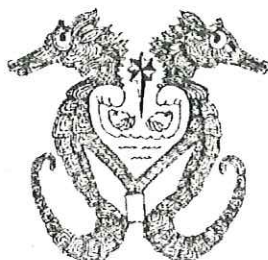




UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



**EXTRACCION Y ESTIMACION DE *VITAMINA C* EN TRES
ESPECIES ALGALES RECOLECTADAS EN LA COSTA
NOROCCIDENTAL DE BAJA CALIFORNIA, MEXICO**

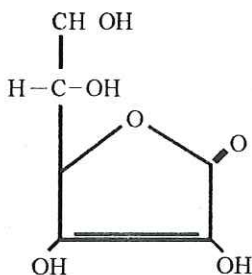


TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
OCEANOLOGO**

PRESENTA

RAQUEL MUÑIZ SALAZAR



ENSENADA B.C. JUNIO DE 1996

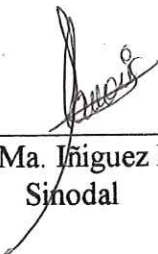
EXTRACCIÓN Y ESTIMACIÓN DE VITAMINA C EN TRES ESPECIES
ALGALES RECOLECTADAS EN LA COSTA NOROCCIDENTAL DE BAJA
CALIFORNIA, MÉXICO.

TESIS
QUE PRESENTA:

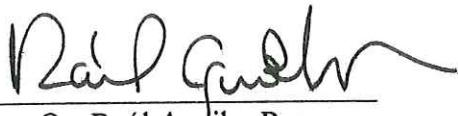
RAQUEL MUÑOZ SALAZAR



M.C. Graciela Guerra Rivas
Director de Tesis



M.C Ana Ma. Iniguez Martínez
Sinodal



Oc. Raúl Aguilar Rosas
Sinodal

*Este trabajo se llevó a cabo dentro del Proyecto "Aprovechamiento del
Potencial Farmacológico de Especies Marinas de las costas de Baja California"
en la Facultad de Ciencias Marinas, gracias al apoyo de la Universidad
Autónoma de Baja California.*

RESUMEN

Se realizó la determinación del contenido de vitamina C, utilizando el método volumétrico de 2,6-Diclorofenolindofenol (2,6-DCPIP), en tres especies algales (*Ulva costata*, Hollenberg; *Taonia lennebackeriae*, J. Agardh y *Porphyra perforata*, J. Agardh) recolectadas en Punta San Isidro en el ejido Eréndira, B.C. A la par se realizó la determinación de la vitamina en un vegetal terrestre (*Physalis* sp.).

Con estos resultados se llevó a cabo una comparación entre el contenido de vitamina C de las especies algales con el del vegetal, determinándose que *T. lennebackeriae* es una buena alternativa como fuente natural de vitamina C.

Se encontró que *T. lennebackeriae* presentó el mayor contenido de vitamina C (17.9179 mg/100 g. de peso fresco) en comparación a *U. costata* (4.02 mg/100 g. de peso fresco), *P. perforata* (7.74 mg/100 g. de peso fresco) y *Physalis* sp. (13.12 mg/100 g. de peso fresco).

Se determinó la variación del contenido de vitamina C en *T. lennebackeriae* almacenándola en estado fresco y a una temperatura de 8 °C, durante 10 días, observando una disminución de 21%, 22.8% y 72% al sexto, séptimo y décimo día de almacenamiento respectivamente.

AGRADECIMIENTOS

A la M.C. Graciela Guerra Rivas por la dedicación prestada en la elaboración de este trabajo y por no dejarme dar por vencida, cuando pensaba que nada tenía solución.

A la M.C. Ana Ma. Iñiguez Martínez por su ayuda en la realización de este trabajo y por su amistad.

Al Oc. Raúl Aguilar por la identificación de las especies algales utilizadas en este estudio y por sus acertados comentarios.

A cada uno de mis amigos los snorkel's por que siempre estuvieron a mi lado para ayudarme cuando más lo necesite. A TODOS GRACIAS.

A Daniel, por ayudarme en lo más complicado de la tesis "la estadística".

A M.C. Manuel Moreno, M.C. Irma Soria, M.C. Raúl Canino y Rafael Hernández Walls por darme siempre el buen ejemplo de lo que es ser un profesional y un buen amigo.

DEDICATORIAS

A mis padres Oscar y Rosy "Chita" por su infinito AMOR Y COMPRENSIÓN, que sin importar la distancia siempre nos mantuvimos muy unidos.

A ti flaquita por tus bien merecidos regaños y todo tu amor, porque eres la mejor hermana del mundo.

A ti Alex porque has iluminado mis días más oscuros.

A todos mis familiares que de una manera u otra me ayudaron a seguir estudiando.

A Lupe y Burgos, por que con ustedes he pasado los mejores momentos (si supieran cuanto las extraño).

A Gabriel y Vane por su incondicional amistad, y ti David porque siempre me das un momento de alegría. LOS QUIERO.

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	5
3. Objetivos.....	8
4. Metodología	9
4.1 Descripción del Área de Estudio.....	9
4.2 Criterios de Selección y Colecta.....	9
4.3 Descripción del Recurso Natural.....	12
4.4 Tratamiento Previo del Material Algal.....	15
4.5 Determinación del Contenido de Vitamina C.....	15
4.5.1 Preparación del Extracto.....	15
4.5.2 Medición Final.....	16
4.5.3 Cálculo del Contenido de Vitamina C.....	16
4.6 Estudio de la Degradación de Vitamina C.....	17
4.7 Análisis Estadístico.....	17
5. Resultados.....	18
6. Discusión.....	23
7. Conclusiones.....	29
8. Literatura Citada.....	31
9. Anexos	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Fórmula estructural y empírica de la vitamina C	1
Figura 2.- Localización del área de estudio y sitio de colecta.....	10
Figura 3.- Esquema que muestra la clasificación de la zona litoral, con respecto a los niveles de marea.....	11
Figura 4.- Especies utilizadas en la determinación de vitamina C.....	14
Figura 5.- Contenido de vitamina C en las especies analizadas.....	22
Figura 6.- Valores obtenidos en el estudio de degradación de vitamina C en <i>T. lennebackeriae</i> a diferentes tiempos. t=0 muestra fijada en MAF 20%, t=6, t=7 y t=10 muestras refrigeradas a 8 °C.....	22

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Requerimiento Mínimo Diario (RMD) de Vitamina C	3
Tabla II. Valores de vitamina C determinados en las especies analizadas	18
Tabla III. Datos obtenidos de la estadística de t de student para datos independientes, comparando el valor medio del contenido de vitamina C en <i>Physalis</i> sp., contra los valores de <i>U. costata</i> , <i>T. lennebackeriae</i> y <i>P. perforata</i>	19
Tabla IV. Contenido de vitamina C a diferentes tiempos en la especie <i>T. lennebackeriae</i> en estado fresco, almacenada a una temperatura de 8 °C.....	19
Tabla V. Datos obtenidos de la estadística de t de student para datos dependientes, comparando las muestras de <i>T.</i> <i>lennebackeriae</i> en estado fresco al tiempo cero, contra las muestras a tiempos diferentes (temperatura de almacenamiento 8 °C	20

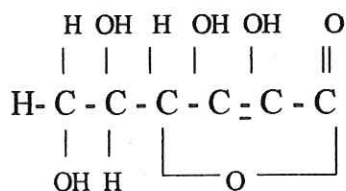
Tabla VI. Datos obtenidos de la estadística de t de student para datos independientes, comparando el valor medio del contenido de vitamina C en <i>Physalis</i> sp., contra las muestras de la especie <i>T. lennebackeriae</i> a tiempos diferentes (Temperatura de almacenamiento 8 °C).....	21
--	----

1.- INTRODUCCIÓN

Una vitamina es un compuesto orgánico natural presente en los alimentos en cantidades mínimas, esencial para un funcionamiento fisiológico normal y causa un síndrome de deficiencia específica si no se consume o se subutiliza (Combs, 1992).

Lo que se conoce como vitamina C o ácido l-ascórbico (Fig. 1) es el conjunto de todos los compuestos que exhiben total o parcial actividad biológica del ácido-l-ascórbico. Estos compuestos incluyen ésteres de ac. ascórbico (ascorbil palmitato), formas sintéticas (6-deoxi-ácido-l-ascórbico) y la forma oxidada principal (ác. dehidroascórbico) (Combs, 1992). El nombre químico de la vitamina C es: 2,3-didehidro-l-treo-hexano-1,4-lactona.

FORMULA ESTRUCTURAL:



FORMULA EMPÍRICA:



Fig. 1 Fórmula estructural y fórmula empírica de la. vitamina C. (Badui, 1986)

El ac. ascórbico es un compuesto cristalino, de color blanco inoloro y soluble en agua. Es muy estable en estado seco (Wilson and Gisvold, 1962) y en soluciones ácidas, pero muy sensible a la oxidación, la cual es acelerada por álcalis, sales de hierro y de cobre, calor, enzimas oxidativas (ac. ascórbico oxidasa), luz y aire (Aurand y Woods, 1971).

