

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**Facultad de Química.**

**ESTUDIO PRELIMINAR COMPARATIVO ENTRE DOS ALGAS COMESTIBLES:**

**PHORMIDIUM TENUE Y SPIRULINA MAXIMA.**

221

**TESIS PROFESIONAL**

*PRESENTADA POR*

*Ma. Esther Lourdes Marín García*

*PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO.*



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

CLAS \_\_\_\_\_

ADQ \_\_\_\_\_

FECHA \_\_\_\_\_

PROC 46-210

8 \_\_\_\_\_



**QUINICA**

PRESIDENTE: NATALIA SALCEDO OLAVARRIETA

VOCAL: ENRIQUE GARCIA GALEANO

SECRETARIO: RUBEN BERRA GARCIA COSS

1er. SUPLENTE: CARMEN REYNA BORDES

2do. SUPLENTE: OSCAR H. GALVAN FELIX

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: FAC. QUIMICA U.N.A.M.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUSTENTANTE: MA. ESTHER L. MARIN  
GARCIA,

Ma. Esther L. Marin G.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL ASESOR DEL TEMA: NATALIA SALCEDO O.

Natalia Salcedo O.

A MIS QUERIDOS PADRES:

Por sus esfuerzos dedicados a hacer  
posible mi profesión.

A MIS PROFESORAS NATALIA SALCEDO  
O. Y DRA. MARTHA MA. ORTEGA:

Por su ayuda y estímulo en el  
desarrollo de este trabajo.

AL HONORABLE JURADO.

A LA FAC. DE QUIMICA.

Por su apoyo y comprensión a ...

## CONTENIDO

OBJETIVOS.

INTRODUCCION.

GENERALIDADES.

APORTACIONES DE OTROS ESTUDIOS.

MATERIAL BIOLÓGICO EMPLEADO.

DETERMINACION DE HUMEDAD.

DETERMINACION DE CENIZAS.

DETERMINACION DE FOSFATOS.

DETERMINACION DE FIBRA CRUDA.

DETERMINACION DE GRASA CRUDA.

DETERMINACION DE LA FRACCION GRASA.

a) Índice de Saponificación.

b) Índice de Acidez.

DETERMINACION DE PROTEINAS.

DETERMINACION DE AMINOACIDOS.

DETERMINACION DE BETA CAROTENO.

RESULTADOS Y DISCUSIONES.

CONCLUSIONES.

BIBLIOGRAFIA.



## O B J E T I V O S

El objetivo principal que nos llevó a la -- realización de este trabajo fue obtener datos precisos, a partir de experiencias prácticas, sobre el -- contenido nutritivo del alga microscópica Phormi---dium tenue y hacer estudios comparativos con - - - Spirulina maxima cuyo valor biológico está comprobado.

Se escogió Phormidium tenue, alga de aguas dulces, tratando de encontrar una fuente alimenti--cia de bajo costo, de fácil obtención, y para poder ayudar un poco de esta manera a mejorar la alimenta--ción en animales y principalmente en seres humanos.

## INTRODUCCION

La nutrición del pueblo mexicano es un problema de los más graves que debe preocupar al Gobierno; organizaciones médicas, de alimentos y centros de salud, así como a instituciones educativas y de investigación, debido a las tremendas implicaciones biológicas y sociales que se producen por una deficiente alimentación.

Tres son los principales factores que originan este tipo de alimentación deficiente: Disponibilidad de alimentos, factor económico y el educativo cultural.

A través de encuestas y estudios realizados por diversas instituciones, se ha demostrado que la dieta básica del mexicano, sobre todo en zonas rurales y suburbanas, ha sido desde hace mucho tiempo - el maíz, que como todos los cereales, es de baja calidad proteica, y al cuál se le añaden cantidades mínimas de frijol, azúcar, pan, verduras y carne. - En la mayoría de las veces el consumo de ésta última es nulo.

Esta dieta mal orientada provoca grandes daños al organismo ocasionando una senectud prematura y consecuentemente acorta la vida, además de producir defectos en el crecimiento, anemia moderada, limitación en la capacidad física y mental, falta de resistencia a las enfermedades, que son algunas de

las manifestaciones de la desnutrición crónica. (1).

Para la solución del problema nutricional - deben tomarse en cuenta varios aspectos fundamentales:

- 1<sup>o</sup>) El adiestramiento en las comunidades para obtener una mayor producción de alimentos de mejor calidad.
- 2<sup>o</sup>) Una mejor educación para la selección de una alimentación correcta.
- 3<sup>o</sup>) Manejo y preparación adecuados de los alimentos, para evitar pérdidas en su calidad biológica. (1).
- 4<sup>o</sup>) Todas las instituciones de investigación deben promover estudios enfocados a la búsqueda de nuevas fuentes alimenticias ricas en proteínas, así como al mejoramiento de las ya existentes. Esta educación no sólo debe encaminarse a las zonas rurales; sino también, a las zonas urbanizadas, porque la mayoría de las veces a pesar de tener posibilidades económicas para una correcta alimentación, debido a la ignorancia o conceptos erróneos, ingieren alimentos que no están correctamente balanceados.

Se tendrá que insistir en la importancia de

los alimentos proteicos para el crecimiento y para aumentar la resistencia a las enfermedades; también se tiene que mencionar repetidamente el valor de -- las verduras y frutas para que el organismo tenga -- suficientes vitaminas y minerales; en fin, hay que enseñar a los niños desde pequeños la necesidad de una dieta completa y variada y a los adultos los -- principios científicos de la nutrición. (1).

Debido al agotamiento de muchos de los re-- cursos naturales recientemente se han hecho estu--- dios en algas microscópicas, que crecen simbiótica-- mente con bacterias (2), para ver si pueden ser --- fuentes alimenticias, y se han obtenido resultados halagadores. Un ejemplo es una cianofícea del géne-- ro Spirulina que contiene de 65-70 % proteínas, --- 18-20 % de carbohidratos, 2-3 % de lípidos, 75% de digestibilidad, vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B 6, B 12, etc., en base seca, aunque es un poco pobre en triptofano y aminoácidos con azufre. (3) (4).

El uso de algas tiene un amplio porvenir en el campo de la ganadería, avicultura, etc. para me-- jorar notablemente la alimentación de los animales y por lo tanto la obtención de carne más nutritiva para la alimentación humana.

También son interesantes los estudios en -- agricultura de algas empleadas como abono, siempre y cuando sea barata su obtención además de fácil.

Su empleo más importante es en la alimenta--

ción humana como un complemento de la misma, sobre todo en esta época en la que es necesaria la búsqueda de fuentes alimenticias de bajo costo y nutritivas, ya que debido a la sobrepoblación y otro tipo de problemas, los alimentos han escaseado bastante y en un futuro próximo tal vez serán insuficientes.

BREVE HISTORIA DE LAS ALGAS COMESTIBLES  
DEL VALLE DE MEXICO.

La importancia del conocimiento de las algas se remonta a nuestros antecesores que empleaban como suplemento alimenticio el "tecuítlatl", palabra que significa lugar que tiene algas.

El valor nutritivo del "tecuítlatl" ha aliviado las necesidades alimenticias en épocas de hambre en el Valle de México.

Cortés, en su segunda carta de relación, el 30 de octubre de 1520, hace mención del esplendor y del orden de los mercados de "Temixtitan", donde -- seguramente vió por vez primera el "tecuítlatl", -- expresándose así: en dichos mercados se venden de todas las cosas y de tantas calidades que se olvidan los nombres.

Más tarde, Díaz del Castillo, López de Gómara y Sahagún describen con mayor precisión su presencia, elaboración y venta; pero no de qué está -- constituido el cieno o limo.

Francisco Hernández en 1513-1587, describe el tecuítlatl así:

"Brota el "tecuítlatl", que es muy parecido al limo, en algunos sitios del vaso del Lago Mexicano, en la superficie flota, donde se saca o barre -

con redes o se apila con palas. Una vez extraído y secado al sol, le dan los indios forma de tortas, -- se colocan otra vez al sol sobre yerbas frescas, -- hasta que secan perfectamente y se guardan. Se comen con maíz tostado o con tortillas (5).

Tiene sabor de queso, no muy agradable y -- con olor a cieno; ya viejo es de color limo, verde tirando a negro".

Comenta Dávalos Hurtado, que este queso de la tierra, los indígenas lo aprecian por haberlos -- salvado varias veces del hambre.

En efecto, Clavijero nos dice que era de admirar que los mexicanos no estuviesen sujetos a muchas enfermedades, considerando la calidad de sus -- alimentos. Porque habiendo vivido por tantos años -- aislados en el lago, los obligó su miseria a alimentarse de cuanto se criaba en aquellas aguas. No sólo comían de las cosas vivientes, sino aún de cierta substancia limosa que sobrenada en el lago a la cual daban el nombre de "Tecuítlatl".

Parece evidente que entre los habitantes -- humildes de los pueblos del Anáhuac, el "tecuítlatl" era constitutivo del alimento cotidiano, -- pues muchos otros autores lo mencionan entre las -- costumbres sencillas y diarias de su vida común. -- (5).

El mismo Hernández nos habla de la abundan-

cia de este limo, constituyendo la base para la --  
explotación de un recurso natural en escala fami---  
liar, pues cada venero tenía su dueño particular, a  
quien rendía; a veces, una ganancia de mil escudos  
de oro al año. (5).



## GENERALIDADES

## Clasificación taxonómica.

Nombre.	<u>Phormidium tenue.</u>	<u>Spirulina maxima.</u>
División.	Cyanophyta.	Cyanophyta.
Clase.	Cyanophyceae.	Cyanophyceae.
Orden.	Nostocales.	Nostocales.
Familia.	Oscillatoriaceae.	Oscillatoriaceae.
Género.	Phormidium.	Spirulina.
Especie.	tenue.	maxima. (6).

S. maxima respecto a su clasificación taxonómica ha sido objeto de varias controversias entre los investigadores, ya que se pensaba que se trataba de Spirulina platensis y no de otra especie diferente; pero de acuerdo a los estudios recientes de su bioquímica celular, se ha encontrado que son dos especies diferentes. (7) (8).

