

ARTÍCULOS ORIGINALES

Centro de Investigaciones de Energía Solar
Santiago de Cuba

CONTENIDO DE ALGUNAS VITAMINAS EN CULTIVOS DE MICROALGA *CHLORELLA SP.*

María Magdalena Quintana Cabrales,¹ Lissethy Hernández Nazario,² Humberto Morris Quevedo³ y Manuel Fernández González⁴

RESUMEN

Se presentaron las posibilidades de la biomasa de microalga *Chlorella sp.* como fuente de vitaminas para el consumo humano y animal. Se emplearon métodos espectrofotométricos y cromatográficos, y se desarrolló además una técnica cromatográfica que permitió determinar simultáneamente varias vitaminas. El cultivo de microalga *Chlorella sp.* aporta una biomasa rica en vitaminas, utilizables en la alimentación humana y animal, y constituye una forma de depuración de residuales.

Descriptores DeCS: CHLORELLA; VITAMINAS.

Los cultivos de microalgas son identificados mundialmente como fuentes de proteínas, grasas, carbohidratos y vitaminas, las que varían según la especie de que se trate. Su clasificación comprende miles de especies cuyo metabolismo y composición química han sido estudiados detalladamente en muy pocas de ellas.

Los cultivos de microalga *Chlorella sp.* contienen diversas vitaminas, lo cual favorece el valor nutricional de su biomasa.¹ En esta última, además de carotenoides, hay también tiamina, riboflavina, piridoxina, cobalamina, biotina, ácido pantoténico y ácido nicotínico.

¹ Licenciada en Ciencias Químicas. Investigadora Agregada.

² Licenciada en Ciencias Químicas. Aspirante a Investigadora.

³ Licenciado en Bioquímica. Aspirante a Investigador.

⁴ Licenciado en Ciencias Químicas. Profesor Auxiliar.

Los resultados obtenidos en estudios nutricionales donde se utilizan cultivos de *Chlorella sp.* como suplemento alimenticio, demuestran que estas algas pueden sustituir fuentes alimenticias comunes;²⁻⁴ aunque su contenido vitamínico depende del genotipo, estadio del ciclo de crecimiento, estado nutricional, intensidad de la luz y otros factores que afectan el desarrollo y metabolismo de las cepas, sin excluir que puede ser modificado por variación de las condiciones de cultivo, selección celular o ingeniería genética.

La actividad vitamínica se pone de manifiesto a través de transformaciones químicas de los precursores dietéticos en las formas metabólicamente activas correspondientes; por tal razón, como el escaso aporte natural de vitaminas da lugar a síndromes de deficiencia, éstas constituyen agentes muy valiosos en la profilaxis y tratamiento de diversas enfermedades.⁵

Se conocen pocos datos sobre la estabilidad del nivel vitamínico en cultivos de algas a cielo abierto, aunque en general sintetizan más vitaminas que otros organismos como los hongos y bacterias. Partiendo de ello, la presente investigación persiguió mostrar las posibilidades de la biomasa obtenida a partir de cultivos de *Chlorella sp.* desarrollados a cielo abierto y con adición de residuales como fuente de nutrientes (mixotróficos) y en un medio mineral suplementado con CO₂ (autotróficos).

MÉTODOS

Se valoraron diferentes técnicas para determinar la tiamina, riboflavina, ácido nicotínico, biotina, así como vitaminas A y C, y las seleccionadas se aplicaron al análisis de la biomasa autotrófica y mixotrófica

de *Chlorella sp.*, colectada de cultivadores de 500 m² entre marzo y junio de 1998.

Vitamina C. Se determinó por un método espectrofotométrico, con el empleo de ácido tricloroacético y reactivo DTC (tiourea, sulfato de cobre y dinitrofenil hidracina) en el sobrenadante, luego de la extracción de la biomasa con ácido oxálico. Las lecturas se realizaron a 515 nm.⁶

Vitamina A. Se determinó por espectrofotometría, después de extraída la biomasa con una mezcla de hexanol : acetona : etanol absoluto : tolueno (10:7:6:7) y tratada más tarde con una solución saturada de ácido tricloroacético. Las lecturas se hicieron a 620 nm.⁷

Determinación simultánea de riboflavina, biotina, tiamina y ácido nicotínico. Se llevó a cabo mediante cromatografía de placa delgada, con la utilización de placas comerciales de silicagel G60 (Merck), sin indicador fluorescente. Ya preparados los patrones, a diferentes concentraciones, se aplicaron y desarrollaron los cromatogramas con los sistemas eluentes, butanol : ácido acético : agua : piridina (40:10:50:2) y cloroformo : éter etílico (20:25); posteriormente se secaron las cromatoplasmas y se revelaron mediante la exposición a vapores de yodo.

