i>Lemna gibba</i>	3103.41 ± 26.83	34.51 ± 1.59	1944.35 ± 16.20	17.71 ± 0.30	1.19 ± 0.0006	484.07 ± 9.29	896.66 ± 34.84	51.67 ± 0.39
<i>Azolla mexicana</i>	2374.07 ± 72.79	101.21 ± 1.43	886.97 ± 1.22	3.60 ± 0.005	N.D.	399.19 ± 3.25	1612.24 ± 10.44	50.91 ± 0.08
<i>Nymphaea mexicana</i>	2162.54 ± 11.20	6.18 ± 0.006	779.91 ± 20.34	2.49 ± 0.11	N.D.	188.22 ± 0.22	1233.36 ± 6.65	42.36 ± 0.07
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	4380.52 ± 53.16	25.24 ± 0.40	1600.86 ± 38.45	4.70 ± 0.06	0.11 ± 0.0002	328.49 ± 5.30	155.61 ± 4.25	43.25 ± 0.10
<i>Typha domingensis</i>	3025.65 ± 97.30	10.38 ± 0.36	938.45 ± 20.84	1.79 ± 0.05	0.11 ± 0.0000	408.63 ± 0.19	467.11 ± 8.20	40.17 ± 0.21
<i>Schoenoplectus sp.</i>	2585.14 ± 49.37	14.69 ± 0.59	707.32 ± 12.11	2.09 ± 0.06	N.D.	306.49 ± 5.93	438.70 ± 3.04	39.67 ± 0.01

Se reporta la media y desviación estándar de 2 repeticiones.

N.D.= No detectado

El cobre sólo se detectó en *Lemna gibba* (1.19 mg/100 g) y en *Hydrocotyle ranunculoides* y *Typha domingensis* en menor cantidad (0.11 mg/100 g). Palacios et al., (1996), encontró 0.60 mg/100 g de cobre en *Azolla* y en *Lemna*, 0.12 mg/100 g.

El contenido de magnesio fue alto en *Polygonum mexicanum* (643.43 mg/100 g) en *Nymphaea mexicana* fue menor con 188.22 mg/100 g. En el análisis realizado a 20 plantas acuáticas por Boyd en 1978, se reporta un contenido de magnesio de 700 mg/100 g (Arredondo, 1993).

Azolla mexicana, *Nymphaea mexicana* y *Lemna gibba* reportaron los contenidos más altos de sodio (1612.24, 1233.36 y 896.66 mg/100 g, respectivamente). De todas las muestras, *Hydrocotyle ranunculoides* tiene el menor contenido de sodio (155.61 mg/100 g). Boyd, en 1978 reporta un contenido de 500 mg/100 g de sodio para las 20 plantas analizadas, comparando con las 7 plantas acuáticas del Parque Ecológico de Xochimilco, éstas tienen valores más altos (Arredondo, 1993).

Lemna gibba y *Azolla mexicana* mostraron los contenidos más altos de fósforo con 51.67 y 50.91 mg/100, respectivamente; *Schoenoplectus sp.* el menor valor con 39.67 mg/100 g. El fósforo es tolerado por las plantas acuáticas en un intervalo de concentraciones de 4-154 mg/l (Arredondo, 1993). Las plantas en el Parque Ecológico de Xochimilco tuvieron valores superiores de este mineral.

Por otra parte, se determinaron cadmio, cromo y plomo en las 7 especies de plantas y no se detectaron en ninguna de ellas.

Se sugiere un contenido de calcio de 650-750 mg/100 g en la dieta de vacas lecheras (Pond, 1995), sólo *Schoenoplectus sp.* se encuentra en este intervalo, las demás especies de plantas lo exceden. Ninguna de las plantas cumple con los requerimientos de fósforo que es de 400-450 mg/100 g. Sólo *Nymphaea mexicana* satisface los requerimientos de magnesio (250-300 mg/100 g). En todas las plantas, se excede el nivel requerido de potasio (1000-1500 mg/100 g), de igual forma ocurre con los niveles de sodio (200-250 mg/100 g) con excepción de *Hydrocotyle ranunculoides* que tiene un valor inferior. En cuanto a hierro, sólo *Nymphaea mexicana* e *Hydrocotyle ranunculoides* se encuentran dentro del intervalo requerido (5-10 mg/100 g). *Lemna gibba* excede el nivel requerido de zinc (5-7 mg/100 g), las demás plantas tienen valores inferiores.

En el caso de gallinas ponedoras Leghorn los requerimientos de algunos minerales son los siguientes: calcio (3500 mg/100 g), fósforo (400 mg/100 g), sodio (150 mg/100 g), potasio (400 mg/100 g), magnesio (50 mg/100 g), hierro (4.5 mg/100 g) y zinc (3.5 mg/100 g (Pond, 1995). Todas las plantas acuáticas tienen contenidos inferiores de calcio y fósforo, sin embargo exceden los requerimiento de sodio, potasio, hierro y magnesio. Sólo *Lemna gibba* tiene niveles superiores de zinc.

7.7. EXTRACCION Y SEPARACION DE PIGMENTOS POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.

Se utilizaron plantas frescas para la obtención de los extractos de pigmentos ya que, se comprobó que en la harina de las plantas sólo era posible obtener un extracto que al analizarlo por cromatografía en capa fina sólo permitía la separación de una banda verde y una amarilla. Esto indica que el proceso de secado a 60°C provocó la descomposición de por lo menos una clorofila y de un pigmento carotenoides.

Goodwin (1976) recomienda secar muestras vegetales a menos de 40°C para evitar la descomposición de los pigmentos presentes en la muestra.

En el extracto obtenido a partir de planta fresca, fue posible observar en su cromatograma por lo menos 4 bandas bien definidas: 2 bandas de color amarillo y dos bandas de color verde.

No fue posible determinar las antocianinas en *Azolla mexicana* (Holst, 1977) debido a que el canal en donde se había colectado la planta por primera vez, fue invadido completamente por el lirio acuático *Eichhornia crasippes*, desapareciendo completamente *Azolla mexicana*.

Durante la extracción de los pigmentos de las plantas frescas, la mayor dificultad que se presentó fue la formación de emulsiones que no permitían separar en forma eficiente la fase acuosa de la orgánica. Se utilizó NaCl para evitar la formación de estas emulsiones.

Otra dificultad fue el eliminar completamente el agua disuelta en el éter etílico, pues a temperatura ambiente, el éter puede disolver 1.5% de agua (Pavia, 1988).

Se aplicaron los estándares de β -caroteno y de luteína en la placa de cromatografía al igual que los extractos orgánicos de cada una de las plantas acuáticas.

Después de permanecer la placa cromatográfica en la cámara de elución durante 50 minutos, se retiró, se marcó el frente del disolvente y se dejó secar, protegiéndola de la luz.

