PROPIEDADES BIOACTIVAS DE HIDROLIZADOS DE AYOCOTE (*PHASEOLUS COCCINEUS* L.)

Leticia Xochitl López-Martínez, Alberto Alonso Arrollo Collantes, Alejandra N. Alvarado-López y Henri Marquez-Pacheco

CONACYT-Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Culiacán
Universidad Politécnica del Mar y la Sierra,

Universidad Autónoma del Estado de México. Email: leticia.lopez@ciad.mx

RESUMEN

Se determinaron las propiedades bioactivas de hidrolizados de ayocote (*Phaseolus coccineus* L.) crudo y cocido, se seleccionaron 4 variedades (negro, morado, café y blanco) y se evaluaron la actividad antioxidante (DPPH $^{-}$) y la inhibición de las enzimas α -amilasa, α -glucosidasa y la enzima convertidora de angiotensina I (ACE I). Todos los hidrolizados mostraron actividad antioxidante que fue expresada como porcentaje de inhibición del radical DPPH- (40 % a 62.8 %). Los hidrolizados no mostraron actividad inhibitoria sobre α -amilasa. Aunque todos los hidrolizados presentaron actividad inhibidora de α -glucosidasa (52 a 56%) no se presentó diferencia significativa entre ellos, estos análisis fueron realizados a niveles de 0.6 mg/mL de proteína. La capacidad de los hidrolizados de inhibir ACE mostró una dependencia de concentración (0.1 a 0.5 mg proteína/mL), los hidrolizados tanto curdo como cocinado de variedad café presento la mayor capacidad de inhibición (60.3-72.9%) respectivamente a niveles de 0.3 mg proteína/mL.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 es un trastorno metabólico caracterizado por defectos progresivos de secreción de insulina y resistencia a la insulina periférica lo que conlleva a hiperglucemia crónica y a alteraciones en el metabolismo. El enfoque para controlarla es controlar la hiperglucemia postprandial y reducir sus complicaciones posteriores. Se pueden usar diferentes estrategias para ese control entre ellas, la inhibición de enzimas como α-amilasa y α-glucosidasa, las encargadas de hidrolizar los carbohidratos que consumimos en los alimentos por lo cual se han convertido en un blanco en el control de la diabetes. La hiperglucemia induce la sobreproducción de radicales libres incluyendo las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, los cuales producen daños en varios tejidos incluyendo páncreas e hígado, el control de estrés oxidativo es otra importante meta para reducir el daño a los tejidos y las enfermedades cardiovasculares, envejecimiento y obesidad Uno de los mecanismos ligados a la hipertensión es la pérdida de la regulación de la actividad del sistema renina-angiotensina por la enzima convertidora de angiotensina (ACE) convirtiendo a angiotensina I al potente vasoconstrictor angiotensina que actúa sobre las células del músculo liso vascular, así como en el sistema nervioso simpático, aumentando el volumen de sangre incrementando así la presión sanguínea, además de la inhibición del vasodilatador bradikinina. Los inhibidores de ACE actúan como vasodilatadores lo que podría reducir significantemente las afecciones cardiacas (Nakano y col., 2009).

Las proteínas de los alimentos contienen numerosos péptidos biológicamente activos y se ha demostrado que ejercen respuestas fisiológicas positivas en el cuerpo más allá de su papel nutricional en la provisión de nitrógeno y aminoácidos incluyendo a las la prevención o manejo de la diabetes tipo 2, (Konrad y col., 2014), se ha demostrado que los hidrolizados de proteínas y

péptidos pueden inhibir ACE *in vitro* además de procesos inflamatorios,ell estudio de semillas poco explotadas pueden tener un gran potencial como fuente de proteína y péptidos bioactivos benéficos a la salud del ser humano.

Por ello en esta investigación se propone la utilización de semillas explotadas como lo es el ayocote en México para la obtención de hidrolizados y péptidos con actividades biológicas.

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención de la muestra

Se obtuvo frijol ayocote en diversos mercados de Toluca, Edo. de México y Durango en el año 2016-2017,se eliminao tierra o granos dañados, posteriormente se molieron hasta obtener una harina fina y se almaceno a 4°C hasta el momento de ser utilizados

Obtención del aislado proteico

2 g de harina se mezclaron con 20 mL de agua destilada y se ajustó el pH de la disolución a 8 con NaOH 0.1 M y la extracción de proteína se realizó a 35 C con agitación constante durante 1 h, después de ese tiempo la mezcla fue centrifugada a 5000 g durante 15 min a 4 C, se colectan los precipitados y son reextraídos bajo idénticas condiciones y se ajustó el pH 4.3 con HCl para precipitar las proteínas, seguido de centrifugación a 10000 rpm durante 20 min a 4 C, se descartó el sobrenadante y el precipitado (aislado proteico) se liofilizó y se almaceno a -20 C hasta ser analizado.

Actividad antioxidante

La actividad antiradical fue determinada por el método de Ranilla y col. (2010) con algunas modificaciones. 100 μ L de los extractos (a una concentración 0.7 mg/mL de compuestos fenólicos totales) fueron transferidos a tubos polipropileno donde se adicionaron 2.8 mL del radical DPPH-(98.9 μ M en metanol) y se agitaron en un vórtex durante 15s, los tubos se mantuvieron en reposo y en ausencia de luz durante 30 min, después de ese tiempo se determinó la absorbancia a 515 nm. Se utilizó metanol como blanco y una solución de Trolox 0.02 mM como control antioxidante. La actividad antioxidante se expresó como % de inhibición.

Actividad inhibitoria de la enzima α-glucosidasa

El ensayo para medir la inhibición de la actividad α -glucosidasa de los extractos fue adaptado de Yuan y col. (2012). Una mezcla de 50 µL de los extractos (0.7 mg/mL de compuestos fenólicos totales), 100 µL de amortiguador de fosfatos 0.1 M a pH 6.9 y 100 µL de una solución de α -glucosidasa de levadura *S. cerevisiae* (67 mU/ensayo) se incubaron en un plato de 96 pozos a 25oC durante 10 min, después de ese tiempo, se adicionaron 100 µL de una solución de p-nitrofenil α -D glucopiranósido (p-NPG) 0.1 M en amortiguador de fosfatos pH 6.9 a cada pozo. Esta mezcla fue nuevamente incubada a 25oC durante 10 min. La absorbancia fue determinada a 405 nm en un lector de microplatos (SpectraMax M2, Molecular Devices Corp., SoftmaxPro v.4.6 software, Sunnyvale, CA, USA). Los cambios en la absorbancia fueron determinados antes de la incubación y después de 30 min de la adición del p-NPG; y fueron comparados con una muestra control que consistió en 50 µL de amortiguador de fosfatos pH 6.9, en lugar de los extractos. Se utilizó una solución de acarbosa (0.44 mg/mL) como inhibidor positivo.

Actividad inhibitoria de la enzima α-amilasa

El ensayo para medir la inhibición de la actividad de la α-amilasa por los extractos fue adaptado de Adisakwattana y col. (2009). La enzima α-amilasa (páncreas de porcino, 3 U/mL) fue disuelta en amortiguador de fosfatos salino 0.1 M pH 6.9. Se adicionaron 200 μL de los extractos en una solución de almidón (1 g/L) y la reacción se inició al adicionar 500 μL de la solución de la enzima, la mezcla fue incubada a 25oC durante 10min, después de ese tiempo se adicionaron 500 μL de amortiguador de fosfatos 0.02 M (pH 6.9 con cloruro de sodio 6 mM). La mezcla de reacción se incubó nuevamente a 25°C durante 10 min y se detuvo por la adición de 1 mL de una solución que contenía ácido dinitrosaliciílico al 1%, fenol al 0.2%, Na₂SO₃ al 0.05% e NaOH al 1% en solución acuosa. Después de ese tiempo, la mezcla se incubó a 90oC durante 5 min, y se enfrió a 25oC.

Posteriormente, la mezcla se diluyó con 10 mL de agua destilada y se determinó la absorbancia a 540 nm. La muestra control consistió en 200 µL de amortiguador de fosfatos pH 6.9, en lugar de los extractos. Se utilizó una solución de 0.44 mg/mL de acarbosa como inhibidor positivo.

Actividad inhibidora de angiotensina I

La inhibición de la angiotensina I se adaptó del Kwon *et al.*, 2007. 50 mL de los extractos se incubaron con 20 mL de amortiguador de borato 0.1 M (0.3 M de NaCl, pH 8) con 2 mU de una solución de angiotensina I a 25 oC durante 10 minutos. Posterior a la preincubacion se adicionaron 100 mL de hipuril-histidil-leucina que actuó como sustrato de la enzima, la mezcla se incubó 37 °C durante 1 h, después de ese tiempo la reacción se detuvo con 150 mL de HCL 0.5 N. El ácido hipúrico formado por la reacción se detectó y cuantificó por cromatografía liquida de alta presión (HPLC) con detector de arreglo de diodos a 228 nm. Se utilizó ácido hipúrico como estándar.

Análisis estadístico

Todos los experimentos fueron diseñados utilizando un diseño de bloques completamente al azar y el nivel de significancia (p<0.05) entre medias de los tratamientos se estableció utilizando ANOVA de una sola vía con el software MINITAB v.15.

RESULTADOS

Los hidrolizados de ayocote cocido muestran actividad para inhibir la formación del radical DPPH que en su forma cruda a concentración de 0.6 mg/mL de proteína (Figura 1), siendo la variedad negra la que presenta mayor actividad antioxidante (63.2%) y la variedad blanca la menor actividad (39.3%), la misma tendencia se muestra en los hidrolizados de ayocote crudo. El que los hidrolizados cocidos presenten mayor actividad antioxidante podría ser debido al efecto del procesamiento en la liberación de péptidos antioxidantes.

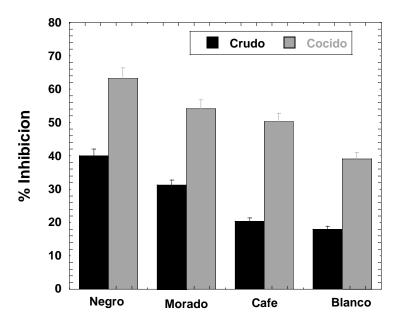


Figura 1. Actividad inhibitoria del radical DPPH de los hidrolizados de ayocote (*Phaseolus coccineus* L.) crudo y cocido.

Entre las variedades de ayocote crudo no se encontró diferencia en la inhibición de α -amilasa, y durante el cocimiento se presentó una disminución de la inhibición, esto podría deberse al efecto del procesamiento en la degradación de los inhibidores naturales de la α -amilasa, durante el procesamiento térmico se produce una desnaturalización de proteínas como lectinas e inhibidores de alga amilasa, debido a este factor la capacidad de inhibición es mayor en las muestras no procesadas (Tabla 1). La inhibición de glucosidasa en las muestras crudas y procesadas se puede observar en la tabla 1. Aunque todos los hidrolizados presentaron actividad inhibidora (52 a 56%) no se presentó diferencia significativa entre ellos, estos análisis fueron realizados a niveles de 0.6 mg/mL de proteína. Estudios *in* vivo han sugerido que el consume de leguminosas cocinadas pueden mejorar el índice glicémico en el control de la diabetes

(Hernandez-Saavedra y col., 2013), debido a el decremento en la digestión de polisacáridos que reducen la cantidad de glucosa disponible para la absorción.

Actividad inhibitoria de angiotensina I (ACE)

En la tabla 1 se muestra la actividad inhibitoria de ACE de los hidrolizados crudos y cocidos. Ninguno de los hidrolizados mostró diferencia significativa entre variedades de ayocote ni entre crudo y procesado, esto podría sugerir que la capacidad de inhibir ACE no es afectada por el proceso de cocción. La variedad café presenta la mayor capacidad de inhibición tanto en crudo como en procesado a 3 mg proteína /mL, este valor es mayor a los reportados por (Turruco-Uco y col., 2009) en diferentes variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), esta diferencia puede deberse al tipo de varidad estudiada.

Tabla 1. Inhibición de la actividad enzimática por hidrolizados crudos y cocidos de 4 variedades de ayocote (*Phaseolus coccineus* L.)

	Actividad enzimática (% inhibición)					
Tipo de ayocote	Producto	α-amilasa	α-glucosidasa	ACE		
Negro	Crudo	4.98	52.87 <u>+</u> 2.5 ^a	58.21 <u>+</u> 1.7 ^a		
	Cocido	2.12	55.34 <u>+</u> 4.4 ^b	60.36 <u>+</u> 3.2 ^b		
Morado	Crudo	3.95	52.33 +4.1a	66.17 <u>+</u> 6.1°		
	Cocido	1.55	54.12 <u>+</u> 5.5 ^{cb}	69.43 <u>+</u> 5.1 ^d		
Café	Crudo	2.11	52.14 <u>+</u> 5.5 ^a	69.33 <u>+</u> 2.8 ^d		
	Cocido	1.65	53.15 ±3.8 ^b	72.92 <u>+</u> 4.5 ^e		
Blanco	Crudo	2.33	52.90 <u>+</u> 2.9 ^a	65.55 <u>+</u> 3.6°		
	Cocido	1.46	52.14 <u>+</u> 3.7 ^a	66.04 <u>+</u> 4.4 ^c		

CONCLUSIONES

El procesamiento no afecta las propiedades bioactivas de los hidrolizados de ayocote cocinado. Los hidrolizados de proteína presentan potencial para inhibir enzimas relacionadas con enfermedades crónicas como la hipertensión (ACE) y relacionadas con la diabetes (α -amilasa y α -glucosidasa). Los hidrolizados fueron más eficientes en la inhibición de ACE y presentaron una inhibición mínima sobre amilasa. Estos resultados pueden orientarnos a diversificar el criterio cuando se procesan loas alimentos, enfocados en mejorar las propiedades sensoriales y nutraceuticas de los productos a través del procesamiento.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Adisakwattana, S., Chantarasinlapin, P., Thammarat, H., Yibchok-Anun, S. (2009). A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal alphaglucosidase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 24 (5), 1194–1200.
- 2. Kwon, Y.I.I., Vattem, D.A. & Shetty, K. (2006). Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, **15**, 107-118.
- 3. Hernandez-Saavedra D, Mendoza-Sanchez M, Hernandez-Montiel HL, Guzman-Maldonado HS, Loarca-Pina GF, Salgado LM, Reynoso-Camacho R. (2013). Cooked common beans (*Phaseolus vulgaris*) protect against β -cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats. Plant Foods Hum Nutr 68:207–12.
- 4. Torruco-Uco J, Chel-Guerrero L, Martinze-Ayala A, Davila-Ortiz G. 2009. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and anioxidant activities of protein hydrolysates from *Phaseolus lunatus* and *Phaseolus vulgaris* seeds. LWT Food Sci Technol 42:1597–604
- 5. Yuan, T., Wan, C., Liu, K. and Seeram, N.P. 2012. New maplexins FI and phenolic glycosides from red maple (*Acer rubrum*) bark. *Tetrahedron*. 68 (4), 959–964.

EFECTO DEL CONSUMO DE INULINA DE AGAVE COMERCIAL EN DIETAS DE GLUTEN SOBRE SU DIGESTIBILIDAD Y UTILIZACIÓN DE LA PROTEÍNA MEDIANTE BIOENSAYOS EN RATAS EN CRECIMIENTO

María del Refugio Falcón Villa, Kevin Ricardo Díaz Gálvez

Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora

RESUMEN

En la última década, los alimentos funcionales en la nutrición humana y animal han ganado importancia. Los prebióticos se formulan en un número creciente de alimentos, las implicaciones del papel evolutivo de los prebióticos en la salud y el bienestar humanos son desconocidas. Existe un interés creciente en el uso de inulinas como sustratos para el crecimiento selectivo de bacterias intestinales beneficiosas tales como bifidobacterias y lactobacilos debido a que estudios recientes han establecido que su efecto prebiótico está ligado a varios beneficios para la salud, pero el consumo de inulina de agave en los alimentos podría tener un impacto en la digestibilidad y la calidad de la proteína. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del consumo de inulina de agave sobre la calidad de la proteína de la dieta gluten, mediante bioensayos, empleando la rata Sprague Dawley como modelo experimental. Se prepararon cuatro dietas sintéticas utilizando gluten como única fuente de proteína con tres ingredientes diferentes de fibra: inulina de agave, fibra soluble de maltodextrinas resistentes, fibra de celulosa y una dieta sin fibra como control. Los indicadores biológicos analizados fueron: Digestibilidad de nitrógeno aparente y verdadero (DNA, DNV) y razón neta de proteína (RNP). Los resultados fueron analizados por un programa estadístico con un 95% de significación. La DNA y la DNV de la dieta de gluten con fibra de inulina de agave variaron entre 89,7% y 93,7% respectivamente y el resultado RNP fue de 1,87, los resultados fueron inferiores a las dietas gluten con celulosa y a la dieta sin fibra. Los resultados demostraron que el consumo de inulina de agave en la dieta de gluten mostró disminución en la digestibilidad y RNP en la dieta de gluten.

INTRODUCCIÓN

Actualmente y después de 30 años de investigación, la fibra dietética (FD) es parte de lo que se considera una dieta saludable (Escudero & Gonzalez, 2006). La fibra dietética es clasificada en dos principales categorías, insoluble (FDI) y la soluble (FDS). Esta agrupación está basada en sus propiedades químicas, físicas y funcionales. Las fibras solubles se disuelven en aqua formando geles viscosos. Evitan la digestión en el intestino delgado y son fácilmente fermentados por la microflora del intestino grueso. La FDS contiene pectinas, gomas, inulina, fructanas, (Anderson et al., 2009). En el tracto gastrointestinal humano, las fibras insolubles no forman geles debido a su insolubilidad en agua y la fermentación es muy limitada. Algunos ejemplos de fibras insolubles son la lignina, celulosa y algunas hemicelulosas (Kumar & Banerjee, 2010). La mayoría de los alimentos que contienen FD incluyen aproximadamente un tercio fibras solubles y dos tercios de insolubles (Lattimer & Haub, 2010). Dietas con alto contenido de fibra, como las ricas en cereales, frutas y vegetales tienen un efecto positivo en la salud (Anderson et al., 2009). Este efecto benéfico se ha relacionado con una disminución en la incidencia de varios tipos de enfermedades, debido a efectos beneficiosos, tales como: aumentar el volumen de las heces: disminuir el tiempo del tránsito intestinal de los alimentos en el intestino; reducir el colesterol y los niveles de glucemia; atrapar sustancias que se pueden ser peligrosas para el organismo humano (agentes mutagénicos y carcinogénicos); y estimular la proliferación de la flora intestinal (Dhingra et al., 2012). Estos beneficios se atribuyen principalmente a la resistencia de la fibra a su digestión, su capacidad para absorber y retener agua, formando una red que ocluye y fija algunas sustancias orgánicas, tales como lípidos y carbohidratos. Sin embargo la FD también atrapa otras moléculas tales como proteínas y minerales, incapacitándolos a su digestión y disminuyendo su absorción (Wang et al., 2006). Se ha demostrado que la fibra dietética insoluble puede disminuir la digestibilidad de la proteína (Salas et al., 2008). Se han desarrollado algunas investigaciones para estudiar el efecto de la FD sobre la digestión de nutrientes (Mongeau et al., 1989; Wang et al., 2006; Misurcova et al., 2010). La mayoría de los autores reportan que el contenido de FD puede poner en peligro la digestibilidad de los nutrientes. En particular, el efecto de FD difiere con el origen y la naturaleza de la fibra y se refiere a su composición química, así como a sus propiedades físico químicas (Pirman et al., 2009). El propósito de esta investigación es determinar el efecto de la adición de inulina de agave comerciales a dietas de gluten sobre la digestibilidad de nitrógeno y la utilización de la proteína mediante bioensayos en ratas.

PARTE EXPERIMENTAL

Descripción de la muestra. Para este estudio se elaboraron tres dietas sintéticas con gluten como fuente de proteína adicionando tres distintos ingredientes altos en fibra a un 5 %: Dieta de gluten con el ingrediente basado inulina de agave (GLU-INU); Dieta de gluten con fibra soluble, ingrediente basado en maltodextrinas resistentes (GLU-SOL); Dieta de gluten con fibra de celulosa (GLU-CEL) y otra dieta de gluten sin fibra, a la cual no se le agregó ningún componente de fibra (GLU-SINF) además se elaboró una dieta de caseína con fibra de celulosa al 5 % y una dieta libre de nitrógeno (DLN). Todas las dietas experimentales fueron elaboradas basándose en el contenido de nitrógeno total de las muestras de prueba, realizándose los ajustes para que estas dietas obtengan un 10% de proteína (Hackler, 1978). La DLN necesaria para ser considerada en los bioensayos de Digestibilidad de nitrógeno verdadero y de Razón Neta de Proteína (NPR), se formuló de acuerdo a la composición dada por AOAC (1990). La composición de la dieta base es: Proteína 10%, mezcla de minerales 3.5%, mezcla de vitaminas 2.5%, grasa 8%, fibra 5.0%, sacarosa 12.0% y carbohidratos (almidón) hasta completar el 100%. Se realizó un análisis de composición química a todas las muestras por los métodos de la AACC, 1991. El contenido de fibra dietética se determinó por el método propuesto por Prosky et al., (1987), basado en el método 985.29. AOAC (1997).

Bioensayo en ratas. El estudio de alimentación de 14 días fue conducido con 24 ratas Sprague Dawley recién destetadas, de 21-23 días de edad, con peso promedio de 45-55 g, las ratas fueron proporcionadas por la Unidad de Experimentación Animal del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Universidad de Sonora. Se pesaron las ratas y se distribuyeron en bloques al azar en 6 grupos de 4 ratas, los cuales fueron empleados para cada una de las dietas experimentales y se mantuvieron en forma individual en jaulas de acero inoxidable con malla en la base. La dieta y el agua fueron suministradas ad-libitum, la temperatura del laboratorio se mantuvo a 25 °C, con una humedad relativa de 65-80%, y ciclos de iluminación de 12 h luz-oscuridad. El experimento de alimentación fue repetido ocho veces para un mismo lote de dieta experimental. Un grupo de ratas recibió la dieta libre de nitrógeno durante los 14 días que duró el experimento. Indicadores de Calidad proteica evaluados: Digestibilidad de materia seca (DMS) propuesta por Church & Pond, 1974. Digestibilidad Aparente (DA) y verdadera (DV). La DA considera la cantidad de alimento digerido, calculado por la diferencia entre el alimento consumido y lo eliminado por el animal. La DV se determina considerando el nitrógeno excretado en heces proveniente del recambio metabólico, éste se determina en las heces del grupo de animales mantenidos con la dieta libre de nitrógeno, durante el desarrollo del experimento. Determinación de Razón Neta de Proteína (RNP). Es calculado por las variaciones en peso, calculada de acuerdo a Bender & Doell (1957).

Análisis Estadístico. Para el análisis estadístico de los bioensayos de las dietas experimentales de gluten con los distintos ingredientes, se realizó un análisis de varianza en bloques con un nivel de

significancia de 5 %, seguido de una comparación de medias por el método de Tukey (α≤ 0.05) utilizando para ello, el paquete estadístico JMP versión 5.0 (2002).

RESULTADOS

Digestibilidad de Materia Seca (DMS) y de Nitrógeno (DNA y DNV). El consumo de alimento de la dieta GLU-INU mostró el valor más bajo y similar a la dieta GLU-SOL, Las heces totales de estas dietas fueron inferiores a la dieta GLU-CEL, lo que indica que la inclusión de diferentes tipos de fibra dietética tienen efecto en el contenido de heces excretadas. La dieta GLU-CEL mostró los valores más altos de heces totales, alrededor de tres veces la cantidad de heces excretadas por las ratas alimentadas con la dieta GLU-SF, lo que influye en los indicadores de calidad de las proteínas medida como DMS. Las dietas GLU-INU y GLU-SOL tuvieron los valores más altos de nitrógeno fecal influenciando los valores de DNA y DNV. La dieta GLU-SF tuvo los valores más bajos de nitrógeno en heces y el porcentaje más alto de DNA y DNV. (Tabla1).

Tabla 1. Consumo de Alimento, Heces totales, Consumo de Nitrógeno, Digestibilidad de Materia Seca (DMS), Digestibilidad de Nitrógeno Aparente (DNA) y Verdadero (DNV) de Dietas de Gluten.

Dietas	Consumo Alimento (g)	Heces Total (g)	DMS %	Consumo Nitrógeno (g)	Nitrógeno Heces (g)	DNA %	DNV %
GLU-INU	89.9	3.37	96.23	1.62	0.15	89.72	93.74
GLU-SOL	91.6	4.37	95.23	1.48	0.18	88.07	92.15
GLU-CEL	105.2	8.0	92.36	1.75	0.12	92.4	95.83
GLU-SF	101.1	2.6	97.3	1.7	0.11	93.5	97.5

Los valores son promedio de ocho determinaciones.

Peso de heces en base seca.

Razón Neta de Proteína (RNP). Se fundamenta en que existe una relación lineal para el incremento de peso del animal en función de la calidad de la proteína consumida. La dieta GLU-INU mostró valores intermedios en el consumo de proteínas y el aumento de peso en relación con las otras dietas. Los resultados de RNP no muestran diferencias significativas entre las dietas evaluadas. La inclusión de la inulina de agave en la dieta de gluten no causó una reducción significativa en la RNP. La dieta de GLU-SOL mostró el valor más bajo de RNP, y la dieta de GLU-SF mostró el valor más alto. (Figura 1).

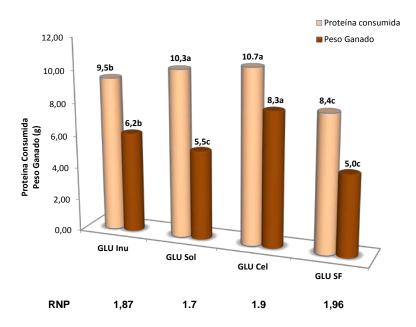


Figura 1. Razón neta de proteína de dietas de gluten con inulina de agave, fibra soluble y celulosa

CONCLUSIONES

La inclusión de inulina de agave comercial en la dieta gluten, presentó un efecto significativo sobre el contenido total de heces excretadas. La adición de esta fibra provocó una ligera disminución en la digestibilidad de la materia seca en relación con la dieta de gluten sin fibra. La adición de inulina de agave a la dieta de gluten provocó una mayor excreción de nitrógeno fecal en relación con la dieta de gluten sin fibra, disminuyendo la digestibilidad del nitrógeno. Los resultados demostraron que el consumo de inulina de agave en la dieta de gluten mostró disminución en la digestibilidad del nitrógeno y RNP en la dieta de gluten.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. AACC, "Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists", 8a Ed. The Association, St. Paul, MN. 2000.
- 2. AOAC, "Official Methods of Analysis of AOAC", 16 th ed. Vol. 1, Sec. 12.1.07, Method 960.52. 1997.
- 3. J.W. Anderson, P. Baird, R.H. Davis, S. Ferreri, M. Knudtson, A. Koraym, V. Waters, & C.L. Williams, "Health benefits of dietary fiber", Nut. Rev., Vol. 67, 4, 2009, pp. 188-205
- 4. A. E. Bender & B. H. Doell, "Biological evaluation of protein: A new concept", Brit. J. Nutr, Vol. 11, 1957, pp.140-148.
- 5. D.C. Church & W.G. Pond, "Basic animal nutrition and feeding," *Basic animal nutrition and feeding*, 1974, pp. 1-2.
- 6. D. Dhingra, M. Michael, H. Rajput, R.T. Patil, "Dietary fiber in foods: a review", J. of food sci. and tech. Vol. 49, 3, 2012, pp. 255-266.
- 7. A.E. Escudero, & S.P. González, "Dietary fibre". Nutrición Hospitalaria, 21, 2, 2006, pp. 60-71.
- 8. L. R. Hackler, "An Overview of the AACC/ASNT Collaborative Study Protein Quality Evaluation", Food Tech., Vol. 12, 1978, pp. 62-64.

- 9. V.A. Kumar, & R. Banerjee, "Dietary fiber as functional ingredient in meat products: a novel approach for healthy living-a review", J. of Food Sci. and Tech., Vol. 47, 3, 2010, pp. 247-257.
- 10. J.M. Lattimer, & M.D. Haub, "Effects of dietary fiber and its components on metabolic health", Nutrient, Vol. 2, 2010, pp. 1266-128.
- 11. L. Misurcova, S. Kracmar, B. Klejdus, J. Vacek, "Nitrogen content, dietary fiber, and digestibility in algal food products", Czech J. of Food Sci. Vol. 28, 2010, pp. 27-35.
- 12. R. Mongeau, G. Sarwar, R.W. Peace, R. Brassard, "Relationship between dietary fiber levels and protein digestibility in selected foods as determined in rats", Plant Food Human Nutrition, Vol. 39, 1989, pp. 45-51.
- 13. T. Pirman, M.P. Patureau, A. Oresnik, J Salobir, "Effects of dietary pectins on protein digestion and metabolism in growing rats", Argiculturae Slovenica, Vol. 94, 2, 2001, pp.111-119.
- 14. L. Prosky, N.G. Asp, T.F. Schweizer, J.W. DeVries, & I. Furda, "Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study", Journal-Association of Official Analytical Chemists, Vol. 71, 5, 1987, pp.1017-1023
- 15. S.J. Salas, S.A. Bonada, C.R. Trallero, S.M.E. Salo, P.R Burgos, "Nutrición y dietética clínica", España: Elsevier España S. L. 2008.
- 16. SAS. JMP. "A Bussiness Unit of SAS". Version 5.0.1 by Statistical Analysis System, Institute Inc. Cory. NC, USA. 2002.
- 17. J.F. Wang, M. Wan, D.G. Lin, B.B. Jensen, Y.H. Zhu, "The effect of source of dietary fiber and starch on ileal and fecal amino acid digestibility in growing pigs", J. of Ani. Sci., Vol. 19, 7, 2006, pp. 1040 -1046.

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO EN EL SUELO DEL CERRO DEL CULIACÁN Y LA GAVIA AREA NATURAL PROTEGIDA, GUANAJUATO

Blanca Estela Gómez Luna, María Isabel García Vieyra, Laura Mejía Teniente, Juan Carlos Ramírez Granados, Adan Topiltzin Morales Vargas, César Díaz Pérez, Rafael Alejandro Veloz García

Universidad de Guanajuato, Campus Celaya-Salvatierrra, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Departamento de Ingeniería Agroindustrial.

RESUMEN

Los Cerros el Culiacán y la Gavia, se declararon como Área Natural Protegida (ANP) en la categoría de Área de Uso Sustentable. Se entiende por Área de Uso Sustentable, una zona natural protegida de jurisdicción estatal que tiene como objetivo producir bienes y servicios que respondan a las necesidades económicas, sociales y culturales de la población, con base en el aprovechamiento sustentable de usos compatibles. Debido a esto, en el campus Celaya-Salvatierra de la Universidad de Guanajuato se conformó un grupo de investigación multidisciplinario coordinado por integrantes del Cuerpo Académico de Biotecnología, Sustentabilidad e Ingeniería, encaminado al estudio del ANP "El Culiacán" y "La Gavia". donde se pretende diseñar e implementar estrategias que permitan la explotación sustentable de los recursos naturales. En este trabajo se presenta la búsqueda de microorganismos con potencial biotecnológico, como son las bacterias que habitan en suelo y que de manera natural se asocian a las plantas nativas y promueven el crecimiento de la vegetación. Se ha logrado generar una colección de cepas que por diversos mecanismos mejoran el crecimiento y desarrollo de las plantas. De las pruebas realizadas la utilización de bacterias en pruebas de germinación, formación de la raíz y defensa contra hongos fitopatógenos. Las bacterias mostraron también tener efecto en variedad de plantas con interés agronómico lo que nos ayuda a ampliar las posibilidades de aplicación en plantas nativas y de interés agronómico.

INTRODUCCIÓN

Las Areas Naturales Protegidas (APN) son las zonas del territorio estatal en donde los ambientes originales no han sido significativamente alterados por la actividad del ser humano o bien requieren ser preservados o restaurados, y en el caso concreto de las catalogadas como áreas de Uso Sustentable, tiene por objeto producir bienes y servicios que respondan a las necesidades económicas, sociales y culturales de la población, con base en el aprovechamiento sustentable de usos compatibles, al ubicarse en zonas que comprenden cuencas hidrológicas, recursos forestales y elementos de flora y fauna silvestre, en la que existen desarrollos agropecuarios, potencial recreativo y poblaciones rurales (IEE, 2015).

En base al artículo 3 de la LGEEPA, las Áreas Naturales Protegida, los objetivos tradicionales de creación de las áreas naturales protegidas son:

- Preservar los ambientes naturales representativos de las diferentes regiones biogeográficas y ecológicas del país.

- Preservar los ecosistemas frágiles, para asegurar el equilibrio y la continuidad de los procesos evolutivos y ecológicos.
- Asegurar la preservación y el aprovechamiento sustentable de la biodiversidad en todos sus niveles de organización, en particular de las especies en peligro de extinción, amenazadas, raras, sujetas a protecciones especiales y endémicas.
- Proporcionar un campo propicio para la investigación científica, así como para el rescate y divulgación de conocimientos y prácticas tradicionales
- Desarrollar tecnologías que permitan conservar la biodiversidad; y proteger los entornos naturales de otras áreas de importancia cultural como son zonas de importancia arqueológica, histórica, artística y turística.

Las funciones de las Áreas Naturales Protegidas se pueden resumir en los siguientes conceptos de conservación:

- -De la biodiversidad
- -De los procesos naturales
- -Del suelo
- -De cuencas hídricas
- -De condiciones culturales
- -Creación de sitios para el desarrollo turístico
- -Creación de sitios para la educación ambiental
- -Para la declaración de un área natural protegida se requiere un estudio técnico justificativo, que lo realiza la SEMARNAT, con apoyo de otras entidades federales y estatales, organizaciones privadas y universidades. La zona deberá estar fundamentada en sus características biológicas y la vocación del uso del suelo, tomando en consideración los aspectos sociales, la ubicación de las poblaciones y las actividades económicas.
- -Un estudio técnico justificativo deberá contar con los siguientes temas: información general, evaluación ambiental, diagnóstico del área y propuesta de manejo. (Yañes, 2007).

Los Cerros el Culiacán y la Gavia, se declararon como Área Natural Protegida (ANP) en la categoría de Área de Uso Sustentable. Se entiende por Área de Uso Sustentable, una zona natural protegida de jurisdicción estatal que tiene como objetivo producir bienes y servicios que respondan a las necesidades económicas, sociales y culturales de la población, con base en el aprovechamiento sustentable de usos compatibles (IEE, 2015).

Esta ANP comprende parte de los municipios de Celaya, Cortazar, Jaral del Progreso y Salvatierra; tiene una superficie de 32, 661.537 hectáreas. El área se manifiesta como una serie de valles intermontañosos, originados por el surgimiento de volcanes tipo escudo de gran tamaño, como lo son el Cerro el Culiacán (2,830.0 msnm) y la Gavia (2,550.0 msnm). El área incluye dos acuíferos; los climas representativos del área son: templado del tipo semicálido subhúmedo en planicies, con

rango de temperatura 18 °C y 22 °C y templado subhúmedo en las partes altas (IEE, 2015). En la figura 1 se muestra la ubicación del ANP.

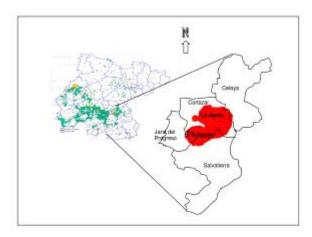


Figura 1. Localización del ANP en el estado de Guanajuato.

Las bacterias promotoras del crecimiento de plantas son un grupo de bacterias que habitan en la raíz de las plantas y suelo adherido a esta, este espacio es conocido como rizósfera (Cassán. et al, 2009). Este grupo de bacterias proporcionan beneficios a las plantas a través de varios mecanismos: fijación de N₂, producción de fitohormonas, solubilización de fosfatos, síntesis de enzimas como la ACC desaminasa que reduce los niveles de etileno, control biológico, producción de sideróforos, antibióticos, activación de la respuesta sistémica inducida y producción de enzimas líticas (Glick 1995).

Los productos generados por los diversos mecanismos, tienen en la planta efectos directos e indirectos en el desarrollo y crecimiento, como es: mejora en germinación, mayor desarrollo de la raíz, tallos, hojas y frutos o defensa contra organismos fitopatógenos (Glick, 1995, Dobbelaere et al., 2003; Esquivel-Cote et al., 2013).

El uso de las rizobacterias en plantas de importancia agronómica ha resultado en una alternativa importante a los sistemas de producción con un consumo alto de fertilizantes y agroquímicos (Martínez-Romero, et al., 2013), sin embargo, trabajos de investigación y monitoreo de uso para plantas de importancia forestal o para recuperación y conservación de ANP es mucho menor. En algunos de estos trabajos encontraron que, se han utilizado los beneficios de las rizobacterias para reforestación de zonas de desierto por su capacidad para fijar nitrógeno se ha utilizado Azospirillum brasilence en plantas de cardón donde lograron mejora en el desarrollo de la planta y en la regeneración del suelo (Holguin. G. et al., 2003). Los géneros de Pseudomonas, Rhizobium, Bradyrhizobium, Azotobacter, aislados de la rizósfera de árboles de "tara" Caesalpinia spinosa se probaron con semillas de alfalfa (Medicago sativa), tara (Caesalpinia spinosa), pallar (Phaseolus lunatus) y frijol (Phaseolus vulgaris) y observaron que las cepas probadas incrementan la germinación de los cultivos mencionados (Ogata. K. et. al 2008). En otro trabajo se aislaron y evaluó el efecto de cepas de Anacardium excelsum, una especie arbórea nativa de bosques secos

del Centro y Suramérica. Los aislados de *Pseudomonas fluorecens*, *Pseudomonas putida* y *Bacillus licheniformis* se utilizaron para evaluar germinación y crecimiento de las plántulas de *Anacardium excelsum*, encontrando efectos positivos en ambos procesos (Barreto. D. et al., 2007). También se reporta efectividad en restauración de bosques probando rizobacterias promotoras de crecimiento en 11 especies nativas de los bosques de Jujuy, Argentina, se observó mejora desde la geminación, desarrollo, establecimiento en el sitio a recuperar y sanidad de planta (Lázzaro, M. et al., 2011).

En este trabajo se busca aislar bacterias de suelo a áreas naturales protegidas y emplear su potencial biotecnológico en el crecimiento de plantas.

PARTE EXPERIMENTAL

Muestreo de suelo

Para el muestreo del suelo se removió la capa de hojarasca, se tomaron muestras de suelo a una profundidad de 15 cm con influencia de raíces de tres árboles Mezquite (*Prosopis laevigata*), Encino (*Quercus deserticola*) y Ciruelillo (*Embothrium coccineum*) de la Zona Natural Protegida del Cerro del Culiacán y la Gavia en la comunidad de las Cruces, del municipio de Salvatierra, con coordenadas de localización geográfica 200° 55′ 5″ latitud Norte, 100° 58′ 38″ longitud Oeste, con una altura promedio sobre el nivel del mar de 2160, llegando hasta 2830 msnm. El muestreo se realizó en el mes de junio del 2016, corresponde a temporada de lluvia.

Asilamiento de cepas con actividad de ACC dasaminasa

Para el aislamiento de las rizobacterias, las muestras de suelo se inocularon en el medio selectivo para actividad de ACC (1- ácido carboxílico, -1- aminociclopropano) desaminasa. Este medio de cultivo contiene por litro 4 g $\rm KH_2PO_4$, 6 g $\rm NaHPO_4$, 0.2 g $\rm MgSO_4$, 1 mg $\rm FeSO_4$, 10 $\rm \mu g$ $\rm H$, 10 $\rm \mu g$ $\rm MnSO_4$, 50 $\rm \mu g$ $\rm CuSO_4$, 10 $\rm \mu g$ $\rm MoO_3$, 70 $\rm \mu g$ $\rm ZnSO_4$, glucosa 0.2%, ácido glucónico 0.2%, agar bacteriológico al 2% y ACC 3mM (SIGMA) por Penrose y Glick, 2003. Se realizó tinción Gram para caracterizar los aislados.

Prueba de antagonismo de los aislados.

Con las 50 cepas seleccionadas se realizaron confrontaciones con tres hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Bipolaris sp* y *Alternaria sp* para evaluar la capacidad de control biológico de los aislados. Las pruebas de confrontación se realizaron en medio PDA, en el centro de la placa se colocó el inoculo del hongo y se dejó crecer por 48 horas, enseguida se colocó el inoculo de las cepas seleccionadas, cuatro en cada caja, se dejaron incubando por 48 horas a 28°C y se observó el efecto.

Prueba de germinación.

Se seleccionaron 50 cepas y se inocularon en 15 ml caldo de papa y se incubaron por 24 h a 28 °C, las semillas de lenteja y rábano (50) se colocaron en los 15 mL del cado con inoculo para cada cepa y se dejaron en agitación por 30 min, las semillas se retiraron del caldo con inoculo y se colocaron en placas de Petri estériles con papel humedecido, se incubaron por 48 h a 28 °C y se evaluó el porcentaje de germinación, desarrollo de la plántula y la longitud de la raíz.

Evaluación del efecto promotor en plantas.

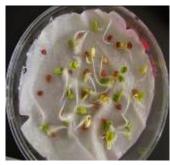
Se seleccionaron 19 cepas que presentaran mayor porcentaje de germinación en las pruebas realizadas para evaluar el desarrollo de la plántula de lenteja. Se inocularon en dos ocasiones con las cepas, desde la semilla y a una semana de emergencia de la plántula, con 10 réplicas para cada una. Transcurridos 17 días de la germinación se procedió a medir raíz y longitud de la planta y la biomasa.

RESULTADOS

Con las 50 cepas aisladas se realizaron varias pruebas con plantas y hongos fitopatógenos, muestra en la figura 2 A, las colonias de las bacterias en medio selectivo para actividad ACC desamiansa.



se de



El efecto directo en la promoción de crecimiento en plantas por las 50 cepas se determinó en semillas de lenteja, rábano y lechuga, la mayoría de las 50 cepas probadas presentaron una mejora en el porcentaje de germinación comparado con el control semillas humedecidas solo con agua. Para las semillas de lenteja el control tuvo un 60% de germinación y con las cepas se llegó a un 92% con las cepas 112, 215 y 256; con rábano el control presentó 86% de germinación y con las cepas se llegó a un 100% con las cepas 123, 124, 205, 225, 255, 317, 318 y 322; con lechuga el control presentó 30% y con las cepas llego a 78% con las cepas 124, 202, 206 y 255. Además de mejorar el porcentaje de germinación, las semillas tratas con las cepas formaron radícula en menos tiempo, más larga y con abundante presencia de pelos radiculares, figura 2 B y C germinación de lenteja y rábano.

Se encontró que de las 50 cepas, 33 cepas tienen un efecto antagónico contra al menos un hongo fitopatógeno, 8 cepas tienen un efecto antagónico contra 2 hongos fitopatógenos y 4 cepas presentaron efecto contra 3 hongos, Figura 3 A y B.

En la evaluación del desarrollo de la planta, se probaron 19 cepas en el desarrollo de lenteja, se encontró que 18 cepas mejoraron en la cantidad de biomasa, longitud de raíz y follaje comparado con el control, Figura 4.



Figura 2. A placa con medio selectivo para bacterias con actividad de ACC desaminasa; B semillas germinadas de lenteja con uso de las cepas aisladas y C semillas germinadas de rábano.

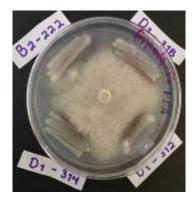




Figura 3. A confrontación de cepas y el hongo *Bipolaris past*o y B confrontación de las cepas y el hongo *Alternaria*.



Figura 4. Aplicación de las cepas a plantas de lenteja, se presentó mayor desarrollo de biomasa de raíz, tallos y foliar.

CONCLUSIONES

Los resultados presentados en este trabajo nos indican que es requerido ampliar el conocimiento de nuestras Áreas Naturales Protegidas desde el punto de vista de diversidad microbiana, así como su potencial como estrategia biotecnológica para recuperación y preservación de los sitios denominados ANP y otros como mejora en la producción vegetal de otras plantas de interés agronómico y base de la alimentación.

Los resultados obtenidos en este trabajo indican la mejora en el desarrollo vegetal al utilizar cepas nativas de suelos de Ares Naturales Protegidas.

Se demostró la capacidad de las cepas a mejorar el porcentaje de germinación de las semillas, además de influenciar la arquitectura de la raíz, no solamente en una raíz más larga, también mayor formación de raíces secundarias y pelos radiculares.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Barreto, D., Valero, N., Muñoz, A. y Peralta, A. (2007). Efecto de microorganismos rizosféricos sobre germinación y crecimiento temprano *Anacardium excelsum*. Zonas Áridas. 11(1): 240-250.
- 2. Cassán, F., Perrig, D., Sgroy, V., Masciarelli, O., Penna, C. y Luna, V. (2009). *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). European Journal of Soil Biology, 45(1), 28 35.
- 3. Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., Okon, Y. (2003). Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Crit. Rev. Plant Sci. 22, 107-149.
- 4. Esquivel-Cote, Rosalba; Gavilanes-Ruiz, Mariana; Cruz-Ortega, Rocío; Huante, Pilar. (2013). Importancia Agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en Rizobacterias, Una Revisión. Revista Fitotecnía Mexicana, 36(3):251-258.
- 5. Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Can. J. Microbiol. 41:109-117.
- 6. Holguin, G., Bashan, Y., Puente, E., Carrillo, A., Bethlenfalvay, G., Rojas, A., Vázquez, P., Toledo, G., Bacilio Jiménez, M., Glick, B.R., González de Bashan, L., Lebsky, V., Moreno, M., Hernández, J.P. (2003). Promoción del crecimiento en plantas por bacterias de la rizosfera. Agricultura Técnica en México. 29(2): 201-211.
- 7. Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato. (2015). Actualización del Programa de Manejo del Área Natural Protegida "Cerros el Culiacán y la Gavia". Pp 46-86.
- 8. Lázzaro, M.E., Humano, C.A., Altamirano, F., Solís, J.M. (2011). Promoción del crecimiento con aplicación de PGPR en especies nativas destinadas a la producción en masas regulares o a la restauración de bosque nativo. Avancen en la producción vegetal y animal del Noa 2009-2011. 324-331.
- 9. Martínez-Romero, E., López-Guerrero, M.G., Ormeño-Orrillo, E., Morales, A.C. (2013). Manual teórico-práctico, Los Biofertilizantes y su uso en la Agricultura. SAGARPA-COFUPRO-UNAM. 15-22.
- Ogata, K., Arellano, C., Zúñiga, D. (2008). Efecto de diferentes bacterias aisladas de rizósfera de Caesalpina spinosa en la germinación de diferentes especies vegetales cultivados. Zonas Áridas. 12(1): 137-153.

DESARROLLO DE DOSEL DE ESPECIES FRUTÍCOLAS Y FORESTALES CON NUTRICIÓN ORGÁNICA Y MINERAL EN UN AGROECOSISTEMA AGROSILVOPASTORIL

Rosa Laura Rebolledo García, Andrés Rebolledo Martínez, Ana Lid del Angel Pérez, María Enriqueta López Vázquez y Casimiro Ordóñez Prado

INIFAP- Campo Experimental Cotaxtla

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias.

RESUMEN

Se determinó el dosel en diferentes especies frutícolas y forestales, con fertilización orgánica y mineral en un agroecosistema agrosilvopastoril. El experimento se estableció en Veracruz, México, en 2011, en bloques al azar en parcelas divididas. La parcela grande fue fertilización: orgánica y mineral; y la chica la especie: chicozapote, aguacate, mango, tamarindo, cedro, naranja, mamey, caoba y guanábana; con pasto. Se tomó altura, área de dosel, supervivencia, biomasa de pasto y observaciones de fauna silvestre. Resultados hasta 2016, muestran nula diferencia (p<0.05) en las interacciones y fertilización. En altura sobresalieron cedro, (4.8 m), caoba (3.6 m) y guanábana (3.6 m) (p<0.05) y en dosel, mango (7.0 m2), tamarindo (6.2 m2), cedro (5.5 m2) y guanábana (4.7 m2) (p<0.05). Se estimó una producción de 6.5 t de pasto por ha por año. Se tuvo 95% de supervivencia.

INTRODUCCIÓN

Los servicios ambientales son aquellos que obtenemos de nuestro entorno natural. En un esfuerzo por fomentar la generación de estos servicios y mientras se obtienen beneficios económicos y sociales, diferentes países han promovido los sistemas productivos que integran a más de un área del sector primario. Esto se ha logrado obtener con productores ganaderos de pequeña escala que integran materiales leñosos a sus sistemas productivos (Aguirre y Garret, 2008; Carranza y Ledesma, 2009; Lapetina, 2008; Rovira y Velazco, 2007).

Un elemento clave para un óptimo desarrollo de las especies vegetales es una nutrición adecuada. Una cantidad correcta de nitrógeno promueve el crecimiento vegetal, incrementa la relación biomasa/raíces y es esencial en la formación de frutos y granos (Molina, 2003). Dentro de las fuentes de fertilización, la mineral es la más común, sin embargo, los abonos orgánicos pueden satisfacer los requerimientos nutrimentales de los cultivos, manteniendo sus características de calidad (Rodríguez et al., 2009) y mejorando las características de los suelos (Nieto et al., 2002).

El objetivo de este trabajo es evaluar la respuesta de crecimiento de los árboles frutícolas y forestales, establecidos en un sistema agrosilvopastoril, a dos fuentes de nutrición.

PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo se localizó en el ejido Loma Iguana del municipio de La Antigua, Veracruz, México, a una latitud norte de 19°14'51.91" y una longitud oeste de 96°19'03.90". En esta región la temperatura

media es de 24.62° C con máxima promedio de 30.41° C y mínima de 19.4° C; con una humedad relativa acumulada de 86.06% (PRONAC-SIAP, *et al.*, 2012).

En octubre de 2011, se estableció un agroecosistema agrosilvopastoril en 1.5 ha, éste se integró por árboles frutales, árboles maderables y pasto Estrella africana (*Cynodon plectostachyus*). El experimento se estableció con un diseño de bloques al azar en parcelas divididas, donde la parcela grande fue fuente de fertilización con dos niveles: lombricomposta y mineral; mientras que la parcela chica fue especies de árboles con nueve niveles: chicozapote (*Manilkara zapota* L.), aguacate (*Persea americana* L.), mango (*Mangifera indica* L.), tamarindo (*Tamarindus indica* L.), cedro (*Cedrela odorata* L.), naranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore y Stearn), caoba (*Swietenia macrophylla* King) y guanábana (*Annona muricata* L.). Los árboles se plantaron en dos densidades (37 árboles ha⁻¹) y (74 árboles ha⁻¹); mientras que el pasto se estableció en toda la superficie disponible entre los árboles.

Se tomaron datos de altura y área de dosel en febrero de 2016 a todos los árboles. El porcentaje de supervivencia se tomó por cada especie. La determinación de biomasa de pasto se realizó tomando el pasto contenido en un metro cuadrado, mediante un muestreo sistemático. Además se realizaron revisiones anuales, desde su establecimiento, en los que se observó la presencia de fauna silvestre.

El análisis estadístico se hizo con el PROC MIXED de SAS considerando el desbalance en el número de árboles por cada especie en las diferentes fertilizaciones, los efectos de bloque y la interacción de bloques con fertilización son considerados como aleatorios, entonces el efecto de la fertilización y el efecto de especies son considerados como efectos fijos. Las comparaciones de promedios se calcularon con el ajuste para Tukey-Cramer (SAS 1999).

No se consideró la variable densidad, debido a que la etapa de desarrollo que tienen los árboles no es la adecuada para tener resultados.

RESULTADOS

Resultados hasta 2016, muestran nula diferencia (p<0.05) en las interacciones y fertilización. En altura sobresalieron cedro, (4.8 m), caoba (3.6 m) y guanábana (3.6 m) (p<0.05) y en dosel, mango (7.0 m²), tamarindo (6.2 m²), cedro (5.5 m²) y guanábana (4.7 m²) (p<0.05). Se estimó una producción de 6.5 t de pasto por ha por año. Se tuvo 95% de supervivencia.

Cuadro 1. Valores de F de las variables respuesta.