## Resultados de análisis en ácidos nucleicos. (7).

	URACILO.	CITOSINA.	GUANINA	ADENINA	PURINAS PIRIMIDINAS
ARN de referencia.	32.8 <sup>±</sup> 0.2	12.2 <sup>±</sup> 0.3	27.1 <sup>±</sup> 0.5	27.9 <sup>±</sup> 0.4	1.22 <sup>±</sup> 0.04
ARNA de <u>S. platensis.</u>	16.3 <sup>±</sup> 0.2	12.2 <sup>±</sup> 0.2	42.3 <sup>±</sup> 0.7	29.2 <sup>±</sup> 0.7	2.5 <sup>±</sup> 0.1.
ARN de <u>S. máxima.</u>	17.6 <sup>±</sup> 0.6	12.9 <sup>±</sup> 0.8	42.4 <sup>±</sup> 1.1	27.0 <sup>±</sup> 0.4	2.24 <sup>±</sup> 0.1. (8).

Los porcentajes de DNA expresados en g x --  
100 g. de alga.

S. platensis.             $0.69^{\pm} 0.04$  g.

S. máxima.             $0.63^{\pm} 0.03$  g.    (8).

Las algas azul-verdes o Cyanophyta se pue--  
den encontrar en una amplia gama de ambientes. ---  
Existen en aguas dulces y marinas, en el suelo o en  
piedras húmedas. (9).

#### Características Generales.

La estructura celular de las algas azul ver--  
des es relativamente simple. Estas algas no tienen  
estructuras de doble membrana, tales como cloroplas--  
tos, membrana nuclear o mitocondrias. Su organiza--  
ción celular es como la de las bacterias. (9).

Los cloroplastos no existen como cuerpos --  
bien definidos. Los pigmentos fotosintéticos se en--  
cuentran en numerosas membranas fotosintéticas apla--  
nadas (cromatóforos), localizados en la porción pe--  
riférica de la célula. Estas membranas fotosintéti--  
cas pueden considerarse estructural y funcionalmen--  
te comparables a los cloroplastos. Las algas azul--  
verdes sólo contienen un tipo de clorofila; clorofi--  
la alfa. La clorofila es un componente estructural  
de la membrana fotosintética. (9).

El material nuclear, que no está limitado -

por una membrana, por lo general se localiza en la región central de la célula y contiene DNA.

Es probable que la sexualidad en algas azul verdes sea similar a la de las bacterias (es decir conjugación incompleta).

En muchas especies se han descrito paredes celulares, vainas rígidas, vainas gelatinosas, presencia de celulosa, sustancias pécticas, etc.

En las algas azul-verdes no existen células flageladas vegetativas ni reproductoras. (9).

La forma de organización más común es el -- filamento, el cual puede ser ramificado o no ramificado.

En algunas plantas se forman células llamadas heterocistos y en otras un disco de separación que resulta por la muerte de alguna del filamento. Estos dos tipos de células ayudan a la reproducción vegetativa, (fragmentación) formando sitios débiles a lo largo del filamento. Relativamente pocas especies forman esporas resistentes, las cuales son células vegetativas agrandadas, llenas de material -- alimenticio y rodeadas por una gruesa pared.

Las cianofíceas necesitan de la luz por ser fotosintéticas y en general soportan una luz más in tensa que otras algas.

Temperatura.

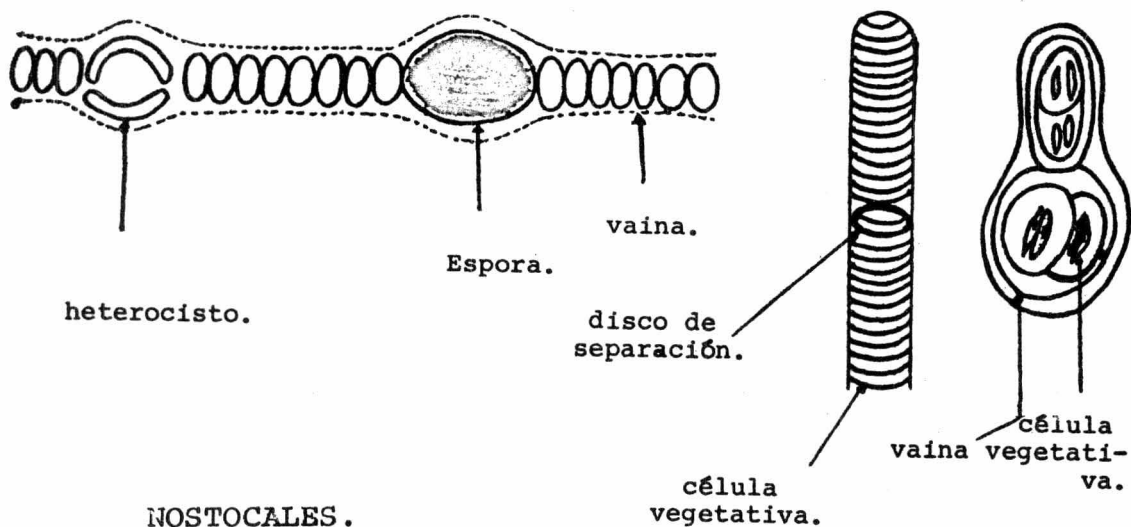
Las cianofíceas en general son termófilas.

pH.

El pH es marcadamente alcalino. A este pH existe un equilibrio entre los iones  $\text{CO}_3^{=}$  y  $\text{CO}_3\text{H}^-$ ; a partir de los cuales las algas realizan su fotosíntesis. (10).

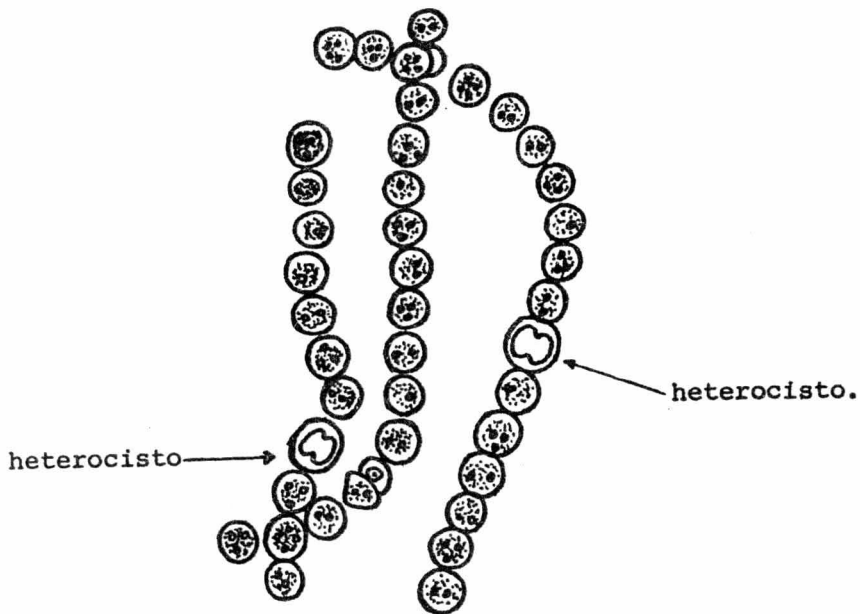


Se observa que para cada átomo de carbono que entra al ciclo de síntesis un  $\text{CO}_3\text{H}^-$  pasa al estado de  $\text{CO}_3^{=}$ , correlativo a una alcalinización de la solución. (10).



### NOSTOCALES.

Se presentan en forma de filamento esporógeno o tricoma formado por una fila de células que se multiplican y dividen transversalmente, entre las cuales pueden diferenciarse los heterocistos. Este tricoma se comporta primero como un filamento vegetativo, que se alarga multiplicando sus células sin ramificarse, después su contenido se divide en hormosporas (u hormogonias) que separan las células -- muertas y desorganizadas. Una vez liberado, cada -- hormogonio se transforma en un nuevo tricoma. (6).



Tricomas.

SPIRULINA MAXIMA.

Tricomas de 7-9 micras de espesor que forman una espiral regular, abierta, de 3-8 vueltas -- cada una, 40-60 micras de diámetro cada espiral, -- las vueltas están distantes entre sí 70-80 micras, los tricomas son ligeramente afilados en sus extremidades. Células de 5-7 micras de longitud, protoplasma granuloso. Los gránulos frecuentemente agrupados a lo largo en tabiques transversales. Las paredes externas de las células apicales son redondeadas y ligeramente anchas de color verde mohoso.

Se desarrolla dentro de diversas secciones del evaporador de Sosa Texcoco, S.A. Las condiciones óptimas de pH en las que se desarrolla es de -- 9.8. (10).

El evaporador solar está constituido por --

una espiral de un diámetro de 4 Km., a través del -  
cuál hay una salmuera natural formada por solucio--  
nes diluídas de  $\text{CO}_3^{=}$ ,  $\text{CO}_3\text{H}^-$ , NaCl y las sales co---  
rrespondientes de K. Esta salmuera camina lentamen-  
te del exterior al interior, a medida que se evapo-  
ra el agua, para llegar finalmente al centro del --  
evaporador, a partir del cual una estación de bom--  
beo alimenta la planta. Las algas que aparecen den-  
tro de la primera sección se desarrollan rápidamen-  
te cuando pasan a la segunda sección del evapora---  
dor; su densidad disminuye dentro de las secciones  
3 y 4. Por último, dentro de la sección 5 se disgre-  
gan. Su temperatura óptima en el período de luminis-  
cencia es de  $40^\circ\text{C}$  y en el período obscuro de  $25^\circ\text{C}$  -  
C. (10).

El pH se mantiene constante por inyección -  
de un gas de combustión conteniendo 10% de  $\text{CO}_2$ .

Como fuente de nitrógeno se adicionan 10 Kg.  
diarios de  $\text{NaNO}_3$ . (11).