En la tabla 15 se muestran los valores de Rf de las 4 bandas obtenidas a partir de los extractos de las siete plantas acuáticas, la primera de ellas, con un valor de Rf de 0.9146 se identificó como β -caroteno ya que el estándar de este pigmento también tuvo el mismo valor de Rf de 0.9146. El color de esta banda es amarillo-naranja y está presente en los extractos de todas las plantas acuáticas.

En la tabla 16 están los valores de Rf de los estándares de β -caroteno y de luteína así como sus valores máximos de absorción.

En la tabla 17, se reportan los valores de longitudes de onda máximas para las clorofilas a y b.

TABLA 15 BANDAS SEPARADAS POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA DE LOS EXTRACCIONES DE 7

PLANTAS ACURTICAS: *Polygonum mexicanum*, *Lemna gibba*, *Azolla mexicana*,
Nymphasa mexicana, *Hydrocotyle ranunculoides*, *Typha domingensis* y
Schoenoplectus sp.

BANDA	Rf	COLOR	PIGMENTO	λ MAXIMA (nm)
1	0.9146	amarillo-naranja	β -caroteno	404 430 452 (acetona/agua 80:20)
2	0.6707	azul-verde	clorofila a	410 664 (acetona/agua 80:20)
3	0.5792	amarillo-verde	clorofila b	432 658 (acetona/agua 80:20)
4	0.3963	amarillo	luteína	400 424 450 (acetona/agua 80:20)

TABLA 16 Rf DE LOS ESTANDARES DE CAROTENO Y LUTEINA.

PIGMENTO	Rf	λ MAXIMA (nm)	λ MAXIMA PUBLICADO ¹ (nm)
β -caroteno	0.9146	408 428 452 (acetona/agua 80:20)	429 452 478 (acetona)
luteína	0.3963	426 448 474 (acetona/agua 80:20)	422 445 474 (etanol)

1 (Goodwin, 1976)

TABLA 17 CLOROFILAS.

PIGMENTO	λ MAXIMA PUBLICADO ² (nm)
clorofila a	410 430 662 (éter)
clorofila b	453 642 (éter)

2 (Gross, 1987)

En la figura 23 se muestra el espectro de absorción del estándar de β -caroteno (extraído de zanahoria, *Daucus carota*), los valores de longitud de onda máxima de absorción son 408, 428 y 452 nm en acetona/agua 80:20 y se observa la curva característica para este pigmento. Se observa un pico máximo de absorción en 320 nm, este se debe a la mezcla de disolventes acetona/agua, pues la acetona presenta un pico máximo de absorción en 330 nm (Goodwin, 1976).

La figura 24 muestra el espectro de absorción del estándar de luteína (extraído de flor de cempasúchitl, *Tagetes erecta*) con valores de λ máximas de 426, 448 y 474 nm en acetona/agua (80:20).

La figura 25 muestra el espectro de absorción de la banda 1 obtenida a partir del extracto de *Polygonum mexicanum*, se observan los picos característicos del β -caroteno, aun cuando los picos máximos de absorción: 404, 430 y 452 nm no coinciden con los valores del estándar. También se observa un pico máximo en 320 nm que corresponde a los disolventes acetona/agua. Los valores de longitud de onda máxima publicados para β -caroteno disuelto en acetona: 429, 452 y 478 nm (Tabla 16) no son similares a los obtenidos experimentalmente.

FIGURA 23

ESPECTRO DE ABSORCION DEL ESTANDAR DE β -CAROTENO EN ACETONA/AGUA 80:20.

Fuente: zanahoria (Daucus carota)

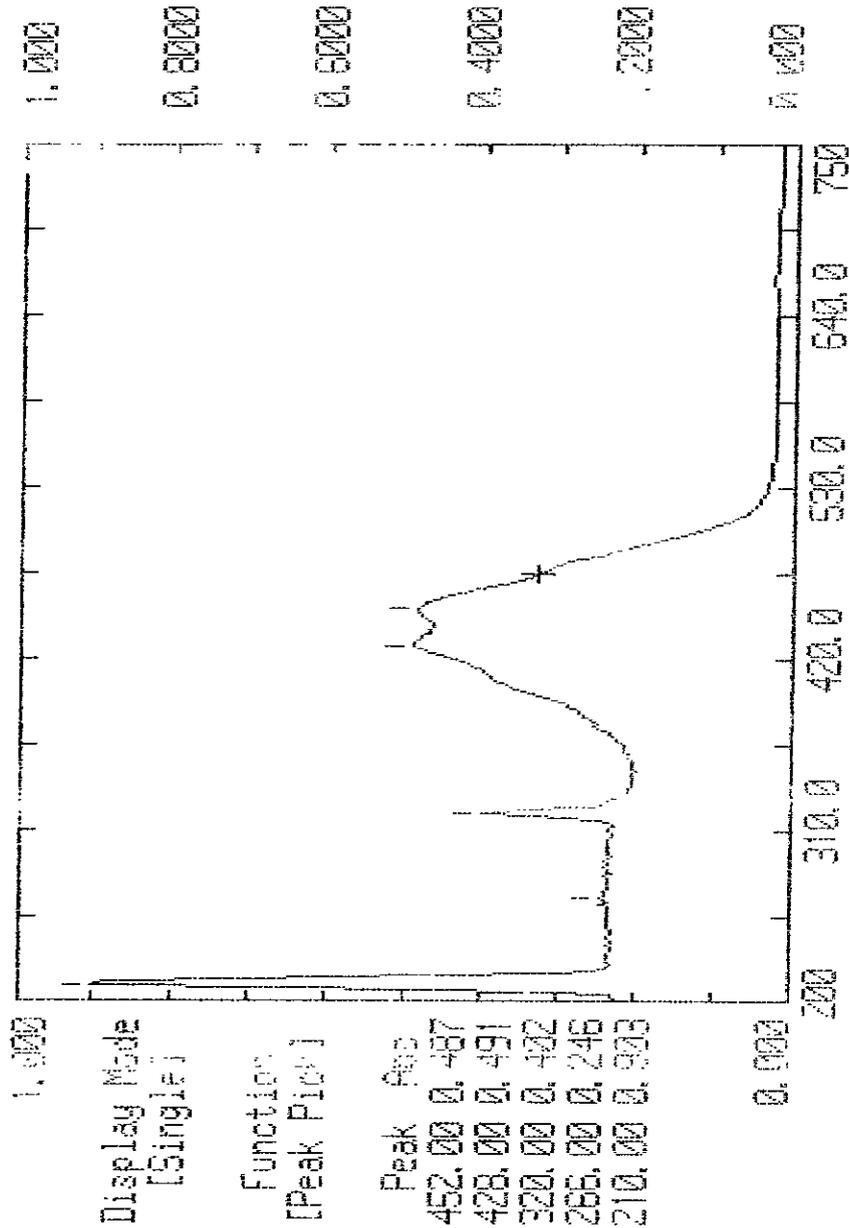


FIGURA 24 ESPECTRO DE ABSORCION DEL ESTANDAR DE LUTEINA EN ACEITONA/AGUA 80:20.