Variables	Fuente fertiliza	de ción (Ff)	Especie	(Sp)	Interac (Ff*Sp		CV (%)
Altura (cm)	0.47	NS	16.47	*	1.21	NS	31.98
Crecimiento (cm)	0.15	NS	17.14	*	1.35	NS	47.15
Área de dosel (cm²)	0.01	NS	11.37	*	1.73	NS	91.20

NS: diferencia estadística no significativa (α =0.05); *: diferencia estadística significativa; CV: Coeficiente de variación.

Cuadro 2. Comparación de medias en base a la especie.

Especie	Altura (m)		Área de	Área de dosel (m²)		
Cedro	4.85	а	5.50	а		
Caoba	3.64	а	1.35	С		
Guanábana	3.56	а	4.71	а		
Tamarindo	3.50	b	6.17	а		
Mango	3.11	b	7.05	а		

Naranja	2.17	С	1.75	b	
Aguacate	2.00	С	1.61	b	
Chicozapote	1.78	d	0.76	С	
Mamey	1.65	d	0.61	d	

Letras distintas en cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey-Cramer, α =0.05).

Cuadro 3. Supervivencia de especies después de cinco años de establecimiento.

Especie	Árboles establecidos	Árboles muertos	Supervivencia (%)
Cedro	6	0	100.00
Naranja	12	0	100.00
Mamey	10	0	100.00
Caoba	6	0	100.00
Guanábana	6	0	100.00
Chicozapote	32	1	96.88
Tamarindo	12	1	91.67
Aguacate	6	1	83.33
Mango	12	2	83.33

Durante los años monitoreados se encontraron en el dosel de los árboles, iguanas, mariposas, abejas, y nidos de colibrís. También se observaron liebres entre el pastizal convirtiéndolo no solo en fuente de alimento para el ganado si no como parte de un servicio de protección para pequeñas especies de animales.

CONCLUSIONES

Se concluye que el uso de lombricomposta es una buena opción para incrementar el crecimiento de los árboles frutales y maderables evaluados.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Aguirre J, Garret A. 2008. Guía de modelos agroforestales para el Uruguay. Montevideo: MGAP. 37p.
- Carranza CA, Ledesma MN. 2009. Bases para el manejo de sistemas silvopastoriles [En línea]. En: Actas del XIII Congreso Forestal Mundial Argentina; 18 23 Octubre; Buenos Aires, Argentina. 9p. Consultado 26 febrero 2015. Disponible en: http://ecaths1.s3.amazonaws.com/forrajicultura/ManejoSistemasSilvopastoriles.pdf.
- 3. Lapetina J. 2008. Sombra, abrigo y más: Incorporación de áreas arboladas a la ganadería. Montevideo: Hemisferio Sur. 128p.
- 4. Molina E. 2003. Características y manejo de fertilizantes que contienen nitrógeno, fósforo potasio. In: Molina E. y G. Meléndez (eds.). Fertilizantes: Características y manejo. Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica y Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. Costa Rica.
- 5. Nieto G A, Murillo AB, Troyo DE, Larrinaga MJ, JL García H (2002) El uso de compostas como alternativa ecológica para la producción sostenible del chile (Capsicum annum L.) en zonas áridas. Interciencia 27(8): 417-421.
- 6. PRONAC-SIAP, INIFAP, SAGARPA. 2012. Red Nacional de Estaciones Estatales Agroclimáticas. Consultado el 11 de enero de 2013 en: http://clima.inifap.gob.mx/redclima/clima/historicos.aspx

- 7. Rodríguez DN, Cano RP, Figueroa VU, Favela CE, Moreno RA, Márquez HC, Ochoa ME, Preciado R (2009) Uso de abonos orgánicos en la producción de tomate en invernadero. Terra Latinoamericana 27: 319-327.
- 8. Rovira P, Velazco J. 2007. Sombra: buena para el ganado, mejor para el productor. Revista INIA, 13: 2 5.
- 9. SAS Institute Inc. 1999. Chapter 41 The Mixed Procedure. SAS/STAT® User's Guide, Version 8, Cary, NC, USA. p. 2083-2227.

ESTABLECIMIENTO in vitro DE ACHIOTE (Bixa orellana)

Adriana Mateos Rojas, Marina Guevara Valencia, Ma. Teresa González Arnao y Silvia Evangelista Ramírez.

Biotecnología y Criobiología vegetal. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Veracruzana.

Email: <u>iaq_mateos@hotmail.com</u>

RESUMEN

El achiote (Bixa orellana) es una especie botánica arborescente de las regiones intertropicales de América, es cultivado en Colombia, México y Perú. El cultivo del achiote ha tenido importancia desde épocas precolombinas debido a que se ha explotado con la finalidad de obtener una pasta que ha sido utilizada en la elaboración de condimentos, cosméticos, en rituales religiosos y medicamentos. Durante los últimos años los colorantes sintéticos se han relacionado con problemas carcinogénicos, además producen alergias y otros más dañan la piel; por estas razones se espera que estos sean reemplazados por colorantes naturales. El achiote posee colorantes naturales aislados a partir de las semillas el primero es conocido como annatto que es la denominación dada al extracto crudo, mientras que la Bixina, principal constituyente es la parte del colorante liposoluble y la Norbixina la parte hidrosoluble. Estos compuestos son considerados inocuos para la salud. Por lo anterior actualmente este colorante es de gran interés a nivel industrial, puede ser empleado en la industria alimentaria, de cosméticos y farmacéutica. Por lo anterior los ejidatarios del Sureste del Estado de Veracruz buscan rescatar este cultivo que tiene oportunidades promisorias y el objetivo de presente trabajo fue utilizar técnicas de cultivo in vitro, para consequir el saneamiento de lo explantes y a través de la micropropagación obtener vitroplantas de calidad. En este trabajo se emplearon plantas silvestres procedentes del sureste veracruzano y semillas empacadas en bolsas herméticas marca BADIA ®. Se ensayaron diferentes tratamientos de desinfección para el establecimiento in vitro de yemas axilares y apicales; como medio de cultivo se empleó la formulación de Murashige y Skoog (1962). Los resultados mostraron la necesidad de emplear combinación de tratamientos para conseguir el establecimiento del cultivo aséptico in vitro, el cual proporcionó un bajo índice de sobrevivencia atribuido a lo enérgico de los tratamientos. La germinación de las semillas ocurrió después de 30 días de cultivo con porcentaje de germinación bajos debido a semillas senescentes. Se obtuvieron plántulas de 3.5 cm de altura, con formación de tres pares de hoias las cuales fue posible micropropagar ensavando tres tratamientos empleando el mismo medio de cultivo adicionado con AIA, los mejores resultados se obtuvieron con 1.0 mgmL⁻¹.

INTRODUCCIÓN

La planta de achiote es un arbusto de la familia de las bixáceas, originario de la parte norte de América del sur, de donde ha sido llevado a diversos países tropicales y subtropicales de los hemisferios oriental y occidental. Los frutos son cápsulas globulares, de dos tapas cubiertas de suaves espinas, que contienen cada una de ellas unas 40 semillas, que son el objeto principal de su cultivo (Figura 1).

La cápsula está compuesta de 2 lóbulos o segmentos (Morrison, 1991). El fruto contiene un número variable de semillas, entre 20 y 55, la semilla es muy pequeña de 3.5 a 5 mm de longitud y está situada dentro de una placenta, siendo sostenida por un pedúnculo. La semilla tiene forma piramidal y está unida a la placenta por la parte más puntiaguda. En la parte más gruesa tienen

una mancha circular, color negro. La semilla a su vez tienen una hendidura o fisura en un solo lado, que va desde la parte más puntiaguda de la semilla hasta la mancha circular en la parte más gruesa (Hernández, 1988).





Figura 1. Cápsulas de achiote. a) Diferentes variedades y b) semillas [1,2]

El cultivo del achiote (*B. orellana*) es de gran importancia en varios ramos, tanto en la económica, ecológica, en la biodiversidad, cultural, alimentación y medicina naturista, entre otras. Sin mencionar que puede ser una alternativa eficiente para zonas desertificadas o con poca masa vegetativa, ya que este cultivo generalmente provee gran cantidad de materia orgánica al suelo, mejorando su fertilidad y creando hábitats para especies en variedad.

En México el cultivo del achiote se encuentra muy localizado, prácticamente está restringido a la península de Yucatán, sin embargo existen plantaciones en Quintana Roo, Tabasco y Yucatán.

MARCO TEÓRICO

Achiote (Bixa orellana)

La palabra achiote es una castellanización del náhuatl *achiotl*. La etimología del nombre binomial corresponde a Bixa por pertenecer a la familia botánica bixácea; Orellana, dedicado al explorador español Francisco de Orellana descubridor del rio amazonas (1490-1546). *Annatto* es un pigmento de color rojo de las semillas de *Bixa Orellana*, fue utilizado por los indígenas de América del Sur y por más de 100 años en Europa. Es un aditivo seguro para un gran número de alimentos por su origen natural (arroz, queso, bebidas, aceite, mantequilla, sopas). El uso inicial del achiote entre ciertas tribus nativas del sur de América fue para pintura y tatuaje del cuerpo, utilizado aun, para protegerse así de los insectos de la época, prácticamente todas las etnias indígenas amazónicas y centroamericanas están familiarizadas con su uso; también se utilizó para colorear textiles y cuero (León, 1987).

El cultivo del achiote ha cobrado gran interés comercial por el mercado internacional, presentándose como una alternativa en la sustitución de colorantes artificiales usados en productos alimenticios. La exclusión de muchos colorantes artificiales ha incrementado su valor comercial porque es un producto seguro, económico y fácil de usar y se considera el segundo colorante natural más importante mundialmente después del caramelo. Su importancia económica justifica la realización de estudios que permitan obtener materiales con características agronómicas importantes como una mayor producción de pigmentos, colores uniformes y cápsulas indehiscentes, entre otros. La demanda mundial de la semilla de achiote está influenciada por muchos factores, siendo el precio y la calidad (contenido de Bixina) los más importantes (Maximino, 1992).

También se le atribuyen muchas propiedades en la medicina tradicional: efectivo contra la disentería, diarrea, amigdalitis, para dolores pectorales, como estimulante, diurético, afrodisiaco y

laxante. Se ha demostrado que la raíz, la corteza de la raíz y extractos de las semillas ejercen una acción hipotensora antiespasmódica y antisecretora de jugo gástrico en rata y otros animales de laboratorio (Pérez, 2003). Contiene dos principios colorantes, uno de los cuales es la *bixina*-rojo-anaranjado, una sustancia algo cristalina de color rojo oscuro. El otro, que también es un elemento colorante, es la *nor- bixina* (orellina) – amarillo. La bixina y la norbixina al igual que todos los compuestos químicos coloreados, deben el tono rojo-amarillento a la presencia de cromóforos los cuales absorben luz de determinada longitud de onda dentro de la región del espectro visible, al absorber uno de los colores de la luz blanca transmiten el color complementario al absorbido. Contienen nueve cromóforos que absorben el color azul de la luz blanca, los cuales transmiten los colores complementarios rojo y amarillo. En concentraciones altas absorben la luz una combinación de azul y verde, transmitiendo casi totalmente el color complementario rojo (Devia, 2002).

Cultivo in vitro

El cultivo de tejidos vegetales o cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, es una técnica de reproducción en condiciones totalmente asépticas, en la que a partir de un pequeño segmento inicial de tejido es posible regenerar en poco tiempo miles o millones de plantas genéticamente iguales a la planta madre, esto se logra mediante la aplicación a un tejido vegetal de estímulos físicos y químicos controlados en un medio de cultivo. A diferencia de las técnicas tradicionales de cultivo, esta técnica biológica permite la propagación de gran des volúmenes de plantas en menor tiempo; así como el manejo de las mismas en espacios reducidos, (Roca y Mroginski, 1991).

Por otro lado, la técnica es de gran utilidad en la obtención de plantas libres de patógenos, la producción de plantas en peligro de extinción, estudios de ingeniería genética, etc.

El cultivo de tejidos involucra el crecimiento de células y tejidos *in vitro* en condiciones aséptica, la relativa homogeneidad de los cultivos y la facilidad con que las condiciones pueden estandarizarse (composición del medio de cultivo, parámetros nutricionales, niveles de reguladores de crecimiento, adición de inhibidores, etc.) ayuda a conseguir la reproducibilidad de los resultados. Las primeras investigaciones en cultivo de tejidos las realizó White en 1934. Después de esos primeros trabajos, las técnicas para el cultivo de tejidos y órganos se han utilizado de manera amplia en muchos laboratorios para la micropropagación masiva de plantas que tienen buenas características genéticas y agronómicas. Constituyendo en el presente una técnica estándar de investigación y propagación (Cousuelo, 2010).

La elección de un explante apropiado constituye el primer paso para el establecimiento de los cultivos; en primera instancia dicha elección está determinada por el objetivo perseguido y la especie vegetal utilizada. El tamaño del explante es otro aspecto que se debe tener en cuenta para el establecimiento de los cultivos; cuando más grande sea, mayores son las posibilidades de obtener proliferación callosa, aunque ello trae mayores probabilidades de contaminación con microorganismos. Se ha demostrado que la edad fisiológica del explante es un factor importante en la formación de órganos, entre más joven, más fácil será su adaptación y respuesta al cultivo *in vitro*. El más usado para los procesos de propagación *in vitro* son las yemas apicales y axilares de las plantas (Mroginski, 1992).

Para que el cultivo de cualquier tejido vegetal prospere de la manera deseada, debe excluirse del mismo a cualquier tipo de organismo contaminante. Esto resulta particularmente difícil debido a que los medios para el cultivo de tejidos vegetales son muy ricos, y por lo general, con un alto contenido de carbohidratos, lo que los hace ideales para el desarrollo de, prácticamente cualquier microorganismo saprófito (Torres, 1999).

Las plantas tienen la capacidad de crecer continuamente, no todas sus células se dividen bajo condiciones normales, por lo que el crecimiento de una planta se debe a la presencia de un tipo especial de tejido que conserva siempre la capacidad de dividirse. A este tipo de tejido se le da el nombre de meristemo o tejido meristemático y está constituido por células pequeñas, no diferenciadas, con una alta relación núcleo/citoplasma, vacuolas muy pequeñas, paredes celulares delgadas y plastidios no diferenciados (proplastidios). Los meristemos se localizan únicamente en ciertas zonas o puntas de crecimiento de la planta como los ápices apicales, axilares, de la raíz, zona de cambium y felógeno (Badillo, 2009).

Se le llama micropropagación a la propagación asexual de plantas utilizando las aplicaciones más utilizadas de entre todas las técnicas que componen la llamada biotecnología vegetal, ello se debe a su enorme productividad al compararse con las técnicas tradicionales de propagación de plantas.

La micropropagación de cualquier especie vegetal consta de cinco etapas básicas, cada una de ellas fundamental para el éxito del sistema (Garciglia, 2009).

PARTE EXPERIMENTAL

Material biológico

Se emplearon yemas axilares y meristemos obtenidos de plantas silvestres procedentes del ejido de San Lorenzo Mexcalapa, perteneciente al Municipio de Moloacan, Ver. y semillas empacadas en bolsas herméticas marca BADIA ® (Figura 2).





Figura 2. Explantes empleados en cultivo in vitro de achiote

a) Duntas anicalas h) Camillas

Por tratarse de material vegetal silvestre, fue necesaria la aplicación de diversos protocolos de desinfección, hasta determinar la metodología que permitiera el establecimiento de explantes asépticos. En todos los casos se emplearon tijeras previamente lavadas y desinfectadas con alcohol para cortar las puntas de las plantas de achiote, y colocarlas inmediatamente en un frasco limpio con agua potable y jabón líquido, para eliminar los restos de material orgánico y de ésta forma transportarlas al laboratorio.

Al llegar al laboratorio, se eliminó la solución de jabón y se enjuagó la planta tres veces con agua destilada estéril. Este procedimiento se repitió durante todo los protocolos ensayados. Los tratamientos ensayados para la desinfección consistieron en sumergir los explantes en: 1). Etanol al 70% por 1 min y cloro comercial al 30% por 10 min; 2) Etanol al 70% por 1 min y cloro comercial al 30% por 20 min éstos procedimiento se realizaron dentro de cámara de flujo laminar (CFL).

Medios de cultivos

Se utilizó la formulación propuesta por Murashige y Skoog (1962), para establecer el cultivo aséptico y en el protocolo de organogénesis en el cultivo de yemas axilares y apicales; así como en el cultivo de semillas. El medio se complementó con 30 g de sacarosa, 2.5 g de phytagel y el pH se ajustó a 5.7. Todos los medios utilizados durante protocolo experimental, se esterilizaron en autoclave Marca FELISA, modelo FE399 por 15 minutos a 15 libras de presión. El área de cultivo utilizada en los protocolos experimentales siguientes utilizó un fotoperíodo de 16 h/luz a a 18 °C, con una intensidad luminosa de 40 000 lux.

Establecimiento del cultivo de yemas apicales y axilares

En CFL, en condiciones de absoluta esterilidad las plantas se seccionaron, desprendiendo las hojas con sumo cuidado, para evitar el daño mecánico. La extracción de las yemas se realizó utilizando pinzas y bisturí estériles y un Microscopio estereoscópico marca IROSCOPE, modelo SDZ-plit con un aumento de (4x). Una vez obtenido el explante se realizó la siembra depositándolo sobre la parte central del medio inclinado de Murashige y Skoog (MS) contenido en tubos de ensayo de 20x1.5 cm que contenían 7 mL de medio de cultivo. Los tubos se mantuvieron en las condiciones de incubación antes descritas. Se cultivaron un total de 50 muestras; el cultivo se evalúo cada tercer día de establecido evaluando el tratamiento de desinfección y la capacidad con regeneración de plántulas.

Cultivo de las semillas

Se prepararon frascos de 50X100 mm con 15 mL de medio MS, se esterilizó en las condiciones señaladas. Considerando que las semillas se encontraban en un recipiente sellado al vacío no se aplicó ningún tratamiento de desinfección. En CFL, utilizando pinzas estériles, las semillas se colocaron sobre papel filtro estéril para facilitar su manipulación y posterior siembra. En una distribución completamente al azar, se sembraron cuatro semillas equidistantes en cada frasco con 10 réplicas. Los recipientes fueron sellados cuidadosamente. Enseguida se transfirieron a la sala de incubación en las condiciones especificadas. Con el objetivo de determinar la capacidad de germinación, se realizaron observaciones por cada semana durante 30 días de cultivo para evaluar el número de semillas germinadas. Se realizó una variante, dejando por lo menos la mitad de los frascos sembrados durante dos semanas en la oscuridad y posteriormente reintegrarlas al ciclo de iluminación.

Micropropagación

Se utilizó el medio de MS adicionado con ácido indol acético (AIA) en las siguientes concentraciones: 1) 0.3 mgmL, 2). 0.5 mgmL, 3) 1 mgmL y 4) un tratamiento testigo libre de hormona de crecimiento.

Las vitroplantas fueron seccionadas en CFL en condiciones de esterilidad, en tres fracciones conservando cada una un par de hojas. En cada frasco de cultivo en forma equidistante se sembraron cuatro explantes, con diez repeticiones por tratamiento.

RESULTADOS

Establecimiento del cultivo de yemas apicales y axilares

Por los severos problemas de contaminación y ante los resultados negativos obtenidos con los tratamientos propuestos, se decidió realizar un tratamiento previo a a las plantas de achiote utilizando una solución de 0.500 mg de Agri-Gent Plus 800 PH®, (sulfato de gentamicina y clorhidrato de oxitetraciclina) con 0.500 mg Prozycar® (carbendazim) en 500 mL de agua potable; esta solución se debe preparar al momento de realizar el saneamiento utilizando un atomizador sobre la planta 24 h antes del corte de muestras. Posteriormente explantes se sumergieron en solución de Captan®50 PH durante 30 min, a continuación por 1 min en etanol al 70% y finalmente 20 min en cloro comercial al 30%.

Una vez que se consiguió establecer el cultivo libre de contaminación se procedió a realizar las réplicas para el establecimiento del cultivo de meristemos y yemas axilares. Si bien se evitó la contaminación, el tratamiento de desinfección resulto ser muy agresivo y los resultados obtenidos

en cuanto a sobrevivencia y desarrollo de los explantes fueron únicamente de un 7 %. Se observó el desarrollo de primordios foliares a 30 días de establecido el cultivo.

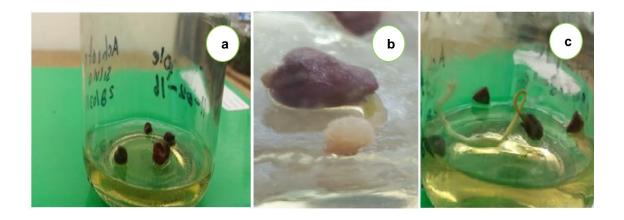


Figura 3. Germinación de la semilla. a) Ruptura de la testa, b) Salida de la radícula, c) crecimiento de la radícula.

Germinación de semillas

Respecto a las semillas no presentaron problemas de contaminación; la germinación ocurrió después de 30 días para que se lograra la ruptura de la testa e iniciara a salir la radícula, el desarrollo de la germinación es un proceso lento, relacionado con la naturaleza de la planta (Figura 3). Los estadios de la semilla de *B.orellana* se inicia con la emergencia de la radícula a través del pequeño canal que se localiza cerca del funículo, posteriormente después de 30 días se observan dos cotiledones; posteriormente aparecen los primordios foliares que se presentan opuestos.

En este experimento, el 50% de las semillas cultivas se mantuvieron en la oscuridad los primero 15 días, para posteriormente reintegrarse al fotoperiodo propuesto y el 50% restante se mantuvo al fotoperiodo indicado. Los resultados obtenidos después de 30 días de cultivo no mostraron una diferencia significativa entre las dos propuestas. Se obtuvo únicamente un 30% de germinación, lo que permite suponer que las semillas empleadas se encuentran en estado senescente.

Micropropagación

En la figura 4, se expresan los resultados obtenidos durante el procedimiento de micropropagación, es notable la diferencia en la respuesta obtenida con la adición de AIA en los tratamientos ensayados comparado con el testigo. El tratamiento donde se utilizó 1 mgmL⁻¹, es el que muestra mejores resultados al lograr a 30 días un promedio de crecimiento de las vitroplantas de 1.46 cm.

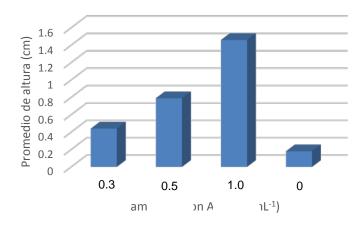


Figura 4. Evaluación del desarrollo de las vitroplantas de achiote micropropagadas.

CONCLUSIONES

La necesidad de la aplicación de tratamientos de desinfección tan enérgicos indicaron el alto grado de daño que presentaba el cultivo de la planta de achiote (*B. orellana*).

Mediante la combinación del pre tratamiento de saneamiento y el tratamiento de desinfección se logró el establecimiento del cultivo aséptico. Fue posible el establecimiento *in vitro* de yemas de achiote, no obstante los bajos porcentajes de sobrevivencia atribuidos a lo enérgico del tratamiento de desinfección.

La germinación de las semillas de achiote, mostró que el material utilizado era parcialmente senescente, fue necesario un periodo de 30 días para lograr la apertura de la testa y que surgiera la radícula. De las semillas germinadas se obtuvo plántulas de 3.5 cm de altura, con formación de tres pares de hojas las cuales fue posible micropropagar.

La adición de 1 mgmL⁻¹ de AIA al medio de cultivo permitió la micropropagación de las vitroplantas de achiote con un índice de crecimiento de 1.46 cm durante 30 días.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Badillo Corona Jesús Agustin, O. S. Cultivos de tejidos..2009.
- 2. Cousuelo, E.C. Aplicación del cultivo in vitro de tejidos vegetales en estudios de fitorremediación. Revista Real Academia Galega de Ciencias, 2010, págs. 77-87.

- 3. Devia, P. J. (2002). Planta piloto para obtener colorante de la semilla de achiote (Bixa orellana). *Revista Uniersidad*, pàgs. 8-22.
- 4. Garciglia, R. S. La propagación de plantas in vitro, un éxito biotecnológico, 2009, págs. 1-5.
- 5. Hernández T., T. A. Sistemas de produccion de ahiote en amazonia peruana. publicitaria unida,1988, 83 pp.
- 6. León, J. Bòtanica de los cultivos tropicales. San Josè, Costa Rica: IICA,1987.
- 7. Maximino, M. Las plantas medicinales de Mèxico. Mèxico: CECSA.1992, pág. pp.24.
- 8. Morrison EY, T. H. Extraction of an Hyperglycaemic Principle from the Annatto (Bixa orellana), a Medicinal Plant in the West Indies. Trop Geogr Med.,1991.
- 9. Mroginski, Luis. Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales in vitro. Colombia, 1992, págs. 48.
- 10. Perez, C. C. Uso de la medicina tradicional natural en pacientes diabéticas con afecciones podologicas . *Revista cubana de tecnologia y salud* , 2003, pàgs. 7.
- 11. Rocca William., & Mroginski, L. Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y Aplicaciones.1991.
- 12. Torres, A. cultura de tejidos y transformación genètica de plantas. Brasil, 1999,pag.83

Referencias electrónicas

- 1. https://es.dreamstime.com/imagenes-de-archivo-detalle-del-rbol-del-achioteimage17880974
- 2. urologiaperuana.blogspot.com

EFECTO DEL METODO DE ATURDIMIENTO SOBRE PARAMETROS GASOMETRICOS EN CONEJOS

Berenice Sánchez Mendoza, Flores Villalva Susana, Rodríguez Hernández Elba, Contreras Contreras Elsa Angelica, Yissel S. Valdés García.

INIFAP-CENID FyMA, sanchez.berenice@inifap.gob.mx.

Universidad Autónoma de Nayarit.

RESUMEN

En los animales destinados a consumo humano, algunos estímulos estresantes son, la manipulación antes y durante el transporte, restricciones de agua o alimento, cambios de temperatura, etc. El estrés genera una serie de alteraciones fisiológicas que el animal tratará de equilibrar dando como resultado, pérdida de peso, bajo rendimiento de la canal, disfunción inmunológica y características no deseables como carne PSE y DFD (Mota et. al 2005). El requerimiento de cualquier método de insensibilización es que debe ser instantáneo y persistir hasta que el animal pierda sus funciones vitales. Con el objetivo de evaluar el estrés causado por el aturdimiento o insensibilización (NOM-033-ZOO-1995) se midió el desequilibrio ácido-base, metabolismo energético y gasometría sanguínea, en 12 conejos (6 machos y 6 hembras) utilizando un analizador de parámetros críticos (GEM premier 3000 I. L Diagnostics Italia). Los parámetros medidos fueron: lactato, glucosa, pH, hematocrito, bicarbonato, exceso de base, Ca²⁺, K⁺, Na⁺, PCO₂, PO₂. Se realizaron 2 muestreos sanguíneos, uno basal 72 horas previas al sacrificio y el segundo durante la insensibilización. Los niveles basales de temperatura corporal, pH sanguíneo, lactato, glucosa, Ca²⁺, K⁺, Na⁺ y Bicarbonato fueron similares entre machos y hembras, además de estar dentro de los rangos de referencia. Sin embargo en el momento del insensibilizado las hembras presentaron valores elevados en la temperatura corporal, lactato, glucosa, hematocrito, lo cual puede ser atribuido a estrés durante la perdida de las funciones vitales, sin embargo los machos presentaron niveles bajos de estos parámetros. El estrés causado durante el sacrificio genero alteraciones fisiológicas, las cuales hacen necesaria la búsqueda de métodos de insensibilización más adecuados.

INTRODUCCIÓN

La investigación científica ha demostrado que los animales de sangre caliente, sienten dolor y miedo, en particular los mamíferos, incluyendo los destinados a la producción de alimentos tienen una estructura cerebral que les permite sentir temor y dolor, los cuales son causas de estrés el cual afecta la calidad de la carne. El dolor generalmente es la consecuencia de una lesión o del maltrato, que a su vez influye en la calidad de la carne de los animales afectados (Grandin, 2001).

La exposición a un estímulo estresante puede durar pocos segundos hasta días o semanas y los efectos del estrés sobre el sistema endocrino son dependientes del tiempo de exposición. En los animales de producción algunos estímulos estresantes son: manejo antes y durante el transporte, restricción de agua y alimento, temperaturas extremas, ruidos, olores etc. El estrés crónico genera una serie de alteraciones fisiológicas que el animal tratará de equilibrar dando como resultado la pérdida de peso, bajo rendimiento de la canal, disfunción inmunológica y ciertas características de la canal como carne pálida, suave y exudativa (PSE) y carne oscura, firme y seca (DFD). (Mota et. al 2005). Algunos electrolitos que se ven alterados durante el estrés crónico son: (HCO₃-), (pCO₂), lactato, Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, Cl⁻ un desequilibrio ocasionaría una acidosis que modificaría el pH sanguíneo.

El objetivo de la insensibilización o noqueo, es que el animal pierda en forma inmediata la conciencia, y que persista para así evitar cualquier sufrimiento innecesario, además para lograr una inmovilización correcta del animal y así facilitar el corte de los vasos sanguíneos para producir un sangrado adecuado (Alarcón et al., 2006).

Los métodos de noqueo eléctrico, usados a escala industrial en porcinos y ovinos, son efectivos e inducen instantáneamente la insensibilidad. Swatland (1984), llegaron a la conclusión que el aturdimiento eléctrico es indoloro ya que los animales no anticipan dolor tras recibir un estímulo visual que han aprendido a asociar con el aturdimiento.

El sistema nervioso central de un animal vivo mantiene un equilibrio entre los sistema nervioso excitador e inhibidor, los métodos de aturdimientos algunas veces producen e la carne hemorragias que pueden ser pequeñas y obscuras (petequiales o puntiformes) o difusas (equimosis). Ambas alteraciones pueden ser causadas por la ruptura de capilares con elevada presión sanguínea o por una contracción muscular muy violenta que puede ser causada por una corriente de alta frecuencia un corto lapso entre aturdimiento y desangrado (Swatland, 1984).

Por ello el objetivo del estudio fue evaluar el estrés causado por el aturdimiento o insensibilización sobre parámetros gasométricos en conejos.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 12 conejos con un peso vivo promedio de 1.5 kg distribuidos aleatoriamente en dos tratamientos (seis machos y seis hembras, por tratamiento), todos los animales fueron alojados en jaulas individuales y recibieron un alimento comercial para conejos (PC, 15.50%, Grasa 2%, Fibra 15%, Humedad, 12%, Cenizas 9%, ELN, 46.50%, Calcio 1%, Fósforo 0.55%), y agua ad libitum durante 5 semanas. Los conejos fueron sacrificados por la técnica de desnucamiento de acuerdo a la NOM-033-ZOO-1995. Se midió el desequilibrio ácido-base, metabolismo energético y gasometría sanguínea, utilizando un analizador de parámetros críticos (GEM premier 3000 I. L Diagnostics Italia). Los parámetros medidos fueron: lactato, glucosa, pH, hematocrito, bicarbonato, exceso de base, Ca²+, K+, Na+, PCO₂, PO₂. Se realizaron 2 muestreos sanguíneos, uno basal 72 horas previas al sacrificio y el segundo durante la insensibilización. Se colectaron 150 ml de sangre en tubos capilares especializados que contenían heparina de litio que impide la contaminación de los gases del ambiente con los de la muestra. Una vez colectada la muestra se homogenizo y se introdujo en el analizador GEM PREMIER 3000.

RESULTADOS

Los niveles básales de temperatura para machos y hembras se mantuvieron en dentro de los parámetros de referencia. Sin embargo la temperatura registrada al momento del degüelle (cuadro 1) en hembras tuvo un valor más alto (42° C) en comparación a la temperatura de referencia, esto debido a un posible estrés en el momento del sacrificio, ya que durante el estrés, la liberación de catecolaminas provoca un incremento agudo de la frecuencia cardiaca y de la presión sanguínea, lo cual incrementa la temperatura del animal (Ramos, 2005).

Cuadro 1. Gasometría sanguínea en conejos

Parámetro	Referencia	Basal Machos	Post-Sacrificio	Basal Machos	Post-Sacrificio Hembras
			Hembras		Tiombiad
Temperatura °C	38.5 - 40.0	39.00 ± 0.20	40.05 ± 0.27	39.10 ± 0.9	42.00 ± 0.95
pH sanguíneo	7.38 – 7.55	7.50 ± 0.01	7.33 ± 0.01	7.45 ± 0.02	7.17 ± 0.06
Glucosa (mg/dL)	125-145	124.00 ± 5.30	120.50 ± 5.52	125.50 ± 1.99	127.00 ± 5.20
Lactato		27.00 ± 4.20	79.50 ± 12.90	30.00 ± 4.80	103.00 ± 14.53
Htc %	42.5 – 40.8	39.00 ± 1.91	36.50 ± 1.70	42.00 ± 0.34	41.00 ± 2.80
pCO ₂ (mmHg)		31.50 ± 1.01	43.00 ± 2.27	32.00 ± 1.50	44.00 ± 8.01
pO ₂ (mmHg)		67.00 ± 3.15	30.00 ± 1.40	59.50 ± 1.62	22.00 ± 3.80
Na ⁺		138.00 ± 0.50	143.00 ± 1.32	137.50 ± 0.79	144.00 ± 1.56
K ⁺		5.45 ± 0.39	7.55 ± 0.59	5.50 ± 0.28	7.20 ± 1.20
Ca ⁺⁺		1.57 ± 0.54	1.69 ± 0.04	1.50 ± 0.01	1.69 ± 0.05
HCO ₃		23.45 ± 1.25	23.25 ± 1.08	23.20 ± 0.68	19.90 ± 1.30
THbc (g/dL)	11.6 – 14.8	12.10 ± 0.58	11.35 ± 0.56	13.00 ± 0.10	12.70 ± 0.86

Htc: hematocrito; pCO₂: presión parcial de bióxido de carbono; pO₂: presión parcial de oxígeno Na⁺: Sodio; K⁺: Potasio; Ca⁺⁺: Calcio; HCO₃: Bicarbonato; THbc: Hemoglobina Total.

El pH para machos, presentó valores dentro del rango de referencia. En el caso de las hembras, mostraron un ligero descenso del pH, posiblemente a causa de un incremento de lactato durante el sacrificio. La disminución del pH es determinada por las condiciones fisiológicas de los músculos por el tiempo de imposición y esto puede ser relacionado con la producción de lactato, para ser más específicos, la capacidad del músculo para producir energía en forma de ATP a partir de la glicólisis aeróbica (Hulot y Ouhayoun, 1999), esto varia por el tipo y el tiempo que se somete al animal en periodo de estrés antes del sacrificio (Gallo 2003).

La glucosa para machos y hembras no tuvo cambios como otras constantes fisiológicas.

El lactato fue la variable que presentó un incremento más notorio en comparación a todas las constantes fisiológicas y este incremento fue más evidente en el caso de las hembras, esto debido a que la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) aumenta en el torrente sanguíneo cuando existe un daño celular, aunque también aumenta sin que se produzca una rotura de fibras musculares, cuando el animal está sometido a un fuerte estrés (Parker et. al, 2003).

El hematocrito presento porcentajes a similares a los de referencia, esto se debe a que los animales no se encontraban deshidratados, el hematocrito, la concentración total de proteínas, albúminas y el cociente entre las albúminas y globulinas son utilizadas como medidas de deshidratación, cuando no hay pérdida o ganancia de células se puede medir el volumen de plasma. Sin embargo, la mayoría de las especies presentan un reservorio de glóbulos rojos en el bazo, que son rápidamente liberados al torrente sanguíneo en respuesta a una situación estresante (Mota et al., 2005; Parker et. al, 2003).

La pCO₂ que trata el aire inspirado y la sangre venosa mezclada muestran que los conejos presentaron una ligera acidosis respiratoria al momento del sacrificio, esto porque, algunos electrolitos se ven alterados durante el estrés crónico como son: (HCO₃⁻), (pCO₂), Lactato, Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, Cl⁻ estos causan un desequilibrio que ocasionaría una acidosis que modificaría el pH sanguíneo (Parker *et. al.* 2003).

CONCLUSIONES

Aun es necesario valorar ampliamente los indicadores fisiológicos de estrés durante el sacrificio, ya que durante nuestra investigación fueron evidentes diversas alteraciones fisiológicas, las cuales sugieren que se requiere de métodos de insensibilización más adecuados.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Alarcón R A D., Gamboa A J G, Rodríguez A FA., Grado A J A., Janacua V H. 2006. Efecto de variables críticas del sacrificio sobre las propiedades fisicoquímicas de la carne de cerdo. Téc Pecu Méx; 44(1):53-66.
- 2. Hulot F. Ouhayoun J. 1999. Muscular pH and related traits in rabbits: a review. World Rabbit Sci.
- 3. Gallo, C., Teuber, C., Cartes, M. 2003. Mejoras en la insensibilización de bovinos con pistola neumática de proyectil retenido tras cambios de equipamiento y capacitación del personal. Arch. Med. vet., dic. Vol.35, no.2, p.159-170. ISSN 0301-732X.
- 4. Grandin T, Ph.D. Depto. de Ciencia Animal, Colorado State University, Fort Collins, Colorado. 1996. Presentado en la XXIX Conferencia Anual de la Asociación

- Norteamericana de Profesionales del Bovino. Publicado en: American Association of Bovine Practitioners, *Proceedings*, págs. 22-26.
- Mota-Rojas D., M. Becerril, C. Lemus, P. Sanchez, M. González, S.A. Olmos, R. Ramírez, M. Alonso-Spilsbury. 2005. Effects of mid-summer transport duration on pre- and postslaughter performance and pork quality in Mexico.
- 6. Norma Oficial Mexicana. NOM-033-ZOO-1995. Sacrificio Humanitario de los animales domésticos y silvestres.
- 7. Parker AJ, G. P. Hamlin, C. J. Coleman, and L. A. Fitzpatrick. 2003. Quantitative analysis of acid-base balance in *Bos indicus* steers subjected to transportation of long duration J. Anim. Sci.
- 8. Ramos Hernández AJ. 2005. Efecto del método de congelamiento sobre las características fisicoquímicas y organolépticas de la carne de pechuga de pollo. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias. Universidad de puerto rico recinto universitario de Mayagüez.
- 9. Swatland, H.J. 1999. Estructura y desarrollo de los animales de abasto. España, ED. Acribia, primera edición. 421 423pp.

PRODUCCIÓN DE LACASA EXTRACELULAR DE CEPAS SILVESTRES DE Trametes versicolor Y Ganoderma curtisii EN PRESENCIA DE RASTROJO DE MAÍZ

Yveet Sierra-Aguilar, José Herrera-Camacho, Ma. Soledad Vázquez-Garcidueñas, Gerardo Vázquez-Marrufo

Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales

División de Estudios de Posgrado, Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez".

Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Michoacán, México. gyazquezmarrufo@yahoo.com.mx

RESUMEN

Los hongos basidiomicetos producen enzimas extracelulares responsables de la degradación de la lignina presente en la pared celular vegetal. Una de dichas enzimas es la lacasa, que tiene amplias aplicaciones biotecnológicas debido a su capacidad para procesar gran variedad de sustratos fenólicos. En el presente trabajo se evaluó la actividad de lacasa extracelular de cepas silvestres de las especies de hongos basidiomicetos *Trametes versicolor* (CMU-TA01) y *Ganoderma curtisii* (CMU-02/13). Las cepas se incubaron durante siete días a 28 °C en agua desionizada con rastrojo de maíz al 12.5% p/v (RB) y en caldo de papa dextrosa basal (PDB). La actividad de lacasa extracelular se determinó espectrofotométricamente en los filtrados del medio de cultivo, empleando ABTS como sustrato. La máxima actividad de lacasa de *T. versicolor* en medio PDB fue de 167.12 (± 23.9) U ml⁻¹ en el tercer día de incubación y RB fue de 3589.81 (± 457.31) U ml⁻¹ al quinto día. *G. curtisii* inoculado en medio PDB presentó baja actividad de lacasa (0.23 U ml⁻¹± 0.3), sin diferencias significativas entre días de incubación (P>0.05) y en medio RB mostró una actividad máxima de 313.42 (±54.43) Uml⁻¹ al quinto día de incubación. En conclusión, las cepas estudiadas muestran diferencias cualitativas y cuantitativas en la actividad de lacasa extracelular, siendo el rastrojo de maíz un sustrato apropiado para su inducción en ambos casos.

INTRODUCCIÓN

En México, el mayor volumen de residuos de cosecha se obtiene de los cereales. Actualmente hay una producción de granos de 36.7 toneladas al año, entre los que el maíz figura como uno de los cultivos más importantes del país con 23.2 millones de toneladas al año, lo que corresponde a la misma cantidad obtenida y disponible del residuo de esta cosecha, el cual puede ser utilizado como rastrojo en la alimentación de rumiantes (SIAP, 2014; Wortmann *et al.*, 2012). Actualmente se ha evaluado el uso de los componentes de la biomasa lignocelulósica (celulosa, hemicelulosa y lignina) que forman parte de la pared celular vegetal (Sun *et al.*, 2011), de los cuales se pueden

obtener bioproductos o biocombustibles como el etanol o butanol, contribuyendo así a reducir la contaminación ambiental (Zang *et al.*, 2006).

La lignina constituye la estructura más recalcitrante para su degradación dentro del complejo lignocelulósico. La degradación de dicho polímero es esencial para dejar expuestos a los polímeros de celulosa y hemicelulosa con la finalidad de utilizarlos en la generación de biocombustibles y otras aplicaciones como la alimentación ruminal. Entre las estrategias que permiten la degradación de la lignina, se ha contemplado el uso de microorganismos, particularmente los hongos basidiomicetos de pudrición blanca que son capaces de producir enzimas extracelulares como la lacasa, lignin peroxidasa y manganeso peroxidasa, las cuales, además de ser las enzimas ligninolíticas principales, pueden degradar uan gran cantidad de compuestos orgánicos (Geng et al., 2014).

Las lacasas son enzimas multicobre oxidasas que catalizan la oxidación de sustratos aromáticos y no aromáticos, incluyendo aminas, ésteres, éteres, entre otros, usando oxígeno como aceptor de electrones. Esta enzima tiene amplias aplicaciones biotecnológicas y en procesos industriales, entre las que se incluyen la elaboración de alimentos, cosméticos, papel y textiles, así como la bioremedación suelos y el tratamiento de aguas residuales. Todas estas aplicaciones derivan de la baja especificidad por sustrato y la amplia gama de potenciales redox (Fan *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2014).

Entre los hongos basidiomicetos de pudrición blanca que son capaces de producir lacasas extracelulares se encuentran las especies de los géneros *Trametes y Ganoderma*. En estos géneros y otros grupos taxonómicos se ha observado que la expresión del sistema enzimático ligninolítico depende de factores como la estructura de la lignina que utilizan como sustrato, las condiciones de cultivo, la relación de las concentraciones carbono/nitrógeno, el tiempo de cultivo y la composición del medio, entre otros. Dada la gran variabilidad existente en la capacidad ligninolítica de las diferentes especies de hongos y aún entre cepas de la misma especie, resulta de suma importancia la búsqueda de nuevas especies y cepas de microorganismos capaces de ser empleados en procesos de delignificación (Santos y Linardi, 2004). En particular, cuando se trata de delignificar biomasa vegetal con fines de alimentación animal, la elección del tipo de sustrato (esquilmo de trigo, arroz, palma, etc.) y de la especie/cepa de hongo depende en gran medida de la región geográfica de interés, lo cual limita la disponibilidad de sustrato y define a la especie/cepa fúngica más adecuada (van Kuijk *et al.*, 2014).

Por lo anterior, en el presente trabajo se pretende cuantificar la actividad de lacasa extracelular de cepas de basidiomicetos silvestres de las especies *Trametes versicolor* y *Ganoderma curtisii*, en un sistema de fermentación en medio líquido empleando rastrojo de maíz como inductor y comparando su actividad cuando son cultivadas en medio basal de dextrosa y papa.

PARTE EXPERIMENTAL

Material biológico. Se emplearon dos cepas de hongos silvestres de las especies de basidiomicetes *Ganoderma curtisii* (cepa CMU-02/13) y *Trametes versicolor* (cepa CMU-TA01), las cuales se encuentran depositadas en el Cepario Michoacano Universitario (CMU) del Laboratorio de Conservación y Biotecnología Microbiana del Centro Multidisciplinario de Estudios en

Biotecnología (CMEB) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UMSNH, (Tarímbaro, Michoacán, México).

El sustrato que se utilizó como inductor de la actividad enzimática fue el rastrojo de maíz (*Zea mays*), de una variedad no identificada, obtenido de Pátzcuaro, Michoacán ubicado a 19° 30′ 59″ N. 101° 36′ 35″ W a una altitud de 2140 msnm.

Medios de cultivo. Como medio de cultivo sólido para el mantenimiento de las cepas y la generación de inóculos se utilizó agar papa dextrosa (medio PDA, Difco, USA). El medio de cultivo líquido basal utilizado fue el caldo de papa dextrosa (medio PDB, Difco, USA). En el medio empleado para la fermentación en líquido se utilizó rastrojo de maíz con un tamaño de partícula de ≤ 1mm al 12.5% (p/v) en agua destilada y suplementado con dextrosa al 0.5% (medio RB).

Obtención de inóculos. Se incubaron inóculos cilíndricos de 6 mm de diámetro con micelio activo en el centro de placas de Petri de 10 cm de diámetro con medio PDA, a 28°C durante 4 días para *T. versicolor* y 9 días para *G. curtisii*, tiempo en el que se tomaron inóculos cilíndricos de 6 mm de diámetro del borde de la colonia, los cuales se utilizaron en los ensayos de actividad enzimática en los medios PDB y RB.

Determinación de las actividades enzimáticas. La actividad de lacasa se determinó de acuerdo a Nagai *et al.*, (2002) midiendo la formación del radical catiónico de 2,20-azino-bis-3-ethilbenzotiazolina-6-sulfonato (ABTS⁺¹) utilizando 100 μL del medio extracelular a un pH de 4.0 para y un tiempo de incubación de 20 min a 30°C (ε_{420} = 36.0 mM⁻¹cm⁻¹). La actividad enzimática se determinó espectrofotométricamente en un equipo Nanodrop 2000c (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) a 420 nm utilizando un valor de ε de 36 M⁻¹cm⁻¹ para el ABTS

Diseño experimental y análisis estadístico. Fue un diseño factorial por triplicado, utilizando el paquete estadístico JMP 6.0.0 (© SAS Institute Inc., 2005). Se realizó un análisis con estadística descriptiva para conocer su media y la desviación estándar entre días de incubación. Se compararon los tratamientos con y sin rastrojo de cada hongo entre días mediante un análisis varianza (ANOVA) de una vía y posteriormente se sometieron a una comparación de medias con t de Student's

RESULTADOS

Al incubarse en medio PDB, *T. versicolor* presentó una actividad máxima de lacasa de 167.12 (± 23.9) U ml⁻¹ en el tercer día de incubación (figura 1a), mientras que *G. curtisii* no mostró niveles significativos de actividad, siendo la máxima medida de 0.23 (± 0.3) U ml⁻¹, sin diferencias significativas (P>0.05) durante todo el periodo de incubación (figura 1b). De manera contrastante, *T. versicolor* presentó una actividad máxima de lacasa de 3 589.81 (± 457.31) U ml⁻¹ en medio RB al quinto día (figura 1a), y *G. curtisii* una actividad máxima de 313.42 (± 54.43) U ml⁻¹ al quinto día de incubación (figura 1b). Así, se observa una inducción de la actividad enzimática de lacasa en medio con rastrojo de 1 362. 7 y 21.5 veces más en *G. curtisii* y *T. versicolor* respectivamente, en comparación con el medio PDB.

Se ha documentado que en la especie *Trametes hirsuta* la lacasa juega un rol principal en la delignificacion de rastrojo de maíz, teniendo el pico de actividad al día 7 en ensayos de fermentación en sustrato sólido (Sun *et al.*, 2011). También se ha observado que cuando *T. versicolor* crece en presencia de rastrojo de cebada en cultivo líquido, presenta una actividad máxima de lacasa de 60 U l⁻¹ al día 35 de incubación (Moldes *et al.*, 2004); así, la actividad detectada de rastrojo de maíz en el presente trabajo es significativamente más alta, en un tiempo de incubación más reducido. La baja actividad de lacasa en medio PDB puede indicar represión catabólica, o inhibición por algún componente del medio; en ese sentido, se ha documentado que la fuente de C tiene una influencia importante sobre la actividad de lacasa extracelular en *T. versicolor* y que dicho efecto depende de la cepa (Mikiashvili *et al.*, 2005). Por lo anterior, el efecto

de la fuente de C sobre la actividad de lacasa extracelular debe de ser evaluado de manera más detallada en la cepa aquí estudiada.

Para el caso de *G. curtisii*, en el presente trabajo se demuestra por primera vez la producción de lacasa extracelular, ya que no existen estudios previos de medición de dicha actividad enzimática en ninguna condición de cultivo para ésta especie. En la especie *G. lucidum*,

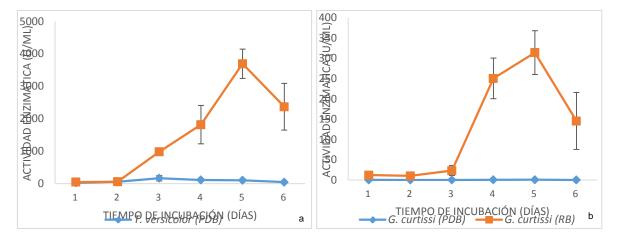


Figura 1. Actividad enzimática de lacasa en *Trametes versicolor* (a) y *Ganoderma curtisi* (b) en medio PDB y RB.

ha sido ampliamente estudiada la producción de enzimas ligninolíticas, documentándose la producción de dos isoenzimas de lacasa cuando se cultiva en presencia de rastrojo de trigo, con una actividad máxima de 181.4 (±4) U l¹ (Stajic *et al.,* 2010). También en este caso la actividad medida en este trabajo para *G. curtisii* es significativamente mayor a la de *G. lucidum* en condiciones de incubación de limitación de nutrientes. Por otra parte, se ha documentado que una cepa no identificada del género *Ganoderma*, disminuye significativamente el contenido de lignina del rastrojo de trigo, incrementando su valor nutricional y favoreciendo su digestión en cabras (Shrivastava *et al.*, 2012). Así, es posible que dada la alta actividad de lacasa, *G. curtisii* puede tener el mismo efecto sobre rastrojo de maíz, algo que tiene que ser evaluado con mas detalle a futuro.

CONCLUSIONES

Las cepas estudiadas muestran diferencias cualitativas y cuantitativas en la actividad de lacasa extracelular, siendo el rastrojo de maíz un sustrato apropiado para la inducción de esta enzima en ambos casos.

BIBLIOGRAFÍA

- B. Shrivastava, P. Nandal, A. Sharma, K. K. Jain, Y. P. Khasa, T. K. Das, V. Mani, N.J., Kundu, S.S. Kewalramani, R. C. Kuhad. Solid state bioconversion of wheat straw into digestible and nutritive ruminant feed by *Ganoderma sp.* rckk02. *Bioresource Tech.* Vol. 107, 2012, pp 347-351.
- 2. C. Galhaup and D. Haltrich. Enhanced formation of laccase activity by the white-rot fungus *Trametes pubescens* in the presence of copper. Appl. Microbiol. Biotechnol. 56, 1, 2001, pp 225-232.
- 3. D. Moldes, M. Lorenzo, M. A. SanrománDifferent proportions of laccase isoenzymes produced by submerged cultures of Trametes versicolor grown on lignocellulosic wastes. *Biotechnology Letters*, Vol. *26*, 4, 2004, pp 327-330.
- 4. F.H. Sun, J. Li, J., Y.X. Yuan, Z.Y. Yan, X.F. Liu. Effect of biological pretreatment with Trametes hirsuta yj9 on enzymatic hydrolysis of corn stover. Int. Biodeter. Biodegr, Vol. 65, 7, 2011, pp 931-938.