## PHORMIDIUM TENUE.

Plantas en forma de césped, compacto, membranoso, mucoso; al principio sumergido, después se desprende y flota en la superficie; cuando jóvenes son de color verde-azul, después pardo amarillento. Los filamentos son de 1.8-2.2 micras de diámetro, - delgados, alargados, más o menos rectos, profusamente entrelazados. Las vainas son hialinas, finas, difluente en un moco amorfo. Los tricomas de 0.8-1 - micras de diámetro, ligeramente constrictos a nivel de los tabiques transversales, con los ápices rec--tos, no capitados. La célula apical en forma de cúpula alta sin caliptra.

Las células de una a dos veces más altas -- que anchas, de 0.8-2 micras de largo. Contenido celular homogéneo y/o granular a nivel de las paredes transversales.

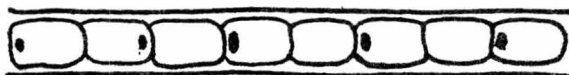
Localidad: Canales marginales del Lago de Texcoco.  
(5).



Región apical de un filamento.



Filamento con varios necridios en el tricoma.



Tricoma con granulaciones a nivel de los tabiques transversales.



## APORTACIONES

En México, en el Instituto Nacional de Nutrición, se llevaron a cabo experimentos en niños con 2<sup>o</sup> y 3<sup>er</sup> grado de desnutrición. Para tal objeto se le administraron a cada infante, dietas alternadas con soya, leche maternizada, leche entera y -- Spirulina máxima. La experimentación se realizó en 4 días. Se determinó la relación nitrógeno retenido entre nitrógeno absorbido y la relación nitrógeno retenido de nitrógeno ingerido en cada una de las muestras suministradas. Se compararon los datos obtenidos en S. maxima con las otras muestras.

Los resultados fueron los siguientes:

1<sup>o</sup>.- La relación nitrógeno retenido entre nitrógeno absorbido en S. maxima, fue superior a la soya, la comparación de la relación en leche entera y S. máxima, fue igual; S. maxima, sólo fue superada por la leche maternizada.

2<sup>o</sup>.- La relación nitrógeno retenido entre nitrógeno ingerido en S. maxima, superó a la soya y a la leche maternizada, habiendo resultado inferior a la leche entera. (18).

En otro estudio, en el Hospital de Bichat - en Francia se les suministraron de 20 a 40 g. de -- Spirulina a adultos desnutridos, obteniéndose los siguientes datos:

La absorción de la proteína fue adecuada, hubo un ligero aumento en el nitrógeno fecal, y no se registró un incremento considerable de peso en los pacientes. (18).

Experimento para obtener la composición de mezclas a base de S. máxima que se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Nutrición. (tabla).

MEZCLA. g/100 g. DE Mezcla.	ORIGEN DE LA PROTEINA.	% DE PROTEINA EN LA MEZCLA FINAL.	AMINOACIDO LIMITANTE.	INDICE QUIMICO.
EM-1 <u>S. máxima</u> 11 Maíz. 89	50 %. 50 %.	14.3 %.	Triptófano.	53
EM-2 <u>S. máxima</u> 27 Maíz. 73	75 %. 25 %.	23.4 %.	Triptófano.	69.5
ET-1 <u>S. máxima</u> 14 Trigo. 86	50 %. 50 %.	18.3 %.	Triptófano.	71.5
Et-2 <u>S. máxima</u> 5 Trigo. 95	25 %. 75 %.	13.5 %.	Metionina.	57.0
EMA. <u>S. máxima</u> 3.5 Maíz. 69 Avena 21.5	50 %. 30 %. 20 %.	17 %.	Triptófano.	74.0
EMR <u>S. máxima</u> 7.5 Maíz. 61.5 Arroz 31	40 %. 40 %. 20 %.	12.3 %.	Triptófano.	70.0

Eficiencia protéica (PER) y utilización protéica neta (NPU) del alga S. máxima y su comparación con la caseína. (tabla 2).

DIETA.	CASEINA.	S. máxima.
% de proteína en la dieta.	10	10
No. de animales.	9	8
PER $\bar{X}$	3.16	2.61
Y		
DS	0.29	0.15
% del PER de caseína	--	82
NPU $\bar{X}$	61.5	56.6
Y		
DS	3.1	4.3
% del NPU de caseína.	--	92

COMPARACION DE AMINOACIDOS ESENCIALES DE P. tenue CONTRA EL PATRON.

DE LA FAO

Aminoácido.

Fenilalanina.

Leucina.

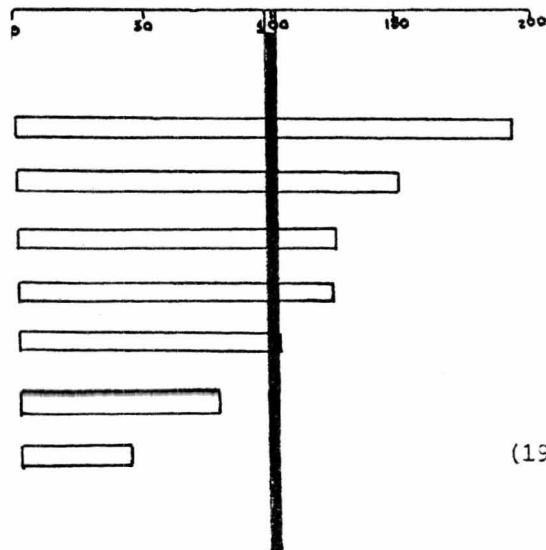
Isoleucina.

Valina.

Metionina.

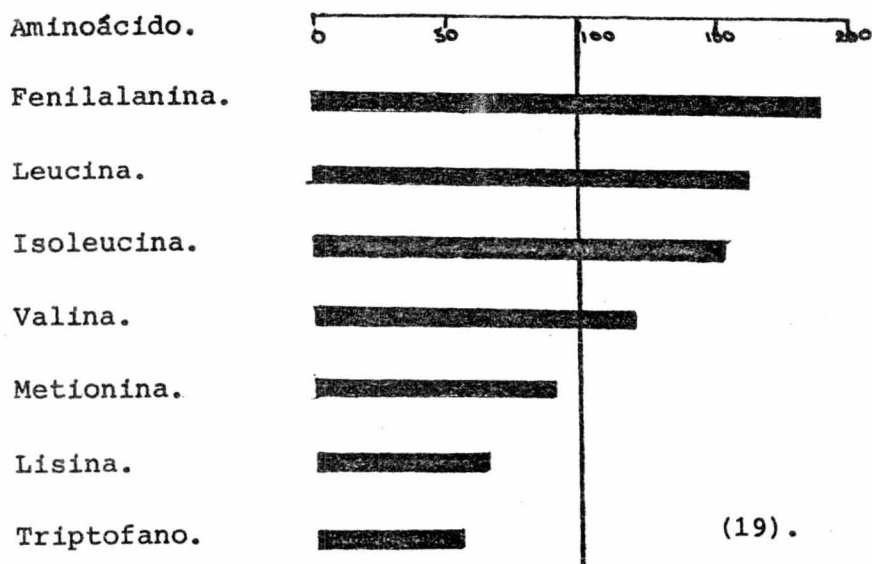
Lisina.

Triptofano.



(19).

COMPARACION DE AMINOACIDOS ESENCIALES DE S. maxima. CONTRA EL PATRON DE LA FAO.



S. maxima mezclada con cereales, minerales y vitaminas, es útil en la alimentación de los animales.

Se preparó una dieta a base de alga Spirulina 27%; de maíz 43%; trigo 22%; grasa 2%; minerales y 0.2% de aminoácidos, la cual se administró a gallinas adultas, conejos, vacas, cerdos, ovejas, etc., habiendo sido el resultado satisfactorio; --- pues hubo un aprovechamiento del 10 al 100% de la proteína del alga. (20).

Investigaciones sobre la pigmentación de -- Spirulina realizados en Francia, Tehad, México y -- por la FAO han demostrado la presencia de gran cantidad de carotenoides especialmente xantofilas. -- (12).

## CAROTENOIDES

B- Caroteno. -----	-
Ficoxantina. -----	-
B- Zeacaroteno. -----	-
Criptoxantina cis. -----	53
Criptoxantina trans. -----	45.5
Equinona. -----	-
Hidroxi equinona. -----	3.5
B- Criptoxantina. -----	-
Criptoxantina cis. -----	1
Criptoxantina trans. -----	1
∞- Criptoxantina. -----	-
4 ceto 3'hidroxi B-caroteno. -----	-
Zeaxantina. -----	-(10)

En un estudio comparativo entre los lípidos de S. platensis y S. maxima se encontró un alto nivel de ácido inolénico formado principalmente por  $\gamma$ -linolénico en ambas algas. (21).

Se observó que asociando extractos de Phormidium faveolarum, Phormidium frigidum y Phormidium tenue con semillas de arroz, se tuvo un incremento en el desarrollo de la planta de este cereal; por lo que se concluye que estas algas son de bastante utilidad en la agricultura. (22).

## PRUEBAS DE TOXICIDAD.

Se hizo un experimento con proteínas de --

Spirulina maxima y harina de la misma, en sujetos -  
desnutridos y no hubo un gran incremento de ácido -  
úrico, lo cual indica que no se alteró el metabolis-  
mo de nucleoproteínas. (18).

En pruebas efectuadas en laboratorios, se -  
han encontrado hidrocarburos alifáticos de 0.1 a --  
0.3% de los cuales dos terceras partes las constitu-  
ye el heptadecano. (18).

En cuanto a hidrocarburos aromáticos, se en-  
contró de 2.6 a 3.6 p.p.m. de 3,4- benzopireno. --  
(18).

Se determinaron Pb, As, F, Hg, y Se; las --  
cantidades encontradas no excedieron de lo permisi-  
ble. (18).

También se realizaron estudios en ratas, --  
con dieta de Spirulina durante 90 días, durante los  
cuales se hicieron análisis en orina, hematológi---  
cos, autopsias histopatológicas; se observó el peso  
y se llegó a la conclusión de que no hay problemas  
ni signos de toxicidad en todas las pruebas realiza-  
das. (23).