La mayor parte de los animales sintetizan el ac. ascórbico en cantidades suficientes para un buen funcionamiento y crecimiento normal, y otros como el hombre, primates, cochinillas de indias, algunos peces (truchas, salmón), pájaros y microorganismos no la producen debido a que carecen de la enzima l-gulonolactona oxidasa para la síntesis de la vitamina C a partir de la glucosa (Harris y Olliver, 1942; Wilson y Gisvold, 1962; Halver, 1989; Yannik *et al.*, 1991).

La mayor parte de las funciones bioquímicas del ac. ascórbico utilizan las propiedades de oxidación-reducción de la vitamina, por esta razón se agrupa junto con la vitamina E y β -caroteno, y las tres se conocen como vitaminas antioxidantes. En cuanto a las funciones metabólicas, el ácido ascórbico incrementa la absorción de hierro del tracto intestinal, participa en la movilización de reservas de hierro y transporte electrónico, promueve la cicatrización de heridas, y es esencial para la formación y mantenimiento de células de huesos, dientes, cartílago y paredes capilares sanguíneas (Badui, 1986); además actúa como cofactor en las reacciones de hidroxilación en la conversión de residuos de prolil y lisil de procolágeno durante la síntesis de colágeno y en la síntesis de norepinefrina. Otras reacciones de hidroxilación en las que participa el ac. ascórbico ocurren en la síntesis de carnitina y metabolismo de esteroides (Eitenmiller y Londen, 1995). Otros estudios han demostrado que la inhibición de la vitamina C, sobre la producción de nitrosamina puede actuar como protección contra la mutagénesis y carcinogénesis (Parviainen *et al.*, 1992; citado por Eitenmiller y Londen, 1995). Por otra parte, se ha observado que el ac. ascórbico tiene alguna influencia respiratoria, ya que en tejidos jóvenes y de crecimiento activo la cantidad de ac. ascórbico es mayor que en tejidos viejos y de menor actividad (Halver, 1989).

La vitamina C se encuentra en vegetales terrestres en un intervalo que va desde los 2 mg hasta los 520 mg por 100 gr. de peso fresco (Harris y Olliver, 1942). Las ensaladas elaboradas a base de vegetales como papa, tomate, lechuga, cebolla y zanahoria son incluidas en la dieta diaria de la mayor parte de la población mundial, estos vegetales aportan un contenido de vitamina C que va desde 6 mg. hasta 30 mg. por 100 mg. de peso fresco respectivamente (Harris y Olliver, 1942), además de otras características nutricionales propias.

La ingestión de ensaladas de este tipo contribuye a cubrir parte del requerimiento mínimo diario (RMD) de la vitamina C en el humano, el que varía dependiendo de la edad y el sexo (Tabla I).

TABLA I.- Requerimiento Mínimo Diario (RMD) de vitamina C

*VITAMINA C	CATEGORÍA	REFERENCIA
60-70	Hombre	a,b,c
55-70	Mujer	a,b,c
60-100	Maternidad	b
95- 105	Lactancia	a,c
30-35	Infantes	a,b
40	Niños	b
70-80	Adolescentes	b

*Valores dados en mg/día

a.- Aurand y Woods (1971)

b.- Douglas *et al.*, (1982)

c.- National Research Council (1989), Recommended Dietary Allowances.

En las algas marinas (Chlorophyta, Phaeophyta y Rhodophyta) también se ha reportado la presencia de ac. ascórbico con valores que varían entre 3 y 268 mg. por 100 g. de peso fresco en promedio (Norris, 1937; citado por Levring *et al.*, 1969; Vargas-

Cobeña *et al.*, 1990). Además de la vitamina C se han encontrado otros tipos de vitaminas tales como A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, niacina y ac. fólico, lo que hace que el contenido vitamínico sea una de las principales características nutricionales de los vegetales marinos (Arasaki y Seibin, 1983).

Desde hace siglos los países orientales han utilizado las algas marinas como uno de los alimentos principales en su dieta diaria, consumiéndola ya sea en ensaladas, guisos o dulces, así como también para curar desde una enfermedad de origen bacteriano hasta algún tipo de tumor. Además con base en lo observado de que la gente oriental alcanza edades avanzadas, se ha concluido que los vegetales marinos son uno de los principales factores benéficos que influyen sobre la longevidad (Arasaki y Seibin, 1983).

En la actualidad países europeos como Francia, Inglaterra y Noruega, han adoptado la tradición del consumo de alimentos preparados a base de algas, ya que esto representa un beneficio para la salud (Indergaard y Minsaas, 1991; Yannick *et al.*, 1991).

2.- ANTECEDENTES

Halver (1989) menciona que en 1753, un científico llamado Lind describió un trabajo experimental para curar el escorbuto con jugo de frutas. En 1928, Zilva (Douglas, 1982) fué el primer científico en describir los agentes antiescorbúticos en el jugo de limón, en el mismo año Szent-György aisló un compuesto a partir del extracto de ésta fruta al que llamó ac. hexurónico. Hacia 1932 Waugh y King identificaron al ac. hexurónico como un agente antiescorbútico; un año después, en 1933, Haworth estableció la configuración del ac. hexurónico y en el mismo año, Reichstein fué el primero en sintetizar el ac. hexurónico. Poco después, Haworth y Szent-György cambiaron el nombre de ac. hexurónico por el de ácido ascórbico (Kutsky, 1973; Douglas, 1982).

El interés por descubrir nuevas fuentes naturales de vitamina C ha llevado a encontrar en las algas marinas del grupo de Chlorophyta, Phaeophyta y Rhodophyta un amplio contenido de este compuesto (Norris, 1937; citado por Levring *et al.*, 1969; Vargas-Cobena, 1990). De manera mas específica se reporta un contenido de vitamina C en especies algales como *Ulva costata*, *Ulva papenfussi*, *Ulva* sp., *Enteromorpha* sp., *Laminaria* sp., *Undaria pinnatifida*, *Palmaria palmata*, *Porphyra tenera*, *Porphyra yezoensis*, *Porphyra columbina*, *Gigartina chamissoi*, *Grateloupia doryphora*, *Grateloupia denticulata*, *Gelidium howei* (Arasaki y Seibin, 1983; Vargas-Cobena *et al.*, 1990; Indergaard y Minsaas, 1991), especies que son utilizadas ampliamente como alimento humano, y en algunos casos como forraje (Indergaard y Minsaas, 1991). En especies de microalgas utilizadas como alimento en acuicultura, se ha encontrado que presentan un buen contenido de vitamina C, como es el caso de *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, *Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros gracilis*, *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Dunaliella tertiolecta*,

Nannochloropsis oculata y *Chroomonas salina* (Yannick *et al.*, 1991; Brown y Miller, 1992).

Por otra parte, se ha estudiado el efecto de ciertos factores que influyen sobre el contenido de vitamina C en alimentos que son utilizados en la industria alimenticia, cuando son sometidos a diferentes procesos químicos. Henshall (1974) observó la variación del contenido de vitamina C en diferentes especies de frutas y vegetales al someterlos a diferentes tipos de procesamiento, como el congelado, congelado y descongelado, picado y blanqueado. Harris y Olliver (1942) experimentaron con vegetales a los que se les adicionaba un ácido protector antes o después del picado al que eran sometidos, encontrando un bajo nivel de vitamina C en los vegetales donde el ácido era adicionado después del corte.

Los factores como temperatura, humedad, oxígeno y tiempo de almacenamiento, se han analizado para conocer su efecto sobre el contenido de la vitamina C en los alimentos que deben ser guardados por un tiempo prolongado. Combs (1992) experimentó con vegetales terrestres almacenados a temperaturas de 4 °C y 20 °C, observando un mayor contenido de vitamina C cuando se almacenaban a 4 °C; Jensen (1961) combinó la temperatura de almacenado con el contenido de humedad del alimento, en una especie algal (*Ascophyllum nodosum*) encontrando que el nivel de vitamina C disminuía conforme se aumentaba la temperatura y el contenido de humedad; Oohusa (1984) estudió además de temperatura y humedad un nuevo factor, el oxígeno, encontrando que el contenido de vitamina C en productos del "nori" (*Porphyra* sp.) permanecía estable por un mayor tiempo cuando se almacenaban en una atmósfera libre de oxígeno. Menciona además, que el gas nitrógeno, ha sido recientemente utilizado para preservar por un tiempo más prolongado los productos del "nori".

Lunde y Lie (1983) (citado por Jensen, 1961) estudiaron la variación estacional en el contenido de ac. ascórbico en algas marinas, encontrando que *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* y *Fucus serratus* producen el más alto contenido de vitamina C en otoño. De igual manera, Ericson (1953) reporta que se ha observado que entre especies algales marinas del mismo género, hay variaciones significativas del contenido de vitamina C de una a otra época del año.