Se procedió al raspado de las zonas correspondientes de la sílica y a la extracción de las vitaminas con etanol al 95 % y posterior centrifugación. Se realizó la lectura espectrofotométrica entre 200 y 800 nm y se elaboraron las curvas de calibración pertinentes.

Ambas muestras fueron tratadas de forma similar a los patrones, después de extraídas con ácido oxálico de las biomásas, y leídas espectrofotométricamente a las longitudes de ondas siguientes: 270 nm para la tiamina, 260 nm para la riboflavina y ácido nicotínico y 310 nm para la biotina.

RESULTADOS

En los cultivos autotróficos, los valores alcanzados de vitamina C se situaron en la gama de 24,4 a 117,1 mg/100 g de biomasa; mientras que en los mixotróficos fluctuaron entre 15,0 y 85,0 mg/100 g.

La gama de valores de vitamina A presente en los cultivos autotróficos fue de 1,9 a 7,6 mg/100 g; en los mixotróficos, de 0 a 9,7 mg/100 g.

La concentración de riboflavina encontrada en los cultivos autotróficos abarcó entre 8,8 y 24,7 mg/100 g; y en los mixotróficos, entre 31,39 y 45,25 mg/100 g.

En los cultivos autotróficos, el ácido nicotínico alcanzó valores de 21,1 a 113,3 mg/100 g; y en mixotróficos, de 136,77 a 494,85 mg/100 g.

La biotina arrojó cifras de 214,60 a 305,2 mg/100 g en cultivos autotróficos y de 134,02 a 599,55 mg/100 g en mixotróficos.

Los valores de tiamina en los cultivos autotróficos se situaron entre 2,6 y 3,4 g/100 g; y en mixotróficos, entre 2,2 y 3,4 g/100 g.

Las concentraciones medias (mg/100 g) de las vitaminas determinadas en los cultivos autotróficos fueron: vitamina A 4,62; vitamina C 59,5; tiamina 3079,28; riboflavina 18,16; ácido nicotínico 68,1; biotina 235,8.

Las concentraciones medias (mg/100 g) de las vitaminas determinadas en los cultivos mixotróficos fueron: vitamina A 1,05; vitamina C 30,7; tiamina 2692,63; riboflavina 35,49; ácido nicotínico 319,93; biotina 404,4.

DISCUSIÓN

Los valores de la vitamina C en los cultivos autotróficos fueron superiores a los alcanzados en los mixotróficos. Resultados similares se observaron en los niveles

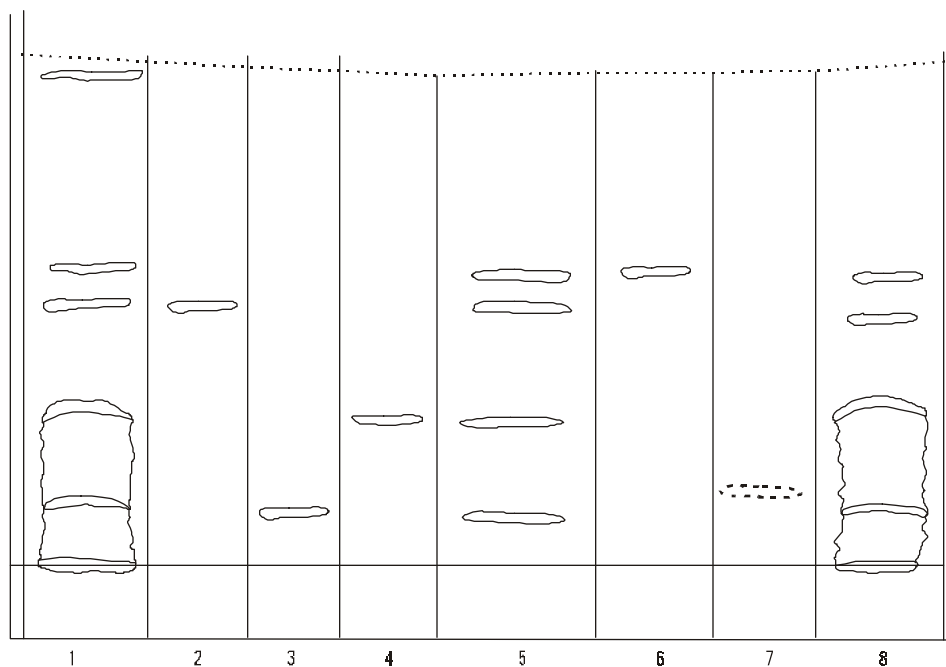
de la vitamina A, si bien su presencia se consideró pobre en los cultivos analizados e incluso en muchas de las muestras ni siquiera se detectó, lo cual sugiere una actividad enzimática muy reducida de la 15'-15' dioxigenasa.