## ANALISIS EFECTUADOS EN OTRAS ALGAS.

El alga marina Scenedesmus, suministrada a personas aumentó un poco el nivel normal diario de ácido úrico que se excreta (menor de 0.9 g./ persona/ día en forma constante) (24).

## AMINOACIDOS Y PROTEINAS EN ALGAS.

En los experimentos que se llevaron a cabo en papel cromatográfico, para determinar algunos aminoácidos libres de Phormidium faveolarum se encontró gran cantidad de leucina e isoleucina. (25).

En otra investigación que se hizo con Phormidium gelatinosum, se le sometió a un secado al aire y el residuo fue extraído en un soxhlet con alcohol de 96%; el líquido verde oscuro que se obtuvo en la extracción, se evaporó y el residuo se suspendió en agua.

Por medio de cromatografía en papel se lograron separar tres grupos de aminoácidos, entre los cuales se encontraron: asparagina, treonina, alanina, cisteína, valina y ácido glutámico. (26).

También por cromatografía en papel se determinó el contenido proteico de algunas Chlorophytas conjugadas acuáticas, encontrándose un contenido notable de cisteína, cistina y metionina; por lo que, el valor nutricional fue sorprendente. (27).

En ratas hembras blancas se realizó un expe

rimento, que consistió en suministrarles durante -- 30 días, dietas libras de proteínas; al término de las cuales, algunas ratas se sacrificaron para estudiar las alteraciones orgánicas sufridas por la falta de proteínas.

Las ratas restantes se dividieron en tres grupos: a uno se le dió una dieta con caseína, a -- otro se le suministró soya y el último grupo se sometió a una dieta a base de una alga unicelular.

Posteriormente se observaron los resultados en la restauración de las condiciones nutricionales. Se vió que la proteína del alga dió mejores resultados en la restauración nutricional que la soya. En tanto que la caseína fue equivalente al alga en dicha restauración. (28).

El alga verde de mar Scenedesmus aseguró -- un 55% de proteína cruda (base seca). (29).

#### VITAMINAS EN ALGAS.

En los estudios que fueron realizados en -- Phormidium valderiae, Anabaena cylindrica, Oscillatoria brevis, Stratonostoc linckia, Tolypothrix tenuis y especies de Nodularia, se encontraron gran cantidad de las siguientes vitaminas: vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, biotina y ácido nicotínico. (30).

Anabaena hascalii, A. variabilis, Microcys--



tis pulverea, M. aureoginosa y especies de Nostoc -- N. puctiforme, Phormidium bijugatum, P. autumnale, todas ellas sintetizaron en mg. lo siguiente: biotina (0,58,4), vitamina B<sub>6</sub> (1, 99, 12, 36), ácido nicotínico (30, 6, 73, 5), ácido pantoténico (22, -- 55,5 ), entre estas algas estudiadas las más activas para sintetizar las vitaminas fueron M. aureoginosa, M. pulverea, A. hascalii y especies de Nostoc. (31).

Los carotenoides de cuatro especies de algas azul verdes: Anabaena variabilis, Phormidium -- persicinum, P. ectocarpi y Phormidium fragile, fueron determinadas espectrofotométricamente y por cromatografía en capa delgada. Todas las especies contenían en mayor cantidad β-caroteno.

En A. variabilis hubo, además de β-caroteno, equinona, canthaxantina y mixoxantofila. Se encontró también que las especies de Phormidium, contenían zeaxantina, trazas de equinona e isocriptoxantina. (32).

## L I P I D O S .

En la composición de ácidos grasos de las - dos algas azul verdes S. platensis y A. variabilis, se encontraron 20 y 22 ácidos respectivamente con -  $C_{16}$ . Se encontró además entre 20.1 y 32% de ácido - alfa linolénico en la fracción lípida total de A. - variabilis. En S. platensis hubo un 20.4% de - - -  $\gamma$ -linolénico y 24.7% de  $C_{15}$  y  $C_{17}$ . (33).

Entre los esteroides estudiados en P. luri-- dium, se determinaron 2,4 etil colesterol, pequeñas cantidades de colesterol, escualeno y fitol. (34).

## MATERIAL BIOLÓGICO EMPLEADO.

Se usaron muestras de alga Spirulina máxima del Lago de Texcoco y de alga Phormidium tenue colectadas en los extremos de los canales marginales del Lago de Texcoco.

S. máxima se obtuvo de la siguiente manera:

Se hizo pasar una suspensión del alga sobre una superficie de filtración inclinada, de manera - que la suspensión, al ponerse en contacto con esta superficie, tenga una velocidad tangencial suficiente para arrastrar la masa algal. Este sistema trabaja por gravedad. (12).

El lavado de Spirulina se efectuó sobre el filtro mismo para eliminar las sales retenidas por los filamentos.

El secado fue realizado por el método de -- aspersión, que consiste en hacer pasar el alga a -- una presión muy alta, a través de un orificio, al interior de una cámara en forma de cono para chocar con una corriente de aire a 180° C. Las partículas instantáneamente se secan, caen al fondo, llegan al ciclón y finalmente se obtiene el polvo, que se recibe en un recipiente. (12).

El alga Phormidium tenue se encontró adherida a las rocas que se encuentran en los canales; el alga recién obtenida es de un color azul verdoso --

con olor característico. Se lavó cuidadosamente y se le extrajeron gran parte de impurezas vegetales y animales que contenía. (5).

Posteriormente, fue secada al vacío a 82°C, durante 7 horas. Ya seca se procedió a su homogeneización manual, triturándola cuidadosamente en un mortero.

Para la determinación de caroteno se usó Phormidium tenue, obtenida "in vitro" en el Instituto de Biología, de la U.N.A.M. Se cultivó en un medio especial para algas azules llamado "Detner", cuyo pH es de 9. (13).

#### F O R M U L A .

Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O.	-----	1 g.
NaCl.	-----	0.1 g.
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O.	-----	0.55 g.
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .	-----	0.25 g.
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O.	-----	0.02 g.
H <sub>2</sub> O destilada.	-----	1000c.c.
		---- (13).

## METODOS DE ANALISIS.

## DETERMINACION DE HUMEDAD.

## Preparación de las muestras:

Se pesaron 2 g. de muestra de cada una de las algas, previamente homogeneizadas, en sus respectivos pesafiltros puestos a peso constante a 110° C. (14).

## Técnica:

Los pesafiltros junto con las muestras se introdujeron en una estufa a 110° C, durante 8 horas, tomándose el peso, después de haberse enfriado en un desecador.

## Resultados de la Determinación de Humedad.

Spirulina maxima.

En 2 g. de muestra hubo una pérdida de 0.1610 g.  
(promedio).

0.1610 ----- 2 g.

x = 8.05 % de humedad.

X -----100 g.

Phormidium tenue.

En 2 g. de muestra hubo una pérdida de 0.1815 g. --  
(promedio).

0.1815 ----- 2 g.

X = 9.07 % de --  
humedad.

X ----- 100 g.

## DETERMINACION DE CENIZAS POR EL METODO

A. O. A. C.

## Preparación de la muestra:

La muestra de cada una de las algas se homogeneizó perfectamente, y se pesó un gramo en cápsulas puestas a peso constante a  $550^{\circ}$  C.

## Técnica empleada:

Las muestras colocadas ya en las cápsulas - se carbonizaron primero con un mechero, hasta que - los humos que se desprendieron no fueron combusti--bles y después se metieron en la mufla, teniendo --cuidado de que la temperatura no excediera de  $550^{\circ}$  C, para evitar que los cloruros se volatilizaran; - se suspendió el calentamiento cuando se obtuvieron cenizas sin puntos negros, se sacaron las cápsulas, se enfriaron en el desecador y una vez frías se anotaron sus pesos. (14).

## Resultados de la Determinación de Cenizas.

Spirulina maxima.

En 1 g. de muestra se obtuvieron 0.1150 g. de cenizas (promedio).

$$\begin{array}{r}
 0.1150 \text{ g.} \text{ ----- } 1 \text{ g.} \\
 \phantom{0.1150 \text{ g.}} \phantom{\text{-----}} \phantom{1 \text{ g.}} \phantom{\text{X = 11.5\% de cenizas.}} \\
 \phantom{0.1150 \text{ g.}} \text{X} \phantom{\text{-----}} \phantom{100 \text{ g.}}
 \end{array}$$

Phormidium tenue.

En 1 g. de muestra se obtuvieron 0.4621 g. de cenizas (promedio).

$$\begin{array}{r}
 0.4621 \text{ g.} \text{ ----- } 1 \text{ g.} \\
 \phantom{0.4621 \text{ g.}} \phantom{\text{-----}} \phantom{1 \text{ g.}} \phantom{\text{X = 46.21\% de cenizas.}} \\
 \phantom{0.4621 \text{ g.}} \text{X} \phantom{\text{-----}} \phantom{100 \text{ g.}}
 \end{array}$$



## DETERMINACION DE FOSFATOS POR EL METODO

A. O. A. C.

## Preparación de las muestras:

Se llevaron a ignición 11 g. de muestra de algas Phormidium tenue y Spirulina maxima, en sus respectivas cápsulas de porcelana a  $900^{\circ}$  C, en una mufla, hasta que se obtuvo un residuo blanco-amari-llento.

Se mezclaron con 5 ml. de HCl, se calentaron más o menos dos minutos, se evaporaron a sequedad, posteriormente se calentaron a baño de vapor durante tres horas. Se mezcló el residuo con 5 ml. de HCl, se calentó unos dos minutos, se añadieron 50 ml. de agua, se calentó en baño María durante 5 minutos, se filtró a través de filtro Hardened; se lavó cuidadosamente y a los filtrados se les añadieron las aguas de lavado y se aforaron a 200 ml.

## Técnica empleada:

De las soluciones anteriores de las muestras se pipetearon alícuotas de 18 ml. correspondientes a 1 gramo. Se colocaron en matraces Erlen Meyer de 250 ml. Se añadió  $\text{NH}_4\text{OH}$ , en ligero exceso y se disolvió el precipitado formado con unas gotas de  $\text{HNO}_3$ , y con agitación vigorosa. Se calentó ligeramente y a la solución caliente se le agregaron 30 ml. de molibdato de amonio. Se dirigió una hora a -

65° C, hasta que la precipitación de fosfatos fue completa, cosa que se comprobó con la adición de un ligero exceso de la solución de molibdato al líquido sobrenadante y no observar precipitado o turbiedad en dicho líquido.