Fuente: flor de campanáchil (Tagetes erecta.)

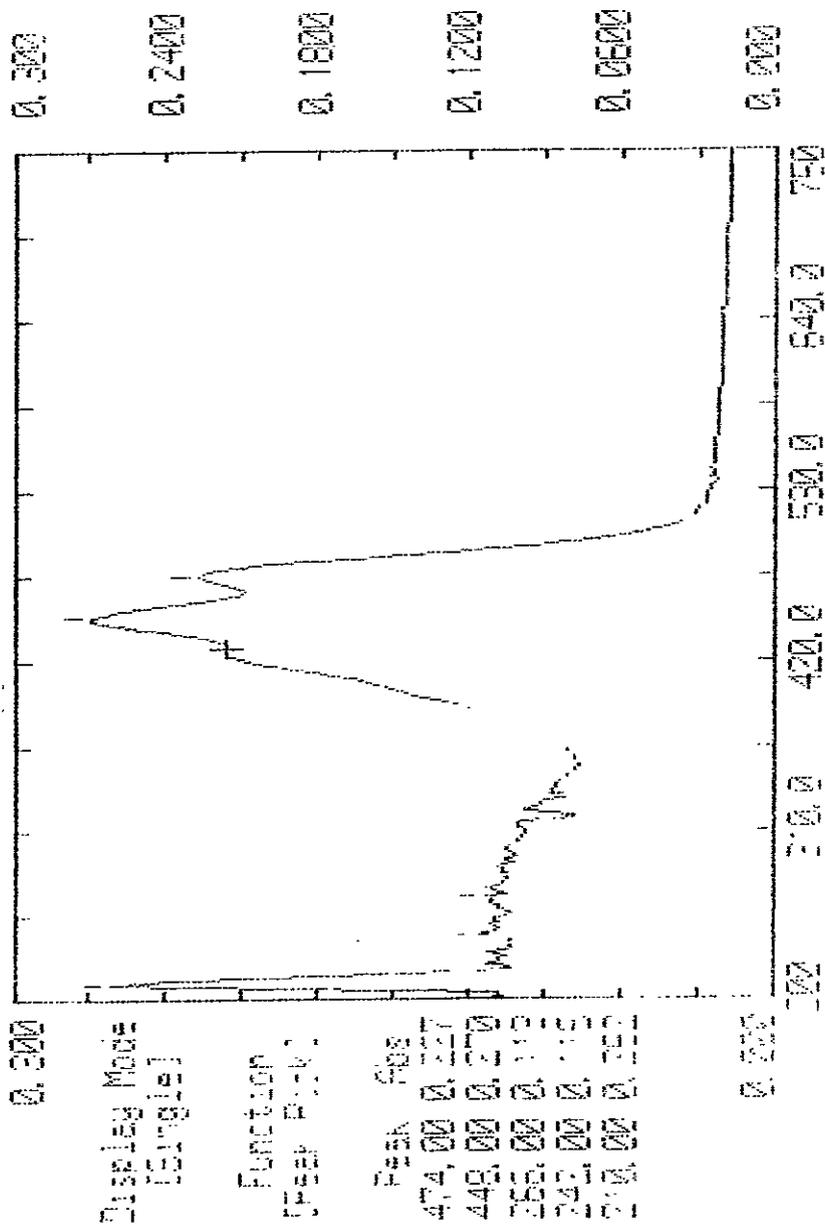
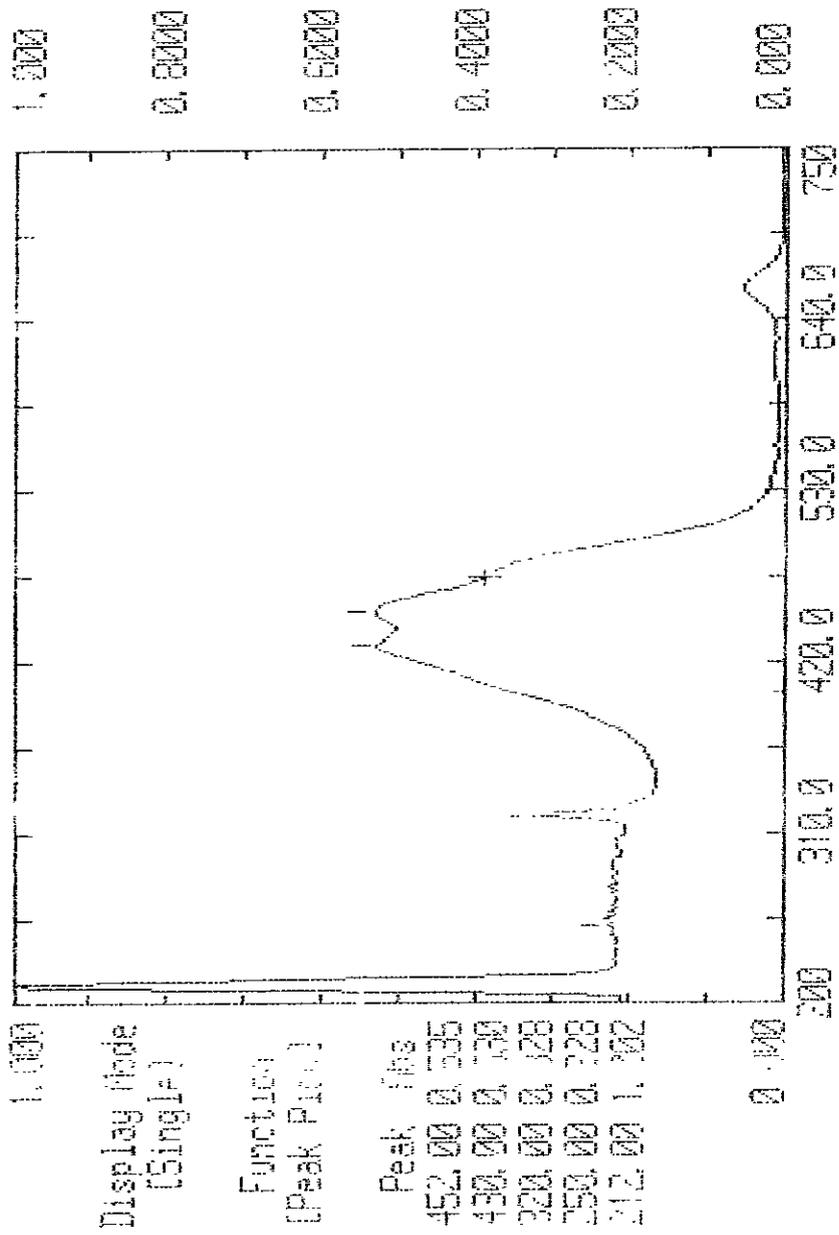


FIGURA 25 ESPECTRO DE ABSORCION DE LA BANDA 1 EN ACETONA/AGUA 80:20.