- 5. M. Nagai, T. Sato, H. Watanabe, K. Saito, M. Kawata, H. Enei. Purification and characterization of an extracellular laccase from the edible mushwoom *Lentinula edodes*, and decolorization of chemically different dyes. Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol. 60, 2002, pp 327-335.
- 6. M. Stajic, B. Kukavica, J. Vukojevic, J. Simonic, S. Veljovic-Jovanovic, S. Duletic-Lausevic. Wheat straw conversion by enzymatic system of *Ganoderma lucidum*. *BioResources*. Vol. 5,4, 2010, pp 2362-2373.
- 7. M.Y. Jang, W.R. Ryu, M.H. Cho. Laccase production from repeated batch lignocellulose degradation and secretome analysis of *Trametes trogii* MT. Int. Biodeterior. Biodegrad. Vol 75. 1. 2002. pp 55-62.
- 8. N. Mikiashvili, V. Elisashvili, S. Wasser, E. Nevo. Carbon and nitrogen sources influence the ligninolytic enzyme activity of *Trametes versicolor*. *Biotechno*. *Letters* Vol. 27, 13, 2005, pp 955-959.
- 9. Q. Zang, I. Jang, J. Lu, L. Hou, H. Jin, J. Pu. Research progress of alcoholic fermentation of corn stover. Sci. Technol. Food Ind. Vol. 10, 2006, pp 198-201.
- 10. S.C. Wortmann, R. N. Klein, C.A. Shapiro. Harvesting crop residues. (en línea), University of Nebraska. Consultado el 1 de junio 2016. Disponible en: http://www.ianrpubs.unl.edu/live/g1846/build/g1846.pdf. 2012.
- 11. S.J.A. van Kuijk, A.S.M. Sonnenberg, J.J.P. Baars, W. H. Hendriks, J.W. Cone. Fungal treated lignocellulosic biomass as ruminant feed ingredient: A review. Biotechnol. Adv. Vol 33, 1, 2014, pp 191-202.
- 12. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Cierre de la producción agrícola por estado. en línea. Consultado: 28 de junio de 2016. Disponible en: http://www.siap.gob.mx. 2014.
- 13. V. Santos and R. Linardi. Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents, identification and degradation potential. Process Biochem. Vol. 39, 2004, pp 1001-1006.
- 14. W.H. Geng, T. Huang, Y.C Jin, J.L Song, H.M. Chang, H. Jameel. Comparison of sodium carbonate—oxygen and sodium hydroxide—oxygen pretreatments on the chemical composition and enzymatic saccharification of wheat straw. Bioresour. Technol. Vol. 161, 1, 2014, pp 63-68.
- 15. X. Fan, Y. Zhou, Y. Xiao, Z.Y. Xu, Y.B. Bian. Cloning, expression and phylogenetic analyses of a divergente laccase multigene family in *Auricularia auricula-judae*. Microbiol. Res. Vol 169, 5-6, 2014, pp 453-462.
- 16. Y. Wu, D.L. Nian. Production optimization and molecular structure characterization of a new isolated novel laccase from Fusarium solani MAS2, an anthracene-degrading fungus. Int. Biodeterior. Biodegrad. Vol. 86, 1 part C, 2014, pp 382-389.

POTENCIAL FORESTAL DE ESPECIES MADERABLES DEL MATORRAL DEL NORESTE DE MEXICO

Rahim Foroughbakhch P., Maginot Ngasngyo Heya, Jorge Alberto Villarreal Garza y Artemio Carrillo Parra.

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas. ²Universidad Juarez del Estado de Durango, departamento de la tecnología de madera. E.mail: rahim.forough@gmail.com

RESUMEN

La actual crisis energética mundial ha generado el interés siempre creciente de buscar alternativas al uso de combustibles fósiles, presentándose los materiales lignocelulósicos y particularmente la madera, como un recurso prometedor para la producción sustentable de energía. Para ello se determinó el potencial forestal bioenergética con el fin de promover un aprovechamiento integral de recursos forestales. Se seleccionaron dos localidades: la primera localidad correspondió a plantaciones experimentales, establecidas con especies nativas del matorral de 30 años de edad, y la segunda abarcó áreas con una vegetación nativa que colinda con la primera. En ambas localidades se cuantificó la cobertura vegetal, la producción de biomasa, y el potencial bioenergético mediante la composición química (lignina y elementos inorgánicos), de acuerdo a estándares internacionales. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente con el programa SPSS y se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey. El volumen de madera aprovechable fue mayor en las plantaciones experimentales que en la vegetación nativa, siendo H. parvifolia (0.8287 m³/ha/año) y E. ebano (0.2740 m³/ha/año) las especies de mayor producción en comparación con H. pallens (0.1468 m³/ha/año), A. wrightii (0.1225 m³/ha/año) y A. berlandieri (0.1200 m³/ha/año). El matorral nativo presentó un potencial de 2.45 m³/ha. El poder calorífico osciló entre 17.56 y 18.61 MJ kg⁻¹ en troncos, 17.15 y 18.45 MJ kg⁻¹ en ramas, 17.35 y 19.36 MJ kg⁻¹ en hojas. La lignina presentó correlación moderadamente fuerte (r=0.66) con el poder calorífico.

INTRODUCCION

México o c u p a el décimo-primer lugar mundial en superficie forestal (Cruz-Contreras, 2012), con 70% del territorio nacional y el 26° lugar en producción forestal (SEMARNAT, 2012). Se estima en 126.6 millones de hectáreas su superficie forestal, de los cuales 25.8 mill. has de Bosque, 8.8 mill. has de Bosque con vegetación secundaria, 13.1 mill. has de Selvas, 21.2 mill. has de Selvas con vegetación secundaria y 57.6 mill. has de vegetación de zonas áridas (SEMARNAT, 2010, Rzedowski, 1991; INEGI, 1997; González, 2012). De estas comunidades, el matorral es el recurso más abundante e históricamente el más utilizado (García-Hernández y Jurado, 2008), cubriendo una extensión de 125,000 km² de la Planicie Costera del Golfo en el noreste de México y al extremo sur de Texas, EE.UU. (Ruiz, 2005). Estos tipos de vegetación ha sido proveedor de importantes productos vegetales (Rojas, 2013), que son utilizados para una gran diversidad de fines tales como la producción de forraje, leña, estantería, uso maderable, materiales para construcción, alimento humano y medicina tradicional; así como la extracción selectiva de especies (Foroughbakhch y Heiseke, 1990). Esta productividad tiene relación directa con la biomasa, que según Ledesma et al. (2010), es una variable fundamental de la estructura arbórea. Su estimación es un importante parámetro para la aplicación de modelos basados en el crecimiento de los árboles (West, 1987; Korol et al., 1991) y es necesario para estudios de producción de la vegetación, ciclo de nutrientes, hidrología, hábitat de fauna silvestre y comportamiento del fuego.

Por otra parte, se calcula que en la producción forestal maderable de un árbol, solo se aprovecha el 20%, y que el 40% es dejado en campo en las ramas, puntas y raíces, el restante 40% se desperdicia en la manufactura del proceso de aserrío, en forma de astillas, corteza y aserrín (Enciso, 2007). Estos residuos son una fuente potencial de materia prima para la generación de energía, ya sea bajo esquemas de manejo silvícola o subproductos de la industria de transformación (PNUMA, 2010). Por lo tanto, se considera que el manejo correcto de los bosques, de las plantaciones forestales y la utilización de los materiales provenientes de la industria maderera es una alternativa para producir materia prima que desarrolle biocombustibles (Goche-Télles *et al.*, 2015). En base a lo anterior, se planteó el siguiente objetivo de analizar y determinar el potencial forestal, forrajero y bioenergético de cinco especies maderables del matorral espinoso tamaulipeco que permitan evidenciar las ventajas ambientales y económicas derivadas del aprovechamiento como fuente de energía renovable en el noreste de México.

TEORIA

En el noreste de México, una amplia extensión del área se encuentra ocupada por matorrales que es una asociación de 60 a 80 especies vegetales, reconocidas por su altura baja, distribuidos en los estados de Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas. Existe una gran cantidad de matorrales con diversa composición y estructura. El matorral espinoso tamaulipeco es la comunidad dominante en la Planicie Costera del Golfo, y está presente en la porción Norte de México, en los estados de Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas, así como en el Sur de Texas. De acuerdo a Müeller (1947), el matorral espinoso tamaulipeco es un sistema ecológico de gran diversidad florística, con especies espinosas de porte alto. Según Heiseke (1984), este ecosistema constituye una fuente forrajera donde el pastoreo se ha practicado en forma extensiva desde hace 350 años.

Foroughbakhch y Heiseke (1990) mencionan que desde el punto de vista de la productividad y bajo los esquemas de aprovechamientos actuales, el matorral presenta un rendimiento muy bajo, lo cual constituye la causa principal de su degradación y destrucción en favor de terrenos agrícolas y praderas artificiales. Ellos realizaron un estudio acerca de la aplicación de métodos y técnicas de manejo silvícola del matorral con el fin de aumentar la producción forestal y pecuaria, manejando técnicas como el raleo, el enriquecimiento y regeneración controlada en una zona de matorral tamaulipeco.

Reíd *et al.* (1990) estudiaron la variación estructural y florística presente en el matorral espinoso tamaulipeco en el Noreste de México, llegando a la conclusión de que las variaciones regionales en clima, sustrato y topografía son las responsables de las principales diferencias en la vegetación, además encontraron evidencia de cambio en la vegetación a causa del sobrepastoreo, y no siendo así para el corte selectivo de especies maderables o combustibles.

Rodríguez (1994) realizó un estudio sobre la Fito diversidad de dos comunidades (perturbada y no perturbada) de matorral espinoso tamaulipeco en el municipio de Linares, N. L., reportando que la comunidad no perturbada (matorral alto) presenta características relativamente prístinas, con mayor diversidad, mayor dominancia a nivel específico y mayor complejidad estructural que la comunidad perturbada (matorral bajo), el cual se encuentra en un estadio sucesional anterior y con menor complejidad estructural.

Yerena-Yamallel *et al.*, (2011) indican la necesidad de realizar estudios de especies del Matorral Espinoso Tamaulipeco, para sentar las bases metodológicas para la medición e inventarización de variables como el contenido de carbono en estas especies, con el fin de proveer de alternativas futuras de generación de recursos económicos para los pobladores del Noreste de México.

La productividad forestal en la base de materia prima para las industrias de la construcción, embalajes, objetos varios (Ortuño, 1999). Siempre ha sido uno de los principales recursos naturales para el hombre y gracias a los progresos tecnológicos, sirve para muchísimos más usos. La industria química utiliza extensamente la madera como tal, a causa de sus propiedades físicas y mecánicas, para obtener muchos productos de gran valor (Campos Cisneros, 2007). A diferencia de la mayor parte de las materias primas, la madera es un recurso renovable, si se administra bien;

pero mal administrado, puede convertirse en un desastre ecológico. De este modo, se propuso la biomasa forestal como fuente de energía. Biomasa puede ser: virutas o aserrín de madera, producto de la limpieza de bosques o incluso de su explotación racional. Para usar la madera en la industria química del modo más eficaz, es preciso conocer las diferentes sustancias que la constituyen.

PARTE EXPERIMENTAL

Ubicación, clima y suelo

La zona de estudio se ubica dentro del Campus Universitario de la UANL, aproximadamente a 8 km al sur de la ciudad de Linares, N.L. (Fig. 1). Dicha zona se localiza dentro de las coordenadas geográficas 24° 47' de Latitud Norte y 99° 32' de Longitud Oeste, Esta área abarca 1,000 has, y está cerca de la Sierra Madre Oriental (Foroughbakhch, 1992).

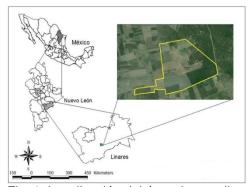




Fig. 1. Localización del área de estudio.

Fig. 2. Delimitación de las parcelas de muestreo

El clima de la región es del tipo templado semicálido subhúmedo con lluvias en verano del tipo (A)C(Wo), de acuerdo a la clasificación de Köppen (1931) y con la adaptación a las condiciones de la República Mexicana (García, 1987). La precipitación anual es muy variable, fluctúa entre 400 y 850 mm, concentrándose en dos períodos de lluvia estivales. La temperatura media anual es de 22°C, y las temperaturas máximas que alcanzan en verano sobre todo en julio y agosto son de 28-29°C con valores absolutos de 40-45°C; el período más frío se presenta en los meses de diciembre, enero y febrero con temperatura media de 14-15°C y mínimas extremas de -7°C (Woerner, 1991). Los suelos proceden de lutitas del Cretácico Superior y de grava (con caliche) del Pleistoceno con cementación fuerte, clasificándose del tipo vertisol de origen aluvio-coluvial, profundos y de color oscuro en la parte más plana y del tipo rendzina de origen lutita calichosa, de profundidad mediana en los lomeríos.

Descripción de los tratamientos, métodos de muestreo y análisis estadístico

El criterio de selección de 5 especies maderables consistió en elegir las especies leñosas características del matorral, considerando su característica y productividad (Cabral y Treviño, 1989), según datos registrados de los individuos de una plantación de especies nativas en el Campus Universitario y del vivero, UANL (Foroughbakhch *et al.*, 1987). El ensayo se realizó en dos áreas: 1) En plantaciones experimentales, donde la muestra estuvo compuesta por 15 parcelas de 10 x 10 m, a razón de tres parcelas por especie nativa y aproximadamente 25 árboles de cada especie por parcela, con una separación de 3 m entre ellos. 2) En el área de vegetación nativa, se realizó primero un inventario mediante transectos, a lo largo de los cuales se delimitaron al azar, áreas de muestreo de 10 x 10 m (Fig. 2) para el estrato arbóreo-arbustivo.

Estimación de la producción forestal

El potencial forestal se evaluó al determinar el volumen de cada especie por hectárea, teniendo en cuenta la altura total, el diámetro basal, diámetro a altura de pecho de todos los individuos, se incluyeron también los rebrotes de acuerdo con Archibald y Bond, (2003); Bohlman y O'Brien, (2006).

El volumen de madera de cada árbol se determinó en función de los diámetros y la altura total, aplicando la fórmula de Smalian (Moctezuma, 2007) con un factor de coeficiente mórfico de 0.6.

$$V = [(D_1/2)^2 \times \pi) + (D_2/2)^2 \times \pi)]/2) \times L$$

Donde V equivale al volumen (m³/ha), D₁ y D₂ a los diámetros (cm) de cada sección y L al largo (m) de la sección (altura).

Una vez obtenido el volumen por árbol se realizó el proceso matemático para estimar el volumen de madera correspondiente a cada especie.

Análisis estadístico

El paquete estadístico utilizado para el análisis de los datos sobre la productividad del matorral fue SPSS versión 21, los estadísticos practicados incluyeron un análisis de varianza para verificar diferencias significativas entre las variables de crecimiento (diámetros, altura y volumen) y la biomasa (biomasa foliar, hojarasca, herbáceas), con intervalo de 95 % de confianza. La aplicación de la prueba de Tukey se utilizó para determinar grupos de homogeneidad entre las especies y entre sitios para las variables mencionadas, a un nivel de confianza de 95% (p=0.05) de acuerdo a Zar (2010).

RESULTADOS

Produccion forestall

La evaluación del potencial forestal se realizó mediante la determinación de los valores dasométricos, como se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Valores dasométricos (± desviación estándar) de cinco especies maderables del matorral espinoso tamaulipeco en el noreste de México.

H. parvifolia	PE	7.56±0.38	4.94±0.13	4.53±0.34	3.05±0.28	0.396±0.03
	MN	2.96±0.44	4.88±0.15	4.69±0.39	3.51±0.32	0.068±0.04
E. ébano	PE	3.28±0.36	4.70±0.12	7.73±0.32	5.79±0.26	0.118±0.03
	MN	2.69±0.83	5.74±0.28	12.84±0.74	4 9.68±0.61	0.377±0.07
A. berlandieri	PE	7.78±0.36	3.29±0.12	3.18±0.32	2.21±0.26	0.052±0.03
	MN _	5.52±0.65	3.49±0.22	2.35±0.58	1.74±0.48	0.029±0.01
H. pallens	PE	3.49±0.35	4.72±0.12	5.21±0.31	3.84±0.26	0.059±0.03
	MN	3.26±0.45	3.65±0.15	3.55±0.41	2.50±0.33	0.022±0.04
A. wrightii	PE	2.02±0.39	3.57±0.13	7.48±0.35	4.25±0.29	0.061±0.04

MN 1.36±0.89 4.32±0.30 10.23±0.80 7.84±0.66 0.211±0.08

Db=Diámetro basal, DAP=Diámetro a altura de pecho, V=Volumen, PE=Plantación experimental, MN=Matorral nativo.

El volumen de madera en pie no presentó diferencias estadísticas significativas (P>0.05) entre sitios; sin embargo, hubo diferencias altamente significativas (P<0.01) entre especies (tabla 12). El mayor volumen se registró con *H. parvifolia* (0.396 m³/ha/año) en el área plantada y *E. ebano* (0.377 m³/ha/año) en el matorral nativo, mientras que la producción menor, la registraron las especies *H. pallens* y *A. berlandieri* con 0.022 y 0.029 m³/ha/año respectivamente, en la vegetación nativa (Tabla 2).El volumen de madera fue mayor en el sitio nativo en comparación con el volumen encontrado en la plantación para las especies *E. ebano* y *A. wrightii* con 0.377 contra 0.118 m³/ha/año y 0.211 contra 0.061 m³/ha/año respectivamente.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	5.752	1	5.752	80.414	0.000
Sitio	.001	1	.001	.019	0.890
Especie	3.089	4	.772	10.795	0.000
Sitio * Especie	3.451	4	.863	12.063	0.000

En cuanto a la cobertura, los individuos de las especies *E. ebano* y *A. wrightii* presentaron los valores más elevados de cobertura en la vegetación nativa. El área ocupada por sus copas fue de 19.68 y 17.6 m²/individuo, respectivamente. Los individuos de las especies *H. pallens*, *H. parvifolia* y *A. berlandieri* cubrieron mayor área en plantaciones (8.53, 6.78 y 6.72 m²/individuo respectivamente) en comparación con la vegetación nativa (6.96, 5.62 y 2.73 m²/individuo respectivamente). La menor cobertura (2.73 m²/individuo), la presentó *A. berlandieri*, en el Matorral nativo.

Biomasa foliar

Se observaron diferencias altamente significativas (P<0.01) entre especies y por estaciones (Tabla 3). La producción promedio anual fue mayor en *E. ebano* con 2686.80 kg ha⁻¹, y menor en *A. wrightii*, con 431.21 Kg ha⁻¹ (Fig. 3).

Tabla 3. Análisis de varianza para biomasa foliar

Fuente	Suma de	GI		Cuadrados	F	Р
Especies	4.99701E7		4	1.24925E7	6.39	0.0003
Estación	5.51028E7		3	1.83676E7	9.40	0.0000
Residuo	1.01584E8		52	1.95354E6		
Total corregido	2.06657E8	_	59			

La biomasa foliar alcanza el máximo de su productividad en verano, con un valor muy alto (9029.32 kg ha⁻¹) en *E. ebano*, mientras que el valor menor (103.08 kg ha⁻¹) se registró con *A. wrightii*, en invierno

CONCLUSIONES

La estimación de cobertura de arbustos y árboles del MET se empleó para evaluar su capacidad productiva de forraje con base a las herbáceas desarrolladas bajo dichas especies, completado por la caracterización y descripción de esta vegetación de herbáceas. Esta capacidad contribuye a asegurar una dieta nutritiva para el ganado, según la influencia protectora de los arbustos del MET, al desarrollo de herbáceas. Se observó que no hay necesariamente una influencia del porte de los arbustos sobre el desarrollo del estrato herbáceo. Sin embargo, las principales especies del MET ofrecieron distintas disponibilidades de biomasa herbácea. En esta dinámica, Havardia pallens y Acacia wrightii se presentaron como las especies con las mejores potencialidades, al favorecer notablemente el desarrollo de Lantana sp. y Stipa lessingiana (zacate) que disponen de buenos atributos forrajeros. La gestión de esta oferta debe orientarse hacia el control de los arbustos, evitando que se cierren en exceso, para limitar de esta manera, el incremento del riesgo de incendios, la pérdida de recursos pastables y la diversidad herbácea. Esta orientación permite determinar tendencias a largo plazo para los productores. En este sentido, se recomendaría aumentar el espacio entre los individuos de Helietta parvifolia al momento de plantarlas, dado que son especies muy cerradas. Iqual con Ebenopsis ebano que requiere de mucho espacio para crecer en buenas condiciones.

La caída de hojarasca en plantaciones de *H. parvifolia*, *E. ebano*, *A. berlandieri*, *H. pallens* y *A. wrightii*, es en promedio cuatro veces menor que la biomasa foliar, con variación significativa en función de estaciones. Tal balance establece una relación funcional entre la producción y la pérdida de hojas, que permite valorar la capacidad que tienen dichas especies para aportar materias orgánicas y nutrientes al suelo para el crecimiento y desarrollo de la vegetación, bajo condiciones edáficas muy desfavorables.

BIBLIOGRAFIA

- 1. Cruz-Contreras, C. 2012. Residuos generados del aprovechamiento maderable en el estado de Durango. Tesis de Ingeniero Forestal Industrial, Universidad Autónoma Chapingo, División de Ciencias Forestales. Chapingo, Texcoco, Estado de México. 83 p.
- 2. Enciso, E.E. 2007. Guía para el uso y aprovechamiento de la biomasa en el sector forestal. España. 40 p.
- 3. Foroughbakhch, R. y Heiseke, D. 1990. Manejo Silvícola del Matorral: raleo, enriquecimiento y regeneración Controlada. Reporte Científico No. 19. Fac. de C. Forestales, U.A.N.L. 28 páginas.
- 4. García H.J. y Jurado, E. 2008. Caracterización del matorral con condiciones prístinas en Linares, N.L., México. Ra Ximhai. 4 (1):1-21.
- Goche-Télles, J.R., Domínguez-Calleros, P.A., Montiel-Antuna, E. y Palacios-Mendoza, C. 2015. Biocombustibles sólidos, una opción sustentable para la producción de energía. En: Biocombustibles sólidos. (eds) Carrillo-Parra y Rutiaga-Quiñones. Universidad Autónoma de Nuevo León. ISBN: 978-607-27 0376-6.
- González, M.F. 2012. Las Zonas Aridas y Semiáridas de México y su Vegetación. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología. México, D.F.

- 7. Heiseke, D. 1984. Regeneración por rebrotes en dos tipos de matorral subinerme de la región de Linares, N.L., Facultad de silvicultura y Manejo de Recursos Renovables, UANL, México, p.17.
- 8. INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 1997. Carta de uso del suelo y vegetación. Hoja Pachuca. Esc. 1:1 000 000. Sistema meteorológico mexicano. México, D.F.
- 9. Korol, R.L., Running, S.W., Milner, K.S. y Hunt, E.R. 1991. Testing a mechanic carbon balance model against observed tree growth. Can. J. For. Res. 21: 1098-1105.
- 10. Ledesma, M., Carranza, C.A. y Balzarini, M. 2010. Estimación de la biomasa foliar de Prosopis flexuosa mediante relaciones alométricas. Agriscientia, Córdoba, 27 (2): 87-96.
- 11. Muller, C.H. 1947. Vegetation and climate of Coahuila, México. Madroño 9: 33-57.
- 12. PNUMA. 2010. Anuario, avances y programas científicos en nuestro cambiante medio ambiente 2010. Programa de las naciones unidas para el medio ambiente. Kenia. pp. 58.
- 13. Reíd, N., Stafford Smith, D.M., Beyer-Münzel, P. y Marroquin, J. 1990. Floristic and Structural Variation in the Tamaulipan Thornscrub, Northeastern Mexico. Journal of Vegetation Science 1:529-538.
- 14. Rojas, L.L. 2013. Evaluación de la composición química y propiedades físicas de madera y corteza de cuatro coníferas para la producción de bioenergía. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Forestales. 55p.
- 15. Ruiz, J.L. 2005. Caracterización estructural del Matorral Espinoso Tamaulipeco, Linares N.L. Tesis de Maestría. FCF_ UANL.
- Rzedowski, J. 1991. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México.
 Acta Botanica Mexicana 14:3-21.
- 17. SEMARNAT. 2010. Compendio de Estadísticas Ambientales 2010. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Disponible en: http://aplicaciones.semarnat.gob.mx/estadisticas/compendio2010/index.html
- SEMARNAT. 2012. Anuario Estadístico de la Producción Forestal. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales [Internet]. Disponible en https://semarnat.gob.mx. [Visitada el 22 de abril del 2014].
- 19. West, P.W. 1987. A model for biomass growth of individual trees in forest monoculture. Ann. Bot. (London), 60: 571–577.
- 20. Yerena-Yamallel, J.I., Jiménez-Pérez, J., Aguirre-Calderón, O.A. y Treviño-Garza, E.J. 2011. Concentraciones de carbón en la biomasa aérea del matorral espinoso tamaulipeco. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. 17(2):283-291.
- 21. Zar, J.H. 2010. Biostatistical Analysis (5th ed.). New Jersey: Prentice-Hall, Inc., 947.

EFECTO DE LA CONCENTRACION DE ALGARROBO EN LA VISCOELASTICIDAD DE QUESOS PROCESADOS

Juan Alfredo Salazar-Montoya, María Dolores Díaz-Cervantes,

Erika García-Mejía y Emma Gloria Ramos-Ramírez.

Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN

Av. IPN 2508. Col. San Pedro Zacatenco. CDMX. C. P. 07360. México.

Email: jsalazar@cinvestav.mx

RESUMEN

Para la Industria de Alimentos la recuperación de productos como los quesos procesados, constituye una buena alternativa de aprovechamiento de quesos que han sido dañados, contaminados o no han sido consumidos. Una ventaja tecnológica en la elaboración de éstos quesos es la de incorporar hidrocoloides que modifiquen y mejoren las propiedades reológicas. El algarrobo es un polisacárido compuesto de manosa y galactosa, la goma está en el endospermo de las semillas del árbol Ceratonia silicua. En este estudio se incorpora la goma de algarrobo a quesos procesados para la modificación de las propiedades viscoelásticas. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la concentración de algarrobo en quesos procesados y su caracterización viscoelástica. Se realizaron estudios oscilatorios utilizando una geometría placaplaca para calcular los parámetros dinámicos G' y G" y curvas de Creep. Para la caracterización reológica dinámica se utilizó un reómetro de bajo esfuerzo Paar Physica, modelo LS100. La zona de viscoelasticidad lineal (ZVL) de los quesos procesados se encuentra entre 0.0113 y 0.0183 mNm. En todos los quesos G'>G". El queso procesado control se comporta como un fluido viscoelástico, no presentó recuperación, mientras que los quesos con goma de algarrobo al 0.25%, 0.5% y 0.75%, presentaron una recuperación que disminuye 56.9%, 55.7% y 51.5% comportándose como sólidos viscoelásticos. El comportamiento de los quesos se ajustó al modelo de Kelvin-Voigt. A mayor concentración de algarrobo, disminuye la componente elástica del queso 1.89 x 10⁴ Pa a 1.51 X 10³ Pa, debido a su comportamiento de geles fuertes.

INTRODUCCION

El queso es el producto fresco o madurado obtenido por coagulación y utilización de leche, nata, leche desnatada (total o parcialmente), suero de mantequilla o de mezclas de ellos (Morán, 1992; Fox, 1993; Madrid, 1999, Norma General del CODEX, 2003). Existe una gran variedad. Son varios los criterios utilizados para su clasificación (Madrid, 1999): según la leche con la que hayan sido elaborados, de acuerdo al método de coagulación de la leche, por el contenido de humedad, según el contenido de grasas, por su textura, de acuerdo al método de maduración, según el tipo de microorganismos utilizados en su elaboración, por el país o región de origen. El contenido en agua de los quesos es uno de los criterios más importantes para su clasificación. La maduración también influye. Los quesos frescos tienen alto contenido acuoso, mientras que los sometidos a varios meses de almacenamiento pierden humedad. Una clasificación de quesos según su porcentaje de humedad en el momento de su comercialización es la siguiente: frescos (60-80%), blandos (55-57%), semiduros (42-55%) y duros (20-40%).

Actualmente, los quesos procesados constituyen una buena alternativa para recuperar quesos con defectos, no aptos para el consumo directo, rotos o dañados y aprovecharlos para procesarlos y transformarlos en quesos untables, donde tendrían mayores ventajas para el productor y el consumidor (Morán, 1992; Betancourt, 1997). Los quesos procesados son aquellos que se obtienen después de calentar o fundir una mezcla de quesos de diversos orígenes adicionados con agua, enzimas o leche y sales fundentes que contribuyen a regular su pH y a emulsificar la materia grasa (Ricardez, 1999; Ledesma, 2003). Los guesos procesados, además de las ventajas de aumentar el tiempo de conservación y facilitar su almacenamiento, transporte y venta, mediante la mezcla de quesos de diferentes edades, permiten obtener un producto de características específicas (Norma General CODEX, 1978). El procesamiento se basa principalmente en transformar el gel insoluble de p-caseína del queso natural, a una condición homogénea y continua mediante la avuda de sales emulsificantes. La denominación queso procesado tipo untable puede ser adoptada para designar cualquier queso que por su consistencia puede ser extendida a temperatura ambiente. Los quesos procesado son de dos tipos, para cortar (bloque) o extender (untable). El primero es de textura compacta y cuerpo firme; el untable es de cuerpo débil, blando y tiene características de untabilidad. En estos quesos se tiene un pH final de 5.7 - 6.0, humedad de 58 – 60% y materia grasa de 45 – 60% en sólidos totales (Norma General CODEX, 2003).

El algarrobo es un polisacárido neutro compuesto de manosa y galactosa en una relación 4:1. La goma se encuentra presente en el endospermo de las semillas de *Ceratonia silicua* el cual es típico de los países mediterráneos. Su estructura química es de un galactomanano formada por una cadena de moléculas de D-manosas con enlaces (1, 4) a la cual se le unen varias D-galactosa a través de enlaces (1-6) cada 4 o 5 manosas (Muller, 1973; Durán, 1992). Es soluble en agua, viscosidad de 2500 – 3000 cP al 1%, peso molecular de 300,000 a 360,000 Da. No forma geles, excepto si se combina con goma xantana, estable a pH de 3.5 a 11, aplicaciones como estabilizante de emulsiones e inhibidor de sinéresis en productos enlatados, salsas, postres, bebidas, queso crema, helados y embutidos.

La Reología estudia la deformación y flujo de la materia; contribuye al conocimiento de su estructura, en la industria se efectúa con frecuencia medidas reológicas sobre las materias primas y los productos en elaboración, que son de utilidad para el control de procesos. La reología es una valiosa ayuda al diseño de las máquinas; es preciso que tolvas, tuberías y bombas se adecuen a las características de los productos con los que van a ser utilizadas. Las características reológicas determinan considerablemente la aceptación o rechazo de un producto (Muller, 1973; Vélez-Ruiz y Barbosa-Cánovas, 1997).

Un material viscoelástico puede mostrar un comportamiento lineal y no lineal. El primero presenta propiedades que dependen del tiempo y no de la magnitud del esfuerzo aplicado al material. Los materiales viscoeláticos no lineales presentan propiedades mecánicas que dependen del tiempo y la magnitud del esfuerzo aplicado, estos tienen complejidad teórica y matemática, por lo cual la mayor parte de los trabajos experimentales se han realizado en la región lineal (Muller, 1973; Ferry, 1980; Barraza, 2002). El comportamiento elástico, denominado Hookeano, es aquel en el cual existe proporcionalidad entre el esfuerzo aplicado y la deformación obtenida, además la respuesta es instantánea. El modelo viscoelástico más simple se representa por un resorte y pistón; estos componentes se acoplan en serie o en paralelo (modelos de Maxwell y Kelvin-Voigt), éstos pueden acoplarse (modelo de Burgers), (Muller, 1973; Steffe, 1996). Los materiales viscoelásticos son esencialmente sólidos elásticos en los que la deformación no se produce instantáneamente al aplicar el esfuerzo ni se recupera instantáneamente al suprimirlo (esfuerzo-tiempo y deformación-tiempo). A continuación se presenta el modelo matemático de Kelvin–Voigt.

$$J(t) = J_0 + \frac{\eta}{t} + \sum_{i=1}^{i=n} J_i (1 - e^{t/T_i})$$
 (1)

En donde: J_0 = compliancia instantánea. η = viscosidad de equilibrio. J_i = compliancia retardada. T_i = Tiempo de relajación. n = número de unidades de Kelvin- Voigt. t = tiempo de retardo. La compliancia J(t) es calculada para el esfuerzo $\gamma(t)$. Los estudios reológicos incluyen Creep y deformación, relajación de esfuerzos y dinámicas oscilatorias (Muller, 1973; Ferry, 1980,). Con este tipo de estudios se determinan varias propiedades del material como el módulo de rigidez o almacenamiento (G', que representa la parte elástica del material) y el módulo de pérdida (G'', que representa el carácter viscoso), también la viscosidad compleja (η^*) y el ángulo de desfasamiento (δ) que es una función entre las moléculas del sistema y los enlaces presentes (Ferry, 1980; Steffe, 1996). En la zona de viscoelasticidad lineal las propiedades reológicas son independientes del esfuerzo o deformación aplicados; esta determinación es usada para diferenciar geles débiles y fuertes. El barrido de frecuencia muestra como el comportamiento viscoso y elástico del material cambia con la velocidad de aplicación del esfuerzo o deformación (Steffe, 1996).

En las curvas de Creep la deformación está sujeta a un esfuerzo constante, en un material elástico ideal puede ser constante debido a la falta de flujo y el material puede regresar a su forma original al retirar el esfuerzo. Un material viscoso ideal puede mostrar flujo continuo, produciendo una respuesta lineal al esfuerzo por la incapacidad para recuperar cualquier deformación impuesta. Los materiales viscoelásticos pueden representar una respuesta no lineal a la deformación debido a su capacidad para recuperar cierta estructura por la energía almacenada, muestran una menor deformación permanente que la deformación total aplicada a la muestra (Muller, 1973).

La incorporación de diferentes concentraciones de goma de algarrobo a quesos untables permitirá modificar las propiedades de deformación evaluadas a través de estudios de oscilación de pequeña amplitud. En el presente estudio, el principal objetivo es determinar cómo afecta a las propiedades reológicas de un queso untable la incorporación de un hidrocoloide, en este caso, la goma de algarrobo. La característica más importante de las gomas, es la modificación que introducen en las propiedades reológicas de los alimentos a los que se añaden.

PARTE EXPERIMENTAL

Se establece la formulación del queso a elaborar, los ingredientes se mezclan y se muelen en una licuadora o molino para carne. Esta mezcla se coloca en una vaso de precipitados sumergido en baño de María y se calienta hasta 72 °C, con agitación la cual debe mantenerse entre 50 y 70 rpm. Se eleva la temperatura hasta 78 °C y se mantiene por 5 min para pasteurizar. El queso se vacía en un recipiente, se enfría a temperatura ambiente y se conserva en refrigeración a 4 °C. La proporción de sales fundentes empleada fue fasbel al 2.6% y disobel 0.3%. Para incorporar la goma de algarrobo, se pesa la cantidad necesaria de agua y de goma para preparar la dispersión. Se calienta el agua hasta 80 °C y se adiciona lentamente la goma de algarrobo mientras se agita. Se mantiene la agitación hasta homogeneizar totalmente. Las determinaciones oscilatorias dinámicas se realizaron 24 hr después de elaborado el queso. Todas las muestras se refrigeraron a 4 °C y antes de ser analizadas fueron atemperadas a 25 °C.

Determinación de la viscoelasticidad

Las determinaciones reológicas se llevaron a cabo en un reómetro LS100 (Paar Physica, Alemania) se realizaron a 25 °C. Se eligió la geometría que proporciona mejores características de respuesta (sensibilidad y reproducibilidad) y se ajustan las condiciones de desempeño (apertura,

esfuerzo y deformación impuesta a la muestra). Se realiza un barrido de amplitud a una frecuencia constante de 1 Hz para localizar la zona de viscoelasticidad lineal. Posteriormente se coloca otra muestra para realizar un barrido de frecuencia para determinar la dependencia de la componente elástica y viscosa a diferentes frecuencias. En cada determinación el software calcula parámetros como el módulo complejo (G^*), módulo de almacenamiento (G^*), módulo de pérdida (G^*), viscosidad compleja (η^*), viscosidad dinámica (η^*), ángulo de desfasamiento (δ), frecuencia (ω), temperatura (t) e integrar las gráficas.

Estudios estáticos de Creep y recuperación

La determinación del comportamiento Creep y recuperación con el reómetro LS100 se realizaron con la geometría y la apertura "gap" seleccionados, corresponden con los utilizados en los estudios dinámicos oscilatorios. Con una espátula de cobre se coloca la cantidad de queso necesaria entre las dos placas para realizar las mediciones, retirando el exceso con la misma espátula. Se fijan las condiciones de trabajo como torque inicial y final, tiempo en someter la muestra a un esfuerzo constante y el tiempo de recuperación; primero se realiza un barrido de esfuerzos para localizar la zona de viscoelasticidad lineal (la respuesta Creep/recuperación es independiente del esfuerzo aplicado). Las curvas de Creep son analizadas con el software ve 2.06, calculando la viscosidad cero (η_0) , tiempo de retardo (λ_{ret}) , compliancia instantánea (J_0) y la compliancia retardada (J_1) .

RESULTADOS Y DISCUSION

La formulación del queso untable que se estudió, se obtuvo de la Norma General para el "Queso fundido" y "Queso fundido para untar o extender" CODEX STAN A-8(a) -1978 En la Tabla 1, se presentan algunas formulaciones establecidas por dicha norma. De ésta se eligió la formulación D, debido a que tiene características sensoriales semejantes al queso untable comercial. Cabe mencionar que anteriormente se realizaron estudios previos.

Tabla 1. Contenidos de materia grasa y humedad para queso procesados tipo untable.

Formulación	Humedad	Grasa	Sólidos no
	(%)	(%)	grasos (%)
A	47.0	34.0	19.0
В	50.0	25.0	25.0
С	54.0	18.5	27.5
D	60.0	10.0	30.0
Е	64.0	3.6	32.5

Incorporación de goma de algarrobo

Los niveles de incorporación de goma de algarrobo al queso untable obedecieron a varios criterios como la factibilidad de incorporarlo, los límites permitidos por la norma y las diferencias observadas en el queso, de ahí que las concentraciones seleccionadas para la obtención de queso untable fueron 0.0% (control), 0.25%, 0.5% y 0.75%.

En la Tabla 2 se presenta un resumen de los parámetros reológicos obtenidos para el queso untable con diferentes concentraciones de goma de algarrobo, así como para el queso untable comercial. En dicha tabla se observa que la zona de viscoelasticidad lineal de los quesos con goma de algarrobo al 0.25%, 0.5% y 0.75%, se encuentra a esfuerzos de cizalla mayores conforme aumenta la concentración de goma. No ocurre así para el queso untable control, donde la ZVL se encuentra a un torque mayor en aproximadamente 100 veces. Sin embargo durante el barrido de amplitud y frecuencia se obtiene que este queso se comporta como un sólido viscoelástico, mientras que en el estudio de Creep-recuperación, se observa el comportamiento de un líquido viscoelástico, al no presentar recuperación, lo cual es característico de estos materiales. El queso untable presenta una ZVL entre un torque de 0.0113 y 0.0183 mNm que coincide con los límites para los quesos elaborados con 0.5% y 0.75% de goma, lo cual indica que se comporta como un sólidos viscoelásticos.

Se observa que los módulos dinámicos presentan una ligera dependencia con la frecuencia, G' es mayor a G'' en el intervalo de frecuencia analizado; para los geles fuertes, los módulos son poco dependientes de la frecuencia y G'>G''. De acuerdo a éstas características, puede sugerirse el comportamiento de un gel débil. La dependencia de G' y G'' con la frecuencia se determina a partir de la relación G' α ω^m o G'' α ω^m , donde m es la pendiente obtenida por una regresión potencial. Cuanto más se acerque el valor de m a cero, más estructurado es el sistema, es decir, su comportamiento tiende a ser como el de un gel fuerte. En las determinaciones para los quesos untables con goma, los valores de m disminuyen conforme aumenta la concentración de ésta en el queso, por lo que se puede establecer que la goma proporciona una mayor rigidez a su estructura. El queso untable control presenta los mayores valores de m que son de 0.8767 y 0.5655 para G' y G'' respectivamente, por lo que presentan la estructura más débil de las muestras analizadas. Con respecto a los valores de la tan δ para los quesos con goma de algarrobo, disminuyen progresivamente conforme se aumenta la frecuencia, lo que significa un predominio de la componente elástica a mayores frecuencias para estos quesos, mientras que para el queso control se presenta un incremento de tan δ , posiblemente debido al predominio de la componente viscosa.

Tabla 2. Zona de viscoelasticidad lineal, parámetros dinámicos de quesos untables y queso comercial, así como dependencia de los módulos G' y G" con respecto a la frecuencia.

	BARRIDO DE AMPLITUD						
Tipo de queso	ZVL (mNm)	G' (Pa)	G" (Pa)	Fractura (Pa)	tan δ		
Comercial	0.0113 - 0.01830	1.65 x 10 ⁴	3.83 x 10 ³	698	0.232		
Control	0.88600 - 1.4400	3.58 x 10 ³	2.10 x 10 ³	2420	0.593		

Queso con 0.25%	0.00100 - 0.0030	4.54 x 10 ³	2.01 x 10 ³	1350	0.444
Queso con 0.5%	0.00696 - 0.0113	9.62 x 10 ³	3.48 x 10 ³	2780	0.364
Queso con 0.75%	0.0183 - 0.04840	9.28 x 10 ³	3.20 x 10 ³	2246	0.348

	BARRIDO DE FRECUENCIA						
Tipo de queso	Amplitud de	G' (Pa)	G" (Pa)	Tan δ			
	torque (mNm)						
Comercial	0.01252	1.89 x 10 ⁴	4.22 x 10 ²	0.233			
Control	0.95800	8.97 x 10 ³	3.57 x 10 ³	0.451			
Queso con 0.25%	0.00145	5.65 x 10 ³	2.12 x 10 ³	0.424			
Queso con 0.5%	0.00842	9.62 x 10 ³	3.48 x 10 ³	0.364			
Queso con 0.75%	0.03386	1.51 x 10 ³	4.80 x 10 ³	0.326			

Tipo de queso	Pendiente de los módulos G' y G" con la frecuencia				
Queso comercial	G' α ω ^{0.3924}	G " α ω ^{0.4166}			
Queso control 0.0% de algarrobo	G ' α ω ^{0.8767}	G " α ω ^{0.5655}			
Queso con 0.25% de algarrobo	G ' α ω ^{0.6824}	G " α ω ^{0.2852}			
Queso con 0.5% de algarrobo	G ' α ω ^{0.5448}	G " α ω ^{0.4059}			
Queso con 0.75% de algarrobo	G ' α ω ^{0.4186}	G " α ω ^{0.3038}			

En la Figura 1a se presenta la curva de Creep-recuperación para el queso untable conteniendo 0.75% de goma algarrobo. Únicamente se presenta esta gráfica debido a que el comportamiento que presentan los quesos con goma y el queso comercial corresponde a sólidos viscoelásticos, similares al queso untable con 0.75% de goma, excepto el queso untable control que no presenta recuperación (Figura 1b). Los porcentajes de recuperación para cada muestra a diferentes esfuerzos de cizalla dentro de la ZVL. Se observa que la mayor de recuperación en el queso comercial (70.96%) se presenta en el límite superior de la ZVL y en el queso untable con 0.75% de

goma, está recuperación es de 51.5% para el mismo torque, el cual es el límite inferior de la ZVL para esta muestra (Tabla 3). En el estudio de Creep y recuperación se obtiene los parámetros reológicos del modelo de Kelvin-Voigt para los quesos con goma de algarrobo y comercial, los cuales se muestran en la Tabla 4. En dicha tabla se observa que los valores de compliancia instantánea (J₀) son menores a los de la compliancia retardada (J₁) para los quesos control y al 0.25%, mientras que en los otros quesos no se observa una tendencia definida. Sin embargo, se puede observar el comportamiento típico de un material viscoelástico en las muestras analizadas, debido a que al aplicar el esfuerzo o deformación, ésta no se produce ni se recupera instantáneamente al suprimir la fuerza, además es necesario cierto tiempo para alcanzar este valor, conocido como tiempo de retardo. Dicho tiempo en este caso oscila entre los 21.6 y 29.6 s en las muestras estudiadas.

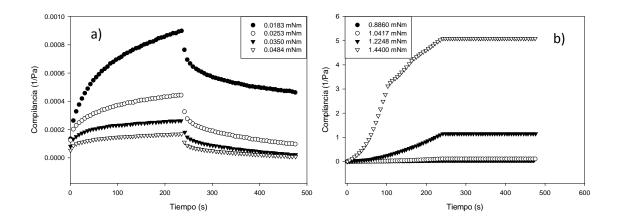


Figura 1. Comportamiento de Creep/recuperación para queso untable al 0.75% de goma de algarrobo (a) y para queso untable control (b).

Tabla 3. Porcentajes de recuperación para queso comercial y quesos untables elaborados con goma de algarrobo a diferentes torques dentro de la ZVL.

Comercial		ques	queso con 0.25%		queso con 0.5%		queso con 0.75%	
		de algarrobo				de algarrobo		de
Torque	Recuperación	Torque	Recuperación	Torque	Recuperación	Torque	Recuperación	
(mNm)	(%)	(mNm)	(%)	(mNm)	(%)	(mNm)	(%)	
0.0113	39.93	0.0010	56.88	0.0070	55.7	0.0186	51.50	
0.0133	0.00	0.0014	4.35	0.0082	61.5	0.0253	21.94	
0.0156	63.15	0.0021	0.00	0.0096	71.4	0.035	8.62	
0.0183	70.96	0.0030	0.00	0.0113	62.3	0.0484	4.83	

En el estudio de Creep y recuperación se obtiene los parámetros reológicos del modelo de Kelvin-Voigt para los quesos con goma de algarrobo y comercial, los cuales se muestran en la Tabla 4; se observa que los valores de compliancia instantánea (J₀) son menores a los de la compliancia retardada (J₁) para los quesos control y al 0.25%, mientras que en los otros quesos no se observa una tendencia definida. Sin embargo, se puede observar el comportamiento típico de un material viscoelástico en las muestras analizadas, debido a que al aplicar el esfuerzo o deformación, ésta no se produce ni se recupera instantáneamente al suprimir la fuerza, además es necesario cierto tiempo para alcanzar este valor, conocido como tiempo de retardo. Dicho tiempo en este caso oscila entre los 21.6 y 29.6 s en las muestras analizadas.

J₀ (Pa⁻¹) J₁ (Pa⁻¹) Queso Torque (mNm) Viscosidad (Pa.s) λ (s) 15719 0.0286 26.4650 Control 1.1481 2.1718 7.3630 x10⁻⁴ 1.55 x10⁻³ 452450 1.1490 x10⁻³ 29.5150 0.25% 0.50% 9.03 x10⁻³ 1541600 1.4106 x10⁻⁴ 5.6550 x10⁻⁵ 21.5725 0.75% 31.80x10⁻³ 1727800 1.6973 x10⁻⁴ 1.0863 x10⁻⁴ 25.0125 22.8575 14.60x10⁻³ 1.6730 x10⁻⁴ 1.0000 x10⁻⁶ Comercial 917100

Tabla 4. Parámetros dinámicos del modelo de Kelvin-Voigt

CONCLUSIONES

El queso fresco elaborado en el laboratorio tiene características similares a los quesos comerciales, por lo que la metodología empleada es adecuada. La zona de viscoelasticidad lineal (ZVL) de un queso untable comercial se encuentra a un esfuerzo de cizalla entre 0.0113 -0.0183 mNm. El queso untable control se comporta como un fluido viscoelástico, debido a que no presentó recuperación en estudios de Creep, mientras que los quesos con goma de algarrobo al 0.25%, 0.5% y 0.75%, presentan una recuperación que aumenta conforme lo hace la concentración de goma de alagarrobo para el esfuerzo de cizalla máximo en la ZVL. Las muestras estudiadas se comportan como un sistema viscoelástico por lo que se ajustan al modelo de Kelvin-Voigt. A mayor concentración de goma de algarrobo, aumenta la componente elástica del queso, debido a que proporciona una estructura semejante a la de geles fuertes, por lo que el queso se comporta como un sólido viscoelástico. Los estudios reológicos pueden ser útiles para establecer estándares de calidad en la elaboración y análisis de los alimentos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo técnico del Ing. Miguel Márquez.

BIBLIOGRAFIA

- Barraza, C. J. (2002). Estudio del comportamiento reológico de un fermentado lácteo tipo yogur (flaty) obtenido con mezclas de gelana y pulpa de melón. Tesis de maestría. CINVESTAV-IPN.
- 2.- Betancourt, O. A. (1997). Elaboración de quesos procesados tipo untables saborizados. Tesis de licenciatura. ENCB –IPN.
- 3.- Durán, G. R. (1992). Desarrollo de un estabilizante a base de hidrocoloides para aplicarse en nieves y paletas de agua. Tesis de licenciatura. ENCB –IPN.
- 4. Ferry, J. (1980). Viscoelastic Properties of Polymers. Ed. John Wiley and Sons Inc. USA
- 5.- Fox, P. F. (1993). Cheese: chemistry, physics and microbiology. Vol. 1, 2da edition. Champman & Hall.
- 6.- Ledesma, E. A. (2003). Elaboración de un queso procesado del tipo untable adicionado con un producto cárnico como saborizante natural. Tesis de licenciatura. ENCB IPN.
- 7.- Madrid, V. A. (1999). Tecnología quesera, 2da. Edición. AMV ediciones, Madrid, España.
- 8.- Morán, M. G. (1992). Aspectos importantes en la manufactura de quesos frescos de pasta blanda. Tesis de licenciatura. ENCB IPN.
- 9.- Muller, H. G. (1973). Introducción a la reología de los alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- 10.- Norma general del CODEX para el queso CODEX STAN A-6-1978, revisión. 1-1999, enmendado en 2003.
- 11.- Norma General para el "Queso fundido" y "Queso fundido para untar o extender" CODEX STAN A-8(a) -1978.
- 12.- Ricardez, C. B. (1999). Desarrollo de una tecnología para la elaboración de un producto queso tipo untable. Tesis de licenciatura. ENCB –IPN
- 13.- Steffe, J. F. (1996). Rheological Methods in Food Process Engineering. Second Edition. Freeman Press.
- 14. Vélez-Ruiz, J.F. y Barbosa-Cánovas, G.V. (1997). Rheological properties of selected dairy products. Critical Review in Food Science Nutrition. Vol 37. (4), p.p. 311-359.

PRODUCCIÓN TOTAL DE GAS Y DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE LA MATERIA SECA EN MEZCLAS PARA OVINOS

Berenice Sánchez Mendoza, Germán Buendía Rodríguez, María Teresa Hernández Aguirre, Rodríguez G Daniela.

INIFAP-CENID FyMA. sanchez.berenice@inifap.gob.mx

RESUMEN

Los productos finales de la fermentación en el rumen incluyen ácidos grasos volátiles, proteína microbiana, dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄), este último, constituye una pérdida de energía que afecta la productividad animal. La técnica de producción de gas permite estimar fácilmente la cinética de fermentación ruminal de diferentes sustratos y analizar los efectos asociativos de diversos alimentos. Por ello el objetivo fue medir la producción total de gas in vitro de la materia seca en mezclas para ovinos. La investigación se realizó en el laboratorio del CENID FyMA-INIFAP, Ajuchitlán, Querétaro. Se obtuvo líquido ruminal de cuatro ovinos fistulados, y utilizando la técnica de producción de gas (Theodorou et al., 1994) se evaluó el potencial de fermentación de 4 raciones con diferentes proporciones de maíz, soya, canola, silo, alfalfa, todas con un mismo perfil proteico y energético (14% PC y 2.7 Mcal EM) para volumen fraccional (Vf), volumen máximo (Vm), dióxido de carbono (CO₂), Gases menores (GM), digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS) y digestibilidad in vitro de la materia orgánica (DIVMO). El diseño fue completamente al azar y la comparación de medias se realizó mediante prueba de rango múltiple de Tukey (P>0.05), con el paquete estadístico SAS (9.2). El Vf mostro diferencia únicamente en las primeras dos horas de fermentación en las dietas que contenían canola. El Vm 24 h CO₂, GM, DIVMS y DIVMO no mostraron diferencias entre las mezclas utilizadas, esto debido a que los tratamientos tienen la misma cualidad fermentativa por su contenido. La proporción de ingredientes en las raciones utilizadas no afecto directamente la producción de gas, CO₂, GM₂ DIVMS y DIVMO.