Se filtró y lavó con solución de nitrato de amonio. El precipitado en el filtro se disolvió con  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1:1) y agua caliente; el filtrado se recibió en un matraz Erlen Meyer; se continuó lavando en el filtro hasta que se obtuvo un volumen no mayor de 100 ml.

Se neutralizó con  $\text{HCl}$ , usando papel tornasol como indicador, se enfrió y una vez frío se añadió lentamente con una bureta ( $\pm 1$  gota x seg.), agitando vigorosamente, 15 ml. de mezcla magnesianna.

Después de 15 minutos se añadieron 12 ml. de  $\text{NH}_4\text{OH}$  y se dejó reposar hasta que el líquido sobrenadante estuvo claro ( $\pm 12$  h.).

Se filtró, se lavó el precipitado con  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1:9) hasta que los lavados estuvieron prácticamente exentos de cloruros. Se secó y calentó a baja temperatura (90-100°) y finalmente se sometió a ignición hasta peso constante en una mufla a 950° C. Se enfrió en desecador y se pesó como pirofosfato, se calculó como  $\text{P}_2\text{O}_5$ . (14).

## Resultados de la Determinación de Fosfatos.

Spirulina maxima.

En 1 g. de muestra se encontraron 0.0268 g.  
de  $Mg_2P_2O_7$  = 0.01710 g. de  $P_2O_5$  . ( promedio ).

$$\begin{array}{r} 0.01710 \text{ g.} \text{-----} 1 \text{ g.} \\ X \text{ -----} 100 \text{ g.} \end{array} \quad \begin{array}{l} \\ \\ X = 1.71\% \text{ de } P_2O_5. \end{array}$$

Phormidium tenue.

En 1 g. de muestra se encontraron 0.0066 g.  
de  $Mg_2P_2O_7$  = 0.0042 g. de  $P_2O_5$  . ( promedio ).

$$\begin{array}{r} 0.004206 \text{ g.} \text{-----} 1 \text{ g.} \\ X \text{ -----} 100 \text{ g.} \end{array} \quad \begin{array}{l} \\ \\ X = 0.4206\% \text{ de} \\ P_2O_5. \end{array}$$

DETERMINACION DE FIBRA CRUDA (método A.O.--  
A. C.).

Fundamento:

La fibra cruda se determinó en forma empírica. Se define como el componente orgánico de los alimentos, insoluble en  $H_2SO_4$  hirviendo y en NaOH a la ebullición.

Preparación de las muestras:

5g. de cada una de las algas se desengrasaron utilizando Soxhlet. Se pasaron íntegramente a dos matraces redondos e fondo plano de 250 ml. y se les adicionaron 0.5 g. de asbesto digerido.

Preparación del asbesto:

Se digirió el asbesto en un matraz redondo, a reflujo durante 8 horas con NaOH al 5%, después se lavó con agua caliente hasta que no dió reacción alcalina. Se colocó a digerir a reflujo nuevamente, pero con HCL (1:3), el mismo tiempo, se lavó con agua destilada hasta que no hubo reacción ácida, se secó y calcinó al rojo brillante (900°C).

Técnica empleada:

A los matraces redondos con sus muestras y el asbesto, se les adicionó una solución de ácido sulfúrico al 1.25 %. Esta solución se agregó a la -

ebullición y la mezcla se calentó de inmediato usando un refrigerante de reflujo, empezando a hervir -- antes de un minuto. Se dejó hervir 30 minutos se -- filtró a través de una tela de algodón y se lavó -- con agua destilada, hasta que no dió reacción ácida al rojo de metilo.

Los residuos se regresaron a sus respecti-- vos matraces y se repitió el procedimiento pero con sosa de la misma concentración; pasados los 30 minutos se filtraron en crisoles goochs previamente preparados con asbesto digerido, se lavaron hasta que no dieron reacción alcalina y después se lavaron -- con alcohol, se secaron, luego se calcinaron a  $900^{\circ}$  C y se volvieron a pesar. La diferencia entre estos dos pesos nos dió el contenido de fibra cruda y el resultado se relacionó a por ciento. (14).

Resultados de la Determinación de Fibra  
Cruda.

Spirulina maxima.

En 5 g. de muestra se obtuvieron 0.1134 g. de fibra  
cruda (promedio)

0.1134 g. ----- 5 g.

X = 2.26% de fibra  
cruda.

X ----- 100 g.

Phormidium tenue.

En 5 g. de muestra se obtuvieron 0.305 g. de fibra  
cruda (promedio)

0.305 g. ----- 5 g.

X = 6.10% de fibra --  
cruda.

X ----- 100 g.

DETERMINACION DE GRASA CRUDA (método  
A . O . A . C . ) .

Fundamento:

Se le da este nombre porque no sólo obtenemos grasa, sino todo lo que sea soluble en éter sulfúrico, como aceites esenciales, colesterol, fitosterol, ceras, etc.

Para la determinación de grasa cruda en gramos y en general para productos sólidos se usa el extractor de Soxhlet.

Preparación de las muestras:

Cada una de las muestras de 5 g. se introdujeron en un cartucho especial que se encuentra en el comercio.

Para pesar las muestras se pesaron primero los cartuchos, luego se colocaron las muestras y se volvieron a pesar, se colocaron los cartuchos en los Soxhlets (se tuvo la precaución de cerrar perfectamente los cartuchos).

Técnica empleada:

Se llevaron a peso constante 2 matraces redondos de fondo plano de 250 ml, con unas perlas de vidrio y se conectaron a los Soxhlets y éstos a un refrigerante de bolas. Se agregó el éter a través de los refrigerantes, poniéndoles tres cargas de --

éter. Se empezó a calentar usando un foco durante - 10 horas, para extraer la grasa.

Para comprobar que la extracción fuese completa, en un papel filtro se recibieron las últimas gotas que cayeron al descargarse el Soxhlet y no -- quedar ningún residuo graso en el papel. Se quitó - el Soxhlet, se procedió a evaporar el éter del ma-- traz, usando el mismo foco, se llevaron los matra-- ces a la estufa a  $100^{\circ}$  C, hasta peso constante y se calculó el porcentaje de grasa cruda. (14).



Resultados de la Determinación de Grasa  
Cruda.

Spirulina maxima.

En 5 g. de muestra se obtuvieron 0.1865 g. de grasa  
cruda (promedio).

$$0.1865 \text{ g.} \text{ ----- } 5 \text{ g.}$$

$$X = 3.73\% \text{ de grasa}$$

$$\text{cruda.}$$

$$X \text{ ----- } 100 \text{ g.}$$

Phormidium tenue.

En 5 g. de muestra se obtuvieron 0.0720 g. de grasa  
cruda (promedio).

$$0.0720 \text{ g.} \text{ ----- } 5 \text{ g.}$$

$$X = 1.43\% \text{ de grasa}$$

$$\text{cruda.}$$

$$X \text{ ----- } 100 \text{ g.}$$

## ANALISIS DE LA FRACCION GRASA.

- a) Determinación de índice de Saponificación (método A.O.A.C.).

## Fundamento:

Es el número de mg. de hidróxido de potasio que se requiere para neutralizar los ácidos grasos libres y saponificar los ésteres obtenidos en un gramo de muestra.

## Preparación de las muestras.

Se pesaron 5 g. de muestra de cada una de las algas, se desengrasaron durante 8 horas con éter, el extracto etéreo se evaporó y se determinó el índice de saponificación en la muestra de grasa resultante.

## Técnica empleada:

A cada una de las muestras de grasa obtenidas en los matraces, se les añadió con bureta 50 ml. de hidróxido de potasio  $\pm$  0.5 N. en alcohol y se conectaron a los tubos condensadores, se hirvieron durante 30 minutos. Se enfriaron y se titularon con HCl  $\pm$  0.5 N. (0.675 N), usando fenolftaleína como indicador. Al mismo tiempo se hizo un blanco colocando 50 ml. de la potasa alcohólica medida en la misma forma, calentando y titulando igual que los problemas. (14).

## RESULTADOS.

Fórmula empleada:

$$\frac{(\text{ml. blanco} - \text{ml. problema}) \times N \times 56.1}{\text{peso de la muestra.}} \text{ mg. - KOH/g.}$$

Spirulina maxima.

En 0.110 g. de grasa cruda se gastaron 0.3097 g. de KOH (promedio).

$$\frac{(43.0 - 42.1) \times 0.675 \times 56.1}{0.110 \text{ g.}} = 309.7 \text{ mg. de KOH/g.}$$

$$0.110 \text{ g.} \text{ ----- } 0.3097 \text{ g.}$$

$$1 \text{ g.} \text{ ----- } x$$

X = 2.81g. de KOH  
en lg. de gra  
sa.

Phormidium tenue.

$$\frac{(44.4 - 42.95) \times 0.675 \times 56.1}{0.04445 \text{ g.}} = 1234 \text{ mg. de KOH/g.}$$

$$0.04445 \text{ g.} \text{ ----- } 1.234 \text{ g.}$$

$$1 \text{ g.} \text{ ----- } x$$

X = 27.7 g. de  
KOH en lg.  
de grasa.

## b) INDICE DE ACIDEZ.

## Fundamento:

Es el número de miligramos de hidróxido de potasio necesario para neutralizar los ácidos grasos libres de 1 g. de muestra. Se reporta en ácido oleico.

## Preparación de las muestras:

Se desengrasaron durante 8 horas con éter, se evaporó el mismo y se determinó el índice de acidez en la grasa.

## Técnica:

A cada una de las muestras de grasa obtenidas en los matraces redondos, se les adicionó 50 ml. de alcohol (previamente neutralizado con NaOH 0.1 N y fenolftaleína). Se calentaron a B.M. a ebullición incipiente y se titularon con KOH 0.1N, empleando fenolftaleína como indicador. Agitando perfectamente después de cada adición de álcali. (14).