Planta: *Polygonum mexicanum*



La banda 2 corresponde al pigmento clorofila a, con un valor de Rf de 0.6707, no se utilizó ningún estándar y se le identifica por su color característico azul-verde y por las longitudes máximas de absorción en acetona/agua (80:20): 410 y 664 nm. Los valores de λ máxima para este pigmento disuelto en éter son 410, 430 y 662 nm (Tabla 17). La figura 26 muestra el espectro de absorción de la clorofila a en acetona/agua (80:20), se aprecia un pico en 318 nm correspondiente a los disolventes.

La banda 3 corresponde a clorofila b, su color es amarillo-verde, el valor de Rf es de 0.5792, sus valores de λ máxima son 432 y 658 nm en acetona/agua, que no son similares a los valores publicados de 453 y 642 nm en éter (Tabla 17). La figura 27 muestra el espectro de absorción de la clorofila b en acetona/agua. Se observa un pico máximo en 320 nm correspondiente a los disolventes, el pico en 374 nm, posiblemente se debe a un contaminante.

La banda 4 se identificó como luteína con un valor de Rf de 0.3963 que coincide con el valor obtenido para el estándar de luteína. El color de la banda 4 es amarillo, sus valores de λ máximas son 400, 424 y 450 nm, como se puede apreciar en la figura 28, el pico máximo en 320 nm corresponde a los disolventes.

La forma de la curva característica del estándar de β -caroteno y la curva del espectro de absorción de la banda 1 son muy parecidas, esto no ocurre en el caso del estándar de luteína y la banda 4.

FIGURA 26

ESPECTRO DE ABSORCION DE LA BANDA 2 EN ACETONA/AGUA 80:20.

Planta: *Polygonum mexicanum*

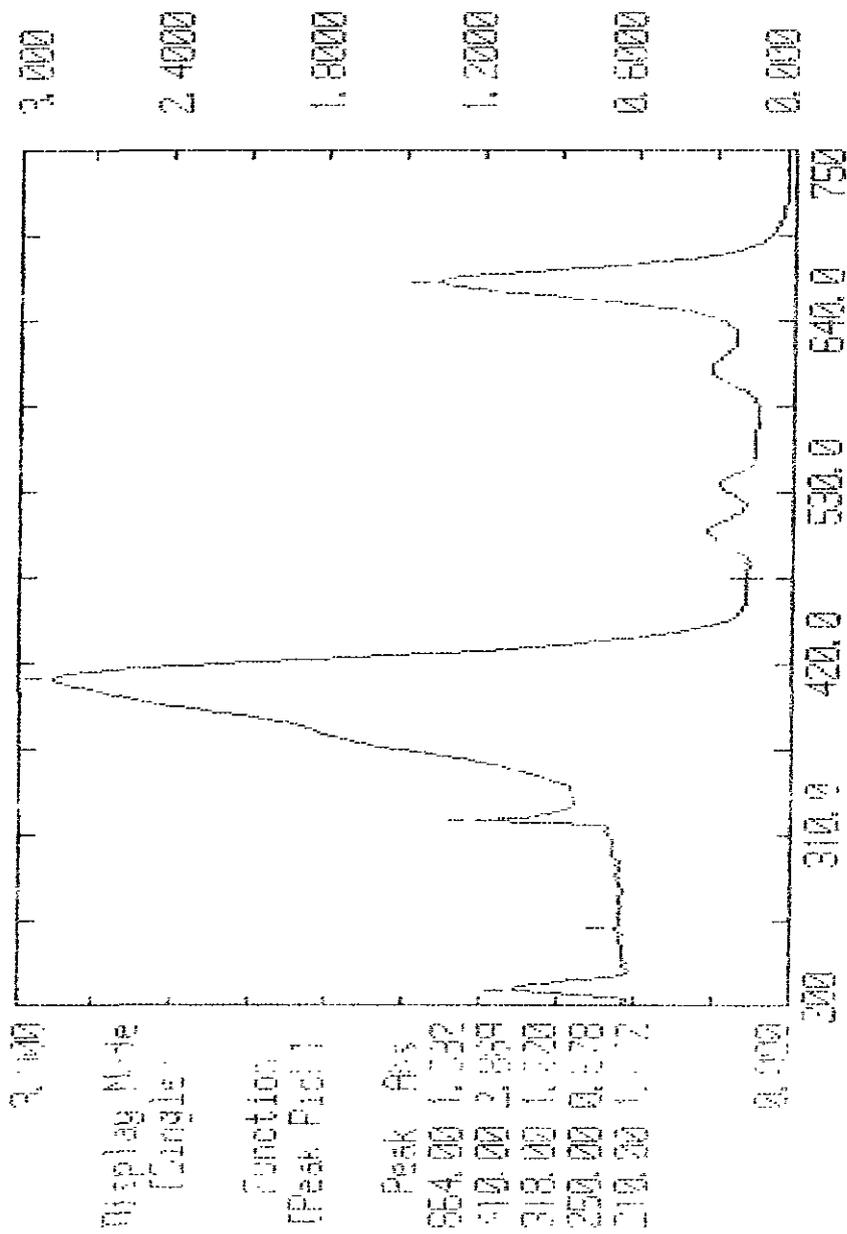


FIGURA 27 ESPECTRO DE ABSORCION DE LA BANDA 3 EN ACETONA/AGUA 80:20.