El presente trabajo enfocado al estudio de la vitamina C, tiene la finalidad de iniciar la investigación relacionada con el aspecto nutritivo de las especies algales de nuestra región. Ya que contamos con grandes extensiones de litoral, en donde la captura de fauna marina se ha desarrollado grandemente (Molina-Martínez, 1988), mientras que la comercialización de la flora marina, sólo se ha venido desarrollando para la industria de agares, alginatos y carragenanos (Sec. de Pesca, 1988) haciéndose a un lado la parte alimenticia y farmacéutica en donde las macroalgas tienen un gran potencial.

En este estudio se realizó la determinación del contenido de vitamina C en 3 especies algales y un vegetal terrestre. Con estos resultados se llevó a cabo una comparación entre el contenido de vitamina C de las especies algales con el del vegetal, para conocer si dichas algas son una buena alternativa como fuente natural de vitamina C.

Así mismo se determinó la variación del contenido de vitamina C en una especie algal bajo ciertas condiciones de almacenamiento, guardando el material en estado fresco (80-90% de humedad) y a una temperatura de 8 °C.

3.- OBJETIVOS

- * Evaluar el contenido de Vitamina C en *Ulva costata*, *Taonia lennebackeriae*, *Porphyra perforata* y *Physalis* sp. (Tomate).
- * Estudiar la degradación de la vitamina C en *Taonia lennebackeriae* en un lapso de tiempo determinado .

4.- METODOLOGÍA

4.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio está localizada en las costas del Ejido Eréndira en la península de Baja California, México, a 80 km. al sur de la ciudad de Ensenada, entre los 31° y 17' de latitud norte y 116° y 25' de longitud oeste (Fig. 2). Es una costa expuesta a la acción del oleaje, con cantiles de roca basáltica y en algunos meses del año la playa presenta arena. La temperatura y salinidad promedio es de 14.8 °C y 33.6 ‰ respectivamente (Bravo-Santiago y Rojas-Guiot, 1982). Se registran surgencias intensas en los meses de primavera y verano, lo que provoca grandes variaciones en la temperatura y salinidad (Fernández-Mejía y Aldeco-Ramírez, 1981).

El sitio de colecta (Punta San Isidro) es una costa rocosa, constituida en la parte superior por grandes cantos rodados y roca sedimentaria, continuando hacia las partes más bajas con roca volcánica sólida, predominando una pendiente suave y en algunas partes una pendiente pronunciada. Se presentan grandes canales y pozas de mareas y partes protegidas en donde se observa depositación de arena (Urbieta-González, 1982).

4.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN Y COLECTA

Previo a la colecta, se establecieron los siguientes criterios para la selección de las especies.

- ⇒ Tejido suave.
- ⇒ Antecedentes de uso como alimento humano.
- ⇒ Hábitat en zona intermareal o submareal (Fig. 3).
- ⇒ Abundancia.

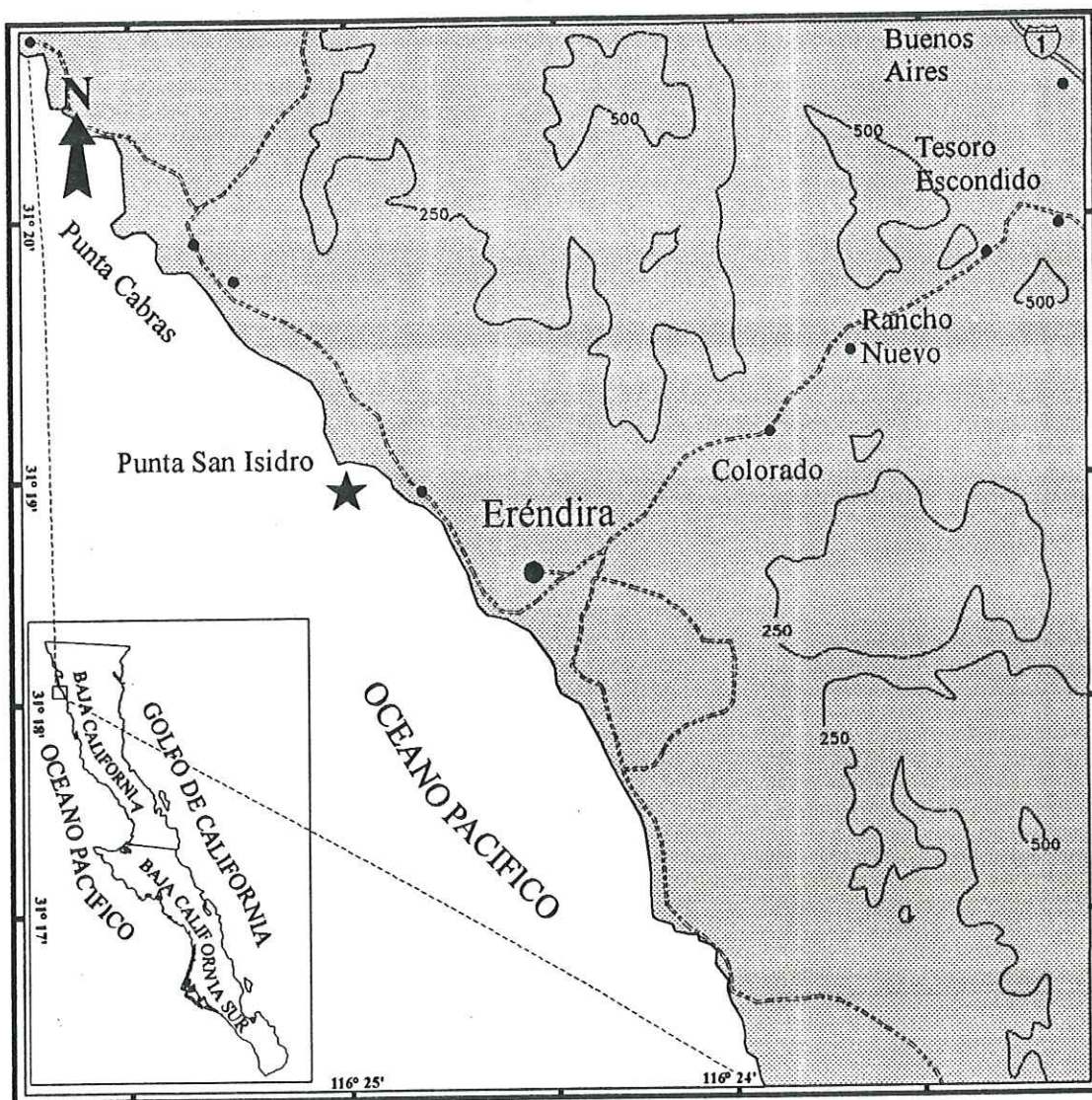


Figura 2. Localización del área de estudio y (★) sitio de colecta (Tomado de INEGI, H11B32, 1989)

Con base en los criterios de selección, las especies colectadas fueron: *Ulva costata* perteneciente a la clase Chlorophyceae; *Taonia lennebackeriae* de la clase Phaeophyceae y *Porphyra perforata* de la clase Rhodophyceae (Fig. 3).

Cabe hacer notar que en el caso de *Taonia lennebackeriae*, no se encontró en bibliografía antecedentes como alimento de consumo humano, sin embargo se tomó la decisión de su colecta ya que cumple ampliamente con los demás requisitos.

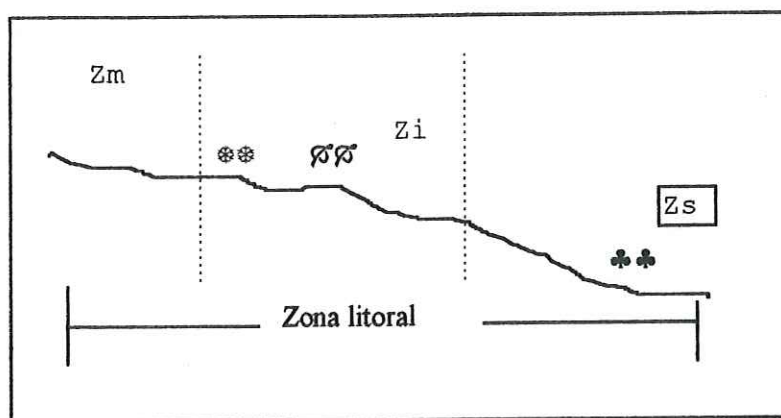


Fig. 3.- Esquema que muestra la división de la zona litoral, con respecto a los niveles de marea. Zm= Zona Marítima; Zi= Zona Intermareal; Zs=Zona Submareal. La zona intermareal se encuentra entre el límite máximo y el límite mínimo de la marea (Tomado de Dawes, 1986).
* *U. costata*, * *T. lennebackeriae*, P *P. perforata*.

La colecta se realizó el día 7 de Octubre de 1996, tomando los parámetros fisicoquímicos de temperatura, salinidad, oxígeno y pH (Anexo I). Posteriormente se inició la recolección del material a estudiar.