## RESULTADOS.

## Fórmula empleada:

$$\frac{\text{ml. gastados} \times N. \times 0.282 \times 100}{\text{Peso muestra.}} = \% \text{ de ácido oleico}$$

Spirulina maxima.

$$\frac{(1.5 \times 0.089 \times 0.282 \times 100)}{0.1042 \text{ g.}} = 36.12 \% \text{ de ácido oleico.}$$

Phormidium tenue.

$$\frac{(1.75 \times 0.0569 \times 0.282 \times 100)}{0.0720 \text{ g.}} = 39 \% \text{ de ácido oleico.}$$

## DETERMINACION DE PROTEINAS (método A.O.A.C.).

## Preparación de las muestras:

Se pesaron exactamente 2 g. de las muestras de algas en papel glacine y con todo y papel se introdujeron en el matraz de Kjeldall. (Para S. máxima se pesaron 0.500 g.).

## Técnica empleada:

Se agregaron a cada uno de los matraces -- 0.3 g. de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ; 10 g. de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  ; 25 ml. de ácido sulfúrico y unos pedazos de plato poroso para regular la ebullición en la destilación. Se colocaron los matraces, en la campana, en posición inclinada en sus soportes y se calentaron lentamente con mechero hasta que cesaron los humos blancos, se colocó en cada uno de los matraces un embudo de cola corta en la boca del matraz y se continuó el calentamiento con llama más fuerte para destruir la materia orgánica: las soluciones quedaron completamente exentas de partículas orgánicas; se enfriaron los matraces, se diluyeron las soluciones con 250 ml. de agua destilada y se colocaron en hielo. Se les -- agregó una solución concentrada de NaOH (1:1), previamente enfriada en hielo. La solución de sosa se añadió cuidadosamente resbalando por las paredes -- del matraz. Inmediatamente se conectaron los matraces a sus alargaderas de Kjeldall, las cuales ya -- estaban unidas con sus respectivos refrigerantes y

llevaban alargaderas terminales para introducir las en 50 ml. de  $\text{HCl}^{\dagger}$  0.1 N. (14).

Se tuvo la precaución de que todas las conexiones ajustaran perfectamente y no hubiese fugas, se mezclaron las dos capas y se calentaron los ma--traces hasta que se destilaron unos 150 ml.

Para suspender la destilación se retiró primero el matraz en donde se recibió al destilado y - después se suspendió el calentamiento para evitar - que se sifoneara. Se determinó el exceso de ácido - en cada uno de los matraces con solución valorada - de NaOH 0.1 N, empleando rojo de metilo como indicador.

Los resultados se corrigieron mediante una determinación en blanco de los reactivos, usando 1 g. de sacarosa en lugar de la muestra problema. (14).

Resultados de la determinación de  
Proteínas.

Fórmula empleada:

$$\% N_2 = \frac{(\text{ml. blanco} - \text{ml. prob.})N \text{ de NaOH} \times 0.014}{\text{peso muestra.}} \times \frac{100}{\text{p.m.}} \times 6.25$$

Spirulina maxima.

$$\frac{(60.5 - 22.15) \times 0.1 \times 0.014 \times 100}{0.500} \times 6.25 = 66.1812 \% \text{ de proteína (promedio).}$$

Phormidium tenue.

$$\frac{(60.5 - 35.7) \times 0.1 \times 0.014 \times 100}{2} \times 6.25 = 10.85 \% \text{ de proteína (promedio).}$$



## DETERMINACION DE AMINOACIDOS.

Efectuada en los Laboratorios Nacionales de Fomento Industrial.

## Fundamento:

Para estudiar el contenido de aminoácidos de una proteína es necesario lo siguiente:

- 1) Desengrasado de la muestra.
- 2) Hidrólisis de la muestra para la liberación de los aminoácidos.
- 3) Para la valoración de metionina y cisteina, que se destruyen por la hidrólisis ácida se procedió a una previa oxidación de la proteína con -- ácido perfórmico.
- 4) La determinación de triptófano que se -- destruye también por hidrólisis ácida se lleva a cabo en tres etapas:
  - a) Hidrólisis alcalina de la proteína.
  - b) Combinación del triptófano con p- dimetilamino benzaldehído en solución de  $H_2SO_4$ , para formar productos de condensación incoloros.
  - c) Desarrollo del color azul por oxidación con nitrito de sodio.

Posteriormente se procede a hacer la lectu-

ra en el fotocolorímetro. (15).

#### DETERMINACION DE AMINOACIDOS POR MEDIO DEL AUTOANALIZADOR.

El proceso básico consiste en lo siguiente:

1) La separación de los aminoácidos en columnas de resinas sintéticas de intercambio iónico.

2) Formación de un complejo de color azul con el reactivo de ninhidrina, para la detección de cada uno de los aminoácidos ya separados.

3) Determinación de la intensidad de la coloración formada, para la cuantificación de cada aminoácido.

4) Graficación automática con un registrador de las lecturas correspondientes a cada aminoácido.

La gráfica así obtenida se llama aminograma. (15).

## RESULTADOS.

AMINOACIDO g/100 g. Proteína.	MUESTRA ALGA. <u>Phormidium tenue.</u>	MUESTRA ALGA <u>Spirulina ma-</u> <u>xima.</u>
Acido aspártico.	12.4	11.3
Acido glutámico.	15.5	19.3
Treonina.	4.9	5.6
Serina.	4.3	5.3
Prolina.	2.0	1.8
Alanina.	7.6	8.0
Glicina.	5.8	5.2
Valina.	5.9	6.4
Cistina.	1.6	1.3
Metionina.	2.2	1.5
Isoleucina.	3.7	5.4
Leucina.	7.4	10.0
Tirosina.	4.9	5.4
Fenil alanina.	9.4	5.1
Lisina.	5.5	4.3
Histidina.	1.1	1.3
Triptofano.	0.2	0.8
Arginina.	7.2	6.7

## DETERMINACION DE BETA CAROTENO.

(método A.O.A.C.).

Efectuada en los Laboratorios Nacionales de Fomento Industrial.

## Fundamento:

Se basa en la separación de pigmentos a través de una columna cromatográfica y la valoración del  $\beta$ - caroteno efectuada por fotocolorimetría --- usando un estándar para calcular la concentración.

## Preparación básica de la solución:

Se pesaron 10 g. de la muestra, se colocaron dentro de un mortero, se añadieron 150 ml. de potasa alcohólica al 12% y se tritularon durante 5 min. Se agregaron 100 ml. de éter de petróleo y se agitó 2 min., se dejó sedimentar y se decantó la mezcla a un embudo de separación de 500 ml. Se repitió el procedimiento anterior pero con porciones de 25 ml. de disolvente, hasta que el líquido resultante se observó incoloro.

Se separó la xantofila con porciones de 25 ml. de metanol al 90%; agitando 2 min. en cada extracción, se continuaron las extracciones hasta que el metanol pasó incoloro.

Se lavó el éter, conteniendo el caroteno, dos veces con 50 ml. de agua para quitar el metanol, se concentró la solución a presión reducida; -

se filtró a un matraz volumétrico y se secó con sulfato de sodio y finalmente se aforó.

#### Adsorción.

En una columna cromatográfica de 5-8 mm. de ancho y de 15-20 cm. de largo, se colocó una pequeña porción de algodón, se aplicó succión suavemente, se añadieron 0.200 g. de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , comprimiendo suavemente con una varilla de vidrio. Se repitió este procedimiento hasta que la columna de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  midió 10 cm., se agregaron 2-5 ml. de éter de petróleo en la columna y se aplicó succión.

Antes que todo el éter de petróleo hubiese pasado por la columna, se añadió la solución que contenía el caroteno, teniendo la precaución de que siempre la superficie de la columna estuviera cubierta de éter de petróleo. Se lavaron las columnas con el disolvente, hasta que las zonas de pigmentos se separaron.

Se aisló cada una de las zonas de la columna por fragmentación y se colocó cada porción dentro de recipientes y se cubrió con el solvente. Se extrajo cada pigmento agitando con bencina conteniendo 2% de alcohol y finalmente se procedió a la lectura comparando con el estándar (14).

Resultados de la Determinación de  
 $\beta$ -caroteno.

Spirulina maxima. ( Carente ).

Phormidium tenue. 50.17 mg. / Kg. de beta caroteno.

RESULTADOS Y DISCUSIONES.

## RESULTADOS FINALES.

HUMEDAD.	P <u>Phormidium tenue.</u> 9.07 %	<u>Spirulina</u> <u>máxima.</u> 8.05 %
CENIZAS.	46.21 %	11.5 %
GRASA CRUDA.	1.43 %	3.73 %
FIBRA CRUDA.	6.10 %	2.26 %
PROTEINA.	10.85 %	66.18 %
CARBOHIDRATOS.	26.34 %	8.28 %
FOSFATOS.	0.4206%	1.71 %
INDICE DE - ACIDEZ.	39.0 %	36.13 %
INDICE DE SAPONIFICACION	2.81 %	27.7 g.
β- CAROTENO.	50.17 mg./Kg.	-----
AMINOAC. ESEN CIALES.	g/ 100g. de proteína.	g/ 100 de proteína.
TRIPTOFANO.	0.2	0.8
LISINA.	5.5	4.3
METIONINA.	2.2	1.5
FENIL ALANINA.	9.4	5.1
LEUCINA.	7.4	10.0



ISOLEUCINA.	3.7	5.4
VALINA.	5.9	6.4
TREONINA.	4.9	5.6

## DISCUSIONES.

## HUMEDAD.

En Phormidium tenue fue más alta, esto dependió del diferente tipo de secado, ya que P. tenue se secó a 82°C, empleando vacío y S. maxima por el método de aspersión.

Otro factor que también se debe tomar en cuenta en el porcentaje de humedad, es la capacidad de absorber la humedad del medio ambiente.

## CENIZAS.

La cantidad de cenizas en P. tenue resultó superior a S. maxima, debido a la gran cantidad de impurezas en P. tenue; además de su alto contenido en sílice, arena y otros minerales.