Planta: *Polygonum mexicanum*

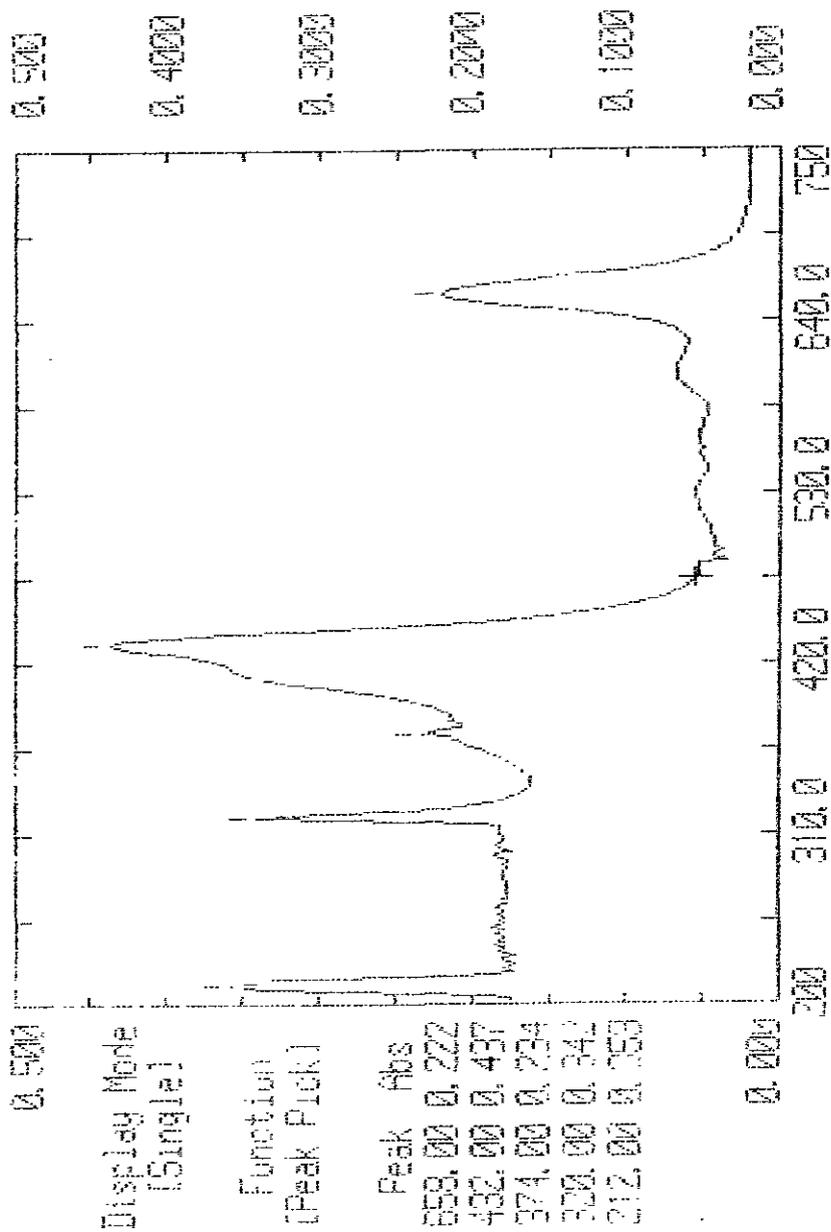
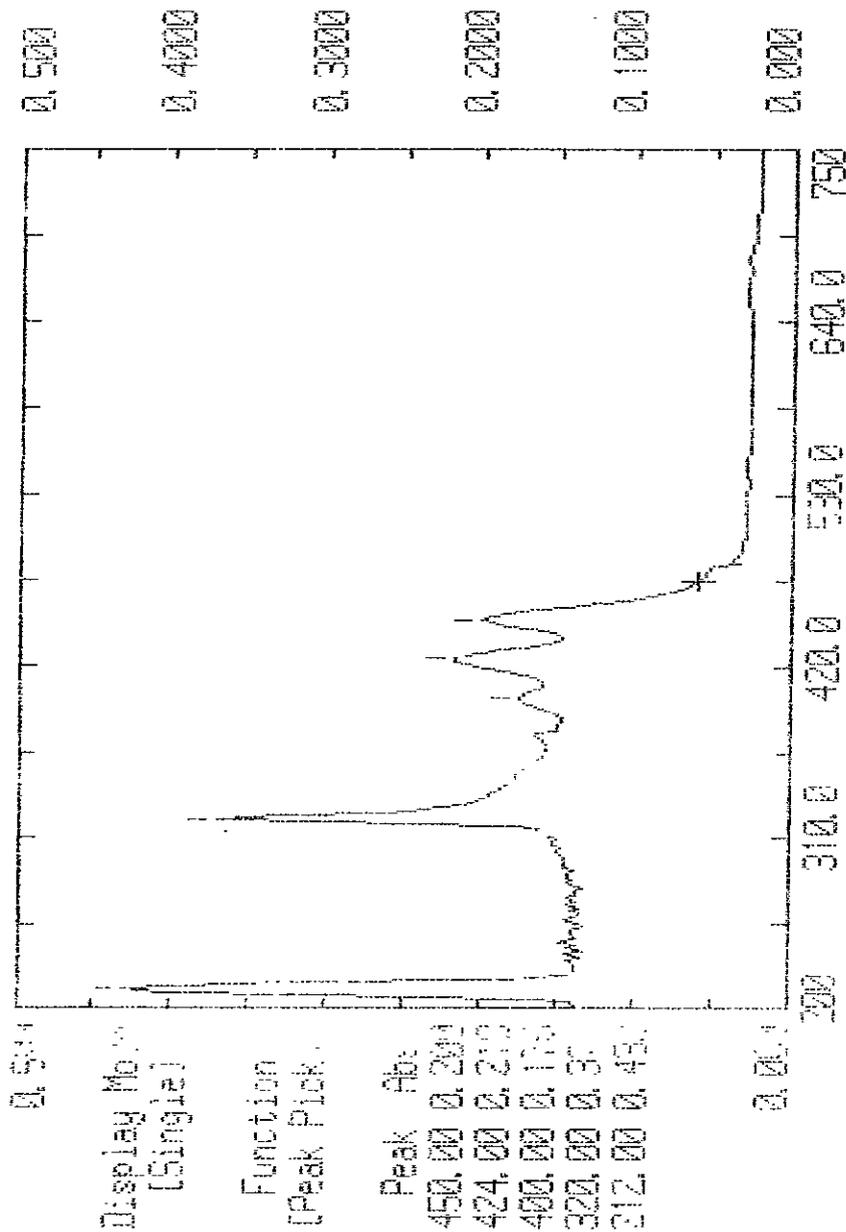


FIGURA 28 ESPECTRO DE ABSORCION DE LA BANDA 4 EN ACEITONA/AGUA 80:20.

Planta: Polygonum mexicanum



En todas las plantas acuáticas analizadas, se detectaron 2 pigmentos carotenoides: β -caroteno y luteína, así como clorofila a y b.

Los valores de longitud de onda máximas de cualquier pigmento pueden variar en función del disolvente en que se encuentren, del equipo que se utiliza, entre otros factores, por esta razón no coinciden los valores experimentales con los valores publicados (Goodwin, 1976).

7.8. CUANTIFICACION DE PIGMENTOS.

Es importante mencionar que el contenido de pigmentos en las plantas varía según la especie, época del año, grado de madurez y zona de colecta, entre otros factores (Dewanji, 1993).

De las plantas acuáticas colectadas, *Lemna gibba* tuvo el menor contenido de β -caroteno: 1.30 mg/100 g, el contenido de luteína fue de 3.37 mg/100 g (Tabla 18), de los resultados publicados sólo se obtuvo el contenido de xantofilas para la harina de *Lemna gibba* colectada en Perú: 90 mg/100 g, sin embargo, no se menciona qué porcentaje corresponde a luteína (Haustein, 1994).