Durante la colecta de los organismos se tomaron los siguientes cuidados:

- Seleccionar especímenes libres de epífitas.
- No lastimar el tejido.
- Cortar desde la estructura de fijación.
- Eliminar la mayor cantidad de arena.
- No exponer al aire el material recolectado.

4.3 DESCRIPCIÓN DEL RECURSO NATURAL

♦ *Ulva costata* Hollenberg.

Su talo mide 32 cm de alto, márgenes fuertemente ondulados ligeramente en espiral y doblados, frecuentemente sobre rocas o unidas a algas coralinas, localizadas en la parte baja de la zona intermareal, su color va de verde claro a verde oscuro (Fig. 4a). Su distribución se extiende desde Santa Barbara, Ca. hasta Baja California y el Golfo de California (Abbott y Hollenberg, 1976; Castillo-Alvarez, 1990). Localmente se le encuentra en Raul's, Medio Camino, El Sauzal, Villa Las Rosas, Rada Portuaria de Ensenada, mientras que en Baja California Sur se encuentra en Cabo Colnett (Castillo-Alvarez, 1990). El género *Ulva* es utilizado ampliamente en América del Sur y Oceanía principalmente como alimento humano ya sea fresca o seca en polvo, o bien para forraje (Dawes, 1986).

♦ *Taonia lennebackeriae* J. Agardh

Esta especie tiene un talo recto de 10 - 30 cm de alto, su color va del verde olivo al café oscuro (Fig. 4b). Se encuentra frecuentemente en rocas y ocasionalmente enterradas en la arena, su hábitat va del infralitoral al sublitoral. Se distribuye desde Isla

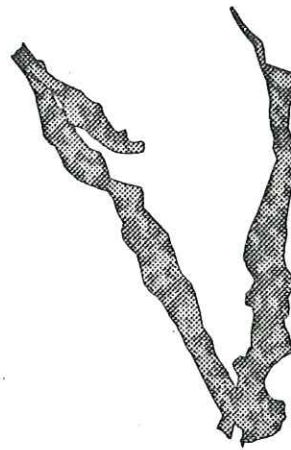
Canal, Ca. hasta Bahía Asunción, B.C. (Abbott y Hollenberg, 1976). Localmente se encuentra en Punta Descanso, Medio Camino, Sn. Miguel, El Sauzal, Punta Morro, Hotel Carioca, Rada Portuaria, Punta Banda e Isla San Benito en el lado del Pacífico de Baja California; mientras que en Baja California Sur se encuentra en Punta Lechuza, Punta Asunción, Pto. San Bartolomé y Bahía Asunción (Ramos-Jardón, 1989). Actualmente se le encuentra en Ejido Eréndira, donde anteriormente no se le veía (Aguilar, 1996; Com. pes.).

♦ *Porphyra perforata* J. Agardh.

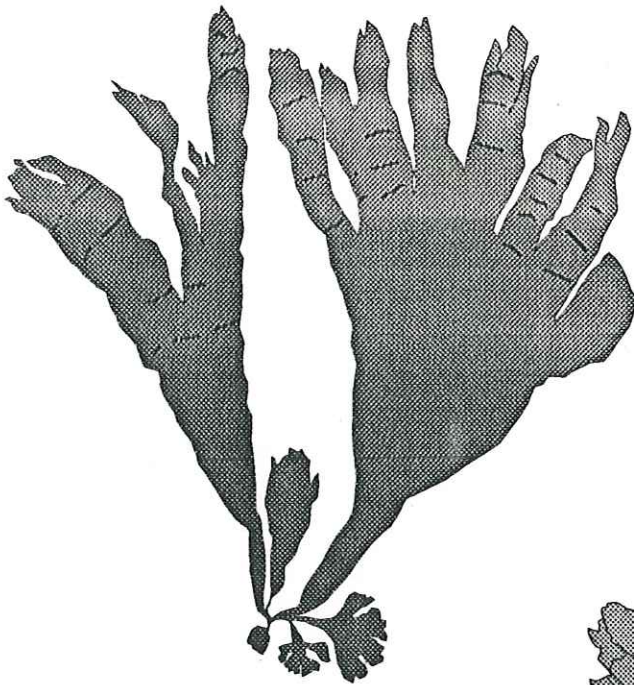
Su talo es laminar distromático de más o menos 15 cm. de alto, de color púrpura pardo, con un pequeño estipe que surge de la estructura de fijación, sus márgenes son orlados (Fig. 4c) (Abbott y Hollenberg, 1976). Habita sobre rocas de la zona intermareal superior y el nivel medio de marea (Dawes, 1986). Se extiende desde Alaska hasta Baja California (Abbott y Hollenberg, 1976); localmente se localiza en Faro San Miguel y Cabo Punta Banda (Aguilar, 1980). El género *Porphyra* es económicamente importante, ya que se consume en grandes cantidades, directamente como alimento en Japón (nori), China (zicai) y Gran Bretaña (purple laver) de forma fresca, seca, tostada o enlatada (Dawes, 1986; Lobban, 1994).

♦ *Physalis* sp.

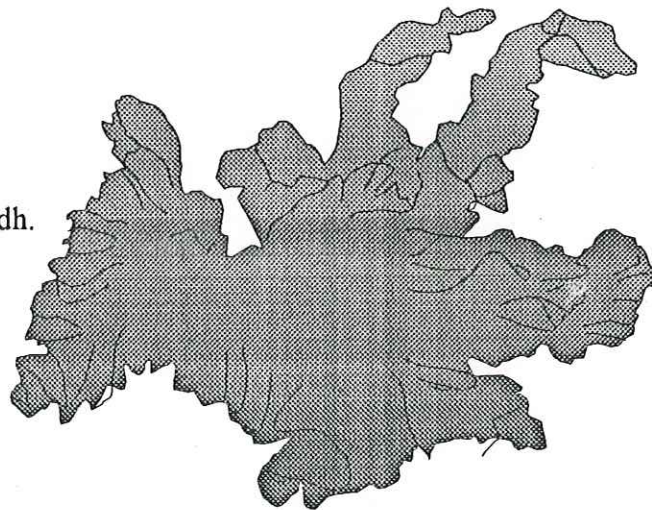
El vegetal terrestre que se utilizó fué el tomate rojo, conocido en la región de Ensenada, como "tomate bola", empleado frecuentemente en la elaboración de ensaladas frescas y es ingrediente esencial en la mayor parte de los guisos mexicanos.



4a. *Ulva costata* Hollenberg



4b. *Taonia lemnebackeriae* J. Agardh.



4c. *Porphyra perforata* J. Agardh.

Fig. 4. Especies utilizadas en la determinación de vitamina C.

4.4 TRATAMIENTO PREVIO DEL MATERIAL ALGAL

De cada especie colectada se colocó una parte del material dentro de un frasco de vidrio que contenía una solución preparada con ac. tricloroacético al 20% y ac. metafosfórico al 20% (Mezcla Ácido Fuerte 20% = MAF). El traslado de la bolsa de colecta al recipiente fué en un movimiento rápido, y cuidando de que la cantidad de agua de mar que se pudiera ir al frasco fuera mínima, ya que esto disminuiría la concentración de la MAF 20%. Los recipientes se guardaron en un sitio fresco y oscuro.

4.5 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE VITAMINA C

4.5.1 Preparación del Extracto.

- a) Se preparó 35 ml. de MAF 20% (Anexo II)
- b) Se pesó de 2 a 20 gr. de muestra.
- c) Se maceró en un mortero de porcelana adicionando 1/3 de MAF 20% (no menos de esta cantidad), tratando de cubrir todo el tejido con esta solución.
- d) Se repitió el paso c dos veces.
- e) Listo el macerado, se centrifugó a 3500 rpm..
- f) El sobrenadante se decantó y se filtró en papel Whatman No.1, aforando a 100 ml. con agua destilada, hervida, filtrada, y fría.

4.5.2 Medición Final

- a) Se colocó 1.0 ml. del extracto preparado en una pipeta graduada de 1 ml.
- b) Se colocó en un tubo de centrifuga de 10 ml. graduado y de vidrio, 0.05 ml. de la solución indicadora preparada con 2,6- Diclorofenolindofenol (2,6-DCPIP) (Anexo II).
- c) Se tituló el extracto rápidamente dentro del tubo de centrifuga, hasta que la solución indicadora viró de azul a rojo.
- d) La determinación del punto final fué facilitada por comparación con tubos de control conteniendo el extracto antes y después de la decoloración del indicador.
- e) La titulación se realizó en menos de 1 min.
- f) Se tomó como precaución que el tiempo ocupado para el experimento no excediera de 10-15 min., desde que se toma el especimen hasta que se termina la titulación.