## FOSFATOS:

Como fuente de fósforo es mejor S. maxima, ya que el resultado de fosfatos en S. maxima fue mayor que en P. tenue.

En otros experimentos en especies de Phormidium se demostró la presencia de fosfatos. (16).

## GRASA CRUDA.

En S. maxima se encontró una porción de grasa más alta que en P. tenue S. maxima tiene una ---

gran cantidad de ácido  $\gamma$ - linolénico y ácido palmítico. (10).

#### Indice de Saponificación.

P. tenue requirió mayor cantidad de hidróxido de potasio que S. máxima por lo que se concluye que hay mayor número de ésteres y ácidos grasos libres en P. tenue.

#### Indice de acidez.

La diferencia del índice de acidez entre P. tenue y S. máxima no fue considerable, ya que variaron muy poco los resultados obtenidos.

#### Fibra cruda.

El porcentaje de fibra cruda fue menor en S. máxima que en P. tenue, en consecuencia la digestibilidad en humanos es mejor en S. máxima, (75%). (17).

#### Proteína cruda.

De acuerdo con los análisis realizados, el valor protéico de S. máxima es superior al de P. tenue, o sea que como un suplemento alimenticio es mucho mejor S. máxima.

#### Aminoácidos.

La cantidad de triptofano en P. tenue es -- muy baja, por lo que en la alimentación sólo podría ser usada suplementada con otro alimento rico en -- triptófano. Por el contrario su contenido en fenilalanina es muy alto, por lo que se puede emplear como suplemento en alimentos con un bajo contenido de fenil alanina.

S. maxima tiene sus aminoácidos esenciales dentro - de los límites que establece la F.A.O. Tiene un poco bajo su contenido en triptófano.

## Vitaminas.

P. tenue puede ser considerada como una magnífica fuente de  $\beta$ - caroteno que es el pigmento que proporciona mayor cantidad de vitamina A.

S. maxima es rica en vitaminas del completo B y en diversos pigmentos sobre todo en xantofilas por lo que es muy útil en la alimentación de aves.

Los datos obtenidos están sujetos a variaciones que dependen de los siguientes factores:

1o.- Epoca en que se colecta la muestra, - esto influye en el desarrollo del alga, sobre todo si no crece en medio regulado, sino en forma natural.

2o.- Cantidad de luz. Está directamente relacionada con la pigmentación.

3o.- Lluvia, calor, intervienen en la concentración de sales y en cambios del pH; además la lluvia proporciona una cierta agitación al medio -- donde se desarrolla el alga. Esta agitación es muy necesaria para el crecimiento del alga, si es muy violenta (tormentas o lluvia constante) el alga no puede crecer.

4o.- Los métodos de preparación que se empleen para su determinación, por ejemplo secado, -- etc.

## CONCLUSIONES.

De acuerdo con los resultados obtenidos en los análisis efectuados, podemos decir que S. maxima, es una magnífica fuente de proteínas.

Por otro lado aunque la composición protéica de P. tenue no es tan buena, como la de S. maxima; su contenido en  $\beta$ - caroteno es excelente.

P. tenue puede incorporarse en los alimentos para animales, sobre todo en las aves.

S. maxima tiene posibilidades de introducirse en la alimentación humana viendo la forma de enmascarar su color y sabor.

La inclusión de algas tanto marinas como de agua dulce en la alimentación humana, quizá resulte un poco difícil y lleve mucho tiempo debido a los prejuicios. Pero hay que recordar que es un alimento fundamental en el Oriente; consecuentemente con una propaganda bien dirigida podrá vencerse la reticencia a comerlas y aprovechar su valor nutritivo y bajo costo, sobre todo su valor nutritivo que quedó demostrado con los análisis que en esta tesis presentamos.

Sería aconsejable que esta tesis se continuara con un trabajo sobre nutrición en aves para determinar el valor biológico en animales domésticos.

COMPARACION DE LAS ALGAS S. máxima y P. tenue.  
CON CEREALES. (35).

%	PROTEINAS	GRASA.	FIBRA.	CENIZAS.
<u>S. máxima</u>	66.18	3.73	2.26	11.5
<u>P. tenue</u> .	10.85	1.43	6.10	46.21
Cebada.	12.9	1.9	5.4	2.8
Maíz.	8.8	4.0	2.1	1.2
Avena.	9.0	5.4	11.0	3.7
Arroz.	7.9	1.8	9.0	5.2
Centeno.	12.6	1.7	2.4	1.9
Trigo.	9.9	2.0	2.7	1.9

COMPARACION DE LAS ALGAS CON PRODUCTOS DE CEREALES. (36).

%	PROTEINAS	HUMEDAD.	GRASA.	FIBRA.	CARBOHI- DRATOS.	CENIZAS.
<u>S.máxi- ma.</u>	66.18	8.05	3.73	2.26	8.28	11.5
<u>P.tenué</u>	10.85	9.07	1.43	6.10	26.34	46.21
harina de cebada	10.2	10.0	1.7	0.7	76.9	1.2
Harina de maíz.	7.9	12.1	2.2	0.7	77.0	0.8
Harina de avena.	14.2	8.3	7.4	1.2	68.2	1.9
Harina de Arroz.	7.6	12.3	0.3	0.2	79.4	0.4
Har.trigo.	10.8	12.0	0.9	0.3	75.9	0.4



## COMPARACION DE LAS ALGAS CON VERDURAS. (37).

NOMBRE.	HUMEDAD.	PROTEINA.	GRASA	HIDRA- TOS DE CARBO- NO.	FIBRA	CENIZAS
<u>S.máxima.</u>	8.05	66.18	3.73	8.28	2.26	11.5
<u>P.tenue.</u>	9.07	10.85	1.43	26.34	6.10	46.21
Apio.	93.6	0.8	0.2	4.2	0.6	1.2
Sal de apio.	5.0	5.0	6.0	6.0	3.0	75.0
Calabaza.	92.7	0.8	0.1	6.0	0.3	0.4
Chayote.	90.8	0.9	0.2	7.7	0.6	0.4
Espinaca.	92.7	2.7	0.2	4.4	0.2	0.7
Lechuga.	94.9	1.3	0.2	2.9	0.7	0.7
Nopal.	90.80	1.3	0.1	6.9	6.8	0.9
Papa.	77.9	2.8	0.2	18.2	0.6	0.9
Tomate.	93.8	0.8	0.3	4.6	0.6	0.5
Zanahoria	89.1	0.8	0.4	8.9	0.8	0.8

## COMPARACION CON CARNE Y PRODUCTOS. (37) (38).

§	HUMEDAD.	PROTEINAS.	GRASA.	CENIZAS.	CARBOHIDRATOS.
<u>S. máxima</u>	8.05	66.18	3.73	11.5	8.28
<u>P. tenue.</u>	9.07	10.85	1.43	46.21	26.34
Res.	77.9	17.5	1.7	1.3	1.6
Cerdo.	77.2	17.6	1.9	1.4	1.9
Conejo.	70.4	20.4	8.0	1.2	--
Hígado de cerdo.	71.5	19.2	5.4	1.4	2.5
Hígado de res.	71.2	19.8	3.9	1.5	3.6
Chorizo.	18.9	25.7	48.9	6.2	--

## COMPARACION CON AVES PESCADOS Y MARISCOS. (37).

%	HUMEDAD.	PROTEINAS.	GRASA.	CENIZAS .
<u>S.máxima</u>	8.05	66.18	3.73	11.5
<u>P. tenue</u>	9.07	10.85	1.43	46.21
Bacalao.	81.3	17.5	0.3	1.2
Robalo.	78.0	20.0	1.0	1.0
Atún con aceite.	52.6	24.2	20.5	2.4
Camarón.	78.8	17.3	0.2	1.2
Jaiba cocida.	77.9	19.1	0.4	2.6
Pulpo.	85.5	12.6	0.3	1.6

## COMPARACION CON FRUTAS. (37).

NOMBRE.	HUMEDAD.	PRO- TEINA.	GRASA.	HIDRATOS DE CARBONO.	FIBRA	CENIZAS
Aguacate.	83.9	1.3	8.2	5.7	1.3	0.9
Cereza.	82.6	1.8	0.4	14.8	1.0	0.4
Ciruela.	87	0.6	0.2	11.9	0.4	0.3
Durazno.	85.3	0.8	0.2	13.3	0.9	0.4
Fresa.	90.0	0.8	0.3	8.5	1.3	0.4
Guayaba.	80.8	0.9	0.4	17.3	5.3	0.6
Lima.	89.9	0.7	0.6	8.4	1.0	0.4
Limón.	90.3	0.6	0.6	8.1	0.6	0.4
Mamey.	86.8	0.6	0.2	12.1	1.0	0.3
Mango.	83.5	0.5	0.2	15.4	0.8	0.4
Papaya.	90.7	0.5	0.1	8.3	0.6	0.4
Plátano.	65.6	1.0	0.3	32.3	0.5	0.8
<u>S.máxima.</u>	8.05	66.18	3.75	8.28	2.26	11.5
<u>P.tenue.</u>	9.07	10.85	1.43	26.34	6.10	46.21

## COMPARACION CON OTROS ALIMENTOS. (39).

%. HUMEDAD.	PROTEINAS.	GRASA.	CARBOHI- DRATOS.	FIBRA.	CENIZAS.	
<u>S.máxima.</u>	8.05	66.18	3.73	8.28	2.26	11.5
<u>P.tenue.</u>	9.07	10.85	1.43	26.34	6.10	46.21
Harina de papa.	12.0	7.0	0.2	79.0	1.8	2.5
Harina de soya.	8.0	43.0	20.0	18.0	1.8	4.0
Café cru- do.	8.5-10	8-13	12-14	20-23	---	4-4.5

## COMPARACION CON OTRAS ALGAS. (40) (41).

%	HUMEDAD.	PROTEINA.	CENIZAS.
<u>S.máxima.</u>	8.05	66.18	11.5
<u>P. tenue.</u>	9.07	10.85	46.21
<u>Ulva rígida</u>	8.64	16.69	32.42
<u>S.platensis</u>	4.2	69.2	4.8