TABLA 18

CONTENIDO DE CAROTENOIDES EN 7 PLANTAS ACUATICAS.

(mg/100 g)

PLANTA	β -CAROTENO	LUTEINA
<i>Polygonum mexicanum</i>	16.37	7.47
<i>Lemna gibba</i>	1.30	3.37
<i>Azolla mexicana</i>	4.27	18.60
<i>Nymphaea mexicana</i>	6.58	6.00
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	86.32	72.35
<i>Typha domingensis</i>	5.36	2.22
<i>Schoenoplectus sp.</i>	8.84	2.19

Azolla mexicana tuvo 4.27 mg/100 g de β -caroteno y 18.60 mg/100 g de luteína. Chi Calan (1990), reporta para la harina de *Azolla sp.* 5.77 mg/100 g de β -caroteno y 11.73 mg/100 g de trans-luteína, estos valores se obtuvieron con el método de cromatografía líquida de alta eficiencia. Los resultados experimentales del contenido de β -caroteno y luteína obtenidos por cromatografía en capa fina coinciden con los resultados de Chi Calan (1990) que establecen que el pigmento predominante en la harina de *Azolla sp.* es luteína.

Nymphaea mexicana reportó contenidos similares de β -caroteno y luteína: 6.58 y 6 mg/100 g, respectivamente.

De todas las plantas analizadas, *Hydrocotyle ranunculoides* tuvo el más alto contenido de β -caroteno y de luteína: 86.32 y 72.35 mg/100 g.

La zanahoria fresca contiene 1.4-12.2 mg/100 g de β -caroteno, mientras que el mango contiene alrededor de 1.3-15.4 mg/100 g de este pigmento (Macrae, 1993), por lo tanto *Hydrocotyle*

ranunculoides puede ser una fuente rica en pigmentos carotenoides.

Typha domingensis tuvo 5.36 mg/100 g de β -caroteno y 2.22 mg/100 g de luteína. *Schoenoplectus* sp. contiene 8.84 mg/100 g de β -caroteno y 2.19 mg/100 g de luteína. *Polygonum mexicanum* tuvo 16.37 mg/100 g de β -caroteno y 7.47 mg/100 g de luteína.

Hydrocotyle ranunculoides tuvo el mayor contenido de clorofila a y b: 69.40 y 31.96 mg/l, respectivamente (Tabla 19). Luego sigue *Azolla mexicana* con 40.39 mg/l de clorofila a y 22.46 mg/l de clorofila b.

TABLA 19 CONTENIDO DE CLOROFILAS EN 7 PLANTAS ACUATICAS.

(mg/l)

PLANTA	CLOROFILA a	CLOROFILA b
<i>Polygonum mexicanum</i>	19.75	9.47
<i>Lemna gibba</i>	11.33	8.35
<i>Azolla mexicana</i>	40.39	22.46
<i>Nymphaea mexicana</i>	7.52	4.92
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	69.40	31.96
<i>Typha domingensis</i>	8.08	3.23
<i>Schoenoplectus</i> sp.	3.63	3.23

No se encontró ninguna relación entre el contenido de clorofilas en las muestras y el contenido de magnesio que forma parte del anillo de porfirinas de este pigmento, esto se debe a que las muestras para el análisis de minerales se colectaron en una fecha distinta a las muestras colectadas para determinar los pigmentos.

Indirectamente se puede estimar el contenido de clorofilas en una muestra al conocer su contenido de magnesio, siempre y cuando se conozca el contenido de este mineral en el estándar de clorofilas utilizado (Vernon, 1966).

Se han alimentado gallinas ponedoras con los pétalos deshidratados de la flor de cempasúchitl o con alfalfa deshidratada y se ha evaluado el grado de pigmentación que adquieren la piel y la yema de huevo, con la alfalfa deshidratada se han obtenido mejores resultados (Bauernfeind, 1981).

Por lo tanto, un posible uso para las plantas *Hydrocotyle ranunculoides* y *Polygonum mexicanum*, las cuales presentaron los valores más altos de carotenoides y de clorofilas es incluirlas en las dietas de animales como aves domésticas (McDowell et al., 1988).

Otro posible uso es la obtención de extractos para usarlos como aditivos en los alimentos (Branen, 1990).

En la Comunidad Económica Europea se permite la adición de β -caroteno, xantofilas y clorofilas a los alimentos; en los Estados Unidos de Norteamérica no se permite la adición de extractos de clorofilas a los alimentos, sólo se permite incluir vegetales verdes que proporcionen el color y que se incluyen en la formulación como ingredientes (Macrae, 1993).

Para que se puedan utilizar los extracto de pigmentos como aditivos, necesitan tratamientos químicos como el encapsulamiento, formación de emulsión o en forma de sales solubles para las clorofilas (*ibidem*).

8. CONCLUSIONES.

La principal limitante para el uso de las plantas acuáticas en la alimentación para animales es su alto contenido de humedad, lo cual significa un incremento en el costo para transportarlas y procesarlas.

El contenido de proteína cruda en la harina de las plantas satisface los requerimientos mínimos necesario para vacas y gallinas pero, es necesario evaluar el contenido de aminoácidos en las plantas y así poder determinar si satisfacen los requerimientos mínimos de aminoácidos esenciales para estos animales.

Los altos niveles de minerales como sodio, potasio, magnesio y hierro en la harina de las plantas limitan su utilización en la alimentación animal.

El contenido de fibra neutro detergente en las plantas también limita su uso en la alimentación de rumiantes y pollos.

La planta acuática *Hydrocotyle ranunculoides* es una fuente alta de proteína, tiene niveles bajos de celulosa, hemicelulosa y sílice, además, es una fuente rica de pigmentos carotenoides por lo que se podría utilizar como suplemento en la alimentación de gallinas ponedoras. Se recomienda deshidratar la planta a una temperatura no mayor de 40°C para evitar la descomposición de los pigmentos.

Hydrocotyle ranunculoides también se puede emplear para obtener extractos de pigmentos para usarse como aditivos en los alimentos, sin embargo, se necesita evaluar el costo de los disolventes utilizados para determinar si es viable económicamente realizarlo en gran escala.

La presencia de alcaloides en forma abundante en estas plantas son una limitante si se quieren utilizar para la alimentación. Falta información acerca de cuáles alcaloides están presentes en las plantas así como de su contenido.

A nivel artesanal, se podrían utilizar las plantas para teñir lana, los colores que se obtienen son verde, amarillo, y naranja.

9. SUGERENCIAS.

Se puede elaborar un ensilado con la planta *Hydrocotyle ranunculoides*, determinar su composición química y de los pigmentos.

Se podrían determinar en forma cuantitativa los alcaloides presentes, así como la forma de disminuir su concentración en estas plantas acuáticas.

Sería interesante determinar cuáles especies de plantas acuáticas tienen la capacidad de absorber en mayor cantidad algunos metales pesados para así, utilizarlas en el tratamiento de aguas residuales.