4.5.3 Cálculo del contenido de Vitamina C

Tomando en cuenta que el volumen de 0.05 ml. de 2,6-DCPIP equivale a 0.02 mg de ac. ascórbico, la vitamina C se estimó de la siguiente manera:

$$\text{Vitamina C} = \frac{c}{P * VE} * 100$$

donde:

c = Factor de conversión (0.05 ml. 2,6-DCPIP = 0.02 mg ac. ascórbico)

P = Peso de la muestra (gramos).

VE = Volumen del extracto utilizado en la titulación (mililitros).

Vitamina C = mg de ac. ascórbico por 100 gr. de peso fresco .

4.6 ESTUDIO DE LA DEGRADACIÓN DE VITAMINA C

De cada especie colectada se colocó una parte del material dentro de pequeñas bolsas de plástico, cerrándolas y colocándolas en un sitio fresco y oscuro durante el transporte. Ya en el laboratorio se mantuvieron a una temperatura de 8 °C.

Para este estudio se seleccionó a *T. lennebackeriae* por presentar el mayor contenido de vitamina C.

A partir del día de la colecta, se contó el tiempo para realizar mediciones, en tiempos diferentes a cero. Se denominó T_1 a la medición que se realizó el día 13 Oct., es decir, 6 días después de la colecta. Siguiendo esta nomenclatura se le denominó T_2 y T_3 a las mediciones realizadas al séptimo y décimo día de la colecta respectivamente. Como tiempo cero (T) se utilizó la determinación realizada sobre las muestras fijadas con MAF 20% el día de la colecta.

Se siguió el mismo procedimiento descrito en el apartado 4.5.1; 4.5.2; y 4.5.3, para la elaboración del extracto y determinación del contenido de vitamina en el alga.

4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se aplicó la prueba t student ($\alpha = 0.05$) para muestras independientes, con el fin de probar la variabilidad entre las medias del contenido de vitamina C de las diferentes especies algales con respecto al contenido medio de vitamina C en el tomate (*Physalis* sp.).

La prueba t student ($\alpha = 0.05$) para muestras dependientes, se aplicó a los valores medios de vitamina C obtenidos en la especie de mayor contenido de vitamina C, a diferentes tiempos de almacenado.

5.- RESULTADOS

La Tabla II muestra los valores de vitamina C obtenidos para las especies estudiadas, siendo *Taonia lenenbackeriae* la que presentó el mayor contenido (17.9779 mg/100 g. de peso fresco), *Ulva costata* presentó el menor contenido (4.023 mg/100 g. de peso fresco) y *Porphyra perforata* resultó con un contenido medio (7.7353 mg/100 g. de peso fresco).

TABLA II .- Valores de vitamina C determinados en las especies analizadas.

ESPECIE	^a VITAMINA C
<i>Ulva costata</i>	7.7
<i>Taonia lennebackeriae</i>	4.0
<i>Porphyra perforata</i>	17.9
<i>Physalis</i> sp.	13.1

^a Valor promedio en mg/100 gr. de tejido fresco

El contenido de Vitamina C para dichas especies se compararon estadísticamente con la prueba t student para datos independientes, contra el valor medio de vitamina C de *Physalis* sp. (Tomate) y se encontró que el valor medio de vitamina C de *P. perforata* y *U. costata* resultó ser significativamente menor ($P < 0.05$) que *Physalis* sp. mientras que el valor medio de vitamina C de *T. lennebackeriae* resultó ser significativamente mayor que *Physalis* sp. (Tabla III).

TABLA III.- Datos obtenidos de la estadística de t student para datos independientes, comparando el valor medio del contenido de vitamina C en *Physalis* sp., contra los valores de *P. perforata*, *U. costata* y *T. lennebackeriae*.

ESPECIE	^a VITAMINA C	gl	tc	tt $\alpha(0.05)$
<i>Ulva costata</i>	4.02	6	13.34	2.44
<i>Taonia lennebackeriae</i>	17.92	4	12.44	2.77
<i>Porphyra perforata</i>	7.74	6	10.59	2.44
<i>Physalis</i> sp.	13.12	6		

^a Valores dados en mg por 100 gr. de peso fresco.

gl.= grados de libertad, tc = t calculada, tt = t teórica.

T. lennebackeriae, que resultó con el mayor contenido de vitamina C, se utilizó para observar la degradación de la vitamina C durante un período de 10 días a partir del día de la colecta realizándose 3 determinaciones. La Tabla IV muestra el contenido medio de la vitamina en los diferentes tiempos, siendo el la muestra T₁, la que se analizó el día 6; T₂ el día 7 y T₃ el día 10, tomando como tiempo cero (T) la muestra que fue fijada en MAF (20%).

Tabla IV.- Contenido de vitamina C a diferentes tiempos en *T. lennebackeriae* en estado fresco, almacenada a una temperatura de 8°C.

ESPECIE	^a TIEMPO	^b VITAMINA C
<i>T. lennebackeriae</i> (T)	0	17.92
<i>T. lennebackeriae</i> (T ₁)	6	14.11
<i>T. lennebackeriae</i> (T ₂)	7	13.82
<i>T. lennebackeriae</i> (T ₃)	10	5.01

^a Días después de la colecta

^b Valor promedio en mg/100 gr. de tejido fresco

En el análisis estadístico de t student para datos dependientes, se comparó el valor medio de vitamina C de las muestras analizadas para T₁, T₂ y T₃ contra T, del alga café *T. lennebackeriae*, encontrando para los tres tiempos una diferencia significativamente menor con respecto al valor encontrado en la muestra a tiempo cero (Tabla V).

TABLA V.- Datos obtenidos de la estadística de t student para datos dependientes, comparando las muestras de la especie *T. lennebackeriae* en estado fresco al tiempo cero, contra las muestras a tiempos diferentes. (temperatura de almacenamiento = 8 °C)

ESPECIE	^a Vitamina C	gl	tc	tt _(α,05)
<i>T. lennebackeriae</i> (T)	17.92	2		
<i>T. lennebackeriae</i> (T ₁)	14.11	2	8.37	2.92
<i>T. lennebackeriae</i> (T ₂)	13.82	2	20.5	2.92
<i>T. lennebackeriae</i> (T ₃)	5.0	2	97.77	2.92

^a Valores dados en mg por 100 gr. de peso fresco; gl = grados de libertad;

tc = t calculada; tt = t teórica

T = muestra fijada.

T₁ = 6 días después de la colecta.

T₂ = 7 días después de la colecta.

T₃ = 10 días después de la colecta

Cada contenido de vitamina C encontrada en el estudio de degradación, se comparó con el contenido de vitamina C en *Physalis* sp. en estado fresco. Dichos valores se sometieron a un análisis estadístico de t student para datos independientes, encontrando que la muestra T₁ y T₂ resultaron no ser significativamente diferentes al valor medio de vitamina C del tomate, mientras que para la muestra T₃ sí se encontró una diferencia significativamente menor (Tabla VI).

TABLA VI.- Datos obtenidos de la estadística de t student para datos independientes, comparando el valor medio del contenido de vitamina C en *Physalis* sp., contra los valores de las muestras de la especie de *T. lennebackeriae* a tiempos diferentes (temperatura de almacenamiento = 8 °C).

ESPECIE	^a VITAMINA C	gl	tc	tt _{α(0.05)}
<i>T. lennebackeriae</i> (T ₁)	14..11	4	1.99	2.77
<i>T. lennebackeriae</i> (T ₂)	13.82	4	1.89	2.77
<i>T. lennebackeriae</i> (T ₃)	5.0	4	22.55	2.77
<i>Physalis</i> sp.	13.12	6		

^a Valores dados en mg por 100 gr. de peso fresco; gl = grados de libertad;

tc = t calculada; tt = t teorica

T = muestra fijada.

T₁ = 6 días después de la colecta.

T₂ = 7 días después de la colecta.

T₃ = 10 días después de la colecta

La figura 5 muestra gráficamente los valores medios del contenido de vitamina C en las especies algales y en el vegetal terrestre. En la figura 6 se muestra la variación en el contenido medio de vitamina C de las muestras analizadas a diferentes intervalos de tiempo de la especie *T. lennebackeriae*. Se observó una disminución del 21 %, 22.8% y 72% respecto al valor original (17.9179 mg) para T₁, T₂ y T₃ respectivamente.