INTRODUCCIÓN

La técnica de producción de gas *in vitro* es comúnmente usada para conocer el valor nutritivo de los alimentos usando como inóculo bacterias ruminales (Ahmed y El-Hag, 2004), debido a su condición posibilita una fácil manipulación de los sustratos, sin riesgos de escape de la muestra dentro de los frascos, esto nos permite predecir el desempeño de un sustrato específico, y aumentar el número de repeticiones así como identificar la composición de gases de la fermentación (Getachew *et al.*, 2005; Posada y Noguera, 2005). Entre los productos finales de la fermentación ruminal se incluyen, los ácidos grasos volátiles, proteína microbiana, dióxido de carbono y metano, este último, constituye una pérdida de energía que afecta la productividad animal. En la actualidad los sistemas de producción animal sostenibles deben propender por una menor producción de CO₂ y CH₄, ya que estos afectan directamente en los efectos climáticos, a través de su interacción con la energía infrarroja e indirectamente a través de las reacciones de oxidación atmosféricas (Johnson y Johnson, 1995). Por ello el objetivo fue medir la producción total de gas *in vitro* de la materia seca en mezclas para ovinos.

MATERIALES Y METODOS

Los análisis se realizaron en el laboratorio del CENID FyMA-INIFAP, Ajuchitlán, Querétaro, utilizando la técnica de producción de gas (Theodorou et al., 1994) para evaluar el potencial de fermentación de 4 dietas isoproteicas (14% PC) e isoenergéticas (2.7 Mcal de EM/kg MS) (Cuadro 1), las cuales, se molieron a malla de 1 mm y se colocaron 0.5 g de cada muestra por triplicado en frascos de vidrio ámbar con capacidad de 125 mL, el líquido ruminal se obtuvo de tres ovinos alimentados con heno de alfalfa y concentrado a base maíz y pasta de soya, este se filtró con gasas y se mezcló con una solución mineral reducida en proporción de 1:9 v/v. La solución mineral reducida contenía por 1L de solución: 4 g Ca₂CO₃; 0.45 g K₂HPO₄; 0.45 g KH₂ PO₄; 0.45 g (NH₄)₂SO₄; 0.90 g NaCl; 0.18 g MgSO₄; 0.07 g CaCl₂; 50 mL de agua destilada; 2 mL NaOH (1N); 0.5 g Na₂S0₄; 0.5 g L-cisteína; una gota de rezarsurina. La incubación fue en baño maría a 39 °C con flujo continuo de CO2, se agregaron 90 mL de líquido ruminal estandarizado y se cerraron herméticamente. Se incluyeron tres frascos como blancos, que sólo contenían inóculo ruminal, se midió la presión de gas a 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48, 72 h de incubación, mediante un manómetro (escala de 0 a 1 kg cm⁻²). Las lecturas de presión (kg cm⁻²) se transformaron a volumen de gas con la ecuación de regresión lineal V= (P+0.0145) (0.018)⁻¹ (Orskov y Mc Donald, 1979). Los datos de volumen de gas y tiempo de incubación se usaron para obtener el volumen fraccional (Vf). Se midió el volumen de gas (mL g⁻¹ MS de sustrato) con una jeringa de vidrio de 50 mL a las 6, 12, 18 y 24 horas, en cada medición, el volumen de gas contenido en la jeringa fue inyectado a un frasco herméticamente cerrado que contenía KOH (1 M), se mezcló y se liberó el émbolo de la jeringa para determinar el volumen residual (Vr). Estos datos se utilizaron para estimar el volumen total (Vt; mL g⁻¹), volumen máximo (Vm; mL g⁻¹), volumen CO₂ (VCO₂; mL g⁻¹), % CO₂, % Gases menores (GM). Se calculó la DIVMS y DIVMO a 24 h. Para el análisis estadístico se utilizó un diseño de bloques completos al azar. Los valores de volumen fraccional (Vf) se analizaron con la prueba de comparación de medias de Tukey (P≤0.05), (Steel y Torrie, 1986). Las variables Vm, CO₂, CH₄, DIVMS y DIVMO, se analizaron con el procedimiento MIXED (SAS, 1999).

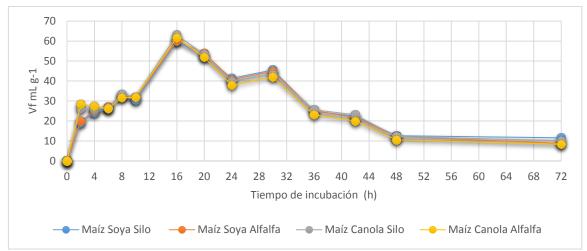
Cuadro 1. Composición de las mezclas.

Ingrediente	Mezcla 1	Mezcla 2	Mezcla 3	Mezcla 4
Grano de Maíz g	737.7	721.6	703.5	698.0
Pasta de Soya g	139.1	97.0		
Ensilado de Maíz g	123.2		113.3	
Heno de Alfalfa g		181.4		171.0
Pasta de Canola g			183.2	131.0
Total g	1000	1000	1000	1000

RESULTADOS

En la figura 1 se presentan los resultados de la producción fraccional de gas *in vitro* durante 72 h, donde se puede observar que las cuatro mezclas se comportaron de manera similar (P<0,05), sin embargo al inicio de la fermentación las muestras que contenían canola tuvieron un pico más alto. Por otra parte después de las 48h ya no existieron cambios en la fermentación.

Figura 1. Producción fraccional de gas in vitro a 72 h.



En el cuadro 2, se presentan los resultados de los volumenes maximos de gas y fraccionales (mL g-1/ MS), donde no se obervaron diferencias signifactivas (P<0,05) para volumen maximo ni las fracciones a, b, o c.

Cuadro 2. Volumenes de gas in vitro

		V fraccional (mL g-1)					
Mezcla	Vmax	а	b	С			
Maíz Soya Silo	286.64	102.33 ^a	184.31	117.03			
Maíz Soya Alfalfa	291.73	105.19 ^b	186.54	112.91			
Maíz Canola Silo	300.51	112.21 ^b	188.30	114.66			
Maíz Canola Alfalfa	296.99	113.61 ^b	183.39	104.14			

ab literales diferentes en la misma columna son diferentes (Tukey P<0,05). V=volumen máximo de gas, Va= volumen de gas acumulado de 0-12 h, Vb= volumen de gas acumulado de 12-48 h, Vc= volumen de gas acumulado de 48-72 h.

En el cuadro 3 se observa la producción de CO² y gases menores entre los cuales el metano es el más abundante, durante cuatro horarios de fermentación, donde se aprecia un comportamiento cuadrático en la producción de CO², sin embargo en todos los tratamientos el comportamiento fue similar y no presento diferencias significativas (P<0,05), así mismo los gases menores tampoco presentaron diferencias entre tratamientos.

Cuadro 3. Producción de CO² y Gases Menores.

		% CO ²				% GM		
	6 h	12 h	18 h	24 h	6 h	12 h	18 h	24 h
Maíz Soya Silo	80.95	84.52	86.68	63.79	23.43	16.99	11.79	31.88
Maíz Soya Alfalfa	79.93	85.36	86.86	64.45	24.38	18.67	14.46	35.53
Maíz Canola Silo	84.11	79.43	90.69	69.36	21.70	14.58	9.87	23.50

Maíz Canola Alfalfa 78.18 82.29 87.65 72.05 24.60 11.36 15.23 29.09

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca y materia orgánica, no mostro diferencias entre tratamientos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Digestibilidad in vitro de la materia seca y orgánica a 24 h.

outdies in a light mada in this de la material octobre y organista a a a min							
Mezcla	% DIVMS 24h	% DIVMO 24h					
Maíz Soya Silo	84.05	98.91					
Maíz Soya Alfalfa	84.80	98.91					
Maíz Canola Silo	85.85	98.92					
Maíz Canola Alfalfa	83.43	98.90					

CONCLUSIONES

La manipulación en la proporción de ingredientes en la dieta no afecta directamente la emisión de metano, ni la digestibilidad *in vitro* de las dietas, sin embargo, al aumentar el volumen total de gas producido existe un incremento en el volumen de CO₂, esto podría estar asociado a la naturaleza del contenido de los ingredientes, así como la composición química de las mezclas, que eran similares en su contenido de energía y proteína. Es necesario realizar una investigación más amplia, con diferentes niveles de inclusión de los ingredientes, utilizados en este estudio y buscar alternativas que disminuyan la producción de gas, para hacer más eficiente la utilización de los alimentos y minimizar sus impactos negativos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Ahmed M.M.M. amd F.M. El-Hag. 2004. Degradation characteristics of some Sudanese forages and tree pods using in sacco and gas production techniques. Small Rum. Res., 54 (1):147-156.
- 2. Getachew, G., E. J. De Peters, P. H. Robinson, and J. G. Fadel. 2005. Use of an in vitro rumen gas production techinique to evaluate microbial fermentation of ruminat feeds and its impact on fermentation products. Anim. Feed Sci. Technol. 123-124: 547-559.
- 3. Johnson KA, Johnson DE. Methane emissions from cattle. J Anim Sci, 1995; 73: 2483-2492.
- 4. Ørskov, E.R., and McDonald L.M. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighted according to rate of passage. J. Agric. Sci. (Cambridge) 92: 499-503.
- 5. Posada S. L., y R. R. Noguera. 2005. Técnica in vitro de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. Liv. Res. Rural Development 17:36. http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/4/posa17036.htm. (Consulta: febrero 2009).
- 6. SAS, 1999. SAS/STAT User's Guide, Version 8. Statistical Analy¬sis System Institute Inc., Cary, NC, USA.
- 7. Steel, G. R., y J. H. Torrie. 1986. Bioestadística: Principios y Procedimientos. 2da edición. Ed. McGraw-Hill. México, D.F. pp: 167-171.
- 8. Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, France J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Anim Feed Sci Tech; (48):185-197.

UTILIZACIÓN DEL CHILACAYOTE (Cucurbita ficifolia) PARA LA ELABORACIÓN DE PRODUCTOS BIOTECNOLÓGICOS.

Paz Saavedra J., Torres Pérez J.B., Cassaball Pérez D., Molina Calderon X., Ramírez Castillo M.L.

Departamento de Biotecnología, Universidad Politécnica de Puebla, 3er Carril del Ejido Serrano S/N, San Mateo Cuanalá, Juan C. Bonilla, Puebla, CP 72640

RESUMEN

El chilacayote (*Cucurbita ficifolia*) es un vegetal poco conocido, solo se reporta su cultivo en los estados de Morelos y la ciudad de México, con una producción de 2,838.50 toneladas en el año 2015 [1]. El chilacayote es originario de América y Sudamérica, pertenece a la misma familia de la calabaza, por lo que es de fácil y rápida propagación, resistente a bajas temperaturas. Es usado en la gastronomía para la preparación de dulces, platillos típicos o semillas secas. Estudios recientes revelan que el chilacayote contiene compuestos como el D-quiro-inositol con aplicaciones terapéuticas en casos de diabetes, también contiene flavonoides que son compuestos antioxidantes, de ahí la importancia de estudiar este vegetal para aprovecharlo íntegramente. El objetivo de este trabajo es elaborar productos biotecnológicos de valor agregado a partir del chilacayote desarrollando un proceso de biorrefinería. Se caracterizaron los componentes del chilacayote (cáscara, pulpa, semillas) por análisis proximal para determinar su composición y en consecuencia su aplicación. Los productos que se obtuvieron fueron: de la pulpa flavonoides, de la cáscara un biomaterial y de las semillas se extrajo aceite. Los resultados muestran el potencial de este vegetal para promover su cultivo.

INTRODUCCIÓN

La familia *Cucurbitaceae* está conformada por un extenso grupo de plantas, se tienen registrados de 90 a 130 géneros y 750 a 1300 especies [2]. Un ejemplo es la *Cucúrbita ficifolia* conocida comunte como chilacayote, nombre que proviene del Náhuatl "Tzilacayotli" que significa calabaza blanca. Generalmente el chilacayote en México, es consumido en forma dulces típicos o como ingrediente de algunas recetas de cocina tradicional. Estudios clínicos en pacientes con DM tipo 2 e hiperglucemia moderada que consumieron este vegetal, mostraron efecto hipoglucemiante significativo sin efectos colaterales ni tóxicos [3], efectos atribuidos al compuesto llamado D-quiroinositol el cual nivela los efectos de insulina y se encuentra en la pulpa del chilacayote [4]. Debido a los usos mencionados anteriormente se ha generado un interés en el estudio del chilacayote para saber más sobre su composición y los beneficios que se puedan obtener de este. El objetivo de este trabajo es aprovechar todos los componentes que contiene el chilacayote (la cáscara, semilla y pulpa) para darle un valor agregado. Se trabajó con chilacayote del estado de Puebla, cabe mecionar que en muchos municipios este estado solo es cosechado para el consumo de la semilla para botana o simplemente es encontrado en forma silvestre, dejando una gran cantidad de residuos no aprovechados.

TEORÍA

Composición nutricional

La composición del chilacayote varía según las condiciones de cultivo, climatología, época de cosecha y grado de madurez (tierno o maduro) su composición se muestra en la Tabla 1 en la que se ve que en su mayoría contiene agua [4]. En la Tabla 2 se presenta el contenido de vitaminas y minerales tanto del chilacayote tierno como el maduro, los mayores contenidos de estos elementos se encuentran cuando el chilacayote es tierno exceptuando al hierro y riboflavina [5].

Compuestos de interés del chilacayote

Se ha reportado que el chilacayote contiene compuestos de importancia comercial, tal es el caso del inositol y el aceite, entre otros.

Compuesto Maduro Tierno Agua (g) 91.0 92.8 Proteína (g) 0.6 1.0 Grasa (g) 0.2 0.2 Carbohidratos (g) 7.6 5.2 Proteína (g) 0.6 1.0 Fibra cruda (g) 0.7 0.4 Ceniza (g) 0.6 0.5 Calcio (mg) 19 19 22 32 Fósforo (mg) Hierro (mg) 0.5 0.6

Tabla 1. Composición nutricional del chilacayote en base húmeda.

Tabla 2. Contenido de vitaminas y minerales.

Constituyente	Tierno	Maduro
Calcio (mg)	24	21
Fosforo (mg)	13	6
Hierro (mg)	0.3	0.6
Caroteno (mg)	0.4	-
Tiamina (mg)	0.2	0.01
Riboflavina (mg)	0.1	0.02
Ácido ascórbico	0.26	4

Inositol

Estudios indican que el chilacayote contiene el azúcar D-quiro-inositol, el cual nivela los efectos de insulina; sin embargo, este compuesto únicamente presenta acción cuando se administra conjuntamente con otros elementos obtenidos del mismo vegetal, como son los flavonoides [6] *Aceites*

El aceite de semillas de Cucurbitáceas reúne características propias de los aceites de origen vegetal, su estudio arroja gran similitud con el aceite de olivo por su alto contenido de ácidos grasos esenciales como el oleico en un 41 % y el linoleico en un 37 % [7]. La fuente típica de ácidos grasos son los aceites vegetales (oliva, girasol, soja, colza), se encuentran en forma de triglicéridos (TG) principalmente. Los aceites cuando son de obtenidos por extracción con disolventes y son de poca calidad deben que someterse al proceso de refinación.

Otros compuestos de interés

De manera general, los residuos orgánicos vegetales se han utilizado para la elaboración de biomateriales como el papel o aditivos tales como la pectina.

Biomaterial.

Existen diversos materiales elaborados a partir de las cucurbitáceas que son utilizados en diversas partes de la región de Centro y Sudamérica, tal es el caso de los tecomates (jícaras), que tienen una función de vasija o de contenedores para ciertos productos [8]. Algunas características de las jícaras son rigidez, durabilidad, termicidad entre otras.

Pectina

Las pectinas son polisacáridos de origen vegetal presentes en las paredes celulares de todas las plantas. Comercialmente se utiliza la cáscara de naranjas, limones y manzanas por su riqueza en pectinas y disponibilidad además de ser subproductos en la fabricación de zumos. La extracción se realiza en caliente y con soluciones ácidas [9]. Este polisacárido se encuentra en los espacios intercelulares de los tejidos vegetales y les confiere propiedades específicas de firmeza y textura [10]. En la industria se usan como aditivos para modificar las propiedades reológicas de las soluciones acuosas; así pueden ser usadas como espesantes, emulsificantes, gelificantes, etc.

PARTE EXPERIMENTAL

Materia prima

El chilacayote fue adquirido en el mercado Zapata ubicado en Rancho Xalapa, Puebla, Puebla. Es originario del municipio de Tlatlauquitepec, Puebla. Se separó cada componente del chilacayote para determinar su proporción: cáscara externa, pulpa, semillas y cáscara de la semilla *Análisis proximal*

La composición del chilacayote se determinó en base a las Normas Oficiales Mexicanas para alimentos: cenizas, NMX-F-066-S-1978 [11]; proteínas, NMX-F-068-S-1980 [12]; humedad NMX-F-083-1986 [13]; la determinación de extracto etéreo (Método Soxhlet) se realizó bajo la norma NMX-F-089-S-1978 [14] y la determinación de fibra cruda se realizó bajo la norma NMX-F-090-S-1978 [15]. Además se midieron azúcares reductores solubles con el método del DNS y pectina con la Norma NMX-F-347-S-1980 [16].

Proceso de transformación del chilacayote

Obtención de Pectina

Se pesaron 300 g de pulpa de chilacayote sin semilla, posteriormente se cortó y se dejó reposar por 5 minutos en agua en ebullición, una vez transcurrido este tiempo se separó el sólido y se llevó a reposo con etanol durante 24 horas, posteriormente se filtró para separar el filtrado que sería usado en la extracción de flavonoides. La torta de filtración se enjuagó con agua destilada y se llevó a una hidrolisis ácida con HCl al 0.03 N a temperatura de 90°C durante una hora y media, posteriormente se filtró y la fase líquida se dejó enfriar a 4 °C, se le adicionó etanol a 0°C en una proporción en volumen de 1:3, para precipitar a la pectina. Una vez precipitada la pectina, se filtró a vacío y se secó [16].

Extracción de Flavonoides.

De residuo líquido del reposo de la pulpa con etanol del proceso para la obtención de pectina, se tomaron 200 ml y en una charola se llevaron al secador para eliminar la humedad y el etanol para así obtener los flavonoides de acuerdo al método de Verde y col. [6].

Extracción de Aceite.

A la semilla seca se le eliminó la cáscara, se trituró para la extracción con el método de Soxhlet. Se utilizaron 80 g de la semilla triturada y 100 ml de éter etílico, dejándose en reflujo 5 horas aproximadamente. Una vez trascurrido este tiempo se llevó el matraz a una estufa para eliminar el éter etílico y así obtener el aceite [14], [17].

Elaboración de biomaterial.

Se pesaron 408 g de cáscara de chilacayote y se puso a ebullición durante dos horas con 100 ml HCl 0.1 N y 2 litros de agua, posteriormente se filtró y se hizo una molienda de la fase sólida, se comprimió en un bastidor y finalmente se secó.

Elaboración de dulce cristalizado de chilacayote

Se pesó 917 g de pulpa cortada en trozos pequeños sin semilla y se dejó reposar en cal. Posteriormente se enjuagó para eliminar la cal y en un recipiente se agregó azúcar con agua, se puso a fuego hasta obtener un almíbar en el que se agregaron los trozos de chilacayote. Se quitó del fuego y se dejó en reposo durante 24 horas, transcurrido este tiempo se le agregaron 250 g de azúcar y se llevó a ebullición durante 1 hora.

Fermentación sólida de los residuos

Con todos los residuos generados en cada subproceso, se realizó una fermentación sólida. Se secaron y se determinó el porcentaje de absorción de agua para calcular la cantidad de medio de cultivo adicionado. Se realizó una solución acuosa de esporas de *Aspergillus oryzae* del Cepario de la Facultad de Química de la UNAM. De acuerdo al número de esporas, se adicionó el volumen necesario para obtener 1x10⁵ esporas/gramo de residuo seco. En condiciones asépticas, se mezclaron el residuo y el medio de cultivo estériles con la solución de esporas, hasta homogeneizar lo más posible. Este material fue empacado en una columna de vidrio previamente acondicionada y esterilizada y se dejó incubar durante una semana hasta observar el crecimiento del hongo.

RESULTADOS

Caracterización de la materia prima

En la Tabla 3 se observan los promedios de los datos obtenidos de la medición y peso del de 5 chilacayotes representativos para para su caracterización física y en la Tabla 4 se muestran los porcentajes obtenidos de la composición de cada una de las partes del chilacayote a utilizar. La mayor parte es pulpa pero el porcentaje de cáscara es alto 32.10 % por lo que es necesario darle una aplicación.

Tabla 3. Medidas promedio del chilacayote a partir de un análisis de 5 chilacayotes.

Altura	Diámetro mayor	Diámetro menor	Peso (Kg)
(cm)	(cm)	(cm)	
31	65	47	1.56

Tabla 4 Composición de las partes de chilacayote.

	Cáscara	Pulpa	Semilla	Total
Peso (g)	414.20	1315.00	45.85	1782.50
% base húmeda	24.17	72.99	2.48	99.64
% base seca	32.10	57.12	10.78	100.00

La Tabla 5 muestra los resultados obtenidos del análisis proximal de cada fracción. Tomando como referencia la FAO [5] en su análisis proximal realizado en 2007 para pulpa de chilacayote se observa que los resultados son similares. La cáscara presentó 6.23 % de fibra cruda y la semilla de 7 %, destaca el alto valor de grasa en la semilla.

Tabla 5 Resultados generales obtenidos del análisis proximal.

Compuesto	Cáscara (%)	Pulpa (%)	Semilla (%)	Cáscara de semilla (%)	Referencia FAO [5] (%)
Humedad	85.46	91.85	55.90	0.00	92.8
Cenizas	1.02	0.62	2.74	2.92	0.5

Proteína	0.70	0.46	3.67	1.31	1
Grasas	2.28	0.26	22.41	8.45	0.2
Fibra cruda	6.23	2.74	7.01	57.95	0.4
Azúcares reductores solubles	1.72	0.65	0.14	0.82	5.2
Pectina*		6.15			

^{*}Norma Oficial Mexicana NMX-F-347-S-1980

Proceso de transformación del chilacayote

En el diagrama de flujo en la Figura 1 se presenta la propuesta del proceso general de aprovechamiento del chilacayote compuesto de los subprocesos para la obtención de cada producto, con las operaciones unitarias implicadas. En la Tabla 6 se presentan los rendimientos obtenidos al aplicar las técnicas establecidas para la obtención de aceite, pectina, flavonoides, biomaterial, dulce y la fermentación con los residuos, los cuales nos dan una estimación de la factibilidad del proyecto en cuanto a su rentabilidad. Los productos más prometedores son el aceite con un rendimiento del 42.3 % y el biomaterial con un rendimiento del 83.3 %.

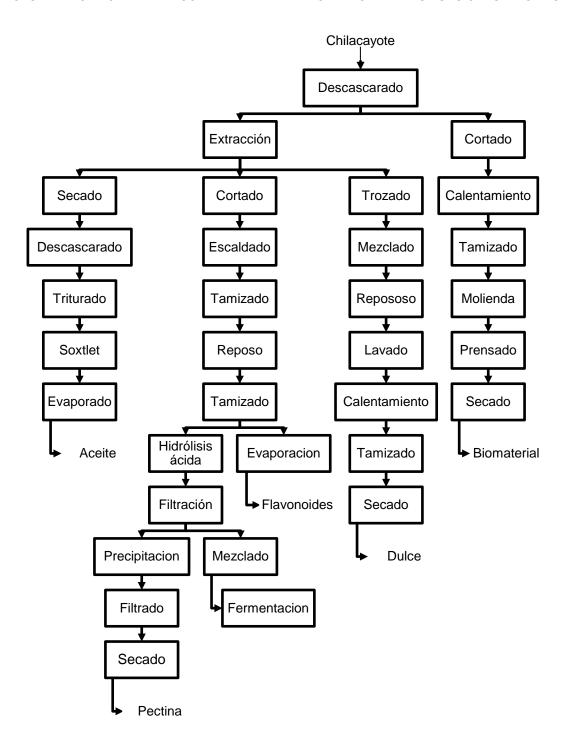


Figura 1 Diagrama de bloques del proceso de biorrefinería del chilacayote.

El aceite de la semilla tuvo un alto rendimiento de 42.3% en base seca en comparación con la bibliografía consultada [7] que reporta un rendimiento del 37.2% De la pulpa del chilacayote se pudo extraer pectina, los rendimientos fueron bajos comparando con pectinas obtenidas de manzana con rendimientos de hasta 16.14% [18] contra el 4.4% de este trabajo, sin embargo este reporte es de los pocos que se han hecho sobre pectina de chilacayote. Cabe mencionar que la

fermentación sólida dio buenos resultados de crecimiento de *Aspergillus oryzae*, esta fermentación tiene potencial como alimento para ganado o bien para la producción de enzimas hidrolíticas.

Tabla 6 Rendimientos obtenidos en el laboratorio por producto en base seca y húmeda

Producto	Rendimiento base húmeda	Rendimiento base seca
Aceite	0.183 g/g pepita	0.423 g/g pepita
Pectina	0.004 g/g pulpa	0.044 g/g pulpa
Flavonoides	0.005 g/g pulpa	0.056 g/g pulpa
Biomaterial	0.150 g/g cáscara	0.833 g/g cáscara
Dulce	0.153 g/g pulpa	0.305 g/g pulpa
Fermentación	1.251 g/g residuo	2.314 g/g residuo

CONCLUSIONES

Se logró la caracterización de las diferentes partes que conforman a un chilacayote (cáscara, pulpa, pepita y cáscara de pepita) y de esta manera conocer su composición por fracción. En la elaboración de los productos a partir de chilacayote, los productos más prometedores son el biomaterial y el aceite. El biomaterial obtenido a partir de la cáscara de chilacayote tuvo una textura más favorable como sustituto de aglomerado de madera que como papel, ya que presentaba un aspecto rígido, grueso y resistente; sin embargo, deberán determinarse sus propiedades mecánicas para darle una aplicación. Los rendimientos de pectina fueron bajos, es necesario mejorar el proceso de obtención y determinar sus propiedades en solución pero este reporte es de los pocos que se han hecho sobre pectina de chilacayote. El aceite de la semilla fue el que tuvo un alto rendimiento de 42.3% en base seca, este producto tiene aplicaciones alimentarias. La elaboración de dulce no es una novedad pero un dulce típico siendo este uno de los principales usos que se le da al chilacayote. En cuanto al producto de fermentación sólida son resultados prometedores como alimento para ganado o para la producción de enzimas hidrolíticas. Este trabajo es una propuesta de proceso general para el aprovechamiento integral del chilacayote, sin embargo las perspectivas son la mejora de las condiciones de cada subproceso para la obtención de los productos seleccionados.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. SIAP SAGARPA. [Online]. Accessed january 2017. Available: http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.isp
- 2. G. E. Delgado-Paredes, "Caracterización de frutos y semillas de algunas cucurbitácea", 2014.
- 3. J. Acosta-Patiño, L. Jimenez-Balderas and E. Juarez-Oropeza, "Hypoglycemic action of Cucurbita ficifolia on type 2 diabetic patients with moderately high blood glucose levels" *Journal of Ethnopharmacology*, pp. 77-101, 2014.
- 4. J. Rodríguez-Miranda, B. Hernández-Santos, J. Castro-Rosas, E. A. Vargas-León, J. Hernandez-Avila, E. Rangel-Vargas and C. Alberto, "Physical Properties of *Cucurbita ficifolia* Seed and Functional Properties of Whole and Defatted Meal", pp. 6-14, 2016.
- 5. FAO. Hortalizas, [Online]. Available: http://rlc.fao.org/es/agricultura/podu/cdroom/contenido/libro11/cuadro1.htm

- 6. J. Verde, F. Cruz, V. López, J. López. "Estudio de la capacidad antioxidante del chilacayote Cucúrbita ficifolia bouchè," in Cong XIC Congreso Nacional de Biotecnologia y Bioingenieria, Ciudad de México, México.
- 7. G. Reder, "Extracción del aceite de Calabaza", PP 12-15, 2009.
- 8. E. Miller, (2015), "Sobre jícaras, bules, calabazas y tecomates", [Online]. Available: http://golgorio.blogspot.mx/2015/01/sobre-jicaras-bules-calabazas-y.html
- 9. S. Chasquibol, "Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana", pp. 175-199, 2008.
- 10. B. B. Koubala, G. Kansci, L. I. Mbome, M. J. Crépeau, J. F. Thibault, M. C. R "Effect of extraction conditions on some physicochemical characteristics of pectins from améliorée and Mango mango peles", *Food Hydrocolloids*, pp. 1345-1351, 2008.
- 11. NMX-F-066-S-1978 Determinación de Cenizas en Alimentos, Foodstuff Determination of Ashes. Normas Mexicanas, Dirección General de Normas. Accesado enero 2017. Disponible: http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-066-S-1978.PDF
- 12. NMX-F-068-S-1980 Determinación de Proteínas en Alimentos, Foods Determination of Proteins. Normas Mexicanas, Dirección General de Normas. Accesado enero 2017. Disponible: http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-068-S-1980.PDF
- NMX-F-083-1986 Determinación de humedad en productos alimenticios, Moisture in Food Products Determination. Normas Mexicanas, Dirección General de Normas. Accesado enero 2017. Disponible: http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-083-1986.PDF
- 14. NMX-F089-S-1978 Determinación de extracto etéreo (método Soxhlet) en alimentos, Foodstuff Determination of Ether Extract (Soxhlet). Normas Mexicanas, Dirección General de Normas. Accesado enero 2017. Disponible: http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-089-S-1978.PDF
- 15. NMX-F-090-S-1978-Determinación de fibra cruda en alimentos, Foodstuff Determination of Crude Fiber. Normas Mexicanas, Dirección General de Normas. Accesado enero 2017. Disponible: http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-090-S-1978.PDF
- NMX-F-347-S-1980 Frutas y derivados. Determinación de pectina. Fruits and Derivatives. Determination of Pectine. Normas Mexicanas, Dirección General de Normas. Accesado enero 2017. Disponible: http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-347-S-1980.PDF
- 17. J. Pereda-Marin, F. Barriga Mateos and M.P. Álvarez-Mateos, "Aprovechamiento de las oleinas residuales procedentes del proceso de refinado de los aceites vegetales comestibles, para la fabricación de biodiesel. Grasas y aceites", pp. 130-137, 2003.
- 18. A. Arellanes, M. Jaraba, Z. Mármol, G. Páez, C. A. Mazzarri and M. Rincón, "Obtención y caracterización de pectina de la cáscara del cambur manzano", *Revista de la Facultad de Agronomía*, pp. 28, 2011.

EVALUACIÓN DE LA PROLIFICIDAD EN CONEJAS MEDIANTE EL NÚMERO DE PARTOS Y **GENOTIPO**

Lucio Domínguez2, R. Sesento García L., Bedolla Cedeño J2. L. C. Cruz Hernández A. R4; Velázquez Ordoñez4, V; Sánchez Parra V.M4.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. ² Colegio Primitivo y Nacional de San Nicolás de Hidalgo. ⁴ Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México.

E-mail: dr.rlucio@hotmail.com

RESUMEN

La prolificidad es una de las características que más distinguen la capacidad reproductiva de la coneja, con un promedio de 8 gazapos por camada, por lo tanto en los sistemas de producción es importante tomar en cuenta esta característica, ya que de ello depende en gran medida el éxito productivo de una explotación canícula. Por tal motivo el objetivo de la presente investigación es conocer y evaluar la prolificidad en relación con el genotipo y numero de parto, utilizando dos razas de conejas; la Nueva Zelanda y California. Para dicho estudio se trabajó con un total de 40 hembras, las cuales fueron agrupadas en dos tratamientos; grupo 1, compuesto de 20 hembras de la raza Nueva Zelanda y el grupo 2, compuesto por 20 hembras de la raza California, entre el 1° y 3º parto. Llevando el registro del Total de Gazapos Nacidos (TGN); Gazapos Vivos (GV) y Gazapos Muertos (GM), de acuerdo al Número de Parto (NP) y genotipo. Los datos fueron analizados mediante ANOVA utilizando el programa SAS (GLM) para determinar las relaciones entre las variables. Resultando no significativos (p<0.05), es decir, el TGN, GV y el NP son iguales para las dos razas por lo que se define que los factores que determinan esto son factores ambientales no tomados en cuenta en ese estudio.

Palabras clave: Prolificidad, cunicultura, genotipo, nueva Zelanda, california.

INTRODUCCIÓN

El conejo doméstico, Siendo una especie con alta prolificidad y periodos cortos de reproducción, es una alternativa viable para abastecer la demanda de carne entre la población (Rosas, 2013), ya que es un alimento sano para el consumo humano y su consumo frecuente, sobre todo en niños, adolescentes y mujeres embarazadas aporta beneficios nutricionales y un alto contenido en proteínas, vitaminas y minerales. Asi mismo, ayuda a evitar padecimientos de salud ligados a enfermedades coronarias, colesterol elevado y a las que se derivan del exceso de peso o de las dietas inadecuadas, logrando un mejor funcionamiento de los sistemas digestivo y circulatorio (OEIDRUS, 2009: 7).

Sin embargo el consumo de conejo en México no es muy común, llegando a ser muy inferior comparado con otros países, debido a que la mayoría de la población, prefiere consumir la carne de res, cerdo o pollo; además de tener poca o nula información sobre las propiedades que aporta (*OEIDRUS*, 2009: 7). En 2007, el inventario nacional de conejos fue de 500,349 cabezas, siendo el estado de México el 1º lugar a nivel nacional, con una producción de 151,054, lo que representa el 30% de la población total (*Ortega*; 2012).

La productividad en cunicultura está determinada por el número de partos, la prolificidad y la viabilidad de los gazapos, dichos caracteres se encuentran en un grupo de rasgos, que pueden ser mejorados por cruzamientos, produciendo cambios en la descendencia, relativo al de los parentales buscando aumentar y mejorar estos caracteres para que se pueda ver un cambio en el área de producción (*García et al; 2013*). Los resultados reproductivos en cunicultura se basan en el buen funcionamiento de área de maternidad, ya que los ingresos en las explotaciones dependen de manera importante de la capacidad reproductiva de la hembra, así como la mortalidad de gazapos (*Ortega; 2012*).

La raza Nueva Zelanda presenta un mayor tamaño total de camada de nacidos vivos comparado con las razas California y Chinchilla, con lo que se indica que las hembras Nueva Zelanda son excelentes reproductoras realizando un buen trabajo a la hora de concebir y llevar a buen término una gestación, donde casi todos los gazapos nacen vivos (*Ortega*; 2012).

Uno de los factores fundamentales en la rentabilidad de una explotación intensiva de conejos para carne es el número de partos por coneja por año, lo cual determina el ritmo de la reproducción (Rodríguez de Lara; 1967). Por esta razón, es de gran interés realizar un estudio en el sector cunícola de la posta zootécnica, con la finalidad de saber que raza es mejor en base a su reproducción.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 40 conejas reproductoras, entre el primer y tercer parto, de las razas California y Nueva Zelanda (20 de cada una), con un peso promedio de 3 kg. La duración promedio de la gestación fue de 31 días.

Se alimentaron con un alimento comercial de la marca purina con un contenido nutricional 18% de proteína, 4% de grasa, 15.5% de fibra, 12% de humedad, 10% de ceniza, 1.1% de calcio y .60% de fosforo.

El manejo consistió en presentar a las hembras reproductoras a los sementales a partir de los 11 días posparto y en caso de ser primerizas a los 4 - 4.5 meses, se utilizo monta dirigidita, para la cual el semental seleccionado se coloca en la jaula de la hembra, previa detección del celo mediante la inspección de los genitales externos y la comprobación de la tumefacción bulbar y el cambio de coloración de la mucosa, según la metodología descrita por *Ponce de León (1994)*.

Los nidos se colocaron alrededor de los 26 días después de la monta se introduce una caja de madera de 30 cm de largo, 15 de ancho y en la parte superior 5 cm de alto, en la parte posterior 15 cm de alto. Estas están llenas de viruta para dar calor a los recién nacidos y una base de malla para que en caso de que la coneja pueda mojar el nido se retenga el líquido (orina).

Procesamiento de los datos. Se utilizó el programa SAS (GLM) para el análisis de varianza (ANOVA) el número de parto y el tamaño de camada (Número de gazapos vivo y muertos) entre las razas Nueva Zelanda y California.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El promedio para el total de gazapos nacidos en las conejas de la raza California fue de 8.55±3.26 gazapos, (Tabla 1), en cuanto a las hembras de la raza Nueva Zelanda el promedio de gazapos nacidos es de 8.25±0.89, sin embargo en estas hembras el promedio de gazapos vivos es 6.55±3.11 gazapos (Tabla 2), mientras que para las conejas de raza California es de 6.9±3.37 gazapos vivos, lo que indica que difieren tanto en el tamaño de camada, como en la cantidad de gazapos vivos, en donde la raza California, tiene un mayor promedio,(Grafica 1), contradiciendo con lo mencionado por Ortega (2012) quien encontró resultados opuestos donde el total de camada en la Nueva Zelanda se muestra una media mayor de 8.1±0.5 gazapos, mientras que la California presenta un promedio de 7.7±0.8 esto varía de acuerdo al ritmo de producción, de igual manera la NZ también presenta una media mayor de 7.4±0.5 sobre la Cal la cual presenta un promedio de 7.5±0.8 lo cual indica una mayor capacidad de las hembras para concebir y llevar a un buen término de la gestación donde casi todos los gazapos nacen vivos.

En cuanto al porcentaje de gazapos muertos al nacimiento, para raza California es de 13.45%, siendo mayor para la raza Nueva Zelanda la cual presenta un 20.60% de gazapos muertos al nacimiento. Resultados que fueron mayores comparándolos con los encontrados por *López et al.*, 2011quien menciona en su estudio que el 8.4% del total de los gazapos nacidos corresponde al número de gazapos muertos. Son pocos los casos de muerte en los gazapos por enfermedad durante los primeros días de nacidos, siendo la principal la mala calidad de los equipos e instalaciones o la deficiente alimenticia en las conejas, la cual causa deficiencia de leche en las hembras por lo tanto desnutrición en los gazapos. *Pérez (2015)* menciona que el peso de los gazapos está relacionado con la mortalidad en los primeros días de vida ya que cuanto más peso tiene un gazapo más alto es la probabilidad de supervivencia. D igual manera otro factor que incide en la mortalidad de gazapos al nacimiento, se sabe que el aumento del número de nacidos vivos conlleva un aumento de la mortalidad en los primeros días tras el parto, ya que camadas más grandes tienen gazapos con menos peso y conllevan un aumento en la competencia por el alimento hasta el momento en el que el gazapo empieza a consumir alimento sólido.

Tabla 1. Estadística descriptiva de las variables reproductivas analizadas en las hembras de raza California.

Variables	Promedio	Desviación estándar
NP	1.55	0.38
TGN	8.55	3.26
GV	6.9	3.37

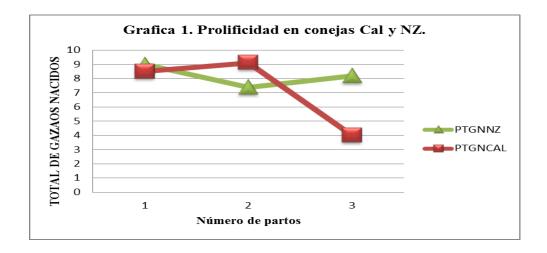
NP número de partos: TGN total gazapos nacidos; GV gazapos vivos.

Tabla 2. Estadística descriptiva de las variables reproductivas analizadas en las hembras de raza Nueva Zelanda.

Variables	Promedio	Desviación estándar
NP	1.55	0.38
TGN	8.25	0.89
GV	6.55	3.11

NP número de partos: TGN total gazapos nacidos; GV gazapos vivos.

El comportamiento de la prolificidad en la raza California presenta una elevación entre los partos 1 y 2 sin embargo tiene un descenso en el parto 3, mientras que la raza Nueva Zelanda presenta un descenso entre el parto 1 y 2 pero hay un incremento en el parto 3, indicando que en las hembras de esta raza se mantiene más constante la prolificidad entre el número de partos. De acuerdo con *Ortega (2012)* menciona que el tamaño total de camada al nacimiento tiene un efecto creciente en el primero al cuarto parto, con un promedio de 8 gazapos nacidos (Gráfica 1).



PTNNZ Promedio del total de gazapos nacidos en raza Nueva Zelanda; PTGNCAL Promedio del total de gazapos nacidos en la raza California.

En cuanto a los resultados arrojados por el análisis de varianza entre genotipo y el TGN no se encuentra relación (P>0.05) es decir, tanto para las hembras de la raza Cal y NZ, el genotipo no afecta la prolificidad (Tabla 3), difiriendo con los resultados obtenidos por *Ortega (2012)* y *Ponce (2003)*, quienes mencionan que en la relación del genotipo con respecto al tamaño total de camada al nacimiento, la raza nueva Zelanda obtuvo mejores resultados. Indicando que factores ajenos a este estudio pueden estar influenciando el TGN como menciona *Ortega (2002)* quien menciona que el tamaño de camada nacida viva es afectada por la movilización de reservas energéticas al gestar y lactar simultáneamente.

Tabla 3. Análisis de varianza con respecto al genotipo y el total de gazapos nacidos en las 2 razas de estudio.

F de V	GL	sc	СМ	Fcal	Ftab
Genotipo	1	0.9	0.9	0.12	0.7335
Error	38	290.7	7.65		
Total corregido	39	291.6			
Prom (µ) y ±	8.400000±2.765863				
R ²	0.003	3086			

De igual manera los resultados del análisis de varianza para NP indican que este no define el TGN en ambas razas NZ y Cal (P>0.05), por lo que no es un factor importante en la prolificidad de esta unidad de producción cunícola (Tabla 4). Reiterando nuevamente que son factores externos a los tomados en cuenta para este estudio los que están influenciando en la prolificidad. Contradiciendo con lo mencionado por *Hafez* (1970) citado por *Ortega* (2012) quien señalo que el número de gazapos está relacionado con el número de parto. *Rebollar* (2007) menciona que la prolificidad de las conejas que están lactantes es baja en promedio de 6.9 gazapos, ya que la lactación es uno de los factores que afectan la prolificidad y esto ocurre con más frecuencia en los primeros partos, por lo que este puede ser uno de los factores que estén repercutiendo en los resultados obtenidos en estas hembras.

TABLA 4. Análisis de varianza con respecto al NP y el TGN en las 2 razas de estudio.

F de V	GL	SC	CM	$\mathbf{F_{cal}}$	\mathbf{F}_{tab}
NP	2	3.2597222	1.6298611	0.13	0.8762
Error	37	454.71528	12.289602		
Total corregido	39	457.975			
Prom (µ) y ±	6.725±	3.505653			
\mathbb{R}^2	0.0	07118			

CONCLUSINES

De acuerdo con los resultados, se puede determinar que el promedio de nacidos vivos de la raza Nueva Zelanda es de 8.25, mientras que la raza California presenta un promedio de 8.55, esto

indica que no se muestran diferencias significativas (p<0.05) de acuerdo a nuestro análisis de varianza (ANOVA), por lo tanto los factores analizados de Genotipo y Número de Parto no están influenciando el total de gazapos nacidos, siendo otros factores los que pueden estar afectando la prolificidad.

BIBLIOGRAFIA

- 1. Antini-G,A. Corva-G,S. and. M.I.O; 2008. Selección por tamaño de cmada en conejos para carne. *Scielo*.
- 2. O. López. Montejo-L,I. y, lamela-L; 2011; Evluación de indicadores productivos en conejas Mestizas con una dieta basada en forrajey pienso criollo. *scielo*.
- 3. Ponce de León, R; 1994. La produccion de carne de conejos. ACPA, pp. 49-56.
- 4. García, and Ponce de León-E, R. Mastache-A,A. et al; 2011. Componentes geneticos de los rasgos de prolificidad y mortalidad. *Revista Cubana de Ciencia*.
- 5. De león, P. R; Guzmán, G; Pubillones, O; et al. 2003. Comportamiento reproductivo y pre desteté de razas puras de conejas importadas. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 37(4:355-361).
- 6. Rebollar, G. P; 2007. Parámetros reproductivos, indicadores de productividad en granjas comerciales de conejo de carne. Boletin de Cunicultura. 149: 44-53.
- 7. Rodríguez de Lara, Efectos de diferentes ritmos de reproducción sobre el comportamiento productivo reproductivo de conejos para carne bajo sistemas de explotación intensiva, (Tesis de ingeniería en agronomía), Universidad Autónoma de Chapingo.
- Ortega, B. E. 2012. Factores genéticos y ambientales que afectan el comportamiento reproductivo de conejas Nueva Zelanda y Chinchilla. (Tesis para maestro en ciencias) Montecillo.
- 9. Rodriguez, B. 1981. Manual práctico de cría moderna conejo. Editoriales mexicanos unidos, S.A México. 99-224.
- 10. **OIEIDRUS, 2009.** Estudio Sobre cunicultura en el estado de Baja California. Baja California: SAGARPA.
- 11. Antoni-G,A. Corva-G,S. and. M. I. O; 2008. Selección por tamaño de camada en conejos para carne. *scielo*.
- 12. O. López. Montejo-L,I. y. Lamela-L; 2011; Evaluación de indicadores productivos en conejas mestizas con una dieta basada en forraje y pienso criollo. *scielo*.
- 13. Ponce de León, R; 1994. La producción de carne de conejos. ACPA, pp. 49-56.
- 14. García, Y. Ponce de Leon-E, R.Mastache-A,A.et al; 2011. Componentes genéticos de los rasgos de prolificidad y mortalidad al. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*.
- 15. García, Y. Ponce de León-E, R. and Guzman-G,S; 2013. Efectos aditivos directos maternos y la heterosis en rasgos de prolificidad. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*.

DEGRADACIÓN DE PLUMAS DE POLLO POR MEDIO DE UN CO-CULTIVO DE BACTERIAS

Victoria Enciso T., Galicia G. P. R., Zavaleta M. H. A., Torres M. Daniel y Quezada C. Maribel

Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Universidad Tecnológica de Tecámac. Km. 37.5 Carretera Federal México – Pachuca. Col. Sierra Hermosa. CP 55740. Tecámac, Edo. de México. *mabelqz@yahoo.com.mx.

Unidad de Microscopía Electrónica, Posgrado de Botánica. Colgio de Postgraduados. Km. 36.5 Carretera México-Texcoco. Col. Montecillo. Texcoco, Edo. de México.

RESUMEN

A nivel mundial se sacrifican millones de pollos anualmente que generan toneladas de desechos de plumas. En México se estima que para el año 2018 el consumo total de pollo será de 3,274 millones de toneladas, lo cual significa que se generarán alrededor de 163.7 a 327.4 millones de toneladas de plumas, debido a que del 5 al 10% del peso total del pollo son plumas¹. En el presente trabajo se determinó la factibilidad para degradar plumas de pollo por medio de tres cepas puras de bacterias y su co-cultivo. El estudio se realizó a 35°C, 120 rpm y pH inicial de 6.8-7.2 en caldo nutritivo. Para evaluar la degradación de las plumas y el crecimiento de las bacterias, se midió la absorbancia a 580 nm, se cuantificó la concentración de proteína soluble de acuerdo con Bradford (1976) y la presencia de aminoácidos por el método de la ninhidrina de acuerdo con Pearce et al. (1988). Se observaron muestras en un microscopio electrónico de barrido JEM 6390 JEOL a 5 y 10 Kv previamente recubiertas con una delgada capa de oro-paladio en una ionizadora de oro JOEL FINE COAL JFC-1100. Los resultados mostraron que hubo diferencia significativa al comparar la degradación de las plumas entre las cepas puras y el co-cultivo de tal manera que la eficiencia fue mayor en el co-cultivo con la degradación total de la pluma en 14 días. La microscopía electrónica mostró la presencia de bacterias en las fibras de queratina en el sedimento y en las estructuras elípticas y redondas formadas durante la degradación del raquis. Se concluye que la degradación de plumas es factible a escala laboratorio por medio de un co-cultivo.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se sacrifican millones de pollos anualmente que generan toneladas de desechos de plumas (Zaghloul *et al.*, 2011 Fakhfakh *et al.*, 2011). En México se estima que para el año 2018 el consumo total de pollo será de 3,274 millones de toneladas (SAGARPA, 2009), lo cual significa que se generarán alrededor de 163.7 a 327.4 millones de toneladas de plumas, debido a que del 5 al 10% del peso total del pollo son plumas (Srivastava *et al.*, 2011; Tamil, *et al.*, 2012).

Kornillowicz-Kawalska y Bohacz (2010) que en recientes años se han estudiado tecnologías para la degradación de las plumas que son económicas y que generan subproductos útiles como lo son enzimas, proteínas solubles y aminoácidos (Nam *et al.*, 2002; Chaturvedi *et al.*, 2013; Mazotto *et al.*, 2013). La degradación microbiológica de plumas puede proveer una alternativa viable para mejorar su utilización porque es ecológicamente segura, de bajo costo y ofrece condiciones de reacción menos agresivas que los procesos fisicoquímicos.

Se han estudiado diferentes tipos de microorganismos para degradar plumas, dentro de los que destacan cepas puras de bacterias de los géneros *Bacillus* (Forgács *et al.*, 201; Liu *et al.*, 2014), *Pseudomonas* (Tamil *et al.*, 2012; Chaturvedi *et al.*, 2014) y *Xantomonas* (Jeong, *et al.*, 2010) entre otras. También, se han estudiado hongos como *Coprinopsis*, y *Aspergillus* (Al-Musallam *et al.*, 2013; Mazotto *et al.*, 2013), consorcios bacterianos (Xia *et al.*, 2012) y cultivos mixtos de actinomicetos (Vasileva-Tonkova *et al.*, 2009). Además, actualmente algunos autores han llevado a cabo modificaciones genéticas en cepas de *Escherichia coli*, *Brevibacillus* sp. y *Bacillus subtilis*, con la finalidad de mejorar la degradación de las plumas de pollo en un menor tiempo (Mukherjee *et al.*, 2011; Zaghloul *et al.*, 2011; Sharma *et al.*, 2013).

Briceño *et al.* (2016) encontraron que cepas de *Streptomyces* spp. realizan remoción de pesticidas organofosforados en un rango de 32 hasta un 74%, en tanto que un co-cultivo de las cuatro mejores cepas de este género alcanzó una remoción del 85%. En general los co-cultivos permiten incrementar rendimientos entre 15 y 30 % más, en relación a las cepas puras sin embargo, se tienen pocos estudios de la degradación de plumas con co-cultivos. Por lo anterior, en el presente trabajo se determinará la eficiencia (factibilidad) de degradación de plumas de pollo por medio de un co-cultivo de bacterias.

TEORÍA

La pluma se compone principalmente de tres unidades distintas, el eje central de la pluma que se llama raquis, al que se adjunta la estructura secundaria, las barbas. La estructura terciaria de las plumas, las bárbulas o barbillas que están asociadas a las barbas.

El raquis le sirve de eje y tiene el aspecto de una caña hueca; a pesar de ser una estructura muy ligera, le da la rigidez necesaria para mantenerla firme. El raquis está relleno de sustancias muertas, pigmentos y proteínas, que quedaron ahí como resultado de su desarrollo. La parte inferior del raquis es más ancha y hueca, generalmente desnuda, se le denomina cálamo o cañón, es la parte por la cual la pluma está insertada en la piel. El cálamo tiene en la parte inferior un orificio denominado ombligo inferior que es por donde la pluma es alimentada durante su crecimiento. En la parte superior del cálamo el raquis empieza a aplanarse y encontramos, justo en donde termina el cálamo, otro orificio denominado ombligo superior que es por donde el cuerpo laminar de la pluma emergió al comenzar a crecer. En los márgenes laterales del raquis crece el vexilo o estandarte de la pluma, estructura a manera de lámina dividida en dos partes opuestas. Es el cuerpo visible y de mayor área de la pluma, formado por una complicada red de uñas entrelazadas que son las barbas, que dan la textura de un tejido muy ligero con la capacidad de soportar una carga pesada por unidad de área, principio que permite a las aves volar (Rddy y Yang, 2007).

De acuerdo a Costa et al. (2012), la pluma tiene un porcentaje de sólidos volátiles de 99 ± 1.4 , lo que representa la mayor parte de la materia posiblemente degradable ya que contiene 92.0 ± 0.48 porciento de proteína cruda, de la cual 82.8 ± 0.51 porciento es queratina (Xia et al., 2012) constituida por diferentes aminoácidos a partir de los cuales se puede obtener nitrógeno que es un nutriente esencial para el desarrollo de los microorganismos capaces de degradar las plumas de pollo. Algunos otros constituyentes de la pluma son la grasa con 2.79 ± 0.032 % (Xia et al., 2012) y cenizas con 0.69 ± 0.08 % (Fakhfakh et al., 2011).