En *Azolla mexicana* se podrían determinar otros pigmentos presentes como las antocianinas.

Con la técnica de cromatografía líquida de alta eficiencia se podría realizar en forma más rápida y eficiente la determinación de los pigmentos, sus isómeros y productos de descomposición.

10. BIBLIOGRAFIA.

- A.O.A.C.**, 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.
- Almela, L.; Fernández, L.J.A. y López, R.J.M.** 1992. High performance liquid chromatography-diode-array detection of photosynthetic pigments. *Journal of Chromatography*, 607:215-219.
- Aguayo, S.M.A.** 1994. Aspectos microbiológicos y de calidad del agua de cuatro canales de Xochimilco. Primer seminario internacional de Investigadores de Xochimilco, Tomo 2, Asociación Internacional de Investigadores de Xochimilco, A.C., México, p. 507.
- Arredondo, F.J.L.** 1993. Fertilización y fertilizantes, su uso y manejo en la acuicultura. U.A.M. Iztapalapa, México, p. 48-62.
- Badui, S.** 1990. Química de los Alimentos. Alhambra, México, p. 379-403.
- Bauernfeind, J.C.** 1981. Carotenoids as colorants and vitamin A precursors. Technological and nutritional applications. Academic Press, E.U.A., p. 745-780.
- Branen, I.** 1990. Food additives. Marcel Dekker, E.U.A., p. 327-344.
- Braverman, J.B.S.** 1980. Introducción a la Bioquímica de Alimentos. El Manual Moderno, México, p. 207-217.
- Bruice, P.Y.** 1995. Organic Chemistry. Prentice-Hall, E.U.A., p. 676-685.
- Buckingham, K.W.** 1978. Nutritive Value of the nitrogen-Fixing Aquatic Fern *Azolla filiculoides*. *J. Agric. Food. Chem.*, 26:15.

- Cano, P.** 1991. HPLC separation of chlorophyll and carotenoid pigments of four kiwi fruit cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, 39:1786-1791.
- Chanda, S.; Bhaduri, S.K. and Sardar, D.** 1991. Chemical Characterization of Pressed Fibrous Residues of Four Aquatic Weeds. *Aquatic Botany*. 42, 81-85.
- Chi Calan, J.** 1990. Potencial pigmentante del helecho acuático *Azolla* sp. para la yema de huevo. Tesis, Universidad Autónoma de Chapingo, México.
- Cook, C.D.K.** 1990. *Aquatic Plant Book*. SPB Academic Publishing, The Netherlands, p. 19-20.
- Dahlgren, R.M.T.** 1985. The families of the monocotyledons. Springer-Verlag, Germany, p. 17-22.
- Devlin, M.R.** 1982. Fisiología vegetal. Omega, España, p. 304-316.
- Dewanji, A.** 1993. Chemical composition of two semi-aquatic plants for food use. *Plant Foods for Human Nutrition*, 44: 11-16
- Domínguez, X. A.** 1974. Métodos de Investigación Fitoquímica. Limusa, México, p. 211-226.
- Ensastegui, L.J.; Alvizo G. G. y Aguirre J.M.L.** 1996. La calidad de agua del Parque Ecológico de Xochimilco (P.E.X.), un estudio de la variación estacional (1994-1995), Segundo Seminario Internacional de Investigadores de Xochimilco, Tomo I, Asociación Internacional de Investigadores de Xochimilco, A.C., México, p. 116-122.
- Escamilla, L. A.** 1998. Composición química y obtención de concentrados de proteína foliar de plantas acuáticas presentes en

- los canales de Xochimilco. Tesis. Universidad Autónoma de México, México.
- Eskins, K. and Dutton, H.J.** 1979. Sample preparation for high-performance liquid chromatography of higher plant pigments. *Analytical Chemistry*, 51:1885-1886.
- Fennema, O.R.** 1993. Química de los Alimentos. Acribia, España, p. 615-656.
- Fessenden, R. J.** 1983. Techniques and experiments for organic chemistry. PWS Publishers, E.U.A., p. 104-110.
- Fogiel, M.** 1988. The Organic Chemistry Problem Solver. Staff of Research and Education Association, E.U.A., p. 37-42 y 1334-1350.
- Fuke, Y.; Sasago, K. and Matsuoka H.** 1985. Determination of Chlorophylls in Kiwi Fruit and Their Changes during Ripening. *Journal of food Science*, 50:1220-1223.
- García, E.** 1964. Modificación al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptar a las condiciones de la República Mexicana), U.N.A.M., México.
- Goodwin, T.W.** 1976. Chemistry and Biochemistry of plant pigments. Vol. II, Academic Press, England, p. 38-155.
- Grainge, M. and Ahmed, S.** 1988. Handbook of plants with pest-control properties. John Wiley and Sons, E.U.A.
- Gross, J.** 1987. Pigments in fruits. Academic Press, England, p. 87-111.
- Harbone, J.B.** 1984. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis. Second edition, Chapman and Hall, E.U.A., p. 129-138.

- Haustein, A.T.** 1994. Performance of broiler chickens fed diets containing duckweed (*Lemna gibba*). *Journal of Agricultural Science*, 122:285-289.
- Holst, R.W.** 1977. Anthocyanins of *Azolla*. *American Fern Journal*, 67:99-100.
- Horst, K.** 1995. Plantas de acuario. *Omega*, España, p. 67-88.
- Hughes, C.C.** 1994. Guía de aditivos. *Acribia*, España, p. 60-61.
- Hsu, H.W.; Vavak, D.L.; Satterlee, L.D. and Miller, G.A.** 1977. A Multienzyme Technique for Estimating Protein Digestibility. *Journal of Food Science*, 42:1269-1273.
- Hayward, J.W.** 1975. Technical Consultant, Minneapolis, Minn., en Tejada de Hernández, I. 1985. Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. P.A.I.E.P.E.M.E.
- Ikan, R.** 1991. Natural products. A Laboratory guide. Academic Press, E.U.A., p. 117-126.
- Jeffrey, S.W.** 1961. Paper-Chromatographic Separation of Chlorophylls and Carotenoids from Marine Algae. *Biochem. J.*, 80:336-341.
- Khachik, F.; Beecher, G.R. and Whittaker N.F.** 1986. Separation, identification and quantification of the major carotenoid and chlorophyll constituents in extracts of several green vegetables by liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 34:603-616.
- Khalyfa, A.; Kermasha, S. and Alli, I.** 1992. Extraction, purification, and characterization of chlorophylls from spinach leaves. *J. Agric. Food Chem.*, 40:215-220.