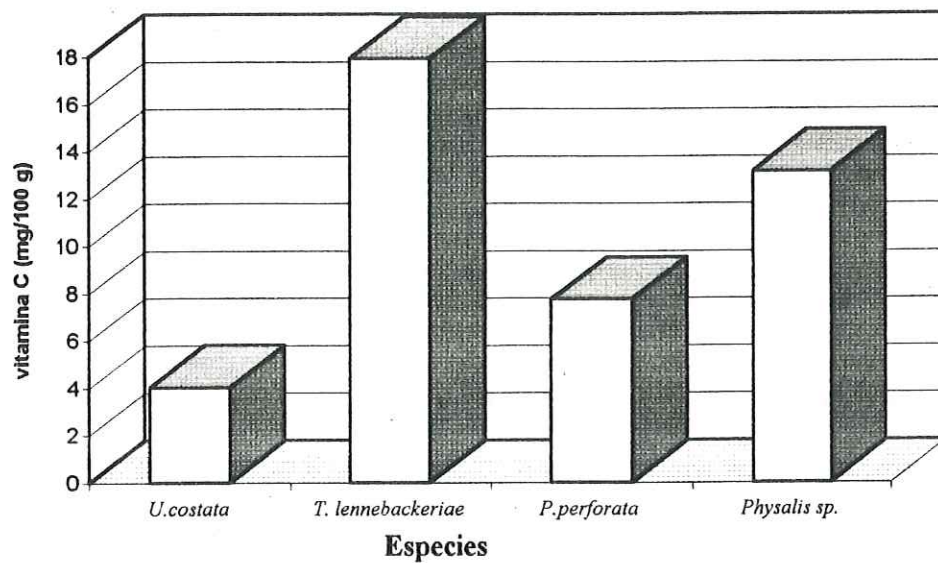


Fig. 5 Contenido de vitamina C en las especies analizadas. (peso fresco)

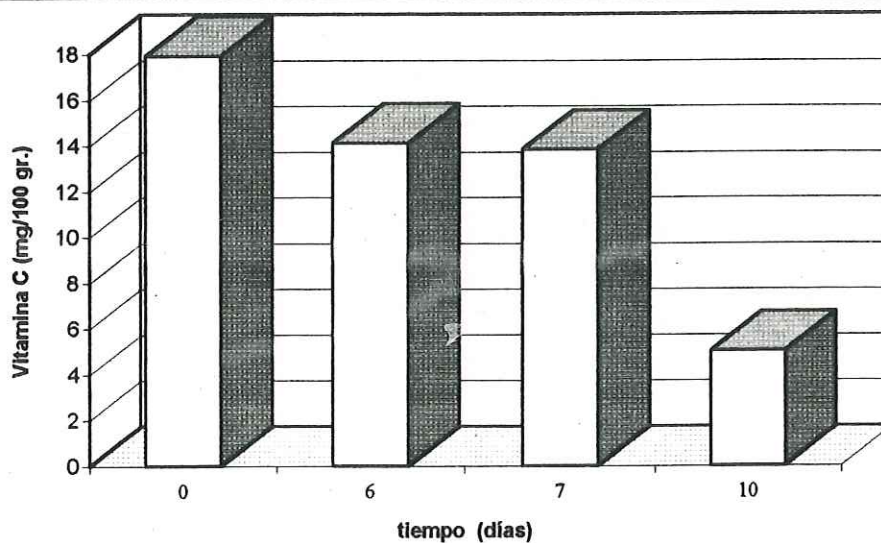


Fig. 6 Valores obtenidos en el estudio de degradación de vitamina C en *T. lennebackeriae* a diferentes tiempos. t=0 muestra fijada en MAF 20%, t=6, t=7 y t=10 muestras refrigeradas.

6.- DISCUSIÓN

La determinación de la vitamina C *in vivo* presenta dificultades que se relacionan con su facilidad de transformación a su forma oxidada (ac. dehidroascórbico) principalmente, el cual es menos activo biológicamente que la forma reducida (Harris y Olliver, 1942; Halver, 1989; Combs, 1992). Jensen (1964) menciona que las interferencias por compuestos reductores, como son compuestos fenólicos, en el caso de las algas cafés, reducen a los reactivos utilizados para su medición, y por lo tanto, da altos valores de vitamina C, por lo que estos compuestos fenólicos deben ser eliminados del extracto previo a la determinación de la vitamina C. En el presente trabajo no se le realizó ningún tratamiento al extracto, pero sí se tomaron en cuenta ciertos aspectos importantes propuestos por Harris y Olliver (1942), durante la colecta de los organismos y la extracción de la vitamina C, para evitar la oxidación de ésta. Estos autores sugirieron minimizar la cantidad de muestra a analizar, utilizar un ácido protector (mezcla de ac. metafosfórico y ac. tricloroacético) y evitar la exposición al aire tanto de la muestra como del extracto.

El tomar pequeñas cantidades de la muestra (2-20 g), elimina la interferencia de los compuestos reductores y su ventaja sobre la extracción de éstos, es que se evita la exposición excesiva al aire del extracto, lo cual es un factor determinante en la rápida oxidación de la vitamina C (Combs, 1992). La utilización del ácido metafosfórico retarda de manera considerable la oxidación catalizada por las enzimas o por el cobre (Harris y Olliver, 1942), y junto con el ácido tricloroacético produce un pH ácido, en donde la vitamina C es estable debido a la preservación del anillo lactona (Halver, 1989), mientras que en valores de pH neutro o pH alcalino, la hidrólisis ocurre rápidamente perdiéndose la actividad de la vitamina C (Combs, 1992). Una de las desventajas que trae consigo este método volumétrico es que llega a ser subjetivo en el momento de determinar el punto de vire, y que el tiempo empleado desde que se toma el espécimen hasta que se termina de titular debe ser de 10 min. (tiempo

óptimo) y no pasar de 20 min., ya que esto implica una oxidación de la vitamina C. Sin embargo este aspecto puede ser rebasado con práctica en el desarrollo experimental.

La especie café *T. lennebackeriae* resultó con el mayor contenido de vitamina C en comparación con las otras dos especies analizadas *P. perforata* y *U. costata*, con un valor de 17.92 mg/100 g. de peso fresco (Tabla II), resultando ser significativamente mayor que *Physalis* sp. en un 56.8%. Respecto al contenido de vitamina C encontrado en otras especies de macroalgas, *T. lennebackeriae*, resulta ser mayor de un 77% a un 40% en comparación con los valores reportados de vitamina C (por 100 g. de peso fresco) de las especies de *Enteromorpha* sp. (7.4 mg), *Porphyra perforata* (7.7 mg), *Laminaria* sp. (8.13 mg), *Ulva* sp. (10 mg), *Undaria pinnatifida* (11.08 mg) y *Porphyra tenera* (14.8 mg) respectivamente.

Por otra parte, su contenido es menor en un 62% a 77% en comparación a las especies de *Fucus serratus* (48 mg), *Sargassum muticum* (56 mg), *Ascophyllum nodosum* (62 mg) y *Fucus vesiculosus* (77 mg) (Levring *et al.*, 1969; Arasaki y Seibin, 1983; Yannick *et al.*, 1991).

Si se compara el valor encontrado en esta alga parda, con los valores reportados para aquellos vegetales terrestres utilizados comúnmente en ensaladas (Anexo III), se observa que se sitúa en el punto medio del intervalo. Estos vegetales terrestres suelen ser papa, tomate, lechuga, cebolla y zanahoria, los cuales tienen un contenido de vitamina C que va desde los 6 mg hasta 30 mg por 100 g de peso fresco respectivamente (Harris y Olliver, 1942).

Aunque el contenido en *T. lennebackeriae* resulta ser menor en un 64% con respecto a los limones, guayabas y naranjas, especies que son reconocidas por su alto contenido de vitamina C, cabe señalar que las especies algales son consumidas no sólo por su valor vitamínico, sino por su elevado contenido nutricional aportado por los aminoácidos, minerales y otros tipos de vitaminas. Arasaki y Seibin (1983) señalan que en términos de composición de aminoácidos, las proteínas de las algas marinas son similares a las de los huevos y

legumbres; y en cuanto a contenido de minerales se refiere, los vegetales marinos poseen un mayor porcentaje que cualquier otro tipo de alimento, principalmente debido a la acción de sus tejidos superficiales, que absorben libre y selectivamente las sustancias inorgánicas del agua de mar (Ca, Mg, Na, K, P, I, Fe, Zn, metales traza), encontrando desde un 7% a un 38% de minerales en peso fresco.

T. lennebackeriae, que resultó ser la especie con el mayor contenido de vitamina C, se le sometió a un estudio para conocer el comportamiento de la vitamina C a través del tiempo. Dado el enfoque de uso alimenticio y en estado fresco de las algas en este trabajo, las muestras utilizadas se mantuvieron en refrigeración a 8 °C, y sin alterar su contenido de humedad. Para *T. lennebackeriae*, se encontró que al séptimo día después de su colecta, el alga sólo había disminuido su contenido de vitamina C en un 23% con respecto a su valor original de vitamina C y a los 10 días de almacenamiento con la misma temperatura, perdió el 72% de la misma (Tabla IV). Si se toma como base lo reportado por Arasaki y Seibin (1983), quienes encontraron que el porcentaje de humedad promedio para cualquier especie algal en estado fresco, es del 85% los hallazgos de este trabajo concuerdan con lo reportado por Jensen (1964), quien en una muestra de *A. nodosum* almacenada en agua de mar durante una semana, encontró una disminución del 20% con respecto al valor inicial.