METODOLOGÍA

Microorganismos. Se aislaron 3 bacterias de una muestra obtenida de los desechos de una procesadora de pollos "Las Rosas" ubicada en el municipio de Tizayuca Estado de Hidalgo,

México. El aislamiento se realizó por medio de la técnica de dilución decimal hasta 10⁻⁵ y se sembró 0.1 ml en agar nutritivo durante 48 horas a 35°C. Una vez aisladas las bacterias se pusieron a crecer en agar nutritivo durante 48 horas a 35°C y se formó un co-cultivo con cada una de las tres bacterias y posteriormente se pusieron a crecer en caldo nutritivo a 35°C durante 48 horas.

Preparación de las plumas. Se lavaron plumas con agua de grifo, se dejaron secar 24 horas a 60 °C y se pesaron 5 gramos. Posteriormente, se lavaron 2 veces en agua hirviendo durante 5 minutos para posteriormente utilizarlas en el proceso de degradación.

Condiciones del proceso. El estudio se realizó por triplicado en matraces de un litro con un volumen útil de 500 mL. Se adicionaron 100 ml del co-cultivo de bacterias previamente crecido en caldo nutritivo. Las condiciones del proceso de degradación fueron agitación a 120 rpm y pH de 6.8-7.2 durante 14 días. En la primera etapa se evaluó la degradación de las plumas con tres cepas puras y en la segunda etapa con el co-cultivo (tres cepas) a temperatura de 35° C.

Degradación de las plumas. Para evaluar la degradación de las plumas y el crecimiento de las bacterias se determinó la absorbancia a 580 nm de acuerdo con un barrido realizado previamente y apoyados con los autores (Coello, 2000; Agrahari y Wadhwa, 2010). Después del proceso de degradación, se filtraron las muestras en papel Whatman GF/A 22mm para cuantificar la concentración de proteína soluble y aminoácidos.

Determinación de proteína y aminoácidos solubles. A las muestras filtradas se les determinó la concentración de proteínas de acuerdo con Bradford (1976), para la curva de calibración se utilizó albúmina bovina (SPINREACT, S.A./S.A.U.). La concentración de aminoácidos solubles se determinó por el método de la ninhidrina de acuerdo con Pearce et al. (1988).

Microscopía Electrónica de Barrido. Las muestras de las estructuras (esféricas y elípticas) formadas durante la degradación del raquis de la pluma se fijaron en glutaraldehido al 3.0 % en buffer de fosfatos al 0.1 M (pH 7.2) durante 24 horas a temperatura ambiente. Se enjuagaron 2 veces con agua desionizada y se dejaron reposar con agua desionizada durante 40 min. La post-fijación se realizó en tetraóxido de osmio al 1% por una hora y posteriormente las muestras se enjuagaron con buffer de fosfatos. Después de la post-fijación, las muestras se deshidrataron con una serie de alcoholes a diferentes grados y se secaron a punto crítico. Se recubrieron con una delgada capa de oro-paladio durante 60 segundos en una ionizadora de oro JOEL FINE COAL JFC-1100. Las muestras se observaron en un microscopio electrónico de barrido JEM 6390 JEOL a 5 y 10 Kv.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

DEGRADACIÓN DE LA PLUMA. El crecimiento de las bacterias puras y como co-cultivo permitió observar (figura 1) que hay diferencia durante los 14 días de degradación de las plumas. En el caso de *Alcaligenes faecalis* LR2, se observa que no hubo crecimiento y visualmente tampoco degradación. En el caso de *Alcaligenes faecalis* LR1 y *Brevundimonas diminuta* tuvieron un comportamiento similar, es decir, para el día 8 se inició la etapa logarítmica de crecimiento y para el día 19 se tuvo la etapa estacionaria (datos no mostrados), sin embargo no hubo degradación de la pluma (observación visual). El co-cultivo tuvo una etapa logarítmica de crecimiento desde el primer día de contacto de las bacterias con las plumas, de tal manera que su máximo crecimiento se dio el día 9 y del día 10 al 14 se dio la etapa estacionaria (etapa en la que se tuvo la total degradación de la pluma).

Se han reportado algunas bacterias como *B. megaterium* SN1, *B. thuringenesis* SN2, *B. pumilis* SN3 que han presentado una fase lag de crecimiento de 24 a 48 hrs (Agrahari et al., 2010), en el presente trabajo el co-cultivo (Fig. 1) desde los primeros días tuvo un crecimiento aceptable no presentando fase lag. Cuando las cepas son utilizadas por separado presentan una fase lag de 8 días, por lo cual se recomienda el uso del co-cultivo.

Se realizó una comparación de las medias de velocidad específica de crecimiento con el programa IBM SPSS Statistics versión 24.0, donde se tomó como variable dependiente la velocidad específica de crecimiento μ (d-1), se utilizaron triplicados por cada cepa, en las comparaciones múltiples se utilizó la prueba de HSD Tukey. Se observó que existe diferencia significativa entre la velocidad específica de crecimiento del co-cultivo y las cepas y no hubo diferencia significativa entre Alcaligenes faecalis LR1 y Brevundimonas diminuta.

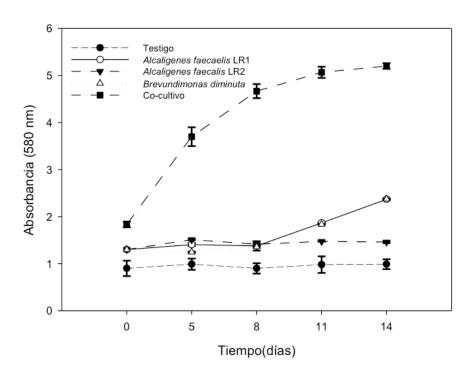


Figura 1. Crecimiento de las bacterias puras y el Co-cultivo por la degradación de las plumas

PROTEINAS Y AMINOÁCIDOS SOLUBLES. Después de la degradación de las plumas, en la parte soluble se determinó la concentración de proteína y aminoácidos en tres muestras (Figura 2). Los resultados mostraron que se tienen concentraciones de proteínas de 12.60 a 18.60±0.02 μg.mL⁻¹ al utilizar caldo nutritivo al 100% como fuente adicional de carbono. Estos resultados son similares a los obtenidos por Jeong *et al.* (2010), el cual utilizó diferentes fuentes de carbono y *Stenotrophomonas maltophilia* para degradar plumas, ellos obtuvieron 11.2±0.8-19.7±2.6 μg.mL⁻¹ de proteína al utilizar glucosa como fuente de carbono. La concentración de aminoáciodos fue de 2.64 mg.mL⁻¹, lo cual concuerda con lo reportado por Tamil *et al.*, (2012).

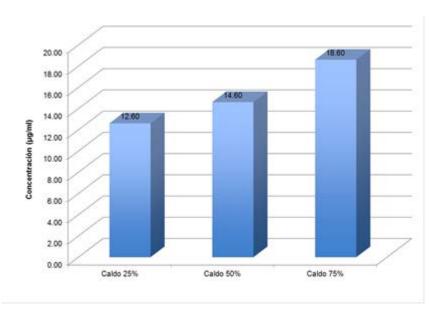


Figura 2. Concentración de proteína en tres muestras después de la degradación de plumas

En la Figura 3a se observan las plumas sin degradar en el primer día del proceso. En el día 7 (Figura 3b) se observa un sedimento con las barbas de las plumas degradadas por el co-cultivo, también se observan los raquis y muchas barbillas; dos días más tarde (Figura 3c) se observan estructuras redondas y elípticas alrededor de muchos raquis. Para el día 14 (Figura 3c, d y e se observan las estructura redondas y elípticas sin presencia de raquis. Durante la degradación de las plumas, las barbas son primero metabolizadas y más tarde los raquis son degradados (Kumar et al., 2011). Sin embargo, en algunas cepas se ha observado que los raquis de las plumas de pollo no son totalmente degradados y por lo tanto la degradación completa de las plumas no se llevó a cabo (Bach et al., 2011).

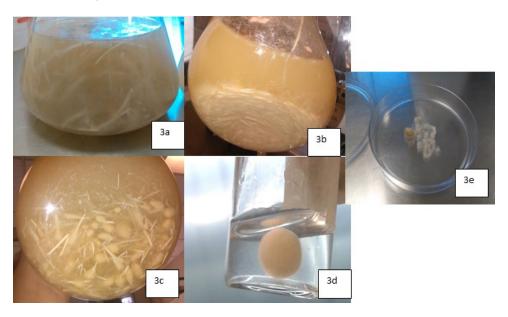


Figura 3. a) Sedimento formado después de la degradación de las plumas, b) Estructuras formadas alrededor del raquis, c y d) Estructuras redondas y elípticas sin presencia de raquis.

MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA. Se observó en el microscopio electrónico de barrido la microestructura de las plumas durante su degradación y las muestras del sedimento después de 7 días de degradación (Figura 4a y b) y de las estructuras redondas y elípticas formadas alrededor de los raquis (figura 4c). En el sedimento se observó una gran cantidad de bacterias cubriendo las fibras de queratina de las bárbulas de la pluma después de 7 días de degradación (Figura 4a). Las bárbulas presentan una textura fibrilar como lo indica Reddy y Yang (2007). A 10,000 aumentos se tiene un acercamiento suficiente para observar una de las fibras de las bárbulas y las bacterias degradadoras en forma de bacilos de diferentes tamaños (Figura 4b). También se observan unas estructuras en forma de hilos que hacen pensar en la secreción de algunas proteínas que permiten a las bacterias adherirse a las fibras de queratina. En el caso de las estructuras (elíptica) que se formaron alrededor de los raquis (Figura 4c) se observa que están constituidas de fibrillas de queratina sin un arreglo aparente. Después de 11 días se presentan cambios morfológicos de las fibrillas cambiando a estructuras con ondulaciones y desintegración (Figura 4d).

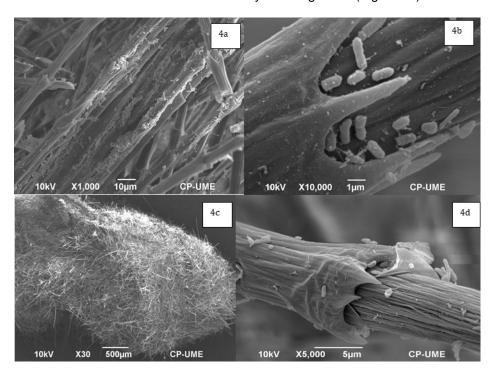


Figura 4. Microscopía electrónica durante la degradación de las plumas.

CONCLUSIONES

Es posible la degradación de las plumas de pollo por medio de un co-cultivo de bacterias a 121 rpm., 35 °C y una fuente de carbono como el caldo nutritivo. Se tuvo diferencia significativa al comparar la degradación de las plumas con las cepas puras y con el co-cultivo de tal manera que la mejor degradación se obtuvo a los 14 días con caldo nutritivo al 100 % y el co-cultivo de bacterias. Después de la degradación de las plumas se pudo determinar una máxima concentración de proteínas de 18.60 µg.L⁻¹ y 2.64 mg,mL⁻¹ de aminoácidos.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Biól. Simón Morales Rodríguez por su apoyo técnico para el procesamiento de las muestras en microscopia electrónica de barrido.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrahari, S., Wadhwa, N. 2010. Degradation of Chicken Feather a Poultry Waste Product by Keratinolytic Bacteria Isolated from Dumping Site at Ghazipur Poultry Processing Plant. International Journal of Poultry Science, 9(5): 482-489. http://scialert.net/abstract/?doi=ijps.2010.482.489
- 2. Al-Musallam, A. A., Al-Gharabally, D. H., & Vadakkancheril, N. 2013. Biodegradation of keratin in mineral-based feather medium by thermophilic strains of a new Coprinopsis sp. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 79: 42-48.
- 3. Bertsch, A., Álvarez, R., Nereida, C. 2003. Evaluación de la calidad nutricional de la harina de plumas fermentadas por kocuria rosea como fuente alternativa de proteínas en la alimentación de aves. Revista científica FCV-LUZ, 13(2): 139-145.
- Bradfor M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72 (1976) 248– 254
- 5. Briceño, G., Schalchli, H., Mutis, A., Benimeli, C. S., Palma, G., Tortella, G. R. and Diez, M. C.2006. Use of pure and mixed culture of diazinon-degradieng Streptomyces to remove other organophosphorus pesticides. International Biodeterioration and Biodegradation. 114: 193-201.
- 6. Coello, N., Vidal, L., & Bretaña, A. 2000. Aislamiento de una cepa de Kocuria rosea degradadora de plumas de aves de corral. *Revista Científica FCV-Luz*, 10(2): 107-113.
- 7. Costa, J. C., Barbosa, S. G., & Sousa, D. Z. 2012. Effects of pre-treatment and bioaugmentation strategies on the anaerobic digestion of chicken feathers. Bioresource Technology, 120(0): 114-119.
- 8. Chaturvedi, V., Bhange, K., Bhatt, R., Verma, P. 2014. Production of kertinases using chicken feathers as substrate by a novel multifunctional strain of Pseudomonas stutzeri and its dehairing application. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 3(2): 167-174. http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2013.08.005
- 9. Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- Fakhfakh, N., Ktari, N., Haddar, A., Mnif, I. H., Dahmen, I., Nasri, M. 2011. Total solubilisation of the chicken feathers by fermentation with a keratinolytic bacterium, Bacillus pumilus A1, and the production of protein hydrolysate with high antioxidative activity. Process Biochemistry, 46(9): 1731-1737. http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2011.05.023
- 11. Forgács, G., Alinezhad, S., Mirabdollah, A., Feuk-Lagerstedt, E., & Horváth, I. S. 2011. Biological treatment of chicken feather waste for improved biogas production. *Journal of Environmental Sciences*, 23(10): 1747-1753.
- 12. Jeong, J.-H., Park, K.-H., Oh, D.-J., Hwang, D.-Y., Kim, H.-S., Lee, C.-Y., & Son, H.-J. 2010b. Keratinolytic enzyme-mediated biodegradation of recalcitrant feather by a newly isolated Xanthomonas sp. P5. *Polymer Degradation and Stability*, 95(10): 1969-1977.
- 13. Korniłłowicz-Kowalska, T., & Bohacz, J. 2010. Dynamics of growth and succession of bacterial and fungal communities during composting of feather waste. *Bioresource Technology*, 101(4): 1268-1276.
- 14. Kumar, E. V., Srijana, M., Chaitanya, K., Reddy, Y. H. K., Reddy, G. 2011. Biodegradation of poultry feathers by a novel bacterial isolate Bacillus altitudinis GVC11. Indian Journal of Biotechnology, 10: 502-507.
- 15. Liu, Q., Zhang, T., Song, N., Li, Q., Wang, Z., Zhang, X., Lu, X., Fang, J., & Chen, J. 2014. Purification and characterization of four key enzymes from a feather-degrading Bacillus

- subtilis from the gut of tarantula Chilobrachys guangxiensis. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 96(0): 26-32.
- 16. Mazotto, A. M., Couri, S., Damaso, M. C. T., & Vermelho, A. B. 2013. Degradation of feather waste by Aspergillus niger keratinases: Comparison of submerged and solid-state fermentation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 85(0): 189-195.
- 17. Mukherjee, A. K., Rai, S. K., & Bordoloi, N. K. 2011. Biodegradation of waste chicken-feathers by an alkaline β-keratinase (Mukartinase) purified from a mutant Brevibacillus sp. Nam, G. W., Lee, D. W., Lee, H. S., Lee, N. J., Kim, B. C., Choe, E. A., Hwang, J. K., Suhartono, M. T., & Pyun, Y. R. 2002. Native-feather degradation by Fervidobacterium islandicum AW-1, a newly isolated keratinase-producing thermophilic anaerobe. *Arch Microbiol*, 178(6): 538-547.
- Nam, G. W., Lee, D. W., Lee, H. S., Lee, N. J., Kim, B. C., Choe, E. A., Hwang, J. K., Suhartono, M. T., Pyun, Y. R. 2002. Native-feather degradation by Fervidobacterium islandicum AW-1, a newly isolated keratinase-producing thermophilic anaerobe. Arch Microbiol, 178(6): 538-547. 10.1007/s00203-002-0489-0
- 19. Pearce, K.N.; Karahalios, D.; Friedman, M. 1988. Ninhydrin assay for proteolysis in ripening cheese. *Journal Food. Sci*, 53(2): 432–435.
- Reddy N. and Yang Y. 2007. Structure and Properties of Chicken Feather Barbs as Natural Protein Fibers. Faculty Publications - Textiles, Merchandising and Fashion Design. 80-87.
- SAGARPA. 2009. Secretaria de Agricultura, ganaderia, desarrollo rural, pesca y alimentación. Escenario base: Proyecciones para el sector Agropecuario de México. Mexico D.F.: 51 – 53.
- 22. Sharma, R., Verma, V. V., & Gupta, R. 2013. Functional characterization of an extracellular keratinolytic protease, Ker AP from Pseudomonas aeruginosa KS-1: A putative aminopeptidase with PA domain. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 91: 8-16.
- 23. Srivastava A., Sharma A. and Suneetha V. 2011. Feather waste biodegradation as a source of amino acids. *European Journal of Experimental Biology*, 1 (2):56-63.
- 24. Tamil K. P, S. K., Madhanraj. P, Senthilkumar. G and Panneerselvam. A 2012. Degradation of chicken feathers by *Leuconostoc* sp. and *Pseudomonas microphilus European Journal of Experimental Biology*, 2(2): 358-362.
- 25. Vasileva-Tonkova, E., Gousterova, A., & Neshev, G. 2009. Ecologically safe method for improved feather wastes biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63(8): 1008-1012.
- 26. Xia, Y., Massé, D. I., McAllister, T. A., Beaulieu, C., & Ungerfeld, E. 2012. Anaerobic digestion of chicken feather with swine manure or slaughterhouse sludge for biogas production. *Waste Management*, 32(3): 404-409.
- 27. Zaghloul, T. I., Embaby, A. M., & Elmahdy, A. R. 2011. Biodegradation of chicken feathers waste directed by Bacillus subtilis recombinant cells: Scaling up in a laboratory scale fermentor. *Bioresource Technology*, 102(3): 2387-2393.

IMPACTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN PECUARIOS

Contreras Contreras Elsa Angélic, Bustos Contreras Diana Elisa, Teliz Triujegue Rosalía

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias

INTRODUCCIÓN

Existe una vasta literatura sobre el impacto de las actividades agropecuarias a la generación de gases de efecto invernadero y por ende al cambio climático, sin embargo, son pocos los trabajos que abordan los efectos de este fenómeno en las actividades productivas agropecuarias. Entender los efectos del cambio climático en los sistemas de producción pecuarios ayuda a conocer el tamaño potencial de los daños y por lo tanto a decidir qué medidas de adaptación y mitigación deben implementarse.

El cambio climático implica un reto muy importante sobre todo para los países en desarrollo que aún tienen pendiente, entre otras cosas, la reducción de la pobreza y la seguridad alimentaria. En este contexto las acciones de adaptación al cambio climático no deben estar desligadas de otras intervenciones que promuevan el desarrollo rural, el manejo de los recursos naturales y la seguridad alimentaria.

IMPACTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN PECUARIOS

En los últimos años ha habido un claro consenso mundial respecto del calentamiento del planeta, consecuencia del efecto invernadero. Con toda probabilidad parece que en este siglo la Tierra estará entre 1 y 4°C más caliente que en el pasado, lo que implicará una diversidad de efectos a mediano y largo plazo. Los efectos del cambio climático reducirán el crecimiento económico, complicarán los esfuerzos para reducir la pobreza y afectarán la seguridad alimentaria (Field et al., 2014). En el campo está provocando transformaciones de la tierra, donde los cultivos tradicionales han disminuido rendimiento y se enfrentan a nuevas plagas y enfermedades, en términos económicos es muy probable que el sector agropecuario sea el más afectado por los efectos negativos (Fischer et al., 2005; Mendelsohn, 2009).

Existe evidencia científica que muestra que la producción ganadera se ve afectada por las condiciones climáticas debido a que: i) la temperatura del aire, la humedad y la velocidad del viento afectan el apetito y crecimiento de los animales, la producción de leche y lana y la reproducción; ii) la temperatura y la precipitación afectan la cantidad y calidad de los pastizales y forrajes, así como la severidad y distribución de las enfermedades y parásitos (Adams, et al. 1998; Seo, et al., 2010). Entre la evidencia existente se tienen resultados que muestran que tanto en África como en América Latina la ganadería es altamente sensible al clima (Seo, et al., 2010). Las recientes investigaciones muestran que el ganado bovino es más sensible al clima, por lo que ante climas más secos y cálidos se espera una disminución en dicho ganado, acompañado de un incremento de ganado ovino Sus resultados muestran que la cría de ganado bovino es altamente sensible al clima por lo que ante climas más secos y cálidos se espera una disminución en dicho ganado, acompañada de un incremento de ganado ovino Birthal et al. (2014).

Los efectos no serán uniformes entre países ni al interior de los mismos; dependerán en gran medida de las condiciones locales, tanto climáticas como de otro tipo, y de cómo dichas condiciones se modifiquen con el tiempo en respuesta al cambio climático (Mendelsohn y Dinar, 1999). Es pertinente tomar en cuenta que el vínculo que se establece entre la producción agropecuaria y el ambiente depende de factores locales como el clima, la configuración del terreno, las características agroecológicas, las condiciones económicas, las técnicas que predominan en la producción y el tipo de explotación (Segrelles, 2001). Existe una importante heterogeneidad entre los actores sociales del sector agropecuario, tanto en términos de capacidad económica como de aspectos sociales y culturales. A la hora de abordar la problemática, es importante distinguir el tipo de sistema de producción ya que conllevan medidas de adaptación y consecuencias ambientales

diferentes (Lorente, 2010). En este sentido los efectos del cambio climático serán distintos según se trate de ganadería extensiva o intensiva (Oyanthçabal, 2010).

GANADERÍA INTENSIVA Y EXTENSIVA Y LAS MEDIDAS DE ADAPTACIÓN

Los efectos del crecimiento del sector pecuario sobre los recursos naturales y sobre el cambio climático tienen diferencias substanciales según el nivel y calidad de uso de los recursos que presenten las especies animales y los sistemas de producción. Los rumiantes en general dependen de las pasturas y forrajes que se cultivan generalmente en tierras menos fértiles, mientras que las especies de monogástricos dependen de la producción de cereales y oleaginosas que utilizan las mejores tierras. Estas diferencias sutiles causan impactos muy disímiles sobre el medio ambiente y el cambio climático (Ardila y Vergara, 2012).

Los sistemas intensivos se caracterizan por que utilizan principalmente especies monogástricas y obtienen el 90% de los alimentos de explotaciones externas, se dedican a la producción de una única especie manejando altas densidades por unidad de área utilizando alimentos balanceados basados en cereales, en estos sistemas la tierra no es un factor tan importante, como por ejemplo la tecnología. Los sistemas de producción extensivos utilizan principalmente especies rumiantes y se encuentran más ligados a las condiciones naturales del medio, por lo que se verán más afectados directamente por las modificaciones ambientales que se produzcan, dada su dependencia a los ciclos naturales de la producción (Ardila y Vergara, 2012).

De acuerdo con la FAO (2009) estas diferencias harán que los efectos directos del cambio en el clima apenas se sentirán en los sistemas de producción intensivos, aunque si padecerán sus consecuencias de manera indirecta.

En ambos contextos la diferencia radica en las estrategias y medidas de adaptación frente a los efectos del cambio climático. Existen distintas formas de clasificar las medidas de adaptación. Cuando las medidas son reactivas se habla de medidas ex-post, mientras que aquellas que se anticipan a los eventos se conocen como ex-ante. Las medidas de adaptación pueden tener beneficios únicamente para el individuo que toma la decisión (medidas privadas) o pueden tener beneficios para un conjunto de individuos o agentes más allá del tomador de decisiones (medidas públicas). Dependiendo de su origen la adaptación puede clasificarse también como autónoma o planeada. La adaptación autónoma se refiere a acciones tomadas voluntariamente por parte de los individuos o agentes, como las organizaciones de productores. Por su parte, la adaptación planeada se refiere a acciones o políticas implementadas por alguna organización, gubernamental o no, con el fin de complementar, fomentar o facilitar las respuestas de los agentes ante el cambio climático (Tubiello y Rosenzweig, 2008). Si se toma en cuenta el grado o la profundidad de las medidas, la adaptación se puede clasificar como incremental o transformativa. La primera se refiere a acciones de adaptación en las que el objetivo es mantener la esencia e integridad de un sistema o proceso (Park et. al., 2012). Mientras que la adaptación transformativa se refiere a aquella que cambia las características fundamentales de un sistema en respuesta al clima y sus efectos (Kates et. al., 2012).

Cualquiera que sea la definición, la adaptación implica tomar acciones orientadas a preservar la resiliencia e incrementar la capacidad adaptativa de los agroecosistemas y de los actores sociales del sector agropecuario (Oyanthçabal, 2010). En este sentido no es lo mismo trabajar estrategias de adaptación al cambio climático con un productor familiar que con un productor que se dedica a la exportación de carne. De acuerdo con la FAO (2009) los pequeños productores serán los más afectados dado su bajo acceso a las tecnologías, insumos y recursos monetarios para adoptar medidas de adaptación (Fischer, et al., 2005; Mendelsohn, 2009).

El impacto del cambio climático en los sistemas extensivos se traduce en la menor disponibilidad de alimentos, a consecuencia de la disminución de la producción agrícola y la insuficiencia de condiciones para mantener a la producción pecuaria, que requiere amplias cantidades de pastizales para mantener al ganado, lo que, en suma, deriva en una dieta pobre en nutrientes para las poblaciones más vulnerables. En este contexto las condiciones se tornan más graves, toda vez

que la dependencia de los productores con respecto de los ciclos naturales de la producción e, incluso, la ubicación geográfica de las tierras donde habitan los coloca en una situación de vulnerabilidad (Alberto Lorente Saiz, 2010).

Dentro de estos contextos es importante "concebir la adaptación como la reducción de los riesgos impuestos por el cambio climático en los modos de vida de la gente, los recursos naturales, los servicios ambientales y las actividades productivas y económicas, a través de la reducción de la vulnerabilidad" Oswald (2010).

El cambio climático exige replantear la forma como se está conduciendo el sector e implementar sistemas más sostenibles, que favorezcan la preservación del medio ambiente y disminuyan los efectos de los gases de efecto invernadero. De esta manera, la actividad pecuaria sostenible es un imperativo que busca beneficiar el ecosistema en su conjunto al tiempo que debe contribuir a la satisfacción de una demanda de productos pecuarios que crece exponencialmente. (Ardila y Vergara, 2012). Esto implica un reto muy importante para los países en desarrollo que aún tienen pendiente, entre otras cosas, la reducción de la pobreza en la que vive una parte importante de su población. Por lo tanto, a pesar de que se necesita más investigación a nivel microeconómico para entender los determinantes de la adaptación (Di Falco, et al., 2011), es claro que las intervenciones tendientes a promover y facilitar la adaptación al cambio climático no deben de estar desligadas de otras intervenciones que buscan promover el desarrollo rural, la disminución de la pobreza y el manejo de los recursos naturales (Howden, et al., 2007; Di Falco et al., 2012). Es decir, la adaptación al cambio climático no debe verse como un tema aislado sino como parte de una estrategia de desarrollo que sea, por así decirlo, resiliente al clima (OECD, 2014).

CONCLUSIONES

EL CAMBIO CLIMÁTICO REQUIERE una solución inmediata basada en procesos de mitigación y adaptación, para esto es fundamental entender el papel que los factores sociales y culturales juegan en términos de facilitar o inhibir la adopción de medidas de adaptación, estos factores pueden variar entre regiones lo que hará que individuos con características similares reaccionen de manera distinta a una misma medida (Asafu-Adjaye, 2014).

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Adams, R. M., Hurd, B. H., Lenhart, S. y Leary, N. 1998. Effects of Global Climate Change on Agriculture: An Interpretative Review. Climate Research, 11(1), 19-30.
- 2. Ardila, A. y Vergara, W. 2012. El sector pecuario frente al cambio climático: una realidad incómoda, en: Revista Ciencias Animales, Bogotá, Colombia, n.º 5, pp. 107-120
- 3. Asafu-Adjaye, J. 2014. The Economic Impacts of Climate Change on Agriculture in África. Journal of African Economies, 23(suppl 2), 17-49.
- 4. Birthal, P. S., Khan, M. T., Negi, D. S. y Agarwal, S. 2014. Impact of Climate Change on Yields of Major Food Crops in India: Implications for Food Security. Agricultural Economics Research Review, 27(2), 145-155.
- 5. Conde A. C. 2010. El cambio climático. De lo inequívoco a lo incierto, en: Delgado, Gian Carlo, Gay, Carlos, et.al., México frente al cambio climático. Retos y oportunidades, UNAM. Colección el mundo actual. México.
- 6. Di Falco, S., Veronesi, M., y Yesuf, M. 2011. Does adaptation to climate change provide food security? A micro-perspective from Ethiopia. American Journal of Agricultural Economics, 93(3), 829-846.
- 7. Di Falco, S., Yesuf, M., Kohlin, G. y Ringler, C. 2012. Estimating the Impact of Climate Change on Agriculture in Low-income Countries: Household Level Evidence from the Nile Basin, Ethiopia. Environmental and Resource Economics, 52(4), 457-478.
- 8. FAO (2009). La ganadería a examen. Estado mundial de la agricultura y la alimentación. Roma. http://www.fao.org/ docrep/012/i0680s/i0680s00.pdf
- 9. Field, C. B., Barros, V. R., Dokken, D. J., Mach, K. J., Mastrandrea, M. D., Bilir, T. E., y White, L.L. (Eds.). 2014. IPCC: Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the

- Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Fischer, G., Shah, M., Tubiello, F. N. y Van Velhuizen, H. 2005. Socio-economic and Climate Change Impacts on Agriculture: an Integrated Assessment, 1990-2080. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 360(1463), 2067-2083.
- Fisher, A. C., Hanemann, W. M., Roberts, M. J. y Schlenker, W. 2012. The Economic Impacts of Climate Change: Evidence from Agricultural Output and Random Fluctuations in Weather: Comment. The American Economic Review, 102(7), 3749-3760.
- 12. Howden, S. M., Soussana, J. F., Tubiello, F. N., Chhetri, N., Dunlop, M., y Meinke, H. 2007. Adapting agriculture to climate change. Proceedings of the National Academy of Sciences, 104(50), 19691-19696.
- 13. Informe sobre el desarrollo mundial. 2010. Desarrollo y cambio climático. Banco Internacional de Reconstrucción y Fomento/Banco Mundial, Washington, DC.
- Kates, R.W., W.R. Travis, and T.J. Wilbanks 2012. Transformational adaptation when incremental adaptations to climate change are insufficient. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 109, 7156-7161
- 15. Lorente, A. 2010. Ganadería y cambio climático: una influencia recíproca, Universidad de Alicante, España.
- 16. Mendelsohn, R. 2009. The impact of climate change on agriculture in developing countries. Journal of Natural Resources Policy Research, 1(1), 5-19.
- 17. Mendelsohn, R., y Schlesinger, M. E. 1999. Climate-response functions. Ambio, 28(4), 362-366.
- 18. Park, S.E., N.A. Marshall, E. Jakku, A.M.Dowd, S.M. Howden, E.Mendham, and A. Fleming 2012. Informing adaptation responses to climate change through theories of transformation. Global Environmental Change, 22(1),115-126
- 19. Oswald, Ú. 2010. Cambio climático, conflictos sobre recursos y vulnerabilidad social. En: Delgado, Gian Carlo, Gay, Carlos, et. al., México frente al cambio climático. Retos y oportunidades, UNAM. Colección el mundo actual, México.
- 20. OECD (2014), Climate Resilience in Development Planning: Experiences in Colombia and Ethiopia, OECD Publishing.
- 21. Oyhantçabal, W., Vitale, E. y Lagarmilla, P. 2010. El cambio climático y su relación con las enfermedades animales y la producción animal. Conf. OIE 2010, 169-177
- 22. Sarmiento, A. Consecuencias catastróficas: calentamiento global, en: Hypatia, revista de divulgación científico tecnológica. Año 6, No. 22, México.
- 23. Segrelles, J. A. 2001. Problemas ambientales, agricultura y globalización en América Latina. [en línea]. Scripta Nova. Revista Electrónica de Geografía y Ciencias Sociales. vol. 5, nº 92.
- 24. Seo, S. N. 2010. A Microeconometric Analysis of Adapting Portfolios to Climate Change: Adoption of Agricultural Systems in Latin America. Applied Economic Perspectives and Policy, 32(3), 489-514.
- 25. Torres, P., Rodríguez, L. y Ramírez, C. 2009. Sustentabilidad y cambio climático. Lineamientos de políticas de adaptación para la agricultura y el desarrollo rural, en: Revista Veredas, No. 18. Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco, p. 39-62
- 26. Tubiello, F. N., y Rosenzweig, C. 2008. Developing climate change impact metrics for agriculture. Integrated Assessment, 8(1).

PRINCIPALES ALTERACIONES MORFOLÓGICAS EN OVOCITOS DE OVINO DOMÉSTICO UTILIZADOS EN MADURACIÓN *IN VITRO*.

Sarahí Hernández Martínez, José Roberto Vazquez Avendaño, José Ernesto Hernández Pichardo, Demetrio Alonso Ambríz García, María del Carmen Navarro Maldonado

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

Correo electrónico: neverblackland@hotmail.com

RESUMEN

El ovocito es indispensable para el desarrollo embrionario de un organismo. Actualmente su calidad se evalúa considerando parámetros morfológicos, los cuales permiten identificar alteraciones que pueden comprometer el desarrollo del embrión. Sin embargo, en ovocitos de ovino, hasta el momento, no se ha reportado la frecuencia y el tipo de anormalidades morfológicas. El objetivo del presente trabajo fue determinar la tasa de ovocitos de borrega, la viabilidad, la frecuencia y el tipo de alteraciones morfológicas. Para ello se realizaron 8 experimentos donde se colectaron 498 ovarios procedentes de hembras sacrificadas en rastro. Mediante aspiración folicular se obtuvieron 1713 ovocitos, los cuales fueron madurados in vitro. De acuerdo a los criterios de la Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR), 612 (36%) se clasificaron como viables y 1101 (64%) se consideraron como dañados al presentar diferentes alteraciones morfológicas tales como: citoplasma granuloso (29.7%), citoplasma incompleto (20.3%), espacio perivitelino aumentado (13.4%), alteraciones de la zona pelúcida (9%), degenerados (9.4%), con presencia de vacuolas (7.3%), exudados citoplasmáticos (7.3%), dimorfismo del cuerpo polar (0.6%) y alteraciones producidas por la técnica de obtención como la ausencia de zona pelúcida (3.1%). Se concluve que dada la alta tasa de anormalidades morfológicas en los ovocitos ovinos es importante una minuciosa selección para obtener mejores resultados en la maduración y el desarrollo embrionario in vitro.

INTRODUCCIÓN

El ovocito es considerando como único al poseer cualidades que lo hacen diferente de las demás células del cuerpo, sin embargo su cualidad más importante es la de ser la célula gestora pilar del desarrollo embrionario preimplantacional. Actualmente ha sido materia de intensa investigación por ser el componente más importante en el potencial del desarrollo embrionario, por lo que se ha llegado a considerar que el éxito clínico de las técnicas de reproducción asistida se sustenta en la calidad ovocitaria (Piña-Aguilar, 2012).

Dentro de las diferentes técnicas ocupadas para lograr evaluar la calidad ovocitaria se encuentran: pruebas bioquímicas y de viabilidad (detección de integridad membranal, medición de la tasa glucolítica, determinación de la actividad intracelular de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa o G6PDH, análisis de la actividad de las caspasas), métodos de valoración del huso meiótico, medición de moléculas submicroscópicas mediante el uso de microscopía de luz polarizada y la evaluación morfológica (Cuadro, 2012).

La evaluación morfológica es una de las técnicas más utilizadas para determinar de forma inmediata la calidad del ovocito. Según la literatura, cerca del 60% al 70% de ovocitos en humanos exhiben una o más características anormales, por lo que al presentar estas alteraciones

morfológicas o dimorfismos permiten establecer parámetros puntuales de evaluación (ASEBIR, 2015).

De acuerdo a una revisión establecida por ASEBIR en 2015, algunas características morfológicas anormales del ovocito (citoplasmáticas y extracitoplasmáticas) pueden influir en los procesos de la reproducción animal asistida, como son: la fecundación, la formación y morfología de los pronúcleos, la división embrionaria, el desarrollo embrionario, la calidad embrionaria, la formación del blastocito, la implantación, el embarazo bioquímico (embarazo no confirmado por la visualización de un embrión en ultrasonido) y la formación de aneuplodías.

Actualmente, la mayoría de los estudios de evaluación ovocitaria son llevados a cabo en humanos debido al gran avance en las clínicas de reproducción asistida con técnicas como la fertilización *in vitro* y la Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI), mientras que en animales no se ha descrito la presencia y frecuencia de estas anormalidades, especialmente en ovinos domésticos. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue describir la frecuencia de las alteraciones presentes en los ovocitos de ovino doméstico utilizados en la maduración *in vitro*, mediante evaluación morfológica.

PARTE EXPERIMENTAL

Colecta de ovarios:

Se colectaron 498 ovarios de ovejas domésticas (*Ovis aries*) tipo criollo, sacrificadas en un rastro del Estado de México. Los ovarios fueron transportados al laboratorio en un termo, en un tiempo máximo de una hora, a temperatura de 30-35 °C en solución salina fisiológica (NaCl 0.9% y 1% de antibiótico y antimicótico) (Palma, 2001).

Obtención y selección de Complejos Ovocito Cúmulo (COC):

En el laboratorio, los ovarios fueron lavados tres veces consecutivas en solución salina fisiológica isotérmica. Los Complejos Ovocitos Cúmulo (COC) se obtuvieron por aspiración de folículos ováricos (2-5 mm de diámetro) utilizando una aguja hipodérmica de calibre 20G x 32 mm y una jeringa de 10 mL. Para ello se empleó como soporte TCM-199 con Hepes suplementado con 100 UI/mL de Sal de Sodio de Heparina (Robledo-Verduzco *et al.*, 2009).

Los COC recuperados se contabilizaron para calcular la tasa de obtención y posteriormente se colocaron en dos cajas Petri de 55 mm de diámetro, para clasificarlos bajo microscopio estereoscópico y seleccionar aquellos de mejor condición morfológica. Los parámetros morfológicos se evaluaron de acuerdo a los criterios establecidos por la Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR, 2015), excluyendo aquellos ovocitos que presentaron alguna de las siguientes alteraciones:

- > Alteraciones morfológicas citoplasmáticas:
 - Agrupación de orgánulos/ granulosidad central en el ovocito.
 - Agregación del Retículo Endoplasmático Liso (AREL).
 - Presencia de vacuolas.
 - Inclusiones citoplasmáticas: cuerpos refringentes y no refringentes.
 - Citoplasma incompleto.
 - Ovocitos degenerados.
- Alteraciones morfológicas extracitoplasmáticas:
 - Restos celulares en el espacio perivitelino: Exudados.
 - Anomalías de la zona pelúcida: grosor, color oscuro o deformación.
 - Espacio perivitelino aumentado.
 - Alteraciones del primer corpúsculo polar: tamaño, número y fragmentación.

La clasificación de los COC se realizó por el número de capas de células de la granulosa con base en los criterios de Kakkassery *et al.* (2010):

- COC Clase A: Caracterizados por tener más de cinco capas de células del cumulo.
- COC Clase B: Ovocitos con 3 a 5 capas completas de células del cúmulo.
- COC Clase C: Ovocitos con 1 a 2 capas completas de células del cúmulo.
- COC Clase D: Ovocitos desnudos.

Una vez seleccionados, los COC que no presentaron alteraciones y aquellos de Clase A-B, se lavaron dos veces consecutivas en 1 mL de medio heparinizado, posteriormente se colocaron en grupos de 50 COC en una microplaca de cuatro celdas (NUNC), cada una de las celdas contenía 500 μ L de medio de maduración TCM-199 sin Hepes suplementado con Cisteína (0.57 mM), D-glucosa (3.05 mM), Polivínil alcohol (0.1%), Piruvato de sodio (0.91 mM), 10% de SFB (Suero Fetal Bovino), Hormona Coriónica Humana (hCG, 5 Ul/mL), Hormona Folículo Estimulante (FSH, 1.3 μ L/mL), EGF (Factor de Crecimiento Epidermal) (10 μ g/mL) y Antibiótico-antimicótico (2%), las celdas fueron cubiertas con aceite mineral. Los COC se incubaron durante 21 horas a 38 °C, 5% de CO₂ en aire y 60% de humedad relativa (Rodríguez-Suástegui, 2012).

Denudación de los Complejos Ovocito Cúmulo:

De acuerdo con la metodología de Kragh *et al.* (2004), una vez ocurrida la maduración *in vitro*, se disgregaron las células del cúmulo utilizando hialuronidasa (0.5 mg/mL). Una vez denudados, los ovocitos se evaluaron por segunda ocasión de acuerdo a los criterios de ASEBIR ya mencionados, contemplando la presencia del primer cuerpo polar.

Análisis estadístico:

Para determinar las diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de ovocitos obtenidos viables y dañados, se realizó una prueba de chi-cuadrada con el paquete estadístico NCSS versión 2007. Mientras que para la representación de las alteraciones identificadas, se utilizó un histograma de frecuencias.

RESULTADOS

Se efectuaron un total de 8 repeticiones, en los cuales se colectaron 498 ovarios procedentes de ovejas adultas sacrificadas en rastro. Mediante aspiración folicular y a una tasa de obtención de 4 ovocitos en promedio por ovario, se obtuvieron 1713 ovocitos que fueron clasificados como viables y dañados, previo y posterior a la maduración *in vitro* (MIV) (Cuadro 1).

	Ovarios	Tasa \overline{x} de	Ovocitos		
8 Experimentos	Ovarios	obtención	Obtenidos	Viables n (%)	Dañados n (%)
	498	4	1713	612 (36) ^a	1101 (64) ^b

Cuadro 1. Datos de obtención y clasificación de ovocitos viables y dañados de ovino doméstico Literales diferentes en las columnas indican diferencias estadísticamente significativas bajo el nivel de significancia P<0.05.

De los 1101 ovocitos dañados, se identificaron 4 de las 6 principales alteraciones morfológicas ovocitarias a nivel de citoplasma y 4 de 4 alteraciones extracitoplasmáticas descritas por ASEBIR.

En cuanto a las alteraciones morfológicas citoplasmáticas, se identificaron: citoplasma granuloso (29.7%), citoplasma incompleto (20.3%), ovocitos degenerados (9.4%) y presencia de vacuolas (7.3%). Mientras que para las extracitoplasmáticas se identificaron: espacio perivitelino aumentado

(13.4%), alteraciones de la zona pelúcida (9%), exudados citoplasmáticos (7.3%) y dimorfismo del cuerpo polar (0.6%), además se identificó una alteración producida por la técnica de obtención de ovocitos: ausencia de zona pelúcida (3.1%) (Cuadro 2).

Alteraciones	Categorías	Total n (%)
	Citoplasma granuloso	327 (29.7)
Citanlaamática	Citoplasma Incompleto	223 (20.3)
Citoplasmáticas	Ovocitos degenerados	104 (9.4)
	Presencia de vacuolas	80 (7.3)
	Espacio perivitelino aumentado	147 (13.4)
Futura itau la amética a	Alteración de la zona pelúcida	99 (9)
Extracitoplasmáticas	Exudados citoplasmáticos	80 (7.3)
	Dimorfismo del cuerpo polar	7 (0.6)
Por técnica	Sin zona pelúcida	34 (3.1)

Cuadro 2. Principales alteraciones morfológicas ovocitarias en ovejas, clasificadas por categorías.

Para un análisis general se presenta el siguiente histograma que, permite identificar la frecuencia de alteraciones ovocitarias presentes en ovejas domésticas *O. aries* (Gráfico 1).

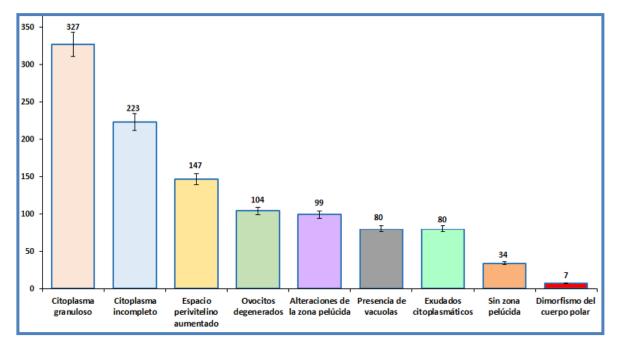
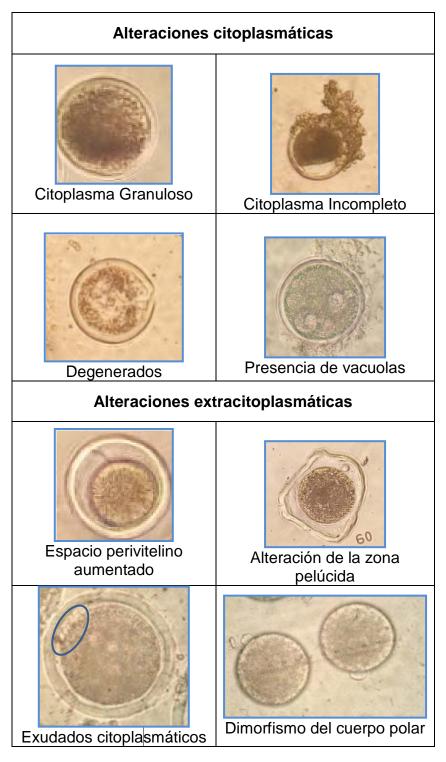


Gráfico 1. Frecuencia de alteraciones ovocitarias presentes en ovejas domésticas.

Imágenes de alteraciones ovocitarias encontradas en borregas:



DISCUSIÓN

La presencia de alteraciones morfológicas en el ovocito compromete el desarrollo y calidad del futuro embrión, sin embargo, la causa de estas alteraciones en muchos casos no ha sido esclarecida. Faramarzi et al. (2017) clasificaron ovocitos humanos, reportando tan solo un 23% de ovocitos viables vs. 77% de ovocitos dañados (que presentaron alguna alteración morfológica), lo que estadísticamente es similar a lo reportado en este trabajo (36 y 64% respectivamente).

En cuanto a las alteraciones observadas en este estudio, la presencia de citoplasma granuloso (29.7%) coincide con lo reportado por la ASEBIR (2015), que señala que es una de las anomalías que con mayor frecuencia se presentan en humanos y que puede deberse al colapso de algunos organelos celulares como el retículo endoplasmático o el aparato de Golgi, En cuanto al citoplasma incompleto, fue una de las anomalías más frecuentes en los ovocitos de *O. aries* (20.3%). Se desconocen las causas de ésta anomalía así como las causas por las cuales los ovocitos degeneran, aunque se han relacionado con los procesos apoptóticos. La presencia de vacuolas se describe como lagunas de absorción de líquido del espacio perivitelino, como consecuencia de una posible dilatación del retículo endoplásmico Liso y el Aparato de Golgi, su frecuencia es en humanos es de un 3% (Faramarzi *et al.*, 2017), 3.9% (Sousa *et al.*, 2016) y 5-12 % (Eun *et al.*, 2015), que es similar a lo encontrado en ovinos en este trabajo (7.3%).

El espacio perivitelino aumentado se relaciona con una sobremaduración del ovocito y su frecuencia va de 15% (Souza et al., 2016) a 22% (Faramarzi et al., 2017), lo cual se encuentra ligeramente por encima de lo observado en este estudio (13.4%). En cuanto a las alteraciones de la zona pelúcida (engrosamiento, oscuridad, deformación etc.), se desconoce su causa pero se relaciona que estos daños ocurren en humanos en un 15% (Sousa et al., 2016) a 16% (Faramarzi et al., 2017) durante la foliculogénesis, cuando esta capa de glicoproteínas se sintetiza. Estos datos están por encima de lo obtenido en este trabajo (9%). Los exudados citoplasmáticos son causados por un deterioro de la zona pelúcida interna y la estimulación excesiva de gonadotropinas, su frecuencia está reportado por Faramarzi et al. (2017) que es de 22%, valor también por encima de lo obtenido por nosotros con un 7.3%. El dimorfismo del cuerpo polar (tamaño, fragmentación, etc.) se asocia con una carencia de la formación del huso meiótico y daños generados por el proceso de maduración in vitro, Sousa et al (2016) reportan 10 a 15% de frecuencia, mientras que, Faramarzi et al. (2017) reportan 23%. Nuevamente estos valores superan por mucho a lo encontrado en este estudio (0.6%).

CONCLUSIONES

Se concluye que, dada la alta tasa de anormalidades morfológicas presentes en los ovocitos de oveja doméstica, es importante efectuar una selección minuciosa y evaluación de la calidad ovocitaria, misma que, en primera instancia, puede basarse en la morfología del ovocito y, posteriormente, implementar técnicas más sofisticadas. Todo esto con la finalidad de obtener mejores resultados en la maduración y el desarrollo embrionario *in vitro* en esta especie.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Aguilar-Piña R. E., El regreso del ovocito: de la olvidada transferencia citoplasmática a la actual transferencia del huso meiótico, *Revista Mexicana de Medicina de la Reproducción*, Vol. 4, 3, 2012, pp. 132-138.
- Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción, Criterios ASEBIR de valoración morfológica de oocitos, embriones tempranos y blastocistos humanos. Cuadernos de embriología clínica, 3ª edición, España, 2015, pp. 94.
- Cuadro S. F. Evaluación de Ovocitos Ovinos por Microscopia de Luz Polarizada, Universidad de Oviedo, Tesis de Maestria en Biología y Tecnología de la Reproducción, 2012, pp. 44.

- 4. Kakkassery M. P., Vijayakumaran V., Sreekumaran T., Effect of cumulus oocyte complex morphology on *in vitro* maturation of bovine oocytes, Journal of Veterinary and Animal Sciences, Vol. 41, 2010, pp. 12-17.
- 5. Kragh P. M., Vajta G., Corydon T. J., Purup S., Bolund L., Callesen H., Production of transgenic porcine blastocysts by hand-made cloning, *Reproduction and Fertility Development*, Vol. 16, 3, 2004, pp. 315-318.
- 6. Eun J. Y., Hyojeong A., Jang M. L., Byung C. J., Seok H. K., Fertilization and embryo quality of mature oocytes with specific morphological abnormalities, Clinical and Experimental Reproductive Medicine, Vol. 42, 4, 2015, pp. 156-162.
- 7. Faramarzi A., Mohammad A. K., Ashourzadeh S., Oocyte morphology and embryo morphokinetics in an intra-cytoplasmic sperm injection programme. Is there a relationship? Zygote, Vol. 7, 2017, pp. 1-7.
- 8. Palma G., Biotecnología de la Reproducción, Ediciones: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 1ª edición, Argentina, 2001, pp. 693.
- 9. Robledo-Verduzco J. M., Herrera-Camacho J., Cajero-Juárez M., Navarro-Maldonado M. C., García-Valladares A., Evaluación de dos medios de maduración *in vitro* para la producción de embriones ovinos, *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, Vol. 10, 1, 2004, pp. 95-99.
- 10. Rodríguez-Suástegui J. L., Evaluación del desarrollo embrionario *in vitro* en ovino utilizando medio de cultivo permanente o secuencial, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, Tesis de Maestría en Biología Experimental, 2012, pp. 102.
- 11. Sousa M., Cunha M., Silva J., Oliveira E., Joao M., Almeida C., Sá R., Teixeira J., Oliveria C., Barros A., Ultrastructural and cytogenetic analyses of mature human oocyte dysmorphisms with respect to clinical outcomes, Journal of Assisted Reproduction and Genetics, Vol. 33, 2016, pp. 1041-1057.

BÚSQUEDA E IDENTIFICACIÓN DE MIRNAS EN AMARANTO

Flor de Fátima Rosas Cárdenas, Ramiro Eduardo Vázquez Portillo, Saraí López Maldonado, Eduardo Catarino Téllez Valerio, Marcelino Martínez Nuñez, Pedro Fernando Vera Hernández, Magali Ruiz Rivas, Silvia Luna Suárez.