	HUEVO	LECHE	PESCADO	SOYA	LEVADURA	TRIGO	GELATINA	MAIZ	CHLORELLA	S. PLATEN SIS.	S. MAXI- MA.	P. TENUE
AMINOACIDO /100 g. DE PROTEINA	g/100g. DE PRO- TEINA											
ARGININA	5.7	3.0	5.8	6.9	9.0	3.3	7.6	1.8	5.89	7.80	6.7	7.1
HISTIDINA	2.4	2.7	2.5	2.9	3.8	2.6	1.0	1.7	2.2	1.8	1.3	1.1
ISOLEUCINA	6.7	7.5	5.8	7.0	3.8	4.1	1.7	7.3	11.2	6.4	5.4	3.7
LISINA	7.3	8.7	8.6	7.5	9.0	2.7	4.3		6.59	4.4	4.3	5.5
METIONINA	3.1	2.3	2.9	1.1	0.80	1.3	0.8	2.3	1.23	2.2	1.5	2.2
FENILALANINA	5.4	5.1	3.9	5.2	2.2	4.2	2.0	6.4	4.43	5.4	5.1	9.4
TREONINA	5.3	4.6	3.4	3.3	4.1	3.3	1.5	3.0	5.19	5.4	5.6	4.9
LEUCINA	9.2	10.2	8.8	8.1	5.1	6.4	3.7	23.7	11.2	10.4	10	7.4
TRIPTOFANO	1.6	1.6	1.1	1.6	1.4	1.0	0.0	0.1	1.86	1.5	0.8	0.2
VALINA	7.1	7.4	6.7	5.6	4.8	3.6	2.5	3.0	4.84	7.5	6.4	5.9

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Secretaría de Educación Pública. "La --  
lucha contra el hambre y la desnutrición". México.  
(1963).
- 2.- Priestley, G. "Natural resources pro---  
blem with special reference to algal protein production". Chem. Eng. J. No. 17, 25-33, Eng. (1971).
- 3.- Clement, G.; Giddey, C.; Menzi, R. "Ami  
noacids composition and nutritive value of algae --  
S. maxima". J. Sci. Food. Agric. No. 18, 497-501.  
Geneva. (1967).
- 4.- Meyer, C. "Large-Scale algae production".  
Ind. Aliment. Agr. 86(11), 1445-9, Fr. (1969).
- 5.- Ortega, M.M. "Estudio de las algas co--  
mestibles del Valle de México". Rev. Latinoamer. --  
Microbiol. No. 14, 85-97, Méx. (1972).
- 6.- Bourrely, P. "Les algues d'eau douce, -  
algues bleus et rouges". Editions. N. Boubée et cie.  
France. (1970).
- 7.- Ives, J.J.; Berlot, P.; Baron, C. ---  
"Etude comparée des acides nucléiques de deux ----  
espèces de spirulines: S. platensis Geitler et S.  
maxima Geitler". C,R, Acad. Sc. Paris, tomo 273, --  
pág. 2365-2368, Fr. (dic. 1971).



- 8.- Marty, F.; Busson, F. "Données cytologiques et systématiques sur S. platensis (Gom.). -- Geitler et Spirulina Geitleri. J. de Toni (Cyanophyceae Oscillatoriaceae)". C.R. Acad. Sci. Paris, tomo 270, pág. 786-89. Febr. (1970).
- 9.- Doyle, T.W. "Las plantas no vasculares". Forma y Función". Centro Regional de Ayuda Técnica. Méx. (1968).
- 10.- Busson. F. "Spirulina platensis (Gom). Geitler et Spirulina Geitleri. J. de Toni. - - - Cyanophycees alimentaires". Service de Santé-Parc - du Pharo. 13. Marseille 7<sup>ème</sup>. France. (1970).
- 11.- Meyer, C.; Rebeller, M. 1594,567. -- Francia. (1970).
- 12.- Durand Ch.H.; Genevieve, C. "El alga - Spirulina Alimento del mañana". 1 er. Congreso Internacional de Nutrición. Méx. (1972).
- 13.- Acoranti, J. "Cultivo Unialgal bi-masivo Scenedesmus obliquos Turp. Ktz. Técnica de Obtención Común. Sci, Nat. "Bernardino Rivadavia. -- Mus. Argent. Bot. 1(9): 21-29. Argent. (1960).
- 14.- A.O.A.C. "Methods of Analysis". ---- Eleventh Edition, A.O.A.C., Washington, D.C. ---- (1970).
- 15.- López, M. Y. E. Tesis: "Proteínas y

Aminoácidos de la leche de madres del Medio Rural"-  
Mich. Méx. (1972).

16.- Lewin, R. A. "Physiology and Biochemistry". Academic Press. pág. 220 New York. (1962).

17.- Bujard, E.; Bracco, J.; Mauron.; ----  
Mottu, F. (et.al.). "Composition and Nutritive ---  
Value of Blue Green Algae (Spirulina) and their ---  
Possible Use in Food Formulations". 3rd. Internatioo  
nal Congress of Food Science and Technology. - -  
Washington. Aug. 9-14, 1940.

18.- Colloque sur le valeur nutritionnelle  
des algues Spirulines Paris. Mayo. (1973).

19.- Bourges, H.; Sotomayor, A.; Mendoza, -  
I. and Chávez, A. Nutrition Report International. -  
Div. Nutrición en Méx. (1972).

20.- Clement, G.; Meyer, C.; Rebeller, M. -  
"New feed preparation containing Spirulina type ---  
algae". Fr. 1557,635. Feb. (1969).

21.- Pelloquin, A.; Lai, R.; Busson, F. --  
"Comparative study of lipid fration of S. platensis  
and S. geitleri". C. R. Acad. Sci. Ser. D. 271(11),  
pág. 932-35, Fr. (1970).

22.- Gupta, A. B.; Shukla, A., C. "Effect -  
of algal extracts of Phormidium species on growth -  
and development of rice seedlings". Hidrobiología,  
34 (1). 77-84. Eng. (1969).

23.- Til, H.P. and Miss Dra. Willems, M. --  
"Study with dried algae in albino rats". Rueil -Mal  
maison. France. January. (1971).

24.- Soeder, C.J.; Mueller, W.H.; Pabst, --  
W.; Kraut, H. "Working basis for using microalgae -  
in food and diet". Ann. Hyg. Lang. 6(4), pág. ---  
49-56. Fr. (1970).

25.- Gupta, A., B.; Agarwal, P.R. "Paper -  
chromatographic study of some free aminoacids of --  
P. faveolarum". Labdev. Part. B. 10(2), pág. ---  
70-4. India. (1972).

26.- Vigna, B. "Organic compounds in Vina--  
dio Spring algae". Ann. Idrol. Sci., pág. 1-5, Ital.  
(1967).

27.- Boissio, M.L.; Boggero, C. "Biological  
aspects and biochemical studies of fresh water ---  
algae". Atl. Accad. Ligure. Sci. Lett. 22, pág. ---  
356 - 66. Ital. (1966).

28.- Klyushkina, N.S.; Fosfanov, U., I.; --  
Troitskaya, I., T.; Smirnova, T., A. "Effect of ---  
unicellular algae - containing diets on metabolism  
recovery in protein- deficient white rats". Kosm. -  
Biol. Med., 2(6), págs. 42-7 Russ (1968).

29.- Soeder, C., J.; Subardja, M. Monograph,  
70, pág. 55-70, Ger. (1972).

30.- Postolitsa, L., G., C. "Group B vita--

mins in some blue green algae. "Ukr. Bot. Zh., -- 26(3), pág. 84-5 Ukrain (1969).

31.- Koptova, Z., H., P. "Biosynthesis of biotin, vitamin B<sub>6</sub>, nicotinic acid and pantothenic acid". Microbiol. Zh., URSS (1970).

32.- Healey, F., P. "Carotenoids of 4 blue-green algae. J. Phycol., 4(2). pág. 126-9, Eng. -- (1968).

33.- Bood, V.; Paoletti, C.; Materassi, R. "Lipid fraction of S. platensis and other cultivated microalgae". Ann. Microbiol. Enzimol., 20(1-2-3), - pág. 60-73, Ital. (1970).

34.- De Souza, N., J.; Nes, W., R. "Sterols of Phormidium luridum". Science., 162 (3851), --- 363, Eng. (1968).

35.- Morrison, F., B. "Feeds and feeding" 21<sup>o</sup> ed. The Morrison Publishing Company, Ithaca - (1968).

36.- Kirk, E., R. y Othmer, D., F. "Enciclopedia de tecnología química, tomo IV, pág. 342. -- UTEHA, Méx. (1962).

37.- Burton, T., B. "Nutrición Humana", 2a. Ed. OMS, OPS, Washington, D.C. (1969).

38.- Montes, A., L. "Bromatología". pág. --

274. Edit. Universitaria de Buenos Aires. Argentina, (1969).

39.- Valenciano, O., A. "Guía Práctica de Análisis Bromatológicos". pág. 283, 431-432, Edt. - HÁSA, Buenos Aires (1946).

40.- Parekh, R., G. and Rao, A.V. "Extraction of bull proteins from the green seaweed, Ulva rígida". Indian. J. Technol. 2, pág. 387-8. Indian (1964).

41.- Tomaselli, L.; Pelos, E.; Materassi, R. et Florenzano, G. "Prime esperienze in Italia di cultura massiva di una microalga verde azurra, ricca di proteine (S. platensis ft granulata)". XV -- Congresso Nazionale di Microbiología, Torino, --- Saint Vincent 6-9 Ottobre (1969).

42.- Szkilladziowa, W.; Pliszka, B., M.; -- Krus, S. "Nutritional value of algal protein". Roczn. Panstiv. Zakl. Hig., 20(2), pág. 201-9, Pol.(1969).

43.- Garson, J.; Maigrot, M.; Busson, F. "Cyanophyceae utilisable in human nutrition". Med. Trop. 29(4), pág. 536-8. Fr. (1969).