Aunque se ha reportado que en estado seco las algas que son almacenadas mantienen constante su contenido de vitamina C (Jensen, 1964; Oohusa, 1983) durante tiempos más prolongados (meses), este procesamiento no es recomendable, dado que el ac. ascórbico es lábil al calor (Kutsky, 1973) y generalmente el secado recurre a las altas temperaturas para eliminar en un menor tiempo la mayor cantidad de humedad posible, o así mismo el secado al sol, que implica altas temperaturas y una exposición al aire por tiempos prolongados. Cabe señalar que, un lapso de conservación prolongado no implica un alto contenido de vitamina C. El bloqueo de la oxidación de la vitamina C en estado seco y su notable estabilidad, se explica

en función de la necesidad de la presencia de por lo menos un átomo de oxígeno (Badui, 1986) para llevar a cabo la oxidación.

Aún cuando en éste trabajo no se estudió el efecto de la temperatura de almacenamiento (debido a que se mantuvo constante, 8 °C) en la variación del contenido de vitamina C en las algas, es importante mencionarlo, ya que un valor alto de temperatura influye en el organismo vía enzimática, inhibiendo a las reductasas y acelerando a las enzimas oxidativas (peroxidasas, ácido ascórbico oxidasa, citocromo oxidasa y fenolasa) a actuar sobre el ac. ascórbico (Henshall, 1974). Lo anterior se muestra en lo reportado por Jensen (1964), quien sometió una muestra de harina de *A. nodosum* y encontró que a una temperatura controlada de 25 °C, provocó en la muestra una disminución del 50% con respecto al valor original en sólo 2 meses, en cambio a una temperatura de 4 °C el alga perdió el 50% de vitamina C, pero hasta los 9 meses.

Los factores ambientales como temperatura, luz, pH, salinidad y oxígeno, son limitantes en el crecimiento y abundancia de las algas (Dawes, 1986), debido a que influyen directamente sobre la fotosíntesis y rutas metabólicas de los nutrientes en el organismo (Lobban, 1994). Los valores encontrados en este estudio mostraron el impacto de dichos factores. Las diferencias entre los niveles de ac. ascórbico encontrados en *T. lennebackeriae*, *P. perforata* y *U. costata*, pueden deberse a los tiempos de exposición al aire a los que son sometidos debido a las mareas; *U. costata* se encontró más arriba que *P. perforata*, las cuales se localizaron en la parte media de la zona intermareal, mientras que *T. lennebackeriae* se localizó en la submareal (Fig.3). Es decir en la especie que se encuentra expuesta a la atmósfera un mayor tiempo (*P. perforata* y *U. costata*), el contenido de vitamina C resultó ser menor, mientras que para la especie que se encuentra permanentemente cubierta por agua (*T. lennebackeriae*), y por lo tanto su tejido no está en contacto con el oxígeno del aire, resultó ser mayor.

El alga desempeña un buen papel en la satisfacción de los requerimientos mínimos diarios (RMD) de vitamina C del humano, si tomamos en cuenta que un adolescente, que es el que requiere de mayor cantidad de vitamina C diariamente (Tabla I), para satisfacer sus requerimientos de vitamina C, necesitaría consumir aproximadamente 450 gr. de *T. lennebackeriae* en estado fresco. Si consumiera solamente *U. costata* tendría que consumir casi 2 kg., lo cual significa una cantidad enorme de un solo alimento. Sin embargo, hay que tomar en cuenta un aspecto muy importante que no hay que perder de vista, que no se propone que el hombre se alimente exclusivamente de algas, si no que se recomienda como un complemento en la alimentación, ya que posee importantes propiedades alimenticias que traen consigo un efecto benéfico en la salud y ayuda a retardar el envejecimiento de la piel (Arasaki y Seibin, 1983; Yannick *et al.* 1991). Si a las algas sólo le otorgamos la responsabilidad de cubrir un tercio del RMD de un adolescente observamos que sólo necesitaría consumir 150 gr. de *T. lennebackeriae*; es decir al sustituir la lechuga o bien algún otro vegetal terrestre utilizada en la ensalada por *T. lennebackeriae*, cubriría una parte del RMD y además consumiría aminoácidos y minerales, que en una ensalada verde no encuentra.

El buen funcionamiento fisiológico del humano se encuentra en función de la cantidad y variedad de nutrientes (proteínas, carbohidratos, lípidos, minerales y vitaminas) que requiere; si una persona en su alimentación no los satisface completamente, llega a enfermar e incluso hasta morir (Combs, 1992). En la actualidad el uso indiscriminado de alimentos procesados, ocasiona que el hombre no ingiera equilibradamente dichos nutrientes, provocando un sin número de enfermedades, las cuales se pueden prevenir alimentándose con productos naturales.

Los peces de aleta y crustáceos al igual que el humano, son susceptibles a enfermarse si no cubren el RMD de vitamina C; además la calidad y cantidad de alimento que se le suministre al organismo influye directamente en su salud. Lo anterior se observa cuando se emplea un alimento que es almacenado por tiempos prolongados, situación que

se da comúnmente en cultivos a gran escala. Al no ingerir de manera adecuada la vitamina C los peces sufren alteraciones en su funcionamiento fisiológico (Halver, 1989). Los signos de deficiencia por falta de ésta vitamina se encuentran relacionados con la síntesis de colágeno, el cual es un componente de hueso y cartílago, donde éste último soporta agallas, vasos sanguíneos, escamas y aletas, provocando que el organismo crezca de manera lenta y deforme.

Por su localización en la región y su distribución de la zona intermareal a la submareal, *T. lennebackeriae* es recomendable para su cultivo con el fin de explotarla racionalmente. Debido a su contenido de vitamina C se propone como alimento para peces de aleta y crustáceos en forma de harina que podría ser utilizada como aditivo en pellets. Esta harina se obtendría mediante liofilización, para evitar la destrucción de la vitamina C, ya que ésta técnica aplica bajas temperaturas en comparación con el secado al horno o al sol, donde las temperaturas empleadas son altas. Como uso alimenticio para el humano, se propone utilizarla en forma fresca y en ensaladas y combinada con vegetales terrestres.

7.- CONCLUSIONES

- El contenido medio de vitamina C en *Ulva costata* (4.023 mg/100 gr. de peso fresco) es significativamente menor que el contenido de vitamina C presente en *Physalis* sp. (Tomate) (13.1263 mg/100 gr. de peso fresco).
- El contenido medio de vitamina C en *Taonia lennebackeriae* (17.9179 mg/100 gr. de peso fresco) es significativamente mayor que el contenido de vitamina C presente en *Physalis* sp. (Tomate) (13.1263 mg/100 gr. de peso fresco).
- El contenido medio de vitamina C en *Porphyra perforata* (7.7353 mg/100 gr. de peso fresco) es significativamente menor que el contenido de vitamina C presente en *Physalis* sp. (Tomate) (13.1263 mg/100 gr. de peso fresco).
- El alga *Taonia lennebackeriae* después de 6 días de almacenaje en estado fresco (85% de humedad) a 8 °C, disminuyó su contenido de vitamina C en un 21% con respecto al valor original (17.92 mg/100 gr. de peso fresco).
- El alga *Taonia lennebackeriae* después de 7 días de almacenaje en estado fresco (85% de humedad) a 8 °C, disminuyó su contenido de vitamina C en un 22.8% con respecto al valor original (17.92 mg/100 gr. de peso fresco).
- El alga *Taonia lennebackeriae* después de 10 días de almacenaje en estado fresco (85% de humedad) a 8 °C, disminuyó su contenido de vitamina C en un 72% con respecto al valor original. (17.92 mg/100 gr. de peso fresco).

- El contenido medio de vitamina C en *Taonia lennebackeriae* en 6 días de almacenamiento (14.11 mg/100 gr. de peso fresco) no presenta diferencia significativa con respecto al contenido medio de vitamina C presente en *Physalis* sp. (Tomate) (13.1263 mg/100 gr. de peso fresco).
 - El contenido medio de vitamina C en *Taonia lennebackeriae* en 7 días de almacenamiento (13.82 mg/100 gr. de peso fresco) no presenta diferencia significativa con respecto al contenido medio de vitamina C presente en *Physalis* sp. (Tomate) (13.1263 mg/100 gr. de peso fresco).
 - El contenido medio de vitamina C en *Taonia lennebackeriae* en 10 días de almacenamiento (5.0 mg/100 gr. de peso fresco) no presenta diferencia significativa con respecto al contenido medio de vitamina C presente en *Physalis* sp. (Tomate) (13.1263 mg/100 gr. de peso fresco).
-

8.- LITERATURA CITADA

- Abbott, I. A. and G.J. Hollenberg (1976). **Marine Algae of California**. Stanford U. Press; California, U.S.A., pp. 827.
- Aguilar-Rosas, L.E. (1980). **Algas bentónicas de la Bahía Todos Santos, Baja California, México**. Tesis de Licenciatura. Fac. de Ciencias Marinas, UABC. Ensenada, México.
- Aguilar-Rosas, R. (1996). Comunicación personal. Fac. de Ciencias Marinas, UABC. Ensenada, México.
- Arasaki, T. and A.Seibin (1983). Dietary and Medical Applications In: **Vegetables from the sea low calorie, high nutrition to help you look and feel better**. 1st edition Tokyo:Japan Publications, New York, U.S.A., pp. 196
- Aurand, L.W. and A.E. Woods (1971). **Food Chemistry**. The Avi Publishing Company Inc. Westport, Connecticut, pp. 363.
- Badui, D.S. (1986). **Química de los alimentos**. Ed. Alhambra Mexicana, D.F., México, pp. 430.
- Bravo-Santiago, R. y P. Rojas-Guiot (1987). **Determinación del ciclo reproductivo del mejillón *Mytilus californianus* en el ejido Eréndira**. Tesis de Licenciatura.Fac. de Ciencias Marinas, UABC. Ensenada, México.