Instituto Politénico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA-IPN), Unidad Tlaxcala. e-mail: frosasc@ipn.mx

RESUMEN

Los microRNAs (miRNAs) son secuencias cortas de RNA de cadena sencilla que regulan la expresión génica en eucariontes. Se ha demostrado que pueden participar en el desarrollo de las plantas, desde su germinación hasta el desarrollo de flores y frutos. El Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) es una planta que puede crecer en condiciones adversas a diferencia de la mayoría de las especies de interés agronómico; sin embargo, la información en torno a los miRNAs involucrados en éstas características es desconocida. Por lo que el análisis de los miRNAs presentes en amaranto, puede sugerir miRNAs candidatos que podrían ser responsables o estar involucrados en generar las características fisiológicas únicas en esta planta, además de brindar la oportunidad de un acercamiento a la identificación de los genes clave en el proceso de desarrollo del amaranto. Por ello, se pretende identificar los miRNAs presentes en el amaranto, e iniciar el análisis funcional para identificar los miRNAs que participan en este proceso. Actualmente, hemos identificado bioinformáticamente secuencias de pre-miRNAs de amaranto, de las cuales se ha validado su presencia experimentalmente y se ha analizado el perfil de expresión de estos pre-miRNAs en amaranto, detectando hasta el momento 9 pre-miRNAs con expresión diferencial, de los que se ha iniciado el análisis funcional.

INTRODUCCIÓN

Los miRNAs trabajan en conjunto para regular un gen o un conjunto de genes, y se encuentran en diversos órganos cumpliendo funciones similares o distintas. Por ejemplo, el miR159 se ha encontrado en las flores de A. thaliana regulando el control sobre la floración en el fotoperiodo, en las semillas regulando su tamaño y forma, sus genes blanco son MYB33 y MYB65 se encuentran en las flores y las semillas, mientras que MYB101 solo está presente en las flores (1,2). Así mismo, se han identificado miRNAs en diversas especies de plantas se ha observado que algunas familias de miRNAs se encuentran conservados en la mayoría de las plantas como es el caso de miR156, miR164, miR166 entre otros; mientras que otros están presentes solo en algunos grupos de plantas (3), lo que sugiere que hay miRNAs especie específicos asociados a las características particulares de cada especie. El Amaranto (Amaranthus hypochondriacus) es una planta que puede crecer en condiciones adversas a diferencia de la mayoría de las especies de interés agronómico; sin embargo, la información en torno a las bases moleculares que le permiten éstas características es limitada. Actualmente se han identificado miRNAs involucrados en diversos procesos del desarrollo de plantas, los cuales juegan un papel importante en dichos procesos. Por lo que el análisis de los miRNAs presentes en las diferentes etapas de desarrollo, puede sugerir miRNAs candidatos que podrían ser responsables o estar involucrados en generar las características fisiológicas únicas en esta planta, además de brindar la oportunidad de un acercamiento a la identificación de los genes clave en el proceso de desarrollo del amaranto. Por ello, se pretende identificar los miRNAs presentes en el amaranto, e iniciar el análisis funcional para identificar los miRNAs que pudieran tener una aplicación agrobiotecnológica.

PARTE EXPERIMENTAL

Para la identificación de miRNAs de amaranto se seleccionaron 12 miRNAs respecto a su conservación en diversas especies. Para los miRNAs elegidos se seleccionaron las secuencias

maduras y precursoras de los miembros "a" de cada una de las familias de miRNAs en diferentes especies. De las secuencias precursoras reportadas para diferentes especies, se sacó un promedio de su longitud, para poder predecir un tamaño aproximado del posible precursor. Se procedió a realizar el Blast contra el genoma de Amaranto reportado en el NCBI para la búsqueda de los miRNA maduros y los precursores. En cada acceso se identificó la ubicación de la secuencia madura, una vez encontrada dicha secuencia se hizo una selección similar a la longitud promedio del precursor de cada miRNA. Las secuencias precursoras predichas se analizaron en el sitio RNAfold (http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAfold.cgi), para predecir la posible estructura secundaria (uno de los requisitos de los precursores de miRNA), de las candidatas se realizó un Blast general buscando sólo aquellas que tuvieran un apareamiento parcial o total, pero que presentaran un RNA sin función o ese miRNA en alguna otra especie. Una vez seleccionadas las secuencias de pre-miRNAs de amaranto, se diseñaron los oligonucleótidos específicos para cada una de las secuencias de los posibles pre-miRNAs candidatos para proceder a su validación experimental. Posteriormente, se realizó la colecta de tejido de amaranto que corresponde a diferentes etapas de desarrollo. El tejido fue procesado para la extracción de RNA con el método de Trizol (Life Technologies, 2012). Para realizar el perfil de expresión diferencial de cada uno de los pre-miRNAs en las diferentes etapas de desarrollo de amaranto, se llevó a cabo una RT-PCR siguiendo la metodología de la SuperScript III RT (Invitrogen 2004), usando como control constitutivo el factor de elongación 1a (eF1a)

RESULTADOS

Se realizó la predicción bioinformática de las secuencias precursoras de los miRNAs seleccionados en amaranto, logrando obtener la estructura tallo-asa de al menos 11 miRNAs, algunos ejemplos se muestran en la figura 1.

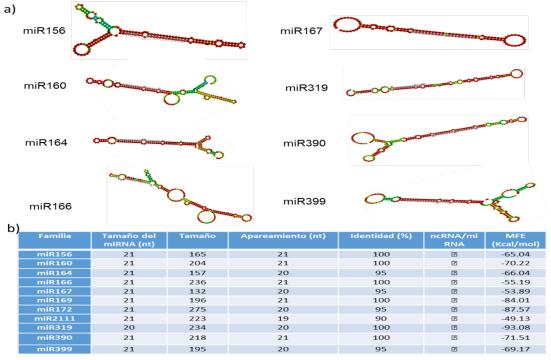


Figura 1. Análisis de pre-miRNAs predichos de amaranto. a) Ejemplo estructuras secundaría de pre-miRNAs de amaranto. b) Características de los precursores analizados.

Se llevó a cabo el análisis de presencia de los miRNAs en cinco etapas de desarrollo de la planta las cuales fueron nombradas como V3, V4, R1, R4 Y R5 que corresponde a la aparición de hojas verdaderas, el desarrollo de hojas verdaderas, la aparición de la inflorescencia apical, el desarrollo de la semilla, la maduración y senescencia, respectivamente. Se analizó su perfil de expresión por RT-PCR para cada uno de los pre-miRNAs durante el desarrollo (Figura 2). Se validó experimentalmente la presencia de 9 miRNAs en amaranto (Figura 2). De los miRNAs analizados, los miRNAs miR156, miR160, miR166, miR167, miR319, miR390 y miR399, estuvieron presentes en todas las etapas de desarrollo y miR164 y miR319 estuvieron expresados sólo en cuatro etapas.

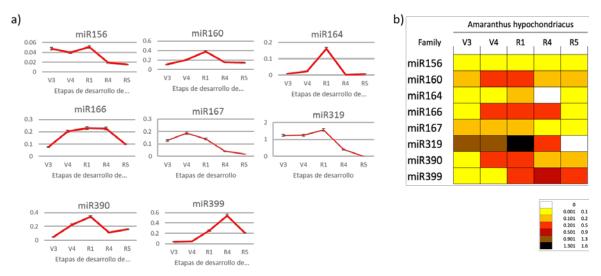


Figura 2. Perfil de expresión de los precursores de miRNAs en diferentes etapas de desarrollo de amaranto. a) Comportamiento de los productos de RT-PCR de los precursores de miRNAs seleccionados, resultados a partir de al menos tres réplicas técnicas. b) Clasificación por nivel de expresión de miRNAs presentes en el desarrollo de amaranto. V3 (hojas verdaderas), V4 (desarrollo de hojas), R1 (aparición de la inflorescencia), R4 (desarrollo de la semilla) y R5 (maduración y senescencia).

Al analizar su expresión durante el desarrollo de amaranto se encontró que existe expresión diferencial de todos los miRNAs (Figura 2). El miRNA miR164, no se detectó en la maduración y senescencia de la planta, similar a lo que se ha reportado en otras plantas (4), donde se ha sugerido éste miRNA juega un papel importante en el desarrollo de los frutos. El miR164 presenta mayor expresión en la etapa de la aparición de la inflorescencia apical, se conoce que miR164 también regula el balance entre la separación y la fusión de tejidos, por medio de sus genes blanco CUC (CUC1/CUC2) por lo que su alta expresión en ésta etapa puede estar asociada a estas funciones (5). El miR399 se encuentra expresado a lo largo de todo el desarrollo de amaranto; sin embargo, el nivel de expresión es mayor en la etapa del desarrollo de semilla (R4), lo que sugiere poder estar relacionado a los requerimientos nutricionales de amaranto como se ha sugerido en otras plantas (6). El miR169 se encuentra expresado preferencialmente en el inicio y final del desarrollo; su gen blanco es el factor nuclear Y subunidad A (NF-YA) asociado a estrés abiótico, pero también se ha observado participa en el control del tiempo de floración (1,7). Para el miR160 su mayor expresión se da en la segunda y tercera etapa por lo que sugerimos puede estar involucrado en el desarrollo de flores y semillas que se dan en las etapas de la fase reproductiva, esto debido a que sus blancos son de la familia ARF (ARF10/ARF16/ARF17), que juegan un papel clave en el mantenimiento del proceso de germinación y el desarrollo normal de hojas, raíces y órganos florales (6,8). Otro miRNA detectado en amaranto fue el miR2111 el cual presentó una disminución gradual en el nivel de expresión conforme el desarrollo, pero de éste no se han realizado estudios, siendo de interés iniciar su análisis funcional.

En la figura 4 se presenta la posible interacción de miRNAs durante el desarrollo del amaranto, donde se puede apreciar la interacción miRNAs y sus blancos, así como la regulación indirecta por otros miRNAs. Por ejemplo, se sugiere mir166 participa regulando genes *PHB/V* en la etapa V3 y genes *SPL* en las etapas R1 Y R4, también podemos sugerir que sus blancos se ven afectado indirectamente por otro miRNAs como miR390 y miR399. Con base a los resultados encontrados y la información bibliográfica de la función de los miRNAs identificados en el desarrollo de amaranto, podemos sugerir que, varios miRNAs actúan en conjunto durante el desarrollo de amaranto y que su abundancia y expresión es clave para el correcto desarrollo de la planta.

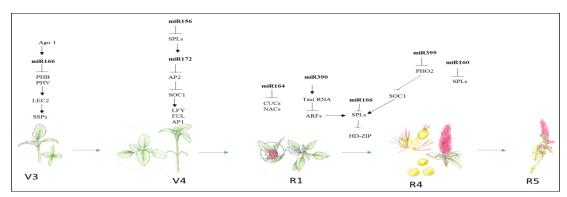


Figura 4. Representación esquemática de la posible interacción de miRNAs durante el desarrollo del amaranto.

CONCLUSIONES

Hasta el momento 9 pre-miRNAs han sido identificados en el desarrollo de amaranto, los cuales mostraron expresión diferencial durante el desarrollo. La presencia y expresión diferencial de los pre-miRNAs en las etapas analizadas sugiere que sus miRNAs correspondientes pueden están involucrados en el desarrollo de amaranto; por lo que es necesario la validación de su función en el desarrollo del amaranto.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el proyecto financiado CB2013-221522 y al Instituto Politécnico Nacional por el proyecto financiado SIP-20170447. También agradecemos al CONACyT por las becas otorgadas a SLM, EVP, ECTV, MMN, PFVH y MRR.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. H. Yiguo, and S. Jackson, "Floral induction and flower formation the role and potential applications of miRNAs", Plant Biotech J. 2015, 1–11.
- 2. J. Danfeng, et al. "MicroRNAs and their cross-talks in plant development", J. Gen. Genom 2013, 40(4): 161–70.
- 3. R. A. Chávez Montes, et al., "Sample sequencing of vascular plants demonstrates widespread conservation and divergence of microRNAs", Nat. Commun. 2014, 5: 3722.
- 4. F. F. Rosas-Cárdenas et al., "miRNA expression screening during prickly pear cactus fruit development", Planta. 2015, 241(2):435-48.
- 5. A.C.M. Vialette-Guiraud, et al., "A conserved role for the NAM/miR164 developmental module reveals a common mechanism underlying carpel margin fusion in monocarpous and Syncarpous Eurosids", Front. Plant. Sci, 2016, 6:1239.

- 6. L. Junqi, and C.P. Vance, "Crucial roles of sucrose and microRNA399 in systemic signaling of P deficiency a tale of two team players", Plant. Signal. Behav. 2010, 5(12): 1556–60.
- 7. Z. Meng, et al. "Involvement of miR169 in the nitrogen-starvation responses in arabidopsis", New. Phytol. 2011, 190(4): 906–915.
- 8. L. Yuling, et al., "MicroRNA390-directed TAS3 cleavage leads to the production of tasiRNA-ARF3/4 during somatic embryogenesis in *dimocarpus longan lour*." Front. Plant. Sci. 2015, 6: 1119.

OBTENCIÓN DE PRODUCTOS DE INTERÉS COMERCIAL A PARTIR DE CACAHUATE (Arachis hypogaea) Y SUS RESIDUOS

Morales-Salazar R.E., Miguel-Cabrera E., Morales-Rivera A., Flores-Ojeda G.,

Ramírez-Castillo M.L.

Laboratorio de Investigación y Posgrado, Universidad Politécnica de Puebla, 3er Carril del Ejido Serrano S/N, San Mateo Cuanalá, Juan C. Bonilla, Puebla, CP 72640

RESUMEN

Hoy en día no hay un aprovechamiento adecuado de *Arachis hypogaea* comúnmente conocido como cacahuate. Según datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, Puebla ocupa el quinto lugar a nivel nacional en producción de cacahuate con 9,249.28 toneladas producidas por año en el 2015 [1]. El cacahuate se utiliza principalmente para consumo directo [2]. Sin embargo el residuo o cáscara no ha sido valorizado, se ha usado como forraje para ganado o se considera fuente de contaminación desechándose. La aplicación de procesos de biorrefinería permite el aprovechamiento de todos y cada uno de los componentes del cacahuate dándole un valor agregado a sus productos y residuos, tal es el objetivo de este trabajo. Para el desarrollo de una biorrefinería del cacahuate, en primer lugar se realizó su caracterización mediante análisis proximal del grano y del residuo para determinar su composición y potencial de aplicación. Posteriormente se obtuvieron cuatro productos de interés comercial. A partir del grano se elaboró torito de cacahuate y aceite, en el caso de la cáscara se obtuvo carbón activado y un material tipo ladrillo.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad el consumo de cacahuate y sus derivados representa uno de los negocios más importantes a nivel mundial. Sin embargo a pesar de que México posee las condiciones para su cultivo, la falta de métodos de industrialización para esta materia prima y la poca diversificación de los productos a partir de esta, le resta valor a su venta y aprovechamiento total, lo que recae en el bajo interés por su cultivo respecto de otros países como India, Nigeria y Estados Unidos. La implementación de procesos de producción puede dar valor agregado y fomentar la elaboración de productos del cacahuate, además, la utilización de sus desechos para la obtención de diversos productos de uso industrial podría aumentar las expectativas de las personas sobre el cultivo de cacahuate y mejorar la comercialización del mismo. El cacahuate (*Arachis hypogaea*) es una planta anual de la familia de las fabáceas, cuyos frutos, de tipo legumbre contienen semillas apreciadas en la gastronomía. El cultivo se siembra a finales de primavera y se recolecta a finales de otoño. Actualmente los principales países productores de cacahuate son China e India, donde se utiliza sobre todo como materia prima para la producción de aceite. Entre las variedades para consumo directo de buen comportamiento figuran: Runner, Virginia y Valencia [3].

TEORÍA

La producción nacional de cacahuate, se distribuye principalmente entre los estados de Chihuahua, Sinaloa, Chiapas, Oaxaca y Puebla

El cacahuate es una leguminosa con gran concentración de albúmina y grasa, casi tanta como la carne. El 50% de su grasa es monoinsaturada, y el 30% polisaturada, siendo esta última mayormente de la serie omega 6. De igual forma tiene un aporte significativo de proteína (27%), y de fibra, lo que favorece la movilidad intestinal y combate estreñimiento. Respecto al contenido de vitaminas, la niacina es la más destacada, seguida de la vitamina E. En promedio 20 g de

cacahuate sin cascara aportan un 25% de las ingestas recomendadas para la niacina al día y un 14% respecto a la vitamina E, además, al efecto antioxidante de esta vitamina se le añade el de su contenido en selenio y fitoesteroides [4].

La temperatura optima del cultivo de cacahuate que varía entre 21 y 27 °C, mientras que a 12 °C su crecimiento se detiene. Los suelos deseables para la siembra de esta oleaginosa son aquellos permeables, sueltos, profundos y sin agua freática a 1 m de profundidad en general se cultiva en la franja comprendida entre los 40° de latitud norte y sur, exige una alta luminosidad para alcanzar su desarrollo normal y para propiciar un buen contenido de aceite en las semillas, por ello, no debe cultivarse con otras plantas, las lluvias a intervalos frecuentes benefician la etapa vegetativa del cultivo, hasta el momento de la floración treinta a cuarenta días después exigen mayor humedad, durante el periodo de maduración sus requerimientos disminuyen. Para este cultivo es muy importante conocer el pH del suelo y que haya calcio asimilado en los primeros 7 0 10 cm de suelo para asegurar el desarrollo normal de las vainas y semillas, el pH debe oscilarse entre 6 y 7, inferiores pueden provocar merma en la cosecha, manifestando deficiencias de calcio como la producción de vainas vacías y con cascaras suaves [5].

Las tendencias actuales en relación a los procesos de producción y en el ámbito ambiental son las biorrefinerías. Se define como biorrefinería a la transformación de los recursos biológicos seguros y sostenibles en productos que requiere el consumidor, como por ejemplo alimentos, químicos, materiales, combustibles, entre otros. El objetivo de este trabajo es establecer una biorrefinería para el aprovechamiento integral del cacahuate.



PARTE EXPERIMENTAL

Materia prima

El cacahuate se obtuvo de agricultores de Naupan, Puebla, en la Figura 1 se observa su ubicación.

Figura 1. Mapa de Naupan

ANÁLISIS PROXIMALES

En primer lugar se realizó la caracterización de la materia prima mediante análisis proximales de acuerdo las Normas Mexicanas para Alimentos citadas a continuación.

DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Norma Mexicana NMX-F-083-1986 [6]

DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Norma Mexicana NMX-F-066-S-1978 [7]

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA

Norma Mexicana NMX-F-068-S-1980 [8]

DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA

Norma Mexicana NMX-F-090-S1978 [9]

EXTRACTO ETÉREO

Norma Mexicana NMX-F089-S-1978 [10]

PROCESAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA

Se obtuvieron cuatro productos de interés comercial a partir de cacahuate, torito de cacahuate y aceite empleando la semilla, carbón activado y un material tipo ladrillo utilizando la cáscara.

TORITO DE CACAHUATE

Se pesaron 250 g del grano de cacahuate, 370 g de leche condensada, 450 g de leche evaporada y se midieron 150 ml de ron de caña, la semilla se tostó durante 5 min y se dejó reposando en los 150 ml de ron de caña durante 1 hora, se mezcló junto con los dos diferentes tipos de leche y fueron molidos. El torito resultante se filtró para retirar los sólidos y fue envasado.

Aceite

La extracción de aceite de cacahuate se realizó en un destilador soxhlet utilizando éter etílico como solvente para la extracción, apegándose al método de extracto etéreo empleado en la caracterización proximal de la norma Norma Mexicana NMX-F089-S-1978 [10].

Carbón activado

Se colocó una capsula de porcelana a peso constante y en ella fueron depositados 10 g de cáscara de cacahuate, posteriormente se colocó dentro de un horno de vacío a 300 °C y una presión de vacío de 60 mm Hg.

Ladrillo

Se pesaron 500 gramos de arena, 600de cemento y 100 g de cáscara. La cascara de cacahuate fue humidificada en 1 litro de agua durante 1 hora, el exceso de agua fue decantado y se mezcló la cascara humada con el cemento y la arena adicionando 500 ml de agua a la mezcla, la mezcla fue moldeada en moldes para ladrillos y fue secada al sol por un día.

Fermentación sólida

La fermentación solida es caracterizada por un proceso de fermentación sobre un soporte solido, el cual tiene un bajo contenido de humedad (limite inferior =12%) y ocurre en estado no aséptico y natural que contenga los nutrientes necesarios como fuente de carbono o energía para la obtención de un producto.

RESULTADOS

Caracterización de la materia prima

El cacahuate con cáscara presento un tamaño promedio 27.9 mm de largo y 9.3 mm de ancho, sus componentes principales son semilla, cascara y la cutícula. En la Tabla 1 se observa el % de componentes del cacahuate, siendo el principal componente la semilla y la cutícula la que representa el % más bajo.

Tabla 1. Componentes del cacahuate.

Componente	% del componente	
Semilla	0.697	
Cascara	0.277	

Cutícula 0.024

En primer lugar se caracterizó la materia prima para el desarrollo de la biorrefinería del cacahuate, en la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos del análisis proximal. Se observaron valores similares en cenizas y proteína, mientras que por el contrario en el caso de fibra, grasa y carbohidratos los resultados difieren de acuerdo con bibliografía consultada [11]. Dichas diferencias pueden ser atribuidas a diferencias en la variedad de cacahuate analizada, el tipo de cultivo, la región a la que pertenece, edad del cacahuate o condiciones de cosecha.

Tabla 2. Composición proximal de cacahuate.

	Semilla		Cáscara		Cutícula	
Componentes químicos	Resultados experimentales (%)	Comparación (Ochse,1965)	Resultados experimentales (%)	Comparación (Ochse,1965)	Resultados experimentales (%)	Comparación (Woodroof, 1983)
Humedad	1.233 ± 0.0046	2.7	1.233 ± 0.047	8.58	2.3 ± 0.315	5.65
Cenizas	2.806 ± 0.0036	2.7	2.11 ± 0.004	1.63	0.73 ± 0.001	2.44
Extracto etéreo	39.733 ± 2.306	50.4	2.11 ± .062	5.36	2.23 ± 0.060	21.54
Fibra cruda	7.816 ± 1.566	1.8	65.82 ± 2.181	60	29.08 ± 2.164	19.46
Proteína	29.811 ± 1.081	29.6	12.23 ± 0	9.04	25.22 ± 3.24	17.12
Carbohidratos	16.900 ± 0.003		8.48 ± 0.001	78.5	21.19 ± 0.006	

La composición determina de cada uno de los componentes de la materia prima para la elaboración de productos, en el caso de la semilla cuyo principal componente es la grasa fue destinado a la producción de aceite, mientras que la cáscara, que posee un alto porcentaje en fibra cruda lo cual lo hace un buen prospecto para producción de carbón activado.

Procesamiento de la materia prima

En la Figura 1 se muestran los procesos a los que se sometió al cacahuate para la elaboración de los productos deseados.

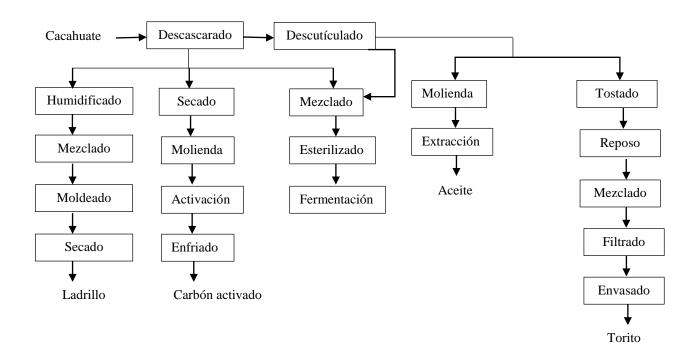


Figura 1. Diagrama de bloques de la elaboración de productos

Torito de cacahuate

En la Figura 2 se observa el torito de cacahuate obtenido a partir de la semilla del mismo, el cual tiene una facultad de transformación de 2.28 L de torito por Kg de semilla en su procesamiento.



Figura 2. Torito de cacahuate

Aceite de cacahuate

En la Figura 3 se aprecia el aceite de cacahuate obtenido, el cual muestra un rendimiento de transformación de 0.397 kg de aceite por kg de semilla.



Figura 3. Aceite de cacahuateCarbón activado

En la Figura 4 se muestra el carbón activado obtenido de la cascara de cacahuate el cual tiene un rendimiento de transformación de 0.319 kg de carbón por kg de cáscara de cacahuate.



Figura 4. Carbón activado

Ladrillo de cáscara de cacahuate

En la figura 5 se aprecia el ladrillo hecho de cascara de cacahuate en el cual muestra un rendimiento de transformación después del procesamiento de 10 unidades de 1.32Kg por Kg de cascara.



Figura 5. Ladrillo de cáscara de cacahuate

Fermentación solida

Los residuos de la cascara se utilizaron para realizar una fermentación sólida, la cual se tienen como objetivo a futuro poder ser utilizada como alimento para ganado. En la figura 6 se muestra la columna empacada que contiene la fermentación solida de residuos de cacahuate con *Aspergillus sp.* Tras su procesamiento posee una actividad de transformación de 1.68 kg fermentación por kg de cáscara.



Figura 6. Fermentación solida de cascara de cacahuate

En la Tabla 3 se muestran los rendimientos obtenidos en los diferentes productos a base de cacahuate a partir de 1000kg de cacahuate.

Tabla 3. Rendimientos en base seca y húmeda por kg de componente

Productos	Base seca	Base húmeda	
Torito de cacahuate	2.28 L Torito/ kg semilla	2.19 L Torito/ kg semilla	
Aceite de cacahuate	0.397 kg aceite/ kg semilla	0.302 kg aceite/ kg semilla	
Carbón activado	0.319 kg carbón/ kg cáscara	0.315 kg carbón/ kg cáscara	
Ladrillo de cáscara de cacahuate	10 ladrillos/ kg cáscara	10 ladrillos/ kg cáscara	
Fermentación solida	1.68 kg de fermentación /kg de cáscara	1.66 kg de fermentación /kg de cáscara	

CONCLUSIONES

En general los datos del análisis proximal se mantuvieron cercanos a lo reportado, siendo el único problema representativo los resultados del análisis proximal de la cutícula de cacahuate.

La obtención de carbón activado a partir de la cascara de cacahuate es una opción muy rentable debido a que la materia prima que se ocupa es residuo en su totalidad, de la misma forma el alimento para ganado es una excelente alternativa para el aprovechamiento de los residuos.

Para aumentar la diversificación de productos de cacahuate se propone posterior elaboración de un colorante y un material tipo papel. Debido a que durante la caracterización y análisis proximal de la cutícula se pudo apreciar que posee una característica de pigmentación, la cual se puede utilizar como otra alternativa de pigmentación natural. Posteriormente se podría evaluar los métodos de extracción de este colorante usando diferentes solventes.

En el caso de la cáscara de cacahuate para el mejoramiento de esta biorrefinería se puede utilizar en la elaboración de un material tipo papel para el mayor aprovechamiento de este residuo. De esta manera evaluar su rendimiento de la cáscara de cacahuate como materia prima para la elaboración de papel por medio de diferentes técnicas y así brindar otra alternativa de consumo.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. SAGARPA, (2015) Consultado en febrero 2017. [Online]. Disponible en: http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/
- 2. H. Ibañez, Espinosa-Pérez, J.L. García-Calderón., "Datos recientes de la distribución de la siembra de especies exóticas como base de la producción pesquera en aguas interiores mexicanas". Rev. Mexicana de Biodiversidad. No. 82, 2011, pp. 904-914.
- 3. P. Guillier, P. Silvestre. *El Cacahuate o Maní*. Primera edición, Ed. Blume. Zaragoza, España, 1970.
- 4. O. Moreiras, A. Carbajal, L. Cabrera, C. Cuadrado. "Tablas de composición de alimentos". Pirámide, México, 2013.
- 5. S. Sánchez, A. Muñoz, A. Victor, A. González, A. Martínez. "Caracterización y clasificación de germoplasma mexicano de cacahuate (Arachis hypogaea L.)". Agrociencia 40: pp. 171-182, 2016.
- 6. Norma Mexicana NMX-F-083-1986. Determinación de humedad en productos alimenticios. Dirección general de normas.
- 7. Norma Mexicana NMX-F-066-S-1978. Determinación de cenizas en alimentos. Secretaria de comercio y fomento industrial dirección general de normas. Diario Oficial de la Federación de 7 abril 1961.
- 8. Norma Mexicana NMX-F-068-S-1980. Determinación de proteínas. Dirección general de normas. 4 agosto 1980.
- 9. Norma Mexicana NMX-F-090-S1978. Determinación de fibra cruda en alimentos. Dirección general de normas. Diario Oficial de la Federación de 7 abril 1961.
- Norma Mexicana NMX-F089-S-1978. Determinación de extracto etéreo (método soxhlet) en alimentos. Dirección general de normas. Diario Oficial de la Federación de 7 abril 1961.
- 11. J. Woodroof, G. PEANUTS. "Production, processing, products". *The AVI Publishing Company, INC. Westport, Connecticut.* 1983.

PCA EN ESPECTROSCOPIA DE QUESOS

Juan Manuel Bujdud Pérez, Rafael Casillas Peñuelas, Claudio Frausto Reyes, Laura Eugenia Pérez Cabrera

Centro de Investigaciones en Óptica, A.C. Unidad Aguascalientes. Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma de Aguascalientes.

RESUMEN

Hoy en día, ¿cómo podemos saber acerca de la calidad de los alimentos? ¿Cómo saber, por ejemplo, si un producto lácteo es 100% de leche? En la actualidad, los consumidores están mostrando un interés cada vez mayor en la forma en que se producen, elaboran y comercializan los alimentos, exigiendo controles que garanticen la inocuidad y calidad de los mismos. Por lo anterior, en este trabajo, se emplearon técnicas espectroscópicas como son la espectrocolorimetría y la espectroscopia Raman, para la caracterización de productos alimenticios y así contar con parámetros que ayuden a determinar la calidad e inocuidad de alimentos, en particular en este trabajo, para tres quesos tipo asadero comerciales en la región y uno elaborado con 100 % de leche. Para cada uno de ellos se obtuvieron parámetros colorimétricos en los sistemas de color CIE Yxy y CIE L*a*b* y se aplicó un análisis estadístico mediante la técnica de componentes principales obteniendo tendencias cromáticas, observándose que el parámetro de claridad (L*) es mayor para el queso 100 % de leche. Así mismo, se obtuvieron los correspondientes espectros Raman para cada tipo de queso observando picos más intensos en el queso 100 % de leche y una relación con sus parámetros cromáticos. De lo anterior, se puede mencionar que las técnicas espectroscópicas pueden ser herramientas de mucha utilidad en la industria alimentaria para poder determinar el origen de los alimentos y su calidad.

Palabras clave: Raman, quesos, espectroclolorimetría, adulteración.

INTRODUCCIÓN

El queso asadero, es un queso típico mexicano de pasta hilada o "filata" (por ello relacionado con el mozzarella italiano) que se considera un queso fresco. Casi siempre se elabora con leche cruda o bronca de vaca y se presenta en el mercado de varias formas: en bolas o madejas, en bloques de diferentes tamaños y aun en forma de discos aplanados, como tortillas aunque esta presentación no es muy comercializada, dependiendo de la región del país en la que se produce [1,2].

El queso asadero se produce tanto a nivel artesanal como en empresas medianas y grandes; principalmente en los estados de Durango, Coahuila, Chihuahua, Aguascalientes, Jalisco y Guanajuato. La materia prima para elaborarlo es la leche de vacas Holstein; su alimentación es a base de alfalfa fresca, concentrados de proteína como pasta de canola y/o soya, forrajes fermentados de maíz, granos como el maíz rolado, sorgo y fibra obtenida principalmente de pastos secos y maíz; el medio ambiente propicio para el desarrollo de este tipo de ganado es en climas templados semisecos donde la temperatura media oscila entre los 15 y 19 °C [1,2].

Uno de los rasgos más característicos del queso asadero, es el de fundir al alcanzar temperaturas del orden de 60 °C y superiores; esto es debido al bajo pH de su pasta, situado entre 5.0 y 5.5. Su funcionabilidad lo hace muy deseable en la cocina típica mexicana y se puede combinar con gran variedad de platillos donde realce sus características como es el caso de las quesadillas, gratinados, chiles rellenos, gorditas rellenas, pizza y sin lugar a dudas el más utilizado, en "choriqueso", que es una mezcla de chorizo con queso asadero que se funde para formar una pasta homogénea y es acompañada con tortillas de maíz [1,2].

El rendimiento del queso asadero es de 8.5 a 11.5 kg por 100 litros de leche aproximadamente. Varía a lo largo del año en función de la riqueza en la composición de la leche, sobre todo en materia proteica coagulable.

De la norma NOM-121-SSA1-1994 surge la clasificación de los quesos mexicanos y el asadero se encuentra dentro de los quesos frescos de pasta cocida junto con el mozzarella y el Oaxaca [3].

El objetivo de ésta investigación fue emplear la espectrocolorimetría y la espectroscopia Raman, para la caracterización quesos asaderos comerciales y elaborados en laboratorio a partir de 100% leche de vaca. Los datos se procesaron mediante la técnica de componentes principales obteniendo tendencias cromáticas y tendencias en los espectros Raman.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los quesos asaderos comerciales fueron adquiridos en diferentes queserías del Estado (muestras 2, 3 y 4) y el queso elaborado con 100% leche de vaca (posta, muestra 1) se procesó en la Universidad Autónoma de Aguascalientes, en el Centro de Ciencias Agropecuarias, particularmente en el taller de lácteos. Ubicado en el municipio de Jesús María, Aguascalientes.

Análisis de color

La obtención de los parámetros colorimétricos se realizó con un espectrocolorímetro de geometría 45/0 (GretagMacbeth, modelo i1 Pro) con un área de visión de 4.5 mm, intervalo espectral de 380 a 730 nm y una resolución óptica de 10 nm. Las variables colorimétricas fueron determinadas mediante el uso de un software desarrollado en Labview (ColorCIO) para un iluminante estándar CIE D65 (promedio de la luz del día) y un observador estándar CIE de 10° a partir de las curvas de reflectancia espectral de cada queso en el intervalo de 400 a 700 nm. Lo anterior, se realizó efectuando tres mediciones en la parte interna de cada muestra de queso para obtener un valor promedio [4].

Análisis por Espectroscopía Raman

Para la medición de los espectros Raman de los quesos, se utilizó un sistema Micro-Raman (Renishaw, modelo 1000B) con una geometría de retroesparcimiento. El sistema utiliza una longitud de onda de excitación de 830 nm, un objetivo de microscopio DMLM (Leica) de 50x con tamaño aproximado de spot laser de 2 µm y potencia laser sobre la muestra de aproximadamente 10 mW. El sistema se calibró utilizando la línea Raman de 520 cm⁻¹ de una oblea de Silicio. Los espectros Raman se obtuvieron de la parte interna de cada muestra de queso.

Procesamiento De Datos

Para la clasificación de los datos de color y Raman asociados a cada muestra, se utilizó el análisis de componentes principales (PCA). Para ello, se desarrolló un programa en la plataforma de MatLab, considerando espectros normalizados a su máxima intensidad. Determinados a partir de las gráficas de porcentaje de varianza, se seleccionaron los tres primeros PCs [5,6].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1, se muestran los espectros Raman obtenidos de los quesos asaderos. El queso que presenta mayor intensidad en sus picos es el elaborado en Laboratorio con leche 100% de vaca. La intensidad de los quesos comerciales no se mantiene constante además de observarse razón de picos diferente si se considera el pico de 1720 cm⁻¹. Lo anterior posiblemente es debido a los ingredientes y el proceso de elaboración. Esta misma tendencia se observa, en la figura 2, a lo largo del eje PC3, en donde la muestra 4 tiene la menor intensidad.

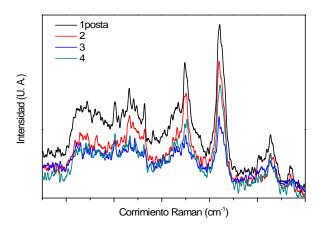


Figura 1. Espectros Raman de quesos asaderos.

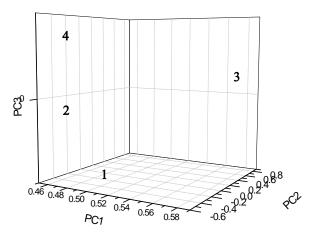


Figura 2. PCA de los espectros Raman mostrados en Figura 1.

En la Figura 3 se muestran los espectros de reflectancia de los quesos asaderos comerciales y el queso posta. A partir de los espectros de reflectancia, en la Tabla 1 se muestran las coordenadas de color obtenidas para cada uno de los quesos asaderos. Se observa que el parámetro L (claridad) es mayor en el Queso Posta. Además esta misma tendencia se observa, en la figura 4, a lo largo del eje PC3 en donde la muestra 4 tiene la menor claridad.

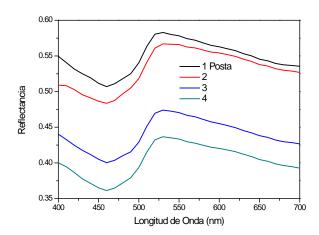


Figura 3. Curvas de reflectancia de los quesos asaderos comerciales y el queso posta.

Tabla 1. Parámetros de color de los quesos asaderos comerciales y el queso posta considerando un lluminante D65 y un Observador Estándar 10°.

Muestra	Х	Υ	Z	Х	у	L*	a*	b*
4	39.0825	41.9175	39.9391	0.3232	0.3466	70.814	-2.0442	5.831
3	42.5129	45.5652	44.146	0.3215	0.3446	73.2625	-2.0135	5.1696
2	51.4712	54.9882	52.9298	0.3229	0.345	79.0345	-1.7035	5.8472
1	52.7098	56.3989	55.6783	0.3199	0.3423	79.8403	-1.9306	4.5476

Por otra parte, comparando colorimétricamente los quesos comerciales contra el queso posta, se obtuvieron las diferencias de color de la Tabla 2, donde ΔE es la diferencia de color total y ΔC es la diferencia de cromaticidad.

Tabla 2. Diferencias de color entre quesos comerciales y un queso 100% leche de vaca.

Muestra	ΔL	∆ a *	∆ b*	ΔĒ	ΔC
2	0.65	0.05	1.69	1.55	1.32
3	43.27	0.01	0.39	6.61	0.63
4	81.47	0.01	1.65	9.12	1.29

Aplicando PCA a las curvas de reflectancia de cada queso, obtenemos las tendencias que se muestran en la Figura 4.

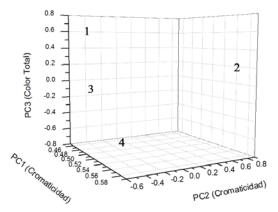


Figura 4. PCA de las curvas de reflectancia mostradas en Figura 3.

De la Figura 4 se puede ver que si consideramos la diferencia de color total (ΔE), la muestra 2 es la que más se parece a la muestra 1, mientras que la muestra 4 es la que más difiere de la muestra 1.

Sin embargo, si solamente se considera la diferencia cromática (ΔC), la muestra 3 es la que más se asemeja a la muestra 1, mientras que la muestra 2 es la que más difiere de la muestra 1.

CONCLUSIONES

Los análisis espectroscópicos obtenidos en este trabajo son fundamentales para crear una base de datos de quesos asaderos elaboradas 100% con leche de vaca. Esto es muy importante para garantizar la calidad de los productos lácteos.

- 1. Amiot, J., (1991). Ciencia y tecnología de la leche. Ed. Acribia, S.A.: España.
- 2. Cervantes, F., Villegas de Gante, A., Cesín, A., Espinoza, A., (2008). Los Quesos Mexicanos Genuinos. Ed. Mundi-Prensa Libros, S.A.
- 3. Norma Oficial Mexicana Nom-121-SSA1-1994, Bienes Y Servicios. Quesos: Frescos, Madurados y Procesados. Especificaciones Sanitarias.
- 4. R. Berns, Principles of Color Technology, third ed. JohnWiley & Sons, Inc., New York, 2000.
- 5. P. Mobili, A. Gómez-Zavaglia, G.L. De Antoni, C. Araujo-Andrade, R. Ávila-Donoso, I. Ivanov-Tzonchev, Moreno-Hernández, C. Frausto-Reyes, Multivariate analysis of Raman spectra applied to microbiology: discrimination of microorganisms at the species level, Rev.Mex. Fis. 56 (2010) 378–385.
- 6. C Frausto-Reyes, C Medina-Gutierrez, R Sato-Berru, LR Sahagún Qualitative study of ethanol content in tequilas by Raman spectroscopy and principal component analysis, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 61 (2005) 2657-2662.

PLÁNTULAS DE REPOLLO (BRASSICA OLERACEA VAR. CAPITATA): GERMINACIÓN Y DESARROLLO MEDIANTE TRATAMIENTOS DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS

Tarsicio Medina Saavedra, Gabriela Arroyo Figueroa, María Isabel García Viera y José Juan Serrato López

Universidad de Guanajuato. tarsicioms@hotmail.com

RESUMEN

El repollo es cultivado por su gran demanda para el consumo, con la posibilidad de cultivarse todo el año, mediante la propagación de plántulas sanas y vigorosas para obtener mayores rendimientos. En la presente investigación se buscó evaluar el efecto de los microorganismos benéficos en la germinación, sobrevivencia y crecimiento de la plántula de repollo. El diseño experimental consistió en colocar las semillas en cuatro bandejas de germinación con 72 celdas, a las que se les aplicó un tratamiento distinto a cada una. El tratamiento uno (T1) fungió como testigo y solo se aplicó el riego, en el tratamiento dos (T2) se usó un producto comercial a base de Azospirillum brasilensis, en el tratamiento tres (T3) se usaron microorganismos de montaña y en el tratamiento cuatro (T4) se realizó una combinación de T2 v T3. Las semillas fueron inoculadas con A, brasilensis y microorganismos de montaña de acuerdo a cada tratamiento, para posteriormente ser sembradas en un sustrato a base de arcilla, arena, ceniza de ladrillera y fibra de coco. Después de la germinación se realizó la aplicación semanal de los microorganismos en el riego y se midieron los parámetros de germinación, sobrevivencia y crecimiento. Los resultados mostraron que hubo diferencias significativas en germinación y sobrevivencia entre los tratamientos con microorganismos (T2, T3 y T4) y el testigo, en la cuantificación del crecimiento se encontró que los microorganismos de montaña (T3) superaron a A. brasilensis (T2), sin embargo la combinación de ambos (T4) resultó ser el de mayor crecimiento. El uso de A. brasilensis y microorganismos de montaña favorecen la germinación y sobrevivencia de las plántulas de repollo y su combinación resulta un consorcio microbiológico que influye en su crecimiento, debido a que producen sustancias promotoras del crecimiento de las plantas.

INTRODUCCIÓN

La producción de hortalizas representa un aporte importante en la economía agrícola, para México representa el 16% del valor de la producción con el 2.7% de la superficie agrícola y 2.1% de la producción total (SAGARPA, 2010) y una balanza comercial positiva dentro del sector rural con un volumen exportado de 4.1 veces mayor que el importado desde 1961 a 2010 (FAO; FAOSTAT 2012), sumado a un beneficio social por la gran demanda de mano de obra, el mejoramiento de la alimentación y nutrición mediante hojas, frutos, raíces, tallos y flores alto contenido de minerales, vitaminas y proteínas.

México se encuentra en una zona privilegiada para su producción de hortalizas por la gran diversidad de condiciones ambientales en la que se encuentra, además de las ventajas competitivas por la posición geográfica, la apertura comercial y los altos estándares fitosanitarios en cuanto a calidad e inocuidad, han favorecido a la competitividad, expresada en un alto grado de integración con los mercados externos a través de las exportaciones (Gaucín, 2015).

Dentro de las Crucíferas, el repollo *Brassica oleracea* L. var. *capitata* es una hortaliza que beneficia a la salud humana, con una buena fuente de vitaminas A, B6, C, potasio, fibra y baja en grasas, además de reducir el riesgo de contraer algunos tipos de cáncer (Zamora, 2016).

El cultivo del repollo se puede establecer tanto en la temporada otoño-invierno como primaveraverano, sin embargo, requiere un rango óptimo de temperatura de 15 y 18 °C, para su adecuado desarrollo, con temperatura arriba de 25 °C el desarrollo del repollo es lento (Zamora, 2016). La germinación se realiza en semilleros para posteriormente ser trasplantado en un suelo franco rico en materia orgánica y profundidad de 20 a 30 cm para un buen desarrollo radicular, es tolerante a pH ácidos del rango de 5.5 a 6.5 (López, 2005).

La práctica de la inoculación con bacterias puede aportar diferentes beneficios a los cultivos desde el momento de la germinación y su posterior desarrollo. Diversas bacterias rizosféricas son actualmente utilizadas como biofertilizantes en la producción de hortalizas, mediante la práctica de

la inoculación a la semilla y aplicación en el riego, en busca de un beneficio para los cultivos durante la etapa de germinación y desarrollo en los almácigos. Una de estas bacterias de vida libre se encuentra en el género *Azospirillum*, rizobacteria considerada promotora de crecimiento vegetal por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y producir fitohormonas, producción de sideróforos y mejoramiento del sistema de absorción radical y relación agua/planta (Cassán *et al.*, 2003; Di Barbaro *et al.*, 2005).

Por otro lado los microorganismos de montaña (MM), integrados por colonias de hongos, bacterias y levaduras benéficas generan una descomposición de materia orgánica, mediante un cultivo mixto de microorganismos benéficos (Rhodopseudomonas spp, Lactobacillus spp, Sacharomyces spp, actinomicetos y hongos fermentadores), han generado efectos positivos para un ambiente en equilibrio en beneficio de los cultivos (Higa, 2013).

En la presente investigación se buscó evaluar el efecto de los microrganismos benéficos (MM) recolectados en ecosistemas de montaña y *Azospirillum brasilencis* en la germinación, sobrevivencia y crecimiento de la plántula de repollo.

MATERIAL Y MÉTODO

Para el estudio de utilizaron semillas de repollo de una variedad comercial y consistió sembrar en bandejas de germinación 24 semillas con tres repeticiones y cuatro tratamientos distintos. El tratamiento uno (T1) se utilizó como testigo y solamente fueron aplicados los riegos correspondientes con agua no clorada. En el tratamiento dos (T2) se aplicó un producto comercial a base de *Azospirillum brasilensis*, diluido en agua no clorada. En el tratamiento tres (T3) se usaron microorganismos de montaña (MM) en su fase líquida, diluidos al 5% en agua no clorada y aplicada durante el riego. Para el tratamiento cuatro (T4) se realizó una combinación de T2 y T3, aplicados en el agua de riego.

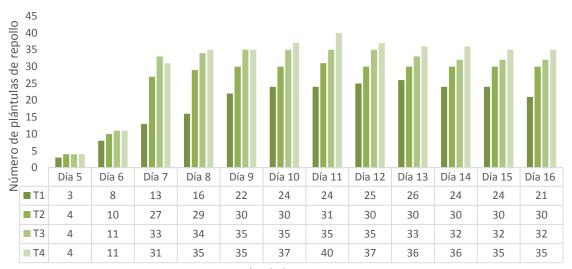
Las semillas fueron sembradas en un sustrato a base de arcilla, arena, ceniza de ladrillera y fibra de coco molida, puestas en remojo durante 10 minutos en una solución de agua con melaza al 1% adicionando *A, brasilensis* para T2, microorganismos de montaña fase líquida para T3 y la combinación de ambas para T4. Los riegos se realizaron diariamente utilizando agua no clorada y agregando los microorganismos en solución, para T2 se usó *A, brasilences,* para T3 los MM y para T4 la combinación de los microorganismos utilizados en T2 y T3.

Para obtener los MM se realizó el proceso de acuerdo a la metodología propuesta por Kondo *et al.* (2015) y posteriormente de la fase líquida anaerobia se tomó lo requerido para hacer las diluciones al 5 %. En la preparación del *A, brasilensis* se usó un producto comercial del que se tomó 180 gr para diluirlo en 4 litros de agua sin cloro.

Se midió la cantidad de germinación y sobrevivencia de las plántulas de repollo durante dos semanas, posteriormente se registró su crecimiento utilizando una regla plástica, la medición fue desde la superficie del suelo hasta el meristemo apical de la plántula en el momento de realizar el trasplante. Se realizó un análisis multifactorial de la varianza para germinación y sobrevivencia, lo mismo que para crecimiento (ANOVA) con el programa estadístico de EXCEL.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mayor cantidad de semillas de repollo germinadas y que al final del proceso sobrevivieron se logró mediante la combinación de *A. brasilences* y microorganismos de montaña (T4), seguida del uso de los MM (T3) y de *A, brasilences* (T2) y con menor cantidad el tratamiento testigo (T1) (Figura 1).



Días de los tratamientos

Figura 1. Germinación y sobrevivencia de las plántulas de repollo

De acuerdo con el análisis de estadístico de germinación y sobrevivencia se encontró que existe diferencia significativa estadísticamente al menos en un tratamiento (p=0.02) para un 95% de confiabilidad entre los cuatro tratamientos (Tabla 2) sin embargo, entre los tratamientos T2, T3 y T4 en que se usaron los diversos microorganismos no se encontraron diferencias significativas estadísticamente entre ellos (p=0.47).

Tabla 2. Análisis de varianza de germinación y sobrevivencia de los cuatro tratamientos de las plántulas de repollo.

RESUMEN					
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza	
T1	12	230	19.1666667	56.3333333	
T2	12	311	25.9166667	80.6287879	
T3	12	351	29.25	106.931818	
T4	12	372	31	126.909091	
ANÁLISIS DE	VARIANZA				
Origen de la	s variaciones	F	-	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos		3.53	30475762	0.022340524	2.816465817
Dentro de los	grupos				
Total					

Al medir el crecimiento de la plántula de repollo se encontró que la combinación de microorganismos de montaña y *A, brasilences* (T4) superaron en crecimiento a los tratamientos donde se aplicaron solos (T2 y T3), no obstante que no representaron una diferencia significativa estadísticamente en las dos mediciones (p=0.24 y 0.07), sin embargo con el tratamiento testigo (T1) en la segunda medición si hubo diferencias significativas con (p=0.005).

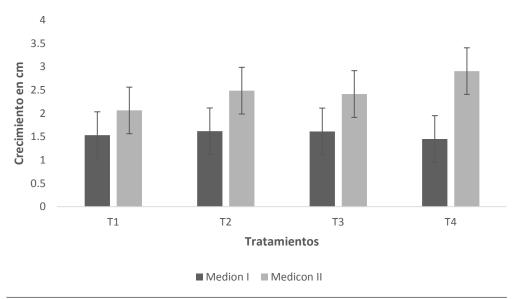


Figura 2. Dos mediciones del crecimiento de la plantula de repollo.

Diversas investigaciones han señalado los beneficios del uso de microorganismos benéficos durante la germinación de las semillas de hortalizas debido a que produce sustancias promotoras del crecimiento, tales como ácido indol acético, citocininas, giberelinas y sideróforos (Di Barbaro *et al.*.

2005), estimulado la producción enzimatica de las membranas celulares, eliminando la dormancia de las semillas (Sanchez *et al.*, 2001) incitando la germinación, el crecimiento, la producción de raíces laterales y pelos radicales favoreciendo la absorción de nutrientes (Bashan y Holguin, 1994). Existen bacterias reconocidas por su efecto en la emergencia de semillas vegetales, conocidas como bacterias promotoras de emergencia, dentro de ellas se encuentra *Azospirillum brasilense* (Zambrano & Díaz, 2008).

La mayor sobrevivencia y crecimiento de las plántulas con microorganismos es debido a que los organismos se asocian a la rizosfera de plantas, actuando como promotores del crecimiento, la fijación biológica del nitrógeno y solubilización del de minerales (Barassi *et al.*, 2008; Cassán, *et al.*, 2003), activando además los diversos mecanismos de crecimiento vegetal, con efecto promotor del crecimiento resultado de una combinación de diversos mecanismos, de acuerdo a la especie vegetal, condiciones ambientales y la cepa utilizada (Barassi *et al.*, 2008; Méndez *et al.*, 2014), principalmente mediante la producción de fitohormonas, suplemento de macro y micro elementos (Spaepen *et al.*, 2009), por otro lado la diversidad microbiológica aportada con los MM, se relaciona de manera simbiótica, provocan una rápida movilización de la materia orgánica y sus minerales (Ismail & Soliman, 2010), favoreciendo la multiplicación de microorganismos benéficos, permitiendo el mejor desarrollo radicular y una adecuada absorción de nutrientes (Reyes, 2002; Higa, 2013).