- Liener, V.L.** 1969. Toxic Constituents of Plant Foodstuffs. Second edition, Academic Press, E.U.A., p. 143-157, 161-180 y 453-455.
- Lodge, D.M.** 1991. Herbivory on freshwater macrophytes. *Aquatic Botany*, 41:195-224.
- Macrae, R.** 1993. *Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition*, Academic Press, England, p. 1168-1170.
- Mahanta, P.K. and Baruah, S.** 1992. Changes in pigments and Phenolics and their Relationships with Black Tea Quality. *J. Sci. Food Agric.*, 59:21-26.
- Makoni, N.F.** 1993. Changes in lipids, Chlorophyll Pigments, Hot Water Insoluble N and pH of Alfalfa during Ensiling. *J. Sci. Agric.*, 63:273-280.
- Manual de técnicas de laboratorio para el análisis de Alimentos.** 1984. División de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos. I.N.N.S.Z.
- Markakis, P.** 1982. Anthocyanins as food colors, Academic Press, E.U.A., p. 163-178.
- Mayer, F.** 1947. *The Chemistry of Natural Coloring Matters. The Constitutions, properties, and Biological relations of the important natural pigments.* Reinhold Publishing Corporation, E.U.A., p. 11-91.
- McDowell, L.R.; Lizama, L.R.; Marion, J.E. and Wilcox, C.J.** 1988. Utilization of Aquatic Plants *Elodea canadensis* and *Hydrilla verticillata* in Diets for Laying Hens. Performance and Egg-Yolk Pigmentation. *Poultry Science*, 69:673-678.

- Mínguez, M.M.I. and Hornero, M.D.** 1993. Separation and quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annuum* L.), Paprika, and oleoresin by reversed-phase HPLC. *J. Agric. Food Chem.*, 41:1616-1620.
- Miranda, A.M.G.** 1994. Etnobotánica de las plantas acuáticas de Xochimilco. Primer Seminario Internacional de Investigadores de Xochimilco, Tomo I, Asociación Internacional de Investigadores de Xochimilco, A.C., México, p. 399-413.
- Monroe, E.E.** 1952. Detection and Estimulation of Esteroidal Sapogenins in Plant Tissue. *Anal. Chem.* 8 (24): 1337-1341.
- Muztar, A. J.; Slinger, S.J. and Burton, J.H.** 1978. Chemical composition of aquatic macrophytes.
- I. Investigation of organic constituents and nutritional potential. II. Amino acid composition of the protein and non-protein fractions. III. Mineral composition of freshwater macrophytes and their potential for mineral nutrient removal from lake water. *Can. J. Plant. Sci.*, 58:829-860.
- Olvera, V.V.; Díaz, Z.G.; Romero, L. F. y Aguirre, M.J.** 1989. Control y aprovechamiento del lirio acuático en México. Comisión Nacional del agua. Instituto Mexicano de Tecnología del agua. México, p. 11-23.
- Palacios, M.S.; Méndez, G.T. y Shimada M.K.** 1996. Acumulación de metales pesados en: *Azolla filiculoides* L., *Lemna minor* L. y *Eichhornia crassipes* M., en relación a la concentración de estos contaminantes en el agua del área lacustrina de Xochimilco, D.F., Segundo Seminario Internacional de Investigadores de Xochimilco,

Tomo I, Asociación Internacional de Investigadores de Xochimilco, A.C., México, p. 152-154.

Pavia, D.L. 1988. Introduction to organic laboratory techniques. A contemporary approach. Saunders College Publishing, E.U.A., p. 541-550 y 615-629.

Pieterse, A.H.; De Lange, L. and Van Vliet, J.P. 1977. A comparative study of *Azolla* in the Netherlands. Acta Bot. Neerl., 26:433-449.

Pieterse, A. H. and Murphy, K. J. 1990. Aquatic Weeds. The Ecology and Management of Nuisance Aquatic Vegetation. Oxford University Press, E.U.A., p. 31-73.

Pine, S.H. 1991. Química Orgánica. Mc. Graw-Hill, México, p. 609-616.

Pond, W.G. 1995. Basic Animal Nutrition and Feeding. John Wiley and Sons, E.U.A., p. 212-213, 313, 319-320, 572.

Raffauf, R.F. 1970. A Handbook of Alkaloids and Alcaloid containing Plants, John Wiley and Sons, E.U.A.

Ramos, V.L.J. y Novelo, R.A. 1993, Vegetación y flora acuáticas de la laguna de Yuriria, Guanajuato, México. Acta Botánica Mexicana, 25:61-79.

Rzedowski, J. y Rzedowski G. 1990. Flora fanerogámica del Valle de México. Vol. I, II y III. Primera Edición. Publicación 26, Instituto de Ecología, México.

Ross, S.M. 1994. Toxic Metals in Soil-plant systems. John Wiley and Sons, England, p. 8-10.

Saleh, M.H. and Tan B. 1991. Separation and identification of

- cis/trans carotenoid isomers. J. Agric. Food Chem., 39:1438-1443.
- Salisbury, F.B. and Ross, C.W.** 1992. Plant physiology. Wadsworth Publishing company, E.U.A., p. 114-135.
- Santos, A. y Esparza, F.** 1995. Manual de prácticas de Química y Bioquímica de Alimentos. Universidad Autónoma de Chapingo, México, p. 117-121.
- Schwartz, S.J.; Woo, S.L. and von Elbe, J.H.** 1981. High-performance liquid chromatography of chlorophylls and their derivatives in fresh and processed spinach. J. Agric. Food. Chem., 29:533-535.
- Sculthorpe, C.D.** 1985. The Biology of Aquatic Vascular Plants. Koeltz Scientific Books, Germany, p. 503-522.
- Stahl, E.** 1965. Thin-Layer Chromatography. A Laboratory handbook. Springer-Verlag, Germany, p. 259-273.
- Seagrave, C.** 1988. Aquatic Weed Control. Fishing News Books, England, p. 241-123.
- Strain, H.H.** 1945. Chemical Analysis, Vol. II, Chromatographic Adsorption Analysis. Interscience publishers, E.U.A., p. 119-149.
- Symoens, J.J.** 1988. Vegetation of inland waters. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, p. 63-83.
- Taylor, S. and Mc. Dowall I.J.** 1991. Rapid classification by HPLC of plant pigments in fresh tea (*Camellia sinensis* L.) Leaf. J. Sci. Food Agric., 57:287-291.
- Tejada H. I.** 1985. Manual de laboratorio para Análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal.

P.A.I.E.P.E.M.E.

Touchstone, J.C. 1992. Practice of thin layer chromatography. John Wiley and Sons, E.U.A., p. 1-17.

Van Soest, P.J. and Wine, R.H. 1967. Determinación de paredes celulares (fibra neutro-detergente) y contenido celular. J. Assoc. Official Anal. Chem., 50:50.

Vernon, L.P. 1966. The chlorophylls. Academic Press, E.U.A., p. 22-61.

Wingrove, A. 1984. Química Orgánica. Harla, México, p. 1436-1440.