La determinación de las vitaminas del complejo B investigadas por cromatografía de placa delgada de silicagel y con el uso del sistema eluyente n-butanol : ácido acético : agua : piridina (40:10:50:2) evidenció dificultades con la resolución de la tiamina-ácido pantoténico y la biotina-ácido nicotínico, que no permitieron su identificación y cuantificación espectrofotométrica y, en cambio, justificaron la aplicación del sistema eluyente cloroformo: éter etílico (20:25), partiendo de extractos con ácido oxálico al 1 %, que en este caso mostraron resultados satisfactorios.

La técnica cromatográfica desarrollada con este segundo sistema de solventes posibilitó estudiar simultáneamente las vitaminas hidrosolubles contenidas en extractos de microalgas (fig.) y, por tanto, cuantificar espectrofotométricamente los niveles de riboflavina, biotina y ácido nicotínico, teniendo en cuenta que en los extractos oxálicos se diferencian bien estos dos últimos y pueden ser localizados con relativa facilidad, situación que no se presenta en otros tipos de extractos.

Inversamente a lo hallado con respecto a las vitaminas A y C, se revelaron mayores concentraciones de tiamina, riboflavina, biotina y ácido nicotínico en los cultivos mixotróficos de *Chlorella sp.* que en los autotróficos.

Finalmente la biomasa resultante de los cultivos de *Chlorella sp.* en el Centro de Investigaciones de Energía Solar puede usarse como un suplemento vitamínico idóneo para la alimentación animal; es posible su empleo en los cultivos autotróficos, con vista a la preparación de comprimidos de vitaminas para uso humano.



1) mezcla autotrófica: 100 μ L; 2) ácido nicotínico: 10 μ L; 3) tiamina: 10 μ L; 4) riboflavina: 10 μ L;
 5) mezcla de patrones: 50 μ L; 6) biotina: 10 L; 7) ácido pantotónico: 10 μ L; 8) mezcla autotrófica: 100 μ L.

FIG. Extracto de microalga y patrones de vitamina en cromatografía en placa, desarrollada con cloroformo : éter etílico (20:25)

SUMMARY

The possibilities of the biomass of microalgae *Chlorella sp.* as a source of vitamins for human and animal consumption are shown. Spectrophotometric and chromatographic methods were used and a chromatographic technique that allowed to determine some vitamins simultaneously was also developed. The culture of microalgae *Chlorella sp.* brings a biomass rich in vitamins that may be used in human and animal nutrition, and is a form of depurating residuals.

Subject headings: CHLORELLA; VITAMINS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Borowitzka MA. Vitamin and fine chemicals from microalgae. En: Borowitzka MA, Borowitzka LJ. Microalgae biotechnology. Cambridge: Cambridge University;1988:96-153.
2. Meske Ch, Phiffer E. Growth experiments with carp and grass carp. Arch Hydrobiol 1978;11:98-107.
3. Sandbank E, Hepher B. The utilization of microalgae as a feed for fish. Arch Hydrobiol 1978;11:86-97.
4. Soeder CJ. The scope of microalgae for food and feed. En: Shelef G, Soeder CJ. Algae biomass. Amsterdam: Elsevier North Holland Biomedical Press;1990:575-602.
5. Venkataraman LV. Microalgae food and feed status. Anal Ergeb Limnol 1978;11:199-210.

6. Richmond A. Spirulina. En: Borowitzka MA, Borowitzka LJ. Micro-algae biotechnology. Cambridge: Cambridge University;1988:83-121.
7. Petrovic SE, Delia BE, Vukajlovic DB. Separation of water-soluble vitamins on starch thin layers. Anal Chem 1968;40:6-107.

Recibido: 28 de octubre de 1998. Aprobado: 30 de noviembre de 1998.

Lic. *María Magdalena Quintana Cabrales*. Calle Moncada No. 264 entre Habana y Trinidad, Santiago de Cuba.