CONCLUSIÓN

El uso de MM y *A. brasilences* inoculados a la semilla de repollo favorecen su germinación debido a la activación de los mecanismos de producción de fitohormonas y enzimas que desactivan su estado de latencia o dormancia y su asociación con la rizosfera promueven el crecimiento al fijar nitrógeno y solubilizar minerales.

Es importante seguir estudiando la simbiosis en una la diversidad microbiológica, para encontrar sus benéficos y adaptarlos las condiciones de los diferentes cultivos.

- Barassi, C., Sueldo, R., Creus, C., Carrozzi, L., Casanovas, E., & Pereyra, M. (2008). Potencialidad de Azospirillum en optimizar el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. Argentina: Asoc. Arg. Microbiol. (Cassán F,García Salamone I, eds.), ISBN: 978-987-98475-8-9, Capítulo 3, 49-58.
- 2. Bashan , Y., & Holguin , G. (1994). Root to root travel of the beneficial bacterium Azospirillum brasilense. *Applied and Environmental Microbiology 60*, 2120-2131.
- Cassán, F., Piccoli, P., & Bottini, R. (2003). Promoción del crecimiento vegetal por Azospirillum sp. A través de la producción de giberelinas. Universidad Nacional de Santiago del Estero.: 143-158.
- 4. Di Barbaro, G., Pernasetti , S., & Stegmayer , A. (2005). Evaluación del efecto de Azospirillum brasilensis en la germinación y emergencia del pimiento pimentonegro (Capsicum annum L.var. Trompa de elefante). Revista del CIZAS Volumen 6, Número 1 y 2, 74-85 ISSN 1515-0453.
- 5. Gaucín, D. (28 de Octubre de 2015). Las frutas y hortalizas en México (I). El Economista .
- 6. Higa, T. (2013). Microorganismos Benéficos y efectivos para una agricultura y medio ambiente sostenibles. *Maryland (USA): Centro internacional de Investigación de Agricultura Natura*, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, 13 p.
- 7. Ismail, M., & Soliman, W. (2010). Studies on Probiotic. Effects of Lactic Acid Bacteria Against Vibrio vulnificus in freshwater Prawn Macrobrachium rosenbergii. *American Journal of Science*, 8(6), 2010, p. 781-787.
- 8. Kondo, S., Molina, E., Alcanta, J., Ramos, H., Núñez, M., Palacios, F., & Ortiz, Á. (2015). *Manual técnico 4. Microorganismos.* Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA), Gerencia de Transferencia de Tecnología.
- 9. López, M. J. (2005). *Manual de Buenas Prácticas Agrícolas en el Cultivo de Repollo.* Managua, Nicaragua: Universidad Politecnica de Nicaragua.
- 10. Méndez , G. M., Castro , M. E., & García , P. E. (2014). Azospirillum una rizobacteria con uso potencial en la agricultura. *Biológicas*, 16(1): 11–18.
- 11. Okon, Y., & Labandera, G. C. (1994). Agronomic applications of Azospirillum: an evaluation of 20 years wordwide field inoculation. *Soil Biology and Biochemistry*, V. 26, p 1591-1601.
- 12. Reyes, J. N. (2002). *Nutrición y regulación del crecimiento de las hortalizas y frutales.* Saltillo Coah. Revisado el 20 de marzo de 2017 http://www.uaaan.mx/postgrado/images/files/hort/simposio2/Ponencia03.pdf: U.A..A.A.N.
- 13. Sanchez , J. A., Orta, R., & Munoz, B. C. (2001). Tratamientos pregerminativos de hidratación deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interes agrícola. *Agronomia Costarricense* 25(1), 67-92.
- 14. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2010). Sistema de Información Agropecuaria de Consulta (SIACON). México: SAGARPA.
- 15. Spaepen , S., Van , D. J., & Okon , Y. (2009). Plant growth-promoting actions of rhizobacteria. *Adv. Bot. Res.*, 51:283–320.
- Zambrano, J. A., & Díaz, L. A. (2008). Efecto de la inoculación de Azospirillum brasilense y Glomus sp. en Gmelina arborea durante su germinación y manejo en vivero. *Universitas* Scientiarum 13 (2), 162-170.
- 17. Zamora, E. (2016). El cultivo de repollo. Serie guías producción de hortalizas DAG/HORT-011, 1-15.

VARIABILIDAD MORFOLÓGICA DE COLECTAS DE CHILE MANZANO (CAPSICUM PUBESCENS R. Y P.) PROCEDENTES DEL ESTADO DE MICHOACÁN

Ana Karen Escalera Ordaz, Roberto Valdivia Bernal, Ma. Blanca Nieves Lara Chávez, Clemente Lemus Flores, Javier Rodríguez CarpenaElizabeth Martínez, Yolanda Cecilia López García, Estefany Jaqueline Tajimaroa Quezada, Héctor Guillén Andrade.

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez", Unidad de Investigaciones Avanzadas en Agrobiotecnología. Uruapan, Mich., México. Universidad Autónoma de Nayarit, Facultad de agricultura. Carretera Tepic-Compostela km. 9 Xalisco, Nayarit.

RESUMEN

El chile manzano (Capsicum pubescens R. y P.) originario de las partes altas de Perú y Bolivia, fue introducido a México a principios del siglo XX, en la actualidad, es ampliamente distribuido por todo el mundo en regiones con altitudes de 1700 a 2500 m.s.n.m. En México, las entidades con mayor superficie destinada a este cultivo son: Michoacán, Puebla, Veracruz, Estado de México y en menor escala Chiapas, Oaxaca y Morelos, donde forma parte de los hábitos alimenticios. Sin embargo, esta especie únicamente se conoce baio cultivo por lo que se requiere caracterizar v rescatar la variabilidad genética cultivada como fuente importante para el mejoramiento genético del cultivo. En base a lo mencionado, la presente investigación planteó la caracterización morfológica de 20 colectas de Capsicum pubescens provenientes del estado de Michoacán con el objetivo generar información sobre la variabilidad de chile manzano presente en estado, asimismo, de cada individuo se evaluaron los siguientes caracteres morfológicos: color de fruto, número de lóculos, arrugamiento transversal, cuello en la base del fruto, presencia de manchas o rayas, forma de fruto, ápice de fruto, base de fruto, longitud de fruto, diámetro de fruto, espesor de la pared, número de semillas y color de semilla. De acuerdo con el análisis de varianza se encontraron diferencias altamente significativas (p≤ 0.0001) en ocho de las trece variables evaluadas. Los caracteres con más alta variación entre colectas fueron cuello en la base de fruto (cv=87.81022), la presencia de manchas o rayas (cv=68.43923) y el color de fruto (cv=52.98002). Posteriormente, de acuerdo al análisis de componentes principales se explicó un 78.96% de la varianza que existe entre las colectas de chile manzano en función de los tres primeros componentes principales. Finalmente, se concluye que existe una amplia variabilidad morfológica en colectas de C. pubescens procedentes de Michoacán.

INTRODUCCIÓN

El chile es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial. Se caracteriza por la pungencia de sus frutos (Zegbe et al., 2012; Castro et al., 2012), causada por tres principales capsaicinoides: nordihidro-, dihidro- y capsaicina (Sánchez-Sánchez et al., 2010). Además, ha jugado un papel sobresaliente en la cultura y la alimentación de la población desde épocas prehispánicas (Hernández, 2014), con gran relevancia en la cocina mexicana situándose entre las principales especias (Zegbe et al., 2012). Asimismo, se incrementa su valor económico en la industria de proceso y extracción de colorantes y oleorresinas (Arreguin et al., 2015). México por su parte, es uno de los países con mayor diversidad vegetal y uno de los principales centros de domesticación de plantas (Hernández, 2014), es el país con la mayor diversidad de Capsicum que se cultiva prácticamente en todo el territorio, con sistemas de producción y problemáticas muy diversas (Zegbe et al., 2012). El género Capsicum está formado por alrededor de 30 especies, dentro de las cuales destacan C. annuum L., C. frutescens L., C. pubescens Ruíz y Pavón, C. chínense Jacq y C. baccatum L., como las especies cultivadas de mayor importancia (Bosland y Votava, 2012). Asimismo, la especie C. pubescens ha cobrado mayor importancia en los últimos 15 años (Pérez y Castro, 2008); sin embargo, sólo se conoce bajo cultivo, se desconoce el progenitor silvestre de esta especie y sus posibles parientes más cercanos C. cardenasii y C. eximium se distribuyen principalmente en Bolivia (Esbaugh, 1983). En particular, los estudios realizados sobre la diversidad del género Capsicum, se han basado en métodos descriptivos por medio de caracteres morfológicos de planta, por lo que es importante realizar estudios para identificar caracteres

agronómicos de interés que prevalecen en diferentes regiones del estado de Michoacán, así como caracterizar y rescatar la variabilidad genética como fuente importante para el mejoramiento genético del cultivo. En base a lo mencionado, el objetivo general que se plantea en el presente trabajo es generar información sobre la variabilidad de *C. pubescens* en el estado de Michoacán.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material genético incluido en el presente trabajo de investigación, consta de 20 colectas de *Capsicum pubescens* provenientes de tres municipios del estado de Michoacán (Figura 1), cada colecta cuenta con 4 repeticiones, sumando un total de 80 individuos. De cada individuo se evaluaron los siguientes caracteres morfológicos: color de fruto, número de lóculos, arrugamiento transversal, cuello en la base del fruto, presencia de manchas o rayas, forma de fruto, ápice de fruto, base de fruto, longitud de fruto, diámetro de fruto, espesor de la pared, número de semillas y color de semilla.

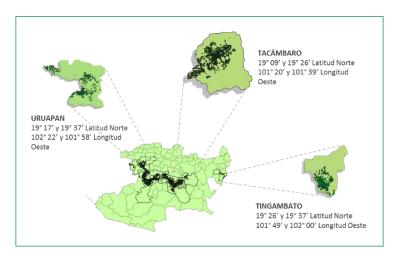


Figura 1. Ubicación geográfica de los municipios de origen de las colectas de *Capsicum pubescens* R. y P. en el estado de Michoacán, México.

La información morfológica se concentró en una base de datos de Excel, la cual fue sometida a un análisis de varianza bajo un diseño experimental en bloques completos al azar con cuatro repeticiones, con base en el análisis de varianza se seleccionaron aquellos MS para los cuales hubo diferencias estadísticamente significativas (p<0.0001), enseguida se practicó un análisis de correlación de Pearson y Filon (1898) con el objetivo de considerar las variables que aportan mayor información a la variación en la caracterización morfológica de *C. pubescens*. Posteriormente, calculó una matriz de promedios para hacer un análisis de componentes principales, y finalmente se calculó una matriz de distancias euclidianas entre colectas para hacer un análisis cluster y se hizo un dendrograma con el método de agrupamiento de Ward. Todos los análisis fueron realizados con el paquete estadístico SAS® University Edition. (http://www.sas.com/en_us/software/universityedition.html).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos del análisis de varianza arrojaron diferencias estadísticas significativas (< 0.0001) en color de fruto, presencia de manchas o rayas, forma de fruto, ápice de fruto, base de fruto, longitud de fruto, diámetro de fruto y número de semillas. El coeficiente de determinación Los caracteres con la más alta variación entre colectas fueron cuello en la base de fruto (cv= 87.81022), presencia de manchas o rayas (cv=68.43923) y color de fruto (cv= 52.98002) (Cuadro 1). En base al análisis de correlación de Pearson y Filon (1898), se identificaron variables con alto nivel de significancia, ya que se detectó una correlación de 0.44467 entre las variables: forma de fruto y longitud de fruto, asimismo, se correlaciona la longitud de fruto con el diámetro de fruto (0.56402) y diámetro de fruto con número de semillas (0.57820).

Cuadro 1. Estadísticos simples determinados en 13 caracteres morfológicos evaluados en 20 colectas de *Capsicum pubescens*.

Variable	R ²	C.V. ¹	Media	Pr>F
Color de fruto	0.676837	52.98002	1541.988	<0.0001
Número de lóculos	0.418122	19.71545	0.519995	0.0313
Arrugamiento transversal	0.462054	29.55619	4.400000	0.0082
Cuello en la base del fruto	0.550505	87.81022	0.450000	0.0002
Manchas o rayas	0.649156	68.43923	0.512500	<0.0001
Forma de fruto	0.619200	24.36884	3.750000	<0.0001
Ápice de fruto	0.627002	12.07264	2.712500	<0.0001
Base de fruto	0.610427	14.55608	4.125000	<0.0001
Longitud de fruto	0.811939	12.31472	5.010000	<0.0001
Diámetro de fruto	0.783743	12.43312	4.933750	<0.0001
Espesor de la pared	0.551892	29.14233	6.437500	0.0002
Número de semillas	0.636320	25.35841	66.20000	<0.0001
Color de semilla	0.475424	28.41877	2.525000	0.0052

En el análisis de componente principales se explica un 78.95 % de la varianza que existe entre las colectas de *C. pubescens* con los tres principales componentes principales (Cuadro 2). En la Figura 2, se observa la distribución geográfica de las colectas, en función de los tres primeros componentes principales, al analizar los vectores propios con valores arriba de .4 se concluye que el componente principal 1 está en función de la presencia de manchas o rayas, ápice de fruto, base de fruto, longitud de fruto y diámetro de fruto; el componente principal 2 se determinó en función del color de fruto y el componente principal tres está en función de la presencia de manchas o rayas. Finalmente, el dendograma generado en el análisis cluster con base en el método de agrupamiento de Ward, indica la formación de seis grupos a una distancia euclidiana de 0.05 (R² semiparcial) (Figura 3).

Cuadro 2: Varianza explicada en 20 colectas de *Capsicum pubescens* mediante análisis de componentes principales.

	Autovalor	Diferencia	Proporción	Acumulada
1	2.75402095	1.53774651	0.4590	0.4590
2	1.21627444	0.44926954	0.2027	0.6617
3	0.76700490	0.11438670	0.1278	0.7896
4	0.65261820	0.23868710	0.1088	0.8983
5	0.41393110	0.21778068	0.0690	0.9673
6	0.19615042		0.0327	1.0000

ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

GRÁFICA TRIDIMENSIONAL, TRES PRIMEROS CP

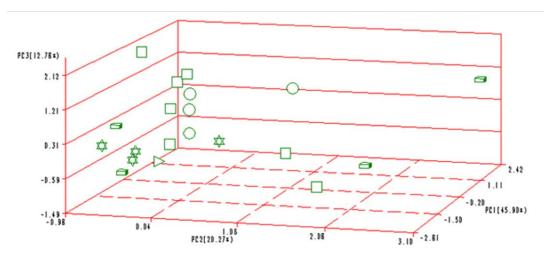


Figura 2. Distribución geográfica de 20 colectas de *Capsicum pubescens* en función de los primeros tres componentes principales que explican el 78.96 % de la varianza acumulada.

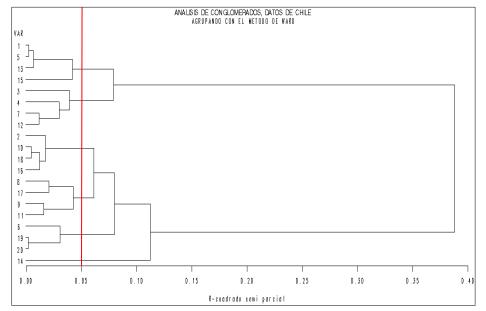


Figura 3. Dendograma de disimilitud de 20 colectas de *Capsicum pubescens* procedentes del estado de Michoacán.

CONCLUSIÓN

Se determinó la existencia de amplia variabilidad morfológica de *Capsicum pubescens* en los tres municipios del estado de Michoacán.

- 1. Bosland P W y Votava E J. 2012. Peppers: vegetable and spice capsicums. 2nd (Ed.). Cabi publishing. London UK. 230 p.
- 2. Castro R. A., Fernández P. S. P. y Osuna A. P. 2012. Mecanismos de Defensa del Chile en el Patosistema Capsicum annuum-Phytophthora capsici. Revista Mexicana de Fitopatología/49. 50:(30) 1.
- 3. Eshbaugh W H, Guttman S I y Mcleod M J. 1983. The origin and evolution of domesticated *Capsicum* species. Journal of Ethnobiology 3: 49-54.
- 4. Hernández V. H. 2014. Importancia del chile silvestre (*Capsicum annuum*) como recurso genético de México. Mensaje Bioquímico, vol XLI: 289-304.
- Pearson K y Filon L N G. 1898. Contributions to the mathematical theory of evolution, IV: on the probable errors of the frecuency constants and on the influence of random selection on variation and correlation. Philosophical Transactions of the Royal Society of London A, 191: 229-311.
- 6. Pérez G M y Castro B R. 2008. El chile manzano. Universidad Autónoma Chapingo. 1a. Reimpresión. Chapingo, México. 135 p.
- Sánchez-Sánchez H, González-Hernández V A, Cruz-Pérez A B, Pérez-Grajales M, Gutiérrez-Espinosa M A, Gardeja-Béjar A A, Gómez-Lim M A. 2010. Herencia de capsaicinoides en chile manzano (*Capsucum pubescens* R. Y P.) Agrociencia 44:655-665.
- 8. SAS Institute Inc. 2012 Introduction to Bayesian Analysis Procedures. In: SAS/STAT 9.2 User's Guide, Ch. 7. SAS Institute, Inc., Cary, NC. 141-179 pp.
- 9. Zegbe D J A, Valdez C R D y Lara H. A. 2012. Cultivo del chile en México. Revista fitotecnia mexicana 35: 4.

CALIDAD ESPERMÁTICA EN REPRODUCTORES DE *Oncorhynchus mykiss* DEL LOTE HN Y MICH., EN UN CENTRO ACUÍCOLA REFERENTE

Araceli Cortés García, Martha Rodríguez Gutiérrez, Jesús D. Bustamante González y Randy G. Rojas Rubio.

Laboratorio de Reproducción Genética y Sanidad Acuícola. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso N°1100, Col. Villa Quietud, C. P. 04960, Coyoacán, Ciudad de México. Email: acortes@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

La actividad acuícola en México ha sido la alternativa para generar alimento con alto valor nutricional, estableciendo aspectos de estrategias de reproducción, manejo y conservación en sistemas controlados como es el caso de la trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss). La presente investigación compara y determina la calidad espermática de reproductores de dos lotes, con el objetivo de incrementar la producción de trucha en un centro acuícola referente del país. Aleatoriamente se obtuvieron 10 organismos del lote HN de 3 años y 10 de MICH de cinco, se registro la longitud patrón LP con un ictiometro modificado y el peso utilizando una balanza digital ADAMS®, para la extracción del semen fue con una ligera presión abdominal, se realizaron pruebas cuantitativas y cualitativas como: volumen, pH, densidad, color y consistencia. Los resultados obtenidos para el lote HN en cuando a la talla fue de 40 ± 2.7 cm y 1078 ± 275 g, con una producción de semen promedio de 13.14 ± 6.5 mL, el pH de 7.56 en promedio, con una densidad de 0.97, todas las muestras presentaron color blanco/lechoso; mientras que el lote MICH la talla promedio fue de 55.4 ± 4.2 cm y 2966 ± 590 g, con una producción promedio de semen de 21.3 ± 11.8 mL, el pH promedio de 7.87, con una densidad de 0.98, la mayoría presentaron color blanco/acuoso. La comparación permite determinar el lote que garantice la fecundación y si es conveniente mantener organismos muy grandes, debido a que incrementan los costos de manutención y reduce la posibilidad de incrementar la producción de las crías de la especie.

Palabras clave: Volumen de semen, pH, densidad y consistencia

INTRODUCCIÓN

En acuacultura la calidad de gametos es necesario evaluar para asegurar la producción de larvas viables (Hajirezaee et al., 2010). Lo que permite aumentar la producción durante todo el año y cubrir la demanda en el mercado, además del consumo de proteína, incrementar los ingresos al país y del personal que labora en las granjas (Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca, 2012).

En la industria de la acuicultura la calidad del esperma es un problema constante que afecta tanto la producción de especies comerciales como la introducción de nuevas especies con interés comercial alto (Cabrita et al., 2014). La calidad del semen se define como la habilidad del espermatozoide para fertilizar exitosamente un huevo (Bobe y Labbé 2010). Sin embargo, cualquier parámetro físico cuantificable que se correlacione directamente con la capacidad de fertilización de los espermatozoides podría ser utilizado potencialmente como una medida o indicador de la calidad espermática (Cosson, 2008).

En consecuencia el objetivo de la presente investigación es evaluar la calidad espermática en reproductores de trucha arco iris O*ncorhynchus mykiss* en dos lotes: HN y MICH de tres y cinco años de edad.

METODOLOGÍA

Se seleccionaron 10 organismos del lote HN de tres años y 10 del lote MICH de cinco años, ambos pertenecientes al Centro Acuícola "El Zarco", México-Toluca, Ocoyoacac, Estado de México.

Colecta del semen

Para la colecta del semen, se mantuvo en ayuno a los organismos, con el fin de prevenir la contaminación del semen; para minimizar el estrés durante la manipulación se anestesiaron con esencia de clavo a una concentración de 0.05 mL L⁻¹ de agua. Las muestras de semen se

obtuvieron mediante ligera presión abdominal en dirección opérculo-caudal, el semen se colectó en tubos graduados con capacidad de 50 mL (Rodríguez *et al.*, 2007).

Evaluación macroscópica

El volumen se determinó directamente en tubos graduados de 50 mL, el pH mediante un potenciómetro marca: HANNA, modelo: HI900.

La densidad (g) se evaluó a partir del cociente del peso entre el volumen del semen mediante la siguiente fórmula (Rodríguez, 1992).

$$D = \frac{w}{V}$$

En donde:

D= densidad, W= peso del semen (g) y V= volumen del semen (mL).

El color, que se clasificó en a) transparente; b) blanco; c) amarillo y consistencia: a) acuoso; b) lechoso; c) cremoso (Valdebenito, 1995; Cruz, 2001; Navarro et al., 2004).

Análisis estadístico

Los valores fueron procesados por medio de análisis descriptivo expresado como media \pm desviación estándar. Para evaluar la variación de la calidad del semen, se empleó la prueba t de studen't con un nivel de significancia de 0.05.

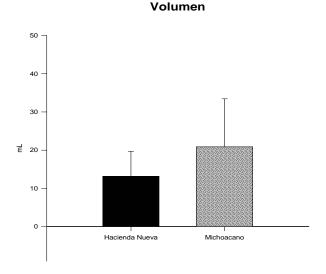
RESULTADOS

Longitud-peso

Los organismos HN presentaron una longitud mínima y máxima de 40.8 y 48.8 cm respectivamente con un valor un promedio de 45.2 cm en contraste con el lote MICH cuya longitud total mínima y máxima fue de 53 y 69 cm con valor promedio de 61.1 cm, lo cual se atribuye a la edad.

Volumen

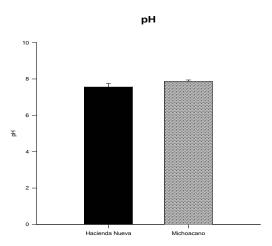
Los organismos pertenecientes al lote Mich mostraron mayor producción de semen 21.3 ± 11.8 mL versus HN 13.14 ± 6.5 mL. Se detectaron diferencias significativas (P<0.05) (Grafica 1).



Grafica1. Volumen de semen en dos lotes de trucha arco iris.

рH

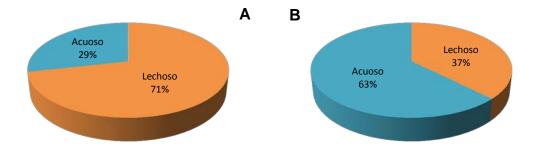
En el lote de HN presentó un pH mínimo y máximo de 7.27 y 7.89 respectivamente con un promedio de 7.56 \pm 0.19 en contraste con MICH quien obtuvo un valor mínimo y máximo de 7.68 y 7.94 con un valor promedio de 7.87 \pm 0.08. Se detectaron diferencias significativas (P<0.05) (Gráfica 2).



Grafica 2. pH seminal en dos lotes de trucha arco iris.

Color y consistencia

En ambos lotes color del semen fue blanco de consistencia lechosa y acuosa (Gráfica 3).



Gráfica 3. Porcentaje de consistencia A) HN y B) MICH.

Densidad

La densidad promedio en ambos lotes fue de 0.99 g. No se detectaron diferencias significativas (P>0.05).

DISCUSIÓN

El estudio de crecimiento de los peces en las granjas permite establecer los costos de producción bajo las condiciones de cultivo, etapa del ciclo biológico en que se encuentran y por sexo. En los salmónidos se ha determinado que las hembras crecen más rápido que los machos debido a la madurez reproductiva. Autores como Bertalanffy, (1938) definen el crecimiento como el incremento en el peso o longitud de un organismo, resultado del balance entre los procesos catabólicos y

anabólicos el cual se ve afectado por características del medio en que se desarrollan los organismos como por características intrínsecas de las especies.

Los resultados de la presente investigación en cuanto a longitud y peso se vieron afectados por la edad de los reproductores. Los organismos del lote HN de tres años de edad mostraron la menor longitud y peso versus los organismos MICH cuya edad fue de cinco años.

En cuanto a la producción de semen esta reportado que al incrementar la edad aumenta la producción (Bastardo *et al.*, 1992), comportamiento similar al reportado en la presente investigación donde los organismos de cinco años pertenecientes al lote MICH fueron quienes presentaron mayor volumen 21.3±11.8 mL versus los organismos de tres años pertenecientes al lote HN cuyo promedio fue de 13.14±6.5 mL.

Por otra parte, el pH del semen es utilizado como un indicador de la calidad seminal ya que tiene un efecto sobre la motilidad espermática y capacidad de fertilización por tal motivo ha sido estudiado por diversos autores quienes mencionan que en salmónidos el pH óptimo debe ser cercano 9.0 (Billard y Cosson, 1989; Alavi y Cosson, 2005); mientras que Lahnsteiner *et al.* (1998) reportan que el óptimo oscila entre 8.0 y 8.5 y Mohammad *et al.* (2008) incrementan este rango hasta 9.0 valores superiores a los reportados en la presente investigación en ambos lotes.

En cuanto a la densidad (g) expresada a partir del cociente del peso entre el volumen no hay reportes, Sin embrago, varias investigación emplean esta variable como la concentración espermática.

Bastardo et al., 2004 indican que el color del semen es una característica cualitativa, la cual permite determinar la presencia de contaminantes, tales como materia fecal, bilis o sangre, el semen libre de algún contaminante deme ser debe ser homogéneo, cremoso y blanco.

Lo cual, concuerda con los reportes de Valdebenito *et al.* (1995); Cruz, (2001); Torres *et al.* (2014) quienes indican que el semen de los salmónidos es de color blanco de consistencia lechosa y en algunos en algunos casos poco viscoso.

Aunado a lo anterior, los resultados de esta investigación indican para ambos lotes color blanco de consistencia lechosa y acuosa (Gráfica 3).

CONCLUSION

La producción de semen se ve afectada por la edad, ya que el mayor volumen se presentó en organismo de 5 años.

- 1. Alavi, S.M. y Cosson, J. 2006. Sperm motility in fishes II. Effects of ions and osmolality: a review. *Cell Biology International*. 30: 101-110.
- 2. Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca. 2012. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. 311 p.
- 3. Bastardo, H. 1992. Semen de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*): concentración y volumen durante un periodo reproductivo, en Mérida, Venezuela. *Veterinaria Tropical*. 17: 53-66.
- 4. Bertalanffy, L.V.1938. A quantitative theory of organic growth inquiries on growth laws. II. Human Biology. 10(2): 181-213.
- 5. Billard, R. y Cosson. 1989. Measurement of sperm motility in trout and carp. *Aquaculture*. 132: 499-503.

- 6. Bobe J. and Labbé C. (2010) Egg -and sperm quality in fish. General and Comparative Endocrinology, 165: 535- 548.
- 7. Cosson J.J. (2008) Methods to Analyze the Movements of Fish Spermatozoa and their Flagella. In: Alavi S.M.H., Cosson J.J., Coward K. and Rafiee G (eds) Fish spermatology. Alpha Science, Oxford. 64-102.
- 8. Cruz C.P.E. (2001) Técnicas de laboratorio para la evaluación de la calidad seminal en peces. Orinoquía, 58: 155-163.
- 9. Cruz, C.P.E. 2001. Técnicas de laboratorio para la evaluación de la calidad seminal en peces. *Orinoquia*. 5(1): 155-163.
- Hajirezaee S., Amiri B.M. and Miruaghefi A. (2010) Fish milt quality and major factors influencing the milt quality parameters: A review. African Journal of Biotechnology, 9: 9148-9159.
- 11. Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T. y Ptzner, R.A. 1998. Determination of semen quality of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by sperm motility, seminal plasma parameters, and spermatozoal metabolism. *Aquaculture*. 163: 163-181.
- 12. Mohammad, H.A.S., Linhart, O., Coward, K. y Rodina. M. 2008. Fish spermatology: Implications for aquaculture management. En: Mohammad, H.A.S., Cosson, J.J., Coward, K. y Rafiee, G (eds.). Fish spermatology. Alpha Science, Oxford, pp 397- 460.
- 13. Navarro, O.J., Velasco, S.Y.M., Cruz, C.P.E. 2004. Evaluación de cinco protectores para la crioconservación de semen de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 17, 53-59.
- 14. Torres, G.J.M., Maíz, P.R.A. y Castellano, R.J.J. 2014. Aspectos de la producción anual de semen de trucha arco irs (*Oncorhynchus mykiss*) en los Andes tropicales Venezolanos. *Mundo Pecuario*. 1:9-14
- 15. Valdebenito, I., Bariles, J., Vega, R., Dantagnan, P., Bórquez, A. y Carreño, E. 1995. Análisis cualitativo y cuantitativo del semen de puye *Galaxias maculatus*. *Biología Pesquera*, 24: 17-21.

SÍNTESIS Y AUTOENSAMBLE DE NANOPARTÍCULAS DE ORO SOBRE SUSTRATOS AMINOSILANIZADOS

Ortega Hernández N, Orduña Díaz A, Sánchez Ramírez J. F, Zaca Morán O, Zaca Morán P

Instituto Politécnico Nacional. CIBA-IPN. San Juan Molino Km 1.5 de la Carretera Estatal Sta. Inés Tecuexcomac-Tepetitla, Tlaxcala, México C.P. 90700.

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. ICUAP. Edificio IC 10, Ciudad Universitaria, Colonia San Manuel, Puebla, Puebla, México C.P. 72570. noeliaortega74@gmail.com

RESUMEN

En este trabajo, se presentan los resultados de la síntesis y autoensamble de nanopartículas de Oro sobre sustratos de vidrio aminosilanizados. La síntesis de dispersiones coloidales de nanopartículas metálicas fue realizada por el método de química coloidal, utilizando como agentes reductores: citrato de sodio, ácido ascórbico, ácido ascórbico/citrato de sodio y borohidruro de sodio, con esto fue posible obtener dispersiones coloidales de oro, con un pH de 6.6, 2.9, 5.4 y 7.8; respectivamente. Se observaron máximos en los espectros de absorción, en el rango UV-Vis a 521.5, 525.5, 525 y 513 nm atribuidos a la resonancia del plasmón superficial de partículas en escala nanométrica, tamaños de 15, 26 y 5 nm fueron revelados con microscopía electrónica de transmisión. Las nanopartículas fueron directamente ensambladas, mediante interacciones electrostáticas del oro con los grupos amino presentes en los sustratos. La densidad de nanopartículas autoensambladas fue controlada por medio del tiempo de inmersión de los sustratos. El proceso de autoensamble fue analizado empleando la espectroscopia UV-Vis, obteniendo máximos en los espectros de absorción en 537, 521-534 y 528-641 nm para el citrato de sodio, ácido ascórbico y ácido ascórbico/citrato de sodio; respectivamente, mientras que para el caso del borohidruro de sodio no fue posible observar ninguna señal en el rango UV-Vis. La morfología superficial de los sustratos/autoensamble fue examinada con microscopía de fuerza atómica. Los resultados obtenidos sugieren la importancia del reductor utilizado para la síntesis de nanopartículas y del pH final de las dispersiones coloidales en el proceso de autoensamble electrostático.

INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas de oro han generado un especial interés en el área de los biosensores (1), debido a sus propiedades ópticas y electrónicas, además de su biocompatibilidad y su relativamente simple producción y modificación (2). Una de las propiedades utilizadas en los biosensores, principalmente en biosensores de afinidad, es la resonancia del plasmón superficial (3). Este fenómeno es fuertemente influenciado por el tamaño y forma de la nanopartícula, asimismo de la constante dieléctrica del medio (4). Uno de los problemas presentes en el uso de las nanopartículas es la dificultad de extraerlas de las dispersiones coloidales y colocarlas en muestras liquidas sin agregación (5), una de las pocas estrategias disponibles es el autoensamble. El autoensamble se refiere al proceso por el cual las nanopartículas se organizan espontáneamente; directamente, debido a interacciones especificas o indirectamente a través de su entorno, el cual está caracterizado por numerosos atributos benéficos, es rentable, versátil, fácil y da como resultado estructuras estables (6). Las nanopartículas pueden ser autoensambladas a través de interacciones electrostáticas, debido a que las especies de carga opuesta se mantienen unidas por fuertes enlaces iónicos y forman así, películas uniformes, resistentes y estables, por otra parte, este método es atractivo debido a la sencillez del proceso, ya que la deposición de la película implica una simple inmersión. El espesor de la película puede ajustarse con el grado de ionización, o modificando el pH (7). En este trabajo se evalúa el papel del pH de las dispersiones coloidales de nanopartículas de oro en el proceso de autoensamble electrostático sobre sustratos

aminosilanizados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Síntesis de Nanopartículas

La síntesis de dispersiones coloidales de Oro se realizó por el método de química coloidal utilizando diferentes agentes reductores. La disolución precursora se preparó disolviendo 0.033 mmoles de HAuCl₄ * 3H₂O en estado sólido (SIGMA-ALDRICH) en 100 ml de agua desionizada (18.2 MΩ*cm). La disolución precursora se separó en cuatro alícuotas de 25 ml cada una. La primera alícuota se colocó en un reactor de 100 ml, en agitación, a 200 rpm, se añadieron 7.3 mg de citrato de sodio disueltos en 1 ml de agua desionizada y se llevó a 100 °C una vez alcanzada la temperatura de reacción se dejó por 30 minutos en un sistema de reflujo para evitar la pérdida de disolvente. En la segunda ruta de síntesis se disolvieron 4.36 mg de ácido ascórbico en 2 ml de aqua desionizada y fueron inmediatamente añadidos a la disolución precursora, para el caso de la tercera se siguió el procedimiento anterior con la diferencia de que transcurridos 30 minutos le fueron añadidos 7.3 mg de citrato de sodio disuelto en 1 ml de agua desionizada como agente estabilizador, ambas rutas fueron realizadas en agitación a 200 rpm. Para la última alícuota el reductor utilizado fue borohidruro de sodio, añadiendo 3.7 mg que fueron previamente disueltos en 1 ml de agua desionizada, después de 30 minutos se agregaron 7.3 mg de citrato de sodio como agente estabilizador. La reacción fue llevada a cabo bajo agitación a 200 rpm. Para comprobar la presencia de nanopartículas en las dispersiones coloidales se utilizó espectroscopia UV-Visible, la determinación del tamaño promedio y forma se realizó con microscopia electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés).

Autoensamble de nanopartículas

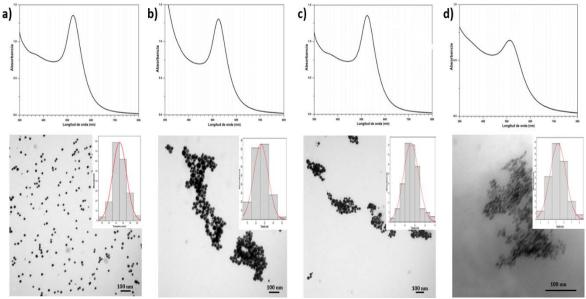
Para el autoensamble se utilizaron sustratos Corning 40005® GAPS II, de 1 cm² que se encuentran silanizados con gamma-aminopropilsilano, lo que proporciona grupos amino terminales en la superficie del vidrio. El autoensamble se realizó por inmersión del sustrato en las dispersiones coloidales por 8 horas, esto a través de interacciones electrostáticas de las nanopartículas de oro con los grupos amino presentes en el sustrato. La caracterización del sustrato/autoensamble fue realizada con espectroscopia UV-Vis para determinar la presencia de nanopartículas en la superficie del vidrio y con microscopía de fuerza atómica (AFM, por sus siglas en inglés) para observar cambios en la morfología superficial de los sustratos.

RESULTADOS

Síntesis y caracterización de nanopartículas.

Se obtuvieron dispersiones coloidales de nanopartículas de oro con tamaños que van desde los 5 hasta los 25.5 nm, esto debido a los diferentes reductores utilizados para las síntesis. En el caso de la reducción con citrato de sodio, la dispersión coloidal obtenida presentó un máximo de absorción en el espectro UV-Visible de 521.5 nm, correspondiente a la resonancia del plasmón superficial, característico de nanopartículas de oro en dispersiones coloidales, exhibiendo un pH final de 6.6, las micrografías TEM revelan tamaños promedios de 15 nm y formas cuasi esféricas, el análisis estadístico muestra una desviación estándar de 1.9 nm, equivalente al 12.6% en dispersión. Las nanopartículas sintetizadas con ácido ascórbico como reductor mostraron una absorbancia máxima de 525.5 nm y un pH final de 2.9, el tamaño promedio de estas resultó en 26 nm con una desviación estándar de 8.5 nm lo que resulta en un 32.7% en dispersión. Para las nanopartículas obtenidas con ácido ascórbico utilizando como agente estabilizante citrato de sodio se pudo observar un máximo de absorbancia en 525 nm con un pH final de 5.4 y un tamaño promedio de 26 nm, la desviación estándar obtenida fue del 7.6 correspondiente al 29.2% en dispersión. En el caso de las dispersiones coloidales logradas con ácido ascórbico y ácido ascórbico/citrato de sodio se pueden observar nanopartículas con una forma esférica más definida

en comparación con las obtenidas con citrato de sodio. Por último, la dispersión coloidal sintetizada con borohidruro de sodio como agente reductor, mostró una absorbancia máxima en 513 nm y un pH final de 7.8, con un tamaño promedio de nanopartícula de 5 nm, la desviación



estándar fue de 1 nm que es igual al 20% en dispersión, debido al tamaño de las nanopartículas no es posible determinar una forma predominante en las nanopartículas. Los espectros de absorción y las micrografías TEM de los resultados descritos con anterioridad se encuentran en la figura 1.

La síntesis química de partículas metálicas por reducción es, aparentemente, un proceso simple, el cual solo requiere mezclar los agentes en condiciones bien definidas (8). Las dispersiones coloidales sintetizadas a partir de la reducción con citrato permiten obtener nanopartículas con formas esféricas bien definidas y con menor dispersión de tamaño, que es indicativo de la calidad del coloide. Las nanopartículas obtenidas por medio del ácido ascórbico y ácido ascórbico/citrato de sodio comparten características similares, entre ellas el tamaño, sin embargo, la menor dispersión conseguida con ácido ascórbico/citrato de sodio es debida al papel de estabilizante del citrato de sodio. Ambos reductores (citrato de sodio y ácido ascórbico) son conocidos por formar una capa de pasivación fisisorbente sobre las partículas de oro, donde la doble capa eléctrica es determinante en la estabilización del coloide (8), sin embargo, el pH de la dispersión coloidal obtenida por reducción con ácido ascórbico, puede provocar una desestabilización, que consigue ser evitada agregando citrato de sodio al final de la reacción. El utilizar borohidruro de sodio como agente reductor resulta en la obtención de nanopartículas de menor tamaño y mayor pH, lo que las hace muy estables, el principal problema de esta ruta de síntesis es que es necesario agregar un agente estabilizante, en este caso citrato de sodio, de manera obligatoria (9).

Autoensamble de nanopartículas

El autoensamble de dispersiones coloidales de nanopartículas de oro sobre sustratos de vidrio es lograda gracias a la afinidad de estas con los grupos amino (10). La tabla 1 muestra los resultados obtenidos por espectroscopia UV-Vis después de 15 horas de inmersión de los sustratos dentro de

Figura 1. Caracterización de nanopartículas (Espectroscopia UV-Vis, TEM). a) Citrato de sodio. b) Ácido ascórbico c) Ácido ascórbico/Citrato de sodio d) Borohidruro de sodio.

la dispersión coloidal donde, Δ abs, está dada por la diferencia de absorbancias antes y después del autoensamble. El autoensamble es el resultado de la atracción electrostática entre el grupo amino, cargado positivamente en la superficie del vidrio y las nanopartículas cargadas negativamente, así como por la repulsión electrostática entre nanopartículas (11), por esta razón es fuertemente dependiente del pH.

Tabla 1. Resultados de autoensamble.

Reductor	Absorbancia dispersión coloidal (nm)	Absorbancia autoensamble (nm)	Δ abs
Citrato de sodio	521.5	537	15.5
Ácido ascórbico	525.5	531-637	5.5-111.5
Ácido ascórbico/citrato de sodio	525	521-641	3-116
Borohidruro de sodio	513		

El autoensamble realizado con la dispersión coloidal obtenida con citrato de sodio da como resultado la obtención de un pico de absorción localizado en 537 nm, con una Δ abs de 15.5 nm lo que sugiere la presencia de nanopartículas presentes en la superficie del vidrio. La presencia de un solo pico de absorción es debida a la formación de una monocapa de nanopartículas sin la presencia de agregados, no así para el caso del ácido ascórbico y el ácido ascórbico/citrato de sodio que presentan dos señales. Para corroborar que la presencia de ambos picos se debiera al autoensamble y no a la desestabilización del coloide se midió la absorción final de la dispersión coloidal observando que las nanopartículas de ácido ascórbico presentaban dos picos, señal de desestabilización. En el caso del ácido ascórbico/citrato en el que la dispersión coloidal se mantuvo estable, la presencia de los dos picos, signo de aglomeración en la superficie, es ocasionada por el pH de 5.4 que produce la ionización de un mayor número de grupos amino y en consecuencia la inmovilización de una cantidad más grande de nanopartículas. Debido al pH elevado, la dispersión coloidal con borohidruro de sodio no permite la ionización de los grupos amino, y por este efecto no se logra el autoensamble. Los espectros de absorción de los resultados mencionados con anterioridad se encuentran en la figura 2. Las imágenes AFM demuestran un cambio en la morfología superficial en los sustratos provocados por la presencia de nanopartículas ensambladas en la superficie (Figura 2).

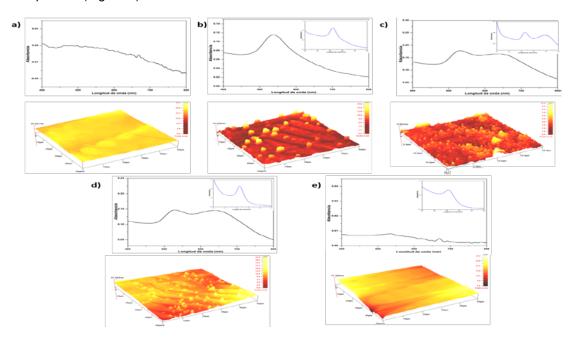


Figura 2. Autoensamble de nanopartículas. a) Sutrato aminosilanizado b) Citrato de sodio. c) Ácido ascórbico d) Ácido ascórbico/Citrato de sodio e) Borohidruro de sodio.

CONCLUSIONES

El reductor utilizado en la síntesis de dispersiones coloidales de nanopartículas de oro determina el pH final de la disolución, en consecuencia, la estabilidad de esta. La formación de la monocapa de nanopartículas obtenida por autoensamble electrostático, está fuertemente ligada al pH de la dispersión coloidal, ya que, a pH bajo ocurre una aglomeración de nanopartículas en la superficie del sustrato y con un pH alto, no es posible observar señal de ensamble por medio de espectroscopia UV-Vis. Las dispersiones coloidales sintetizadas con citrato de sodio como agente reductor, pueden ser utilizadas para formar monocapas de nanopartículas de oro sobre sustratos aminosilanizados, sin la formación de aglomerados en su superficie.

- 1. Y. Li, H. Schluesener, S. Xu, "Gold nanoparticle-based biosensors", Gold Bull., Vol 43, 2010, pp. 29–41.
- 2. V. Biju, "Chemical modifications and bioconjugate reactions of nanomaterials for sensing, imaging, drug delivery and therapy" Chem. Soc. Rev., Vol. 43, 2014, pp.744–764.
- 3. F. Frederix, J. M. Friedt, K-H. Choi, W. Laureyn, A. Campitelli, D. Mondelaers, G. Maes, G. Borghs, "Biosensing Based on Light Absorption of Nanoscaled Gold and Silver Particles" Anal. Chem., Vol. 75, 2003, 6894-6900.
- 4. E. R. Encina, E. M. Perassi, E. A. Coronado, "Electromagnetic Field Enhancement of Multiple Plasmon Resonances in Ag and Au Nanowires", J. Phys. Chem. A., Vol. 113, 2009, pp. 4489-4497.
- 5. T. Okamoto, I. Yamaguchi, "Local plasmón sensor with gold colloid monolayers deposited upon glass substrates", Optics Letters, Vol. 25, 2000, pp. 372-374.
- G. M. Whitesides, B. Grzybowski, "Self-Assembly at All Scales" Science Vol. 295, 2002, pp. 2418–242.
- 7. A. A. Antipov, G. B. Sukhorukov, E. Donath, H. Mohwald, "Sustained Release Prooerties of Polyelectrolyte Multilayer Capsule", J. Phys. Chem. B., Vol. 105 2001 2281-2284.
- 8. J. Kimling, M. Maeir, B. Okenve, V. Kotaidis, H. Ballot, A. Plech, "Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited", J. Phys. Chem. B., Vol. 110, 2006 pp.15700-15707.
- 9. M. Luty-Blocho, K. Fitzner, V. Hessel, P. Löb, M. Maskos, D. Metzke, "Shyntesis of gold nanoparticles in an interdigital micromixer usin ascorbic acid and sodium borohydride as reducers", Chemical Engineering Journal, Vol. 171, 2011, pp. 279-290.
- 10. K. C. Grabar, R. G. Freeman, M. B. Hommer, M. J. Natan, "Preparation and Characterization of Au Colloid Monolayers", Anal. Chem., Vol. 67, 1995, pp. 735-743.
- 11. N. Nath, A. Chilkoti, "Label-Free Biosensing by Surface Plasmon Resonance of Nanoparticles on Glass: Optimization of Nanoparticle Size", Anal. Chem., Vol. 76, 2004, pp. 5370-5378.

AZÚCARES TOTALES EN ESPATAS DE ALCATRAZ EN LA VARIEDAD GOLD FEVER EN RESPUESTA AL SUMINISTRO DE LANTANO

Nadia Issaí Torres-Flores, Libia I. Trejo-Téllez, Gabriel Alcántar-González, Fernando C. Gómez-Merino, Brenda I. Trejo-Téllez, Prometeo Sánchez-García

Colegio de Postgraduados Campus Montecillo

Colegio de Postgraduados Campus Córdoba

Colegio de Postgraduados Campus San Luis Potosí. e-mail: nadia.torres@colpos.mx

RESUMEN

En esta investigación se evaluó la concentración de azúcares en espatas de alcatraz variedad Gold Fever, en respuesta al tratamiento con dos fuentes de La [La(NO $_3$) $_3$ 6H $_2$ O y LaCl $_3$] y tres concentraciones (0, 10, y 20 μ M). Se condujo un experimento en arreglo factorial 2x3 donde la unidad experimental fue una planta en una bolsa de polietileno negro con tezontle como sustrato con una planta de alcatraz. El La fue adicionado a través de la solución nutritiva Steiner al 50%, aplicado durante el ciclo de cultivo a través de tres riegos semanales de 200 mL por unidad experimental. La determinación de azúcares se realizó en las espatas al momento de las cosecha (117 días después de establecido el experimento). Los efectos principales de fuente y concentración de La fueron significativos. Las espatas del tratamiento testigo (sin La) tuvieron una concentración significativamente mayor de azúcares, superando en 30 y 23.5% a las concentraciones de azúcares registradas en espatas de los tratamientos con La a 10 y 20 μ M, respectivamente. Por otro lado, entre fuentes aplicadas fue significativamente superior la concentración de azúcares con la aplicación de La(NO $_3$) $_3$ 6H $_2$ O con un incremento de casi 23% respecto a la fuente LaCl $_3$. Se concluye que el La tuvo efectos negativos en la concentración de azúcares en espata, siendo este efecto de mayor magnitud cuando se suministra a partir de LaCl $_3$.

INTRODUCCIÓN

La floricultura en México es una actividad que muestra una tendencia creciente; tan solo el cultivo de tallos presenta una tasa de incremento anual del 14%. Cabe hacer mención de que a pesar de no ser un producto de primera necesidad, la demanda de flores y plantas de ornato en nuestro país pasó de 37 mil 338 toneladas en el año 2000, a cerca de 95 mil toneladas en 2009, aseguran cultivadores de flores mexicanos (Torres, 2014).

El alcatraz es una planta herbácea nativa del sur de África, la cual es producida y comercializada como flor de corte, planta de jardín al aire libre y como planta para floración en maceta (Corr y Widmer, 1991). Los seres humanos desde siempre han valorado la expresividad y la belleza de las flores naturales como el alcatraz, dándole una valoración artística, turística, cultural, ambiental, social, religiosa, histórica y cívica (ASERCA, 2008).

El lantano (La) junto con el silicio (Si), cobalto (Co), sodio (Na), selenio (Se), titanio (Ti) y vanadio (V) están incluidos en el grupo de los elementos benéficos, es decir de forma directa o indirecta benefician la nutrición de las plantas superiores (Rodríguez y Floréz, 2015).

Actualmente en la literatura el uso del La en la agricultura es controversial dado que se reportan efectos positivos, negativos e incluso nulos de éste. Las diferencias reportadas han sido atribuidas a la dosis y forma de aplicación, o bien, a las propiedades físicas y químicas del suelo, e incluso a la interacción con otros nutrimentos y al tipo de cultivo (Ramírez, 2011).

Por otro lado, los azúcares más representativos en plantas superiores son la fructosa, glucosa y sacarosa; se trata de azúcares simples, los cuales son absorbidos rápidamente para ser utilizados en la producción de energía (Chávez y Arata, 2009). En general, se acepta que los disacáridos (y otros azúcares) tienen un papel esencial en la tolerancia a la deshidratación (Montenegro y Melgarejo, 2012).

En el contexto anterior, este trabajo plantea como objetivo la evaluación del efecto de fuentes y concentraciones de La suministradas vía solución nutritiva, en la concentración de azúcares totales en espatas de alcatraz variedad Gold Fever al momento de la cosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los rizomas utilizados en esta investigación fueron de alcatraz de color amarillo de la variedad Gold Fever, obtenidos de la empresa Floraplant, S. A de C. V., ubicada en el estado de Morelos, México.

La investigación se realizó bajo condiciones de invernadero. El sustrato utilizado fue una mezcla de tezontle de 5-8 mm + Agrolita[®] (70/30, v/v), en bolsas de polietileno negro de 30 x 30 cm, donde se plantó un rizoma por bolsa. Cada bolsa fue considerada como una unidad experimental. Antes de la plantación se efectuó un saneamiento de los rizomas con una solución de Cupravit[®] + Promyl[®] a razón de 2 y 1 g L⁻¹ de agua, respectivamente durante 15 min para minimizar la presencia de enfermedades fungosas, inmediatamente después se introdujeron los rizomas en una solución de 100 mg L⁻¹ de ácido giberélico por 15 min para fomentar la floración.

Se evaluaron seis tratamientos, resultado de la combinación de tres concentraciones $(0, 10 \text{ y}\ 20 \ \mu\text{M})$ y de dos fuentes de La [La(NO₃)₃ 6H₂O y LaCl₃], mismos que fueron suministrados durante el desarrollo del cultivo. Las concentraciones de La con la fuente correspondiente fueron suministradas en la solución nutritiva de Steiner al 50% (Steiner, 1984). El diseño experimental utilizado fue factorial con un arreglo 2x3 con cinco repeticiones por tratamiento. La aplicación de los tratamientos se inició 15 días después de la plantación (ddp), aplicando 200 mL por bolsa tres veces por semana.