- Brown, M.R. and K.A. Miller (1992). The ascorbic acid content of eleven species of microalgae used in mariculture. **J. Applied Phycology**, 4(3):205-215.
- Castillo-Alvarez, J.A. (1990). **Sinopsis de algas verdes (Chlorophyta) de la península de Baja California, México**. Tesis de Licenciatura. Fac. de Ciencias Marinas, UABC. Ensenada, México.
- Combs, G.F. Jr. (1992). Fundamental Aspects in Nutrition and Health In: **The Vitamins**. Academic Press Inc. San Diego, Ca., pp. 528.
- Dawes, C. (1986) **Botánica Marina**. Ed. Limusa. México D.F., pp. 673.
- Douglas, M., Considine E., and G.D. Considine (1982). **Foods and Food Production Encyclopedia**. Van Nostrand Reinhold Co. U.S.A., pp. 2305.
- Eitenmiller, R.R and W.O. Londen Jr. (1995). Vitamins In: **Analyzing Food For Nutrition Labeling And Hazardous Contaminants**. Edited by Ike J. Jeon and William G. Ikins. Marcel Dekker. New York., pp.496.
- Ericson, L.E. (1953) **On the vitamin B₁₂, Folic Acid, and Folinic Acid Groups of factors, and on the occurrence of these vitamins and Niacin, pantothenic acid and aminoacid in a number of marine algae**. Alquist and Wiksells Boktryckeri AB. Uppsala.
- Fernández-Mejía, E. y J. Aldeco-Ramírez (1981). **Estudio de algunos parámetros hidrológicos en una zona costera del ejido Eréndira, B.C.** Tesis de Licenciatura. Fac. de Ciencias Marinas, UABC. Ensenada, México.

- Halver, J.E. (1989). The Vitamins In: **Fish Nutrition**. 2nd edition, Academic Press Inc., San Diego Ca., pp. 798.
- Henshall, J.D. (1974). Vitamin C in Canning and Freezing In: **Vitamin C**. Edited by G.G. Birsch and Parker, K.J. John Wiley and Sons. New York, U.S.A., pp. 259.
- Harris, L.J. and M. Olliver (1942). The Reliability of the Method for Estimating Vitamin C by Titration against 2,6-Diclorophenolindophenol. **Biochemical J.**, 36:155-182.
- Indergaard, M. and J. Minsaas (1991). Animal and Human Nutrition In: **Seaweed Resources in Europe: Uses and Potential**. Edited by M.D. Guiry and G. Blunden, John Wiley and Sons Ltd., pp. 432.
- Jensen, A. (1961). Ascorbic acid in *Ascophyllum nodosum*, *Fucus serratus* and *Fucus vesiculosus* In: **Algues Marines IVe Congres International des; Vth International Symposium on Seaweed**, edited by A.D. Dauy de Virville and J. Feldmann . Pergamon Press Book, The Macmillan Co. , New York, U.S.A., pp. 467.
- Kutsky, R.J. (1973). **Handbook of Vitamin and Hormones**. Van Nostrand Reinhold Co. New Yoek, U.S.A., pp. 278.
- Levring, T., Hoppe H.A and O.J. Schmid (1969). **Marine Algae**. A Survey of Research and Utilization. Cram, De Gruyter and Co., Hamburgo , pp. 421.

- Lobban, C.S. and P.J. Harrison (1994). **Seaweed Ecology and Physiology**. Cambridge University Press, U.S.A., pp. 366
- Lovell, T. (1989). **Nutrition and Feeding of Fish**. Library of Congress Cataloging in Publication Data. New York, U.S.A..
- McLachlan, J. (1982). The Seaweed Industry: An appraisal of resource management and cultivation, especially as related to the extractive industry In: **Second Workshop, Biological Basis for the Use and Management of Renewable Natural Resources: Marine Biological Resources** No. 2. Edited by Castilla, J.C., pp. 151-168.
- Molina-Martínez, S. (1988). Las algas marinas, recurso de interés comercial en Baja California En: **Los Recursos Pesqueros del País**, pp. 75-93a.
- National Research Council (1989). **Recommended Dietary Allowances**, National Academic Press, 10 th ed., Washington D.C., pp. 284
- Oohusa, T. (1984). Technical Aspects of nori (*Porphyra*) cultivation and quality preservation of nori products in Japan today. **Hydrobiologia**, 116/117, 95-114Dr. W. Junk Publishers. Dordrecht, Netherlands.
- Ramós-Jardón, N.A. (1989). **Sinopsis de las algas pardas (Phaeophyta) de la península de Baja California, México**. Tesis de Licenciatura. Fac. de Ciencias Marinas, UABC, Ensenada, México.
- Secretaría de Pesca (1988). Reporte Anual. México, D.F.

- Urbieto-González, E. (1982). **Estudio estacional de las algas bentónicas de las costas del ejido Eréndira, B.C.** Tesis de Licenciatura. Fac. de Ciencias Marinas, UABC, Ensenada, México.
- Vargas-Cobena, R., Vargas-Fernández M.A. y M. Nieburh Gonzalez (1990). Determinación de vitamina C en algas marinas peruanas II Parte. **Rev. Fac. de Ocean. Pesq. y Cs. Alimentarias**, 2:228-231.
- Wilson and Gisvold (1962). **Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**. 4a ed. J.B. Lippincott Co. Philadelphia, U.S.A., pp.883.
- Yannick De R-H, Quere I. and C. Claire C. (1991). Vitamin Analysis of five planktonic microalgae and one macroalga. **J. Applied Phycology**, 3:259-264.

A N E X O I

CONDICIONES FISICOQUÍMICAS DEL SITIO DE COLECTA

Parámetro	Valor
T °C	18.5
pH	8.51
O₂ (ml/l)	10.8
S ‰	34

A N E X O II

ESTANDARIZACIÓN DE LOS REACTIVOS:

Se corrió un blanco a todos los reactivos, para asegurar que estuvieran libres de impurezas lo cual puede reducir la solución indicadora. El agua destilada diariamente se hirvió, se filtró y se dejó enfriar antes de ser utilizada. Las soluciones de ac. metafosfórico se prepararon diariamente ya que se convierte a ac. ortofosforico.

PREPARACIÓN Y ESTANDARIZACION DE LA SOLUCIÓN INDICADORA

“2,6-Diclorofenolindofenol” (2,6-DCPIP).

- a) Disolver 20 mg. de 2,6-diclorofenolindofenol (2,6-DCPIP) en 25 ml. de agua destilada, hervida, filtrada, y fría. Esta solución indicadora debe de ser reestandarizada diariamente contra una solución de ácido ascórbico pura recientemente preparada
- b) Utilizar 0.05 ml. de 2,6-DCPIP y titular contra un volumen aproximado de 0.5 ml. de solución ac. ascórbico (=0.02 mg. de ac. ascórbico).
- c) Dicha titulación realizarla de la misma manera como se describe en el apartado 4.5.2 con la omisión del triturado y extracción.
- d) La solución indicadora no debe guardarse por mas de 10 días ya que lentamente se deteriora .

PREPARACIÓN Y VALORACIÓN DE LA SOLUCIÓN ESTÁNDAR DE ÁCIDO ASCÓRBICO:

- a) Disolver 10 mg de ac. ascórbico en 25 ml. de ac. metafosfórico 20% y aforar a 250 ml. con agua bidestilada.
- b) Checar la actividad semanalmente por titulación con solución yoduro 0.01 N.

PREPARACIÓN DE "MEZCLA ÁCIDO FUERTE AL 20% " (MAF 20%)

A 5 partes de ac. tricloroacético al 20% adicionar 2 partes de ácido metafosfórico (recién preparada) al 20% .

A N E X O III

VALORES DE VITAMINA EN ALGUNOS VEGETALES TERRESTRES

Vegetal	* vitamina C
Papa	30 mg
Tomate	24 mg
Lechuga	20 mg
Cebolla	7 mg
Zanahoria	6 mg

* valores dados por 100 g. de peso fresco

Tomado de Leslie y Harris, 1942