A los 117 días después de la plantación de los rizomas se llevó a cabo la cosecha de las plantas de la variedad Gold Fever, donde se determinó la concentración de azúcares solubles totales en las espatas, utilizando como referencia el método descrito por Southgate en 1976 (**Figura 1**).

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias (Tukey, $P \le 0.05$ %) empleando el software Statistical Analysis System (SAS, 2002).

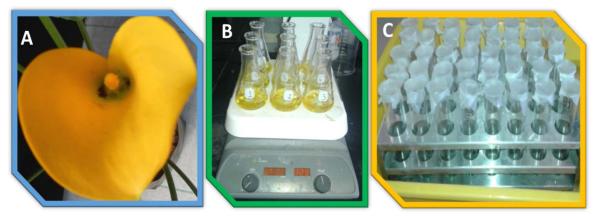


Figura1. A) Espata de Gold Fever a los 117 días después de la plantación; B y C) procedimiento para la determinación de azúcares soluble totales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El testigo (sin La) tuvo una concentración significativamente mayor de azúcares en espata, superando en 30 y 23.5% a las concentraciones de azúcares registradas en los tratamientos con La a 10 y 20 μ M, respectivamente. Por otro lado, entre fuentes aplicadas fue significativamente superior la concentración de azúcares con la aplicación de La(NO₃)₃ 6H₂O con un incremento de casi 23% respecto a la fuente LaCl₃ (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Efectos principales de los factores de estudio en la concentración y contenido de azúcares en espatas de alcatraz var. Gold Fever con tratamiento con La en la solución nutritiva de Steiner al 50%.

Factor de estudio	Concentración de azúcares (mg g ⁻¹ de peso fresco)	
La, μM		
0	33.309 a	
10	23.353 b	
20	25.498 b	
Fuente de La		
LaCl ₃	24.567 b	
La(NO ₃) ₃ 6H ₂ O	30.206 a	

Medias con letras distintas en cada columna por factor de estudio, son diferentes estadísticamente (Tukey, $P \le 0.05$).

La mayor concentración de azúcares en espatas (33.309 mg g⁻¹ de peso fresco) se registró en el tratamiento testigo. Asimismo fue evidente que el tratamiento con La, reduce las concentraciones de azúcares solubles totales en espata; lo anterior, de manera significativa cuando el La es suministrado como LaCl₃ (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Concentración y contenido de azúcares solubles totales en espatas de alcatraz var. Gold Fever con tratamiento con La en la solución nutritiva de Steiner al 50%.

Fuente	La (μM)	Concentración de azúcare (mg g ⁻¹ de peso fresco)		
LaCl ₃	0	33.309	а	
	10	17.498	С	
	20	22.894	bc	
La(NO ₃) ₃ 6H ₂ O	0	33.309	а	
	10	29.207	а	
	20	28.101	ab	

Medias con letras distintas en cada columna por factor de estudio, son diferentes estadísticamente (Tukey, $P \le 0.05$).

CONCLUSIONES

Se concluye que el La tuvo efectos negativos en la concentración de azúcares en espata, siendo este efecto de mayor magnitud cuando se suministra a partir de LaCl_{3.}

- 1. A. Steiner, "The universal nutrient solution", *in:* ISOSC Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture. The Netherlands. 1984. pp. 633-649.
- 2. ASERCA, "La Floricultura", (Boletín ASERCA Regional Peninsular), 2008.
- 3. D.A. Southgate, "Determination of food carbohydrates", (Applied Science Publishers. LTD. London), 1976, 105 p.
- 4. E. Corr B., R. Widmer E., "Paclobutrazol, Giberellic Acid, and Rhizome Size Affect Growth and Flowering of *Zantedeschia*", HortScience, Vol. 26, 2, 1991, pp. 133-135.
- 5. G. W. Chávez G., P. A. Arata A, "El cultivo del peral en la provincia de Caravelí", (Centro de Estudios y Promoción del Desarrollo. Programa Regional Sur Unidad Operativa Territorial Caravelí), 2009.
- 6. L.C. Montenegro R., L.M. Melgarejo M., "Variation in Total Sugars and Reductive Sugars in the Moss *Pleurozium schreberi* (HYLOCOMIACEAE) Under Water Deficit Conditions", Acta Biológica Colombiana, Vol. 17, 3, 2012, pp. 599-610.
- 7. M. Ramírez M, "Respuestas agronómicas y fisiológicas del tulipán (*Tulipa gesneriana* L) al lantano", Tesis de Doctorado, Montecillo, Texcoco, Estado de México, 2011, 182 p.
- 8. M. Rodríguez S., V. Floréz R, "Elementos esenciales y beneficiosos", Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2015.
- 9. R. Torres L., "Floricultura Mexicana: gran industria en el anonimato", Disponible en: http://www.tierrafertil.com.mx/floricultura-mexicana-gran-industria-en-el-anonimato/, (Consultado en línea el 18 de abril de 2017), 2014.
- 10. SAS. 2002. SAS High-Performance Forescasting 2.2: User's Guide. (Vol. 1 & 2). Cary, NC: SAS Institute Inc. Ver. 9). 652 p.

EXTRACCIÓN Y SEPARACIÓN DE PROTEÍNAS ANTIGÉNICAS DE PASTAS DE SOYA

María Alondra Moreno Vázquez, Araceli Aguilera Barreyro, Tércia Reis de Souza, Teresa Margarita García Gasca, José Guadalupe Gómez Soto y Gerardo Mariscal Landín

Universidad Autónoma de Querétaro

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)

RESUMEN

La calidad de las pastas de soya (PS) como fuentes de proteína para alimentación animal depende de diversos factores dentro de los que se encuentran: la variedad y el método empleado en su procesamiento. La pasta de soya se obtiene como un producto residual, del proceso de obtención del aceite. La PS presenta una gran cantidad de factores antinutricionales, entre las que se incluyen las proteínas antigénicas como la glicinina (11S) y β-conglicinina (7S). Las proteínas antigénicas actúan como antígenos, causando alteraciones en la pared intestinal y reacciones inmunológicas, provocando ciertas respuestas inflamatorias intestinales, produciendo daños en la mucosa que afectan a los procesos de digestión y absorción, presentándose diarrea, pérdidas de peso, disminución de la digestibilidad en lechones y terneros. Por todo lo anterior se requiere de caracterizar algunas PS comerciales en su perfil de proteínas antigénicas. Se evaluaron 14 muestras de PS empleadas en la elaboración de alimentos balanceadas. Las pastas se molieron y desgrasaron en frío para extraer las proteínas alergénicas por medio de su pl (punto isoeléctrico), siguiendo la metodología de Liu et al. (2007). Las fracciones proteicas 7S y 11S se liofilizaron, se desnaturalizaron y redujeron para posteriormente ser separadas las subunidades de cada fracción y de cada pasta, mediante una electroforesis SDS-PAGE. Los geles teñidos se digitalizaron mediante un fotodocumentador para analizar los geles por medio del programa Image Lab de Bio-Rad para estimar el peso molecular de cada subunidad de las fracciones 7S y 11S. Al separar electroforéticamente la fracción 7S se observaron las bandas pertenecientes a las subunidades α'. α y β, con contaminación de subunidades de la fracción 11S; y en la fracción 11S se observaron bandas de subunidades ácidas y básicas, con alguna contaminación de subunidades de la fracción

INTRODUCCIÓN

La pasta de soya es uno de los ingredientes más utilizados en la formulación de raciones, principalmente para cerdos, su calidad depende de factores entre los que se incluyen: la variedad y el método empleado en su procesamiento. Este ingrediente es obtenido como producto residual en el proceso de obtención del aceite. Se caracteriza por el alto aporte de proteína, ya que se considera que es la de mayor valor nutritivo en los alimentos proteicos de origen vegetal, es rica en aminoácidos como la lisina, triptófano y treonina, pero presenta un déficit en metionina. Este ingrediente posee un alto contenido de factores antinutricionales como son el inhibidor de tripsina, lectinas, ácido fítico y proteínas de reserva (β-conglicinina o 7S y glicinina o 11S) (Petruccelli y Añón, 1995; Ridner, 2006; Mariscal y Gómez, 2007; Tokach et al., 2007; Gilani et al., 2012). Estas proteínas son consideradas las causantes de reacciones de hipersensibilidad en lechones destetados y representan el 53.12% (β-conglicinina) y 31.37% (glicinina) de la proteína total de la pasta de soya. La glicinina es una globulina, también conocida como fracción 11S, tiene un peso molecular de entre 300 y 380 kDa; posee cinco diferentes subunidades: G1 (A1aB1b, 53.6 kDa), G2 (A2B1a, 52.4 kDa), G3 (A1bB2, 52.2 kDa), G4 (A5A4B3, 61.2 kDa) y G5 (A3B4, 55.4 kDa). Cada una de estas subunidades puede ser disociada en una cadena ácida de polipéptidos (A. 31-45 kDa) y una básica (B, 18-20 kDa). La fracción 11S tiene un pl de 6.4. La proteína β-conglicinina es un trímero de 140-170 kDa, y es conocida como fracción 7S; consiste en una subunidad α' de 80-93 kDa, una subunidad α de 71.5-75 kDa y una subunidad β de 48-55 kDa, posee un pl de 4.9 (Setsuko y Fumio, 1987; Petruccelli y Añón, 1995; Mujoo et~al., 2003; Hou y Chang, 2004; Zhao et~al., 2008; Amigo-Benavent et~al., 2011; Deng et~al., 2012; Bu et~al., 2016). Como ya se mencionó, éstas proteínas son consideradas las causantes de alteraciones en la pared intestinal generando daño en la mucosa, debido a las reacciones inmunológicas que generan, y que por consiguiente, afectan los procesos de digestión y absorción por desaparición de las vellosidades del intestino delgado, disminución en la digestibilidad, daño en la morfología intestinal, bajo crecimiento, se presenta diarrea, pérdida de peso y ocasionalmente muertes en lechones. Debido a estos problemas, es que se desea caracterizar algunas pastas de soya comerciales en su perfil de proteínas antigénicas.

TEORÍA

Pasta de soya

La soya es una de las fuentes de proteína más importantes y sus productos son utilizados ampliamente en la industria de los alimentos (Bu *et al.*, 2016). En el caso de la pasta de soya, esta es obtenida como producto residual de la extracción de aceite, y debido a que, como ya se mencionó, es una fuente importante de proteínas y minerales (calcio, hierro, cobre, fósforo y zinc), es muy utilizada en la formulación de las dietas para cerdos. Posee los aminoácidos esenciales como son la histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, cisteína, fenilalanina, tirosina, treonina triptófano y valina; pero es principalmente rica en lisina, triptófano y treonina, aunque deficitaria en metionina. De forma inconveniente es también un alimento con gran cantidad de factores antinutricionales como lo son los inhibidores de la tripsina, lectinas, ácido fítico, y proteínas de reserva o antigénicas (β-conglicinina o 7S y glicinina o 11S) (Petruccelli y Añón; 1995, Ridner, 2006; Mariscal y Gómez, 2007; Tokach *et al.*, 2007; Gilani *et al.*, 2012).

Las proteínas de reserva o antigénicas, que como se mencionó son β-conglicinina y glicinina, se han considerado como una causa probable de reacciones de hipersensibilidad en los lechones destetados, presentándose afección en los procesos de absorción por desaparición de las vellosidades del intestino delgado, disminución en la digestibilidad, inflamación de la mucosa intestinal, daño en la morfología intestinal, bajo crecimiento y diarreas, e incluso de forma eventual la muerte en los lechones destetados (Tokach *et al.*, 2007; Bu *et al.*, 2016).

Proteínas antigénicas

Las proteínas de reserva, que como se mencionó son β -conglicinina y glicinina, representan el 53.12% y 31.37% de la proteína total, respectivamente. La glicinina es una globulina, también conocida como fracción 11S, tiene un peso molecular de entre 300 y 380 kDa; posee cinco diferentes subunidades unidas por un enlace disulfuro: G1 (A1aB1b, 53.6 kDa), G2 (A2B1a, 52.4 kDa), G3 (A1bB2, 52.2 kDa), G4 (A5A4B3, 61.2 kDa) y G5 (A3B4, 55.4 kDa). Cada una de estas subunidades puede ser disociada en una cadena ácida de polipéptidos (A, 31-45 kDa) y una básica (B, 18-20 kDa). La fracción 11S tiene un pl de 6.4. La proteína β -conglicinina es un trímero 140-170 kDa, y es conocida como fracción 7S; consiste en una subunidad α de 80-93 kDa, una subunidad α de 71.5-75 kDa y una subunidad α de 48-55g kDa, posee un pl de 4.9 En pruebas de digestibilidad, se ha demostrado que estas proteínas alergénicas comienzan a ser digeridas en el estómago, pero de una forma limitada. (Setsuko y Fumio, 1987; Petruccelli y Añón, 1995; Mujoo *et al.*, 2003; Hou y Chang, 2004; Zhao *et al.*, 2008; Amigo-Benavent *et al.*, 2011; Deng *et al.*, 2012; Bu *et al.*, 2016).

PARTE EXPERIMENTAL

Este experimento consistió en la extracción y cuantificación de proteínas antigénicas de 14 muestras de pastas de soya comerciales utilizadas para la elaboración de raciones en Querétaro. De estas muestras se extrajeron y aislaron proteínas antigénicas (glicinina y β -conglicinina). Cada muestra fue molida y luego desgrasada mediante el método de extracción de grasa en frío (Folch *et al.*, 1957). Posteriormente, para la extracción de las proteínas antigénicas (glicinina y β -conglicinina), se empleó el método descrito por Liu *et al.* (2007) basado en el punto isoeléctrico (pl) de las proteínas antes mencionadas.

El método se llevó a cabo como a continuación se describe:

- 1. Se pesó 1 g de cada muestra por duplicado, y se colocaron en tubos para centrifuga. En cada tubo se agregaron 15 ml del reactivo Tris-HCl 0.03M a pH 8.5. Se agitaron por 1h a 45°C a baño maría.
- 2. Se centrifugaron a 9000xg por 30 minutos a 4°C.
- 3. Se separó y reservó el sobrenadante de cada tubo.
- 4. La muestra del residuo o precipitado se resuspendió en 15 ml de reactivo Tris-HCl 0.03M a pH 8.5 y se agitó una h a 45°C a baño maría.
- 5. Los tubos se centrifugaron a 9000xg por 30 min a 4°C. Se extrajo y reservó el sobrenadante y se eliminó el precipitado.
- 6. Los dos sobrenadantes reservados anteriormente (Número 3 y 5) se combinaron. En promedio se sumaron 25 ml de sobrenadante, y se le añadió 0.07225 g de bisulfito de sodio (SBS) 0.01 M sin hacer solución previa y se ajustó el pH del sobrenadante a 6.4 con una solución de HCl 2N y se almacenó a 4°C durante toda la noche.
- 7. Posteriormente se centrifugó a 6500xg por 20 min a 4°C. El precipitado resultante se reservó, correspondiendo a la fracción 11S (glicinina).
- 8. Al sobrenadante se le agregaron 0.055 g de NaCl 0.25M (solido) y se ajustó el pH a 5.5 con HCl 2N. Se agitó a temperatura ambiente por 30 min.
- 9. Posteriormente se centrifugo a 9000xg por 30 min a 4°C. Se obtuvo el sobrenadante y el precipitado resultante se eliminó.
- 10. El sobrenadante resultante se diluyó dos veces con agua desionizada, se ajustó el pH a 4.8 con HCl 2N. Se centrifugó a 6500xg por 20 min a 4°C.
- 11. Se eliminó el sobrenadante, el precipitado resultante corresponde a la facción 7S (β-conglicinina).
- 12. De cada fracción (7S y 11S) se diluyó el precipitado con agua desionizada, se ajustó el pH a 7, y posteriormente se colocó en membranas de celulosa para diálisis para peso molecular de 12-14000 daltons de Laboratorios Spectrum.
- 13. Se dializaron toda una noche en agua destilada, en agitación y en refrigeración; al día siguiente se cambió el agua dos veces al día, y el tercer día en la mañana se cambió por agua desionizada y por la tarde se dio por terminada la diálisis.
- 14. Se extrajeron las fracciones de cada membrana y se liofilizaron.

Después del procedimiento anterior, se pesaron 0.2 mg de muestra correspondiente a la fracción 11S y 0.4 mg correspondientes a la fracción 7S. A continuación, se prosiguió a desnaturalizar y reducir cada fracción con mercaptoetanol para romper enlaces disulfuro. Posteriormente se analizaron y separaron las subunidades de las fracciones proteicas β-conglicinina (7S) y glicinina (11S) de cada muestra de pasta de soya por triplicado mediante electroforesis SDS-PAGE (SDS-polyacrylamide gel electrophoresis) (Laemmli, 1970) a una concentración de 13%. Los geles se tiñeron con azul Coomassie R-250 y se digitalizaron mediante un fotodocumentador Bio-Rad para analizar los geles por medio del programa Image Lab de Bio-Rad para estimar el peso molecular (PM) de cada subunidad de las fracciones 7S y 11S, se comparó su movilidad electroforética con la de un estándar de peso molecular de proteínas de amplio espectro Broad Range de Bio Rad y con el peso molecular del inhibidor de tripsina de soya (Glycine max) de Sigma y con un estándar de albúmina sérica bovina de Sigma.

Los pesos moleculares de cada subunidad de las proteínas alergénicas de cada pasta de soya se analizaron estadísticamente con un diseño completamente al azar empleando el paquete estadístico SAS. Para comparar entre las pastas de soya se empleó la prueba de Tukey (P<0.05) (Steel y Torrie, 1980).

RESULTADOS

Los pesos moleculares de las subunidades α' , α y β correspondientes a la fracción β -conglicinina (7S); y de las cadenas ácidas (A_3 y $A_4A_2A_{1a}A_{1b}$) y básicas (B_3 y $B_4B_3B_2B_{1a}B_{1b}$) correspondientes a la fracción glicinina (11S) de las pastas de soya se muestran en la Tabla 1. Donde se puede observar que en todas las subunidades de las dos fracciones proteicas alergénicas no presentaron diferencia significativa (P>0.05) de sus pesos moleculares entre las 14 pastas de soya evaluadas.

El peso molecular para cada una de estas subunidades va de acuerdo a lo reportado por diversos autores (Petruccelli y Añón, 1995; Mujoo et~al., 2003; Hou y Chang, 2004; Zhao et~al., 2008; Bu et~al., 2016): α' (80-93 kDa), α (71.5-75 kDa) y β (58-55 kDa) correspondientes a β -conglicinina (7S); y cadena ácida (A 31-45 kDa) y cadena básica (B 18-20 kDa) correspondientes a glicinina (11S). Estos resultados nos indican que la realización del método de extracción y de separación electroforética, así como del análisis de los geles se realizó de forma correcta, probando así su eficacia y repetitividad.

En 4 pastas de soya no se detectó la presencia de las α ' y α en ninguna de las tres repeticiones realizadas, por lo que su desviación estándar es la más alejada de la media.

Tabla 1. PM de subunidades de β-conglicinina (7S) y glicinina (11S) PM=Peso molecula	ır;
---	-----

Fracción	Subunidad	PM	Р	EEM
	α'	98.8 ± 17.5	NS	3.8
ß-conglicinina (7S)	α	91.1 ± 13.5	NS	2.7
	β	55.1 ± 4.3	NS	0.75
Glicinina (11S)	A_3	45.7 ± 3.66	NS	0.70
	$A_{4,} A_{2}, A_{1}a, A_{1b}$	38.4 ± 2.1	NS	0.26
	B _{totales}	22.9 ± 0.7	NS	0.13

P=probabilidad; EEM=error estándar de la media; NS=no significativo (P>0.05)

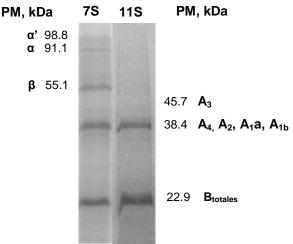


Figura 1. Perfil electroforético SDS-PAGE de las subunidades de las fracciones 7S y 11S de la pasta de soya

Al realizar la separación electroforética de las fracciones proteicas de β-conglicinina (7S) extraídas se evidenció contaminación por subunidades de glicinina (11S) (Figura 1), lo cual es mencionado por Liu *et al.* (2012); mientras que al separar las fracciones de glicinina (11S), la contaminación que presentó fue mínima, pudiéndose apreciar solamente las subunidades de interés.

CONCLUSIONES

Las pastas de soya presentan cambios mínimos en cuanto al peso molecular de las subunidades de las fracciones proteicas antigénicas β-conglicinina (7S) y glicinina (11S) al ser extraídas con base en su pl y separadas electroforéticamente. La fracción 7S mostró contaminación con subunidades de la fracción 11S.

- M. Amigo-Benavent, A. Clemente, P. Ferranti, S. Caira, M. D. Del Castillo, "Digestibility and immunoreactivity of soybean β-conglycinin and its deglycosylated form", Food Chem., Vol. 129, 2011, pp.1598-1605
- 2. G. Bu, T. Zhu, F. Chen, "The structural properties and antigenicity of soybean glycinin by glycation with xylose" J. Sci. Food Agric., 2016. Disponible en: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.8036/full [Consultado 05-11-2016]
- 3. K. Deng, Y. Huang, Y. Hua, "Isolation of glycinin (11S) from lipid-reduced soybean fluor: effect of processing conditions on yields and purity", Molecules, Vol. 17, 2012, pp. 2968-2979.
- 4. J. Folch, M. Lees, S. G. H. Stanley, "A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues", J. Biol. Chem., Vol. 226, 1957, pp. 497-509.
- 5. G. S. Gilani, C. W. Xiao, K. A. Cockell, "Impact of antinutritional factors in food proteins on the digestibility of protein and the bioavailability of amino acids and on protein quality", Br. J. Nutr., Vol. 108, 2012, pp. 315-332
- 6. D. H. J. Hou, S. K. C. Chang, "Structural characteristics of purified glycinin from soybeans stored under various conditions", J. agric. Food Chem., Vol. 52, 2004, pp. 3792-3800.
- 7. U. K. Laemmli, "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4", Nature, Vol. 227, 1970, pp. 680-685
- 8. C. Liu, H. Wang, Z. Cui, X. He, X. Wang, X. Zeng, H. Ma, "Optimization of extraction and isolation for 11s and 7s globulins of soybean seed storage protein", Food Chem., Vol.102, 2007, pp. 1310-1316.
- 9. L. G. Mariscal, R. S. Gómez, "Aspectos importantes en la composición de ingredientes comúnmente utilizados en la alimentación del pie de cría", en Alimentación del hato reproductor porcino. Teoría y práctica dirigidas a elevar la eficiencia productiva del pie de cría (Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal. INIFAP-SAGARPA. Libro Científico No. 1, Colón, Qro., México, 2007), pp. 205.
- 10. R. Mujoo, D. T. Trinh, P. K. Ng, "Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture", Food Chem., Vol. 82, 2003, pp. 265-273.
- 11. S. Petruccelli, M. C. Añón, "Soy protein isolate components and their interactions", J. Agric. Food Chem., Vol. 43, 1995, pp. 1762-1767.
- 12. E. Ridner, "Soja. Propiedades nutricionales y su impacto en la salud", (Ed. Grupo Q. Sociedad Argentina de Nutrición. Argentina, 2006), pp. 16, 18.
- 13. I. Setsuko, Y. Fumio, "Determination of glycinin and β.conglycinin in soybean protein by immunological methods", Agric. Food Chem., Vol. 35, 1987, pp. 200-205.
- 14. G. D. Steel, J. H. Torrie, "Principles and procedures of statistics", (2ª Edición. Ed. McGraw-Hill. New York, USA., 1980).
- 15. M. Tokach, S. Dritz, R. Goodband, J. Nelseen, "Necesidades nutricionales del cerdo destetado", en *El destete en el ganado porcino. Conceptos y aplicaciones* (Ed. Servet. España, 2007), pp. 275, 276, 280, 281, 288-295.
- 16. Y. Zhao, G. Qin, Z. Sun, X. Zhang, N. Bao, T. Wang, B. Zhang, B. Zhang, D. Zhu, L. Sun, "Disappearance of immunoreactive glycinin and β-conglycinin in the digestive tract of piglets", Arch. Anim. Nutr., Vol. 62, 4, 2008, pp. 322-330.

TALIO EN LA GERMINACIÓN DE TRES VARIEDADES DE CHILE

María de la Luz Buendía-Valverde, Tarsicio Corona-Torres, Víctor H. Aguilar-Rincón, Ma. Guadalupe Peralta-Sánchez¹, Libia I. Trejo-Téllez

Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo. e-mail: luzmaria_buendia@hotmail.com; tcoronat@colpos.mx; aheber@colpos.mx; mgperalta@colpos.mx; tlibia@colpos.mx

RESUMEN

El talio (TI) es un elemento no esencial para plantas superiores. Este elemento forma parte de un grupo de metales que se caracteriza por ser altamente tóxicos a concentraciones muy bajas. En esta investigación, se evaluó el efecto del tratamiento de tres concentraciones de acetato de talio (0. 25 y 50 μM) durante la germinación de tres variedades de chile (Jalapeño, Poblano y Serrano). Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones en cada variedad. La unidad experimental fue una caja Petri con 10 semillas, éstas fueron incubadas a 32 °C y se mantuvieron húmedas con las soluciones de talio. Después de 15 días se evaluó el porcentaje de germinación y el coeficiente de velocidad de germinación. Los resultados obtenidos en cada variedad fueron sometidos a un análisis de varianza y a una prueba de comparación de medias LSD. Las concentraciones de talio evaluadas no tuvieron efecto significativo en el porcentaje de germinación de las tres variedades. Por el contrario, los efectos del talio en el coeficiente de velocidad de germinación fueron significativos en las variedades Jalapeño y Serrano. En ambos casos, el TI tuvo efectos negativos en el coeficiente de velocidad de germinación. En la variedad Jalapeño el tratamiento con 25 y 50 μΜ TI redujo el coeficiente de velocidad de germinación en 7.1 y 14.3%, respectivamente, comparado con el testigo; mientras que en Serrano la reducción fue de 15.6 y 12.2%, respectivamente, también respecto al testigo.

INTRODUCCIÓN

El TI es un elemento altamente tóxico para los organismos, en donde la principal vía de exposición para animales y seres humanos es la ingestión de plantas cultivadas en suelos contaminados por TI, cuando este elemento está presente en los suelos, es fácilmente absorbido por las plantas debido a que el TI puede ser muy estable (Kazantzis, 2000; Madejón *et al.*, 2007).

Aun son pocas las investigaciones acerca de la acumulación de TI en plantas, sin embargo se ha reportado que la familia *Brassicaceae* puede acumular cantidades considerables de TI en sus tejidos (Pavlíčková *et al.*, 2005). Esto coincide con lo estudiado las especies silvestres *Hirschfeldia incana* L. y *Diplotaxis catholica* L. consideradas como invasoras, las cuales frecuentemente crecen en áreas perturbadas, donde se ha informado que el TI se acumula en las flores y los frutos de *H. incana* en concentraciones de 5 mg kg⁻¹ y 3.77 mg kg⁻¹, respectivamente. Por consiguiente se establece que la familia *Brassicaceae* representa un riesgo potencial en la cadena alimentaria en suelos con altas concentraciones de TI (Madejón *et al.*, 2007).

Por su parte Pavlíčková *et al.* (2005), reportan que la fito-disponibilidad del TI depende de la especie vegetal, por ejemplo en el nabo y la col se acumula principalmente en la parte aérea (hasta 20 mg kg⁻¹ de peso seco) y en la zanahoria, el frijol, la papa y el trigo se acumula principalmente en la raíz (hasta 33 mg kg⁻¹ de peso seco).

Queirolo *et al.* (2009) estudiaron la acumulación de TI en diversas especies en una zona afectada por la extracción de cobre al norte de Chile; encontrándose que el orden de concentración de TI fue el siguiente: papa > haba > maíz, concluyéndose que la ingestión principalmente de papa representa un riesgo para la salud.

Por otra parte, la forma de absorción y de transporte que presenta el TI dentro de la planta tiene similitud a la del K, debido a la estrecha afinidad geoquímica entre TI y K; ambos elementos presentan radios iónicos similares, por lo que el TI podría sustituir fácilmente K durante algunos procesos bioquímicos, tal es el caso de la capacidad que tiene el TI en producir complejos con ligandos que contienen S y P, dando lugar a la sustitución del K en sus sitios de adsorción específicos (Xiao et al., 2004). Esto explica que en un estudio realizado en las especies fresa salvaje (*Fragaria vesca* L.), menta (*Mentha pulegium* L) y albahaca (*Ocimum basilicum* L.) tratadas con 120 mg de TI durante 80 días, se encontró que el contenido de K disminuyó en plantas tratadas con TI con respecto al testigo, siendo lo anterior más evidente en menta y albahaca. Así mismo el TI puede sustituir al K en la bomba Na⁺/K⁺-ATPasa, formando grupos sulfhidrilo proteínicos, interactuando con riboflavina alterando la homeostasis del Ca e inhibiendo la inactivación de actividades enzimáticas, provocando problemas de toxicidad a los organismos (Ferronato et al., 2016).

La absorción de TI ocurre principalmente a través de las raíces; en plantas de fresa se encontró acumulación de TI en la rizósfera con un alto porcentaje de translocación de la raíz hasta las hojas, lo que confirma la importancia de la disponibilidad de nutrimentos y de la movilidad de contaminantes de la rizósfera (Ferronato *et al.*, 2016).

LaCoste *et al.* (2001) evaluaron once hortalizas entre las que destacan frijol verde, remolacha, col verde, lechuga, cebolla, guisante, rábano, tomate, nabo y berro, y como especie hiperacumuladora *lberis intermedia;* estas especies se trataron con Tl en dosis de 0.7 y 3.7 mg kg⁻¹ adicionado en suelo limoso. El nivel más alto de concentración de Tl se presentó en *lberis intermedia* con un valor medio de 400 mg kg⁻¹ de materia seca. Los niveles más altos de Tl en las hortalizas se registraron en berro, rábano, nabo y col verde, estas especies todas de la familia Brassicaceae, seguido por la remolacha y espinaca.

Por otra parte, Carlson *et al.* (1991) reportan que concentraciones de TI entre 0.5 y 5 mg L⁻¹ no ocasionan diferencias significativas en la germinación de semillas de col, lechuga, mijo, rábano y trigo; sin embargo, se disminuye la elongación radicular. El orden de sensibilidad que se presentó fue lechuga > nabo > mijo > trigo = rábano, repollo. Por otra parte, Yao (2007) no reporta efectos inhibidores significativos a diferentes concentraciones de TI (0.01 a 2.0 mg L⁻¹) sobre la germinación de semillas y la longitud de la raíz en *Brassica chinensis* (lechuga).

En este contexto, el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos que el TI tiene en la germinación de semillas de tres variedades de chile.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron semillas híbridas de chile (*Capsicum annuum* L.) de tres variedades: Jalapeño "Emperador", Poblano "Capulín" y Serrano "Coloso". Las semillas se desinfectaron incubándolas durante 15 min en una solución de hipoclorito de sodio al 6% (0.33 mL L⁻¹), posteriormente se hicieron 6 enjuagues con agua destilada.

Se condujeron tres experimentos independientes, uno por variedad de chile, donde se evaluó el efecto de tres concentraciones de TI (0, 25 y 50 μ M) a partir de acetato de talio (CH $_3$ COOTI, CAS 563-68-5 Sigma Aldrich). Para lo anterior, las semillas desinfectadas se colocaron en cajas Petri en grupos de 10, siendo éstas las unidades experimentales distribuidas en un diseño completamente al azar. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones. Las cajas Petri se incubaron dentro de una cámara de germinación a 32 °C donde se mantuvieron debidamente hidratadas con la solución con su respectiva concentración de TI. Después de 15 días de incubación se evaluó el porcentaje de germinación (PG) y el coeficiente de velocidad de germinación (CVG).El porcentaje de germinación (PG) se calculó de la siguiente formula:

PG=Porcentaje real de todas las semillas que han germinado durante el ensayo El coeficiente de velocidad de germinación (CVG), se calculó empleando la fórmula: CVG=Número total de semillas germinadas por caja Petri/A1T1+A2T2+AxTx

Dónde: A es el número de semillas emergidas en un número de días (T) en particular, los números 1, 2,....x son el número respectivo de semillas germinadas por cada respectivo día después del inicio de la incubación.

Los resultados obtenidos en cada variedad se analizaron de manera independiente, mediante análisis de varianza y pruebas de comparación de medias con el procedimiento LSD ($P \le 0.05$), usando el software SAS (SAS, 2011).

RESULTADOS

Porcentaje de Germinación (PG). A los 15 días, en los tratamientos testigo se obtuvo un porcentaje de germinación de 97.5, 95 y 100%, en las variedades Jalapeño, Serrano y Poblano, respectivamente. Con base en estos valores, se observa que las concentraciones de TI evaluadas no redujeron significativamente el porcentaje de germinación total en las tres variedades (**Figura 1**).

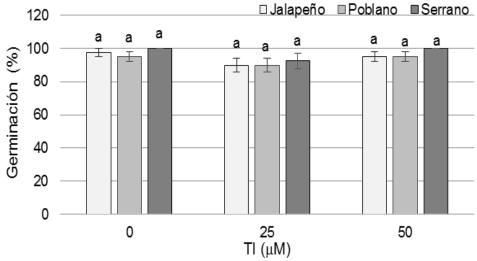


Figura 1. Porcentaje de germinación de semillas de tres variedades de chile tratadas con TI. Medias \pm DE con letras distintas en cada variedad indican que existen diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \le 0.05$).

Coeficiente de Velocidad de Germinación (CVG). En los tratamientos testigo se obtuvo un CVG de 0.27, 0.12 y 0.16 en las variedades de chile Jalapeño, Poblano y Serrano, respectivamente. En la variedad Poblano, las concentraciones de TI utilizadas en el presente estudio no provocaron una reducción del CVG; mientras que en la variedad Jalapeño el tratamiento con 25 y 50 μ M TI redujo el coeficiente de velocidad de germinación en 7.1 y 14.3%, respectivamente, comparado con el testigo; mientras que en la variedad Serrano la reducción fue de 15.6 y 12.2%, respectivamente, también respecto al testigo (**Figura 2**).

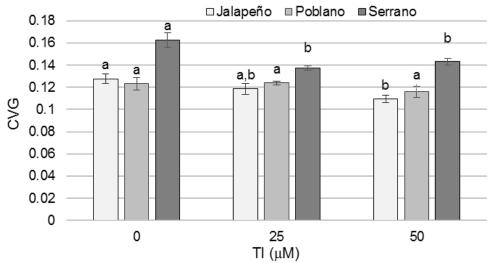


Figura 2. Coeficiente de velocidad de germinación (CVG) de semillas de tres variedades de chile tratadas con TI. Medias \pm DE con letras distintas en cada variedad indican que existen diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \le 0.05$).

CONCLUSIÓN

Las concentraciones de TI de 25 y 50 μ M no afectan el porcentaje de germinación; sin embargo, disminuye el CVG en dos variedades de chile (Jalapeño y Serrano).

BIBLIOGRAFÍA

- 1 C. Ferronato, S. Carbone, G. Vianello, L. Vittori-Antisari, "Thallium toxicity in mediterranean horticultural crops (*Fragaria vesca* L., *Mentha pulegium* L., *Ocimum basilicum* L.)", Water Air Soil Pollut., Vol. 227, 375, 2016.
- 2 C. LaCoste, B. Robinson, R. Brooks, "Uptake of thallium by vegetables: its significance for human health, phytoremediation, and phytomining", J. Plant Nutr., Vol. 24, 8, 2001. pp. 1205-1215.
- 3 C.L. Carlson, D.C. Adriano, K.S. Sajwan, S.L. Abels, D.P. Thoma, J.T. Driver, "Effects of selected trace metals on germinating seeds of six plant species". Water Air Soil Poll. Vol. 59, 3-4, 1991, pp. 231-240.
- 4 F. Queirolo, S. Stegen, O.C. Contreras, P. Ostapczuk, A. Queirolo, B. Paredes, "Thallium levels and bioaccumulation in environmental samples of northern Chile: human health risks", *J. Chil. Chem. Soc.*, Vol. 54, 4, 2009, pp. 464-468.
- 5 G. Kazantzis, "Thallium in the environment and health effects", Environ. Geochem. Health, Vol. 22, 2000, pp. 275-280.
- J. Pavlíčková, J. Zbíral, M. Smatanová, P. Houserová, E. Cizmárová, S. Havlíková, V. Kubán, "Uptake of thallium from artificially and naturally contaminated soils into rape (*Brassica napus* L.)", J. Agric. Food. Chem., Vol. 53, 2005, pp. 2867-2871.
- 7 P. Madejón, J.M. Murillo, T. Marañon, N.W. Lepp, "Factors affecting accumulation of thallium and other trace elements in two wild Brassicaceae spontaneously growing on soils contaminated by tailings dam waste", Chemosphere, Vol. 67, 2007, pp. 20-28.
- 8 SAS. SAS Institute Inc., SAS/STAT Users Guide. Version 9.3". SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA, 2011.
- 9 T. Xiao, J. Guha, D. Boyle, C.-Q. Liu, J. Chen, "Environmental concerns related to high thallium levels in soils and thallium uptake by plants in southwest Guizhou, China", The Sci. Total Environ., Vol. 318, 2004, pp. 223-244.
- 10 Y. Yao, P. Zhang, W.H. Liu, Z.C. Wang, Y.H. Chen, "Effects of Thallium on Germination and Physiological Activity of *Brassica chinensis* L. Seed". Seed, 02, 2007.

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE Tithonia tubaeformis CONTRA Monographella maydis

Abarca Marcelo Adalid, Ramos Espinobarro Lisset Sequeida, Godínez Laura-Corina, Álvarez Fitz Patricia, Pereyda Hernández Juan y Návez González Daysi.

Facultad de Ciencias Químico Biológicas

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales

Universidad Autónoma de Guerrero.

RESUMEN

Dentro de los hongos causantes de enfermedades en cultivos de importancia económica, Monographella maydis es causante de la enfermedad conocida como Complejo Mancha de Asfalto. En el valle de Mochitlán, Guerrero cultivos de maíz establecidos, han sido afectados por este hongo provocando grandes pérdidas económicas al sector agrícola. Diversos fungicidas son utilizados para combatir esta enfermedad; sin embargo, tienen un elevado costo para los productores y contaminan el ambiente. Debido a lo anterior, es necesario evaluar alternativas más accesibles que contribuyan a erradicar el complejo Mancha de Asfalto y reducir la contaminación. Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antifungica de extractos de Tithonia tubaeformis. Se obtuvieron muestras de tejido enfermo de hojas de maíz para el aislamiento e identificación de Monographella maydis en medio papa dextrosa. Los extractos de hexano, diclorometano y acetona se realizaron por maceración del material con los disolventes hexano, diclorometano y acetona. La actividad antifungica se evaluó por medio del método de doble dilución en agar. Se realizaron observaciones microscópicas para evaluar cambio en la morfología de las ascoesporas. Los resultados obtenidos muestran que el extracto de diclorometano a 16 mg/mL presenta actividad fungicida a diferencia de los extractos de hexano y acetona que presenta actividad fungistática hasta las 48 h. En la observación microscópica los extractos considerados como fungistáticos mostraron mayor número y tamaño de ascoesporas y menor cantidad de hifas, mientras que el extracto fungicida se observó ascoesporas agrupadas en menor cantidad.

INTRODUCCIÓN

El complejo mancha de asfalto (CMA) es una enfermedad causada por la presencia del complejo de hongos formado por *Phyllachora maydis*, *Monographella maydis* y *Coniothyrium phyllachorae* (López *et al.*, 2011). Las condiciones climatológicas que favorecen el desarrollo de esta enfermedad se encuentran a temperaturas de 17 a 22 °C (regiones tropicales y subtropicales), con humedad relativa del 75% (Guzmán and Sandoval, 2014), otros factores como: los altos niveles de fertilización nitrogenada, la siembra de varios ciclos de maíz por año en el mismo sitio, los residuos de cosechas, el uso de genotipos susceptibles, la baja luminosidad y la virulencia de los patógenos involucrados favorecen el desarrollo (López *et al.*, 2011; SICTA, 2012).. La enfermedad aparece primero en las hojas que se encuentran debajo de la mazorca; los síntomas se presentan

de forma clara a partir de la etapa de hoja bandera hasta la floración. A partir del síntoma de "ojo de pescado", la enfermedad avanza de las hojas inferiores hacia las superiores, en un período de 15 días y puede provocar el secado prematuro de la planta. Si la enfermedad aparece durante la floración, el rendimiento puede verse afectado si la variedad y/o híbrido es completamente susceptible. Las mazorcas pierden peso y los granos se "chupan" (flácidos y flojos). En esta etapa del cultivo un control químico no resulta práctico, es antieconómico y riesgoso para la salud del operador. Sin embargo, si la enfermedad se presenta en etapa de elote duro, el rendimiento está asegurado (Sánchez and Paz, 2014).

El hongo *Phyllachora maydis* inicia la infección, (Guzmán and Sandoval, 2014) produciendo pequeñas manchas negras y brillosas (forma oval a circular, con 0.5 a 2.00 mm de diámetro) sobre las hojas, posteriormente se forman estrías de hasta 10 mm de longitud. Dos o tres días después, las manchas y estrías aparecen rodeadas de un halo, inicialmente de color verde claro, que posteriormente se necrosa por la acción de *Monographella maydis*, síntoma conocido como "ojo de pescado" (Guzmán and Sandoval, 2014). El otro hongo asociado *Coniothyrium phyllachorae*, es un hiperparásito de los hongos anteriores, que le confiere una textura ligeramente áspera al tejido necrótico (López *et al.*, 2011).

En México se encontró una alta incidencia y severos daños por este complejo en cultivos de maíz, en los estados de Jalisco, Michoacán, Hidalgo, Veracruz, Oaxaca y Chiapas. En el estado de Guerrero, en 2005 se reportó pérdida total en 600 ha en el municipio de Tixtla y para 2007 la enfermedad se presentó en más de 10 municipios del estado (Pereida *et al.*, 2009)

Se han utilizado diversos fungicidas, los cuales son eficaces para combatir la enfermedad; sin embargo, tienen un alto costo y contaminan el medio ambiente (Ramos, et al., 2015). Por este motivo, se buscan alternativas viables que contribuyan a erradicar al CMA. Las plantas presenta gran diversidad de compuestos químicos bioactivos, los cuales presentan diversas actividades biológicas, entre ellas antiinflamatorias, antimicrobianas y antifungicas

Tithonia tubaeformis, comúnmente conocida como acahual, palocote y andan, es una planta nativa de México, localizada en la República Mexicana, que se ha llegado a propagar a otros países como Cuba, Argentina, Colombia, entre otros (Hinojosa, 2012). Es una hierba criptofita y hermafrodita de porte erecto, mide hasta dos metros de altura, florece de Agosto a Noviembre. La especie crece como maleza en terrenos de cultivos y áreas perturbadas, por lo que se considera una plaga (Gheno, 2011). Las especies de esté género son hierbas anuales o perennes, arbustos o árboles con hojas y tallos que son glabras o densamente velloso. El género Tithonia presenta gran diversidad química, los compuestos bioactivos de los extractos conocidos por sus propiedades tóxicas están compuestos principalmente de fenoles, terpenoides, flavonoides (Chagas, 2012) y alcaloides. Los fenoles son antioxidantes que atrapan radicales libres, estos últimos generan enfermedades crónicas como el cáncer. Conjuntamente, los flavonoides forman parte de los compuestos fenólicos, se ha identificado sólo uno de ellos (5,3.-dihidroxi-7,4.dimetoxiflavona) (Hinojosa, 2012), a los flavonoides se les ha atribuido una gran diversidad de efectos terapéuticos, entre ellos la capacidad antimicrobiana y antiinflamatoria. Las cumarinas poseen acción anticoagulante, antibacterial, antibióticos. Otros metabolitos secundarios han sido aislados incluyendo sesquiterpenoides y diterpenos, así como los flavonoides, xantona, ceramidas y se han encontrado lactonas, sesquiterpenoides (Chagas, 2012), éstas últimas son antimicrobianos, alteran la pared celular de los hongos y las bacterias invasoras, mientras que otros protegen la planta de tensiones ambientales que de otra manera causarían daño oxidativo (Martin, 2013). Otros estudios realizados con el género Tithonia han mostrado que presentan actividad contra cepas de hongos y bacterias, donde la actividad biológica repelente se debe a los aceites esenciales de la planta (Chagas, 2012). Sin embargo, sus propiedades antifungicas no están sustentadas científicamente (Juarez, 2003).

PARTE EXPERIMENTAL

Aislamiento e identificación de hongos.

Zona de muestreo: Las muestras (hojas de maíz) infectadas con la enfermedad Complejo Mancha de Asfalto fueron recolectadas en la localidad de Iguala de la Independencia y Petaquillas Chilpancingo de los Bravos, Gro. Las muestras de tejido vegetal fue de aproximadamente de 30 cm de largo y presentaron manchas oscuras y un halo elíptico color verde claro o necrótica simulando un "ojo de pescado" y zonas secas. Fueron transportadas envueltas en papel destraza y periódico, posteriormente se prensaron y se guardaron hasta su uso (Pereyda, et al., 2009).

Identificación de los hongos por microscopía: El material enfermo se examinó cuidadosamente con un microscopio estereoscopio (4X) y se realizaron cortes a mano de las estructuras estromáticas, se colocaron en KOH al 3 % por 3 min, se montaron en portaobjetos con lactofenol adicionado con azul de algodón y se observaron con un microscopio de luz (Pereyda, et al., 2009). Aislamiento de los hongos: El tejido enfermo se desinfestó por 60 segundos en hipoclorito de sodio 3 %, se lavó cinco veces en agua destilada y se secó en papel absorbente. Los fragmentos de tejido del margen de lesiones se colocaron en cajas Petri con medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) acidificado. Herramientas, medio de cultivo y espacio que se utilizó se esterilizó por métodos convencionales. Las cajas se incubaron a temperatura ambiente y después de su crecimiento los hongos fueron purificados por punta de hifa y se obtuvieron cultivos monosporicos (Pereyda, et al., 2009).

Colecta del material vegetal y obtención de extractos: Las hojas de *Tithonia tubaeformis* se recolectaron en el poblado de Petaquillas, Gro. Se realizó un ejemplar de herbario y se depositó en el instituto de investigación del área de Ciencias Naturales de la UAGro con el numero de folio 00,10104 y fue identificada por la M.C. María Martina López Soto. Los extractos fueron obtenidos por maceración del material vegetal (seco y pulverizado, 64 g) con los disolventes hexano, diclorometano y acetona a temperatura ambiente durante 24 horas, transcurrido el tiempo el extracto se filtró con papel Whatman núm. 2; el disolvente fue eliminado por destilación a presión reducida (rotavapor) y se obtuvo el extracto hexánico. Se realizo el mismo procedimiento para la obtención de los extractos diclorometano y acetona. El porcentaje de rendimiento(%R) para cada uno de los extractos se calculó de acuerdo a la formula (1):

$$\%R = \frac{GrE \times 100}{GrMVMa} \tag{1}$$

Donde:

GrE: gramos de extracto obtenido.

GrMVMa: gramos de material vegetal macerado.

Actividad antifúngica: Se utilizó el método de dilución seriada en agar (Rios and Recio, 1988) para la determinación *in vitro* de inhibición del crecimiento micelial. El extracto íntegro de diclorometano, hexano y acetona fueron disueltos en Dimetilsulfoxido (10%) adicionado con agua estéril (90%). Las concentraciones utilizadas estuvieron en un intervalo de 100-600 mg/mL. De forma aséptica las concentraciones fueron colocadas en cajas de petri estériles de 60 x 15 mm, después se le adicionó 3 mL de medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) estéril, las cajas fueron agitadas manualmente y se dejaron solidificar (Rios and Recio, 1988); Posteriormente se colocó un disco con crecimiento micelial de *Monographella maydis* en el centro de las cajas. Las cajas se

incubaron a temperatura ambiente (32 ± 14°C) durante 4 días (Ríos and Recio, 1988). Los experimentos se repetirán tres veces y se medirá el área de crecimiento micelial (mm). La inhibición del crecimiento micelial fue calculada de acuerdo a la fórmula 2:

$$\frac{dc - dt}{dc} \times 100 \tag{2}$$

Donde:

dc= área de crecimiento del micelio control

dt= área de crecimiento del micelio de los tratamientos

RESULTADOS

Del material vegetal colectado, se observó a simple vista la presencia de tejido muerto (rastrojo), manchas negras y brillosas, halo inicialmente de color verde claro sintoma conocido como "ojo de pescado", textura ligeramente áspera al tejido necrótico de realizó una primera observación microscópica, encontrando ascoesporas agrupadas (Fig 1).



Figura 1.- Tejido vegetal A) y B) Observación microscópica

De los cultivos monosporicos obtenidos se determinó macroscópicamente características morfológicas como: Micelio corto y ligeramente velloso, crecimiento radial y producción de pigmento color rojo- marrón *Monographella maydis* en estado conidial. Al ser observadas al microscopio se observó la presencia de hifas septadas alargadas, ligeramente toruloides y ascosporas dispersas (Fig. 2).

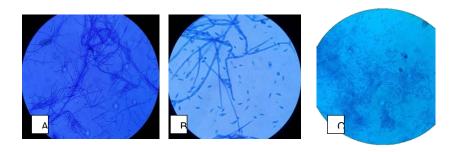




Figura 2.- Morfología macroscópica y microscópica de *Monographella maydis* .A) hifas septadas y ascosporas. B) micelio con hifas septadas C) micelio, hifas septadas, y ascosporas. Se utilizó Tinción de azul algodón de lactofenol para su observación microscópica (40X).

En cuanto a la actividad antifungica del extracto de *T. tubaeformis* en diclorometano a una concentración de 16 mg/mL inhibe el crecimiento micelial de *Monographella maydis* a diferencia del extracto con acetona que se encuentra por encima del crecimiento de la muestra control, es decir, promueve el crecimiento (Fig. 3).

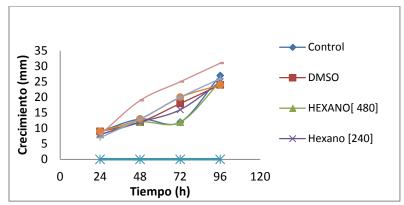


Figura 3.- Curva de crecimiento de *Monographella maydis* a diferentes concentraciones de extractos de *Tithonia tubaeformis*.

En cuanto al porcentaje de inhibición se observó que el extracto de *T. tubaeformis* en diclorometano a una concentración de 16 mg/mL inhibe el crecimiento de *Monographella maydis* hasta las 96 horas. Se observó que el extracto hexanico solo presenta 11% de inhibición a la concentración de 16 mg/mL : El extracto de *T. tubaeformisen* acetona inhibe el 22.3% durante las primeras 24 h. Al disminuir la concentración del extracto no se presentó actividad inhibitoria (Fig. 4).

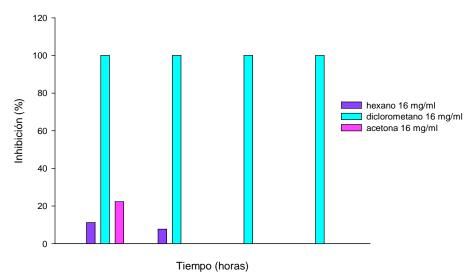


Figura 4.- Porcentaje de inhibición de los diferentes extractos de Tithonia tubaeformis a una concentración de 16mg/ mL.

Al realizar la observación microscópica de *Monographella maydis* sometido a la concentración 16 mg/ mL se observó que el extracto hexánico presentó mayor cantidad de ascoesporas y pocas hifas, el extracto de diclorometano no presento hifas y ascoesporas agrupadas entre 7-8, para el extracto de acetona se observó poco micelio y ascoesporas agrupadas y grandes (Fig. 5).

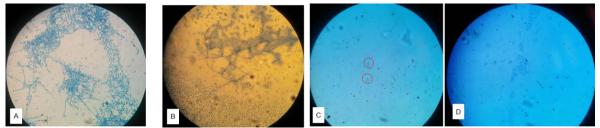


Figura 5.- Observación microscópica de *Monographella maydis* en diferentes extractos de *Tithonia tubaeformis. A) Control (Medio PDA)*, B) *Hexano*, C) *Diclorometano*, D) Acetona.

CONCLUSIONES

El extracto de diclorometano de *Tithonia tubaeformis* en concentración de 16 mg/mL mostró un 100% de inhibición del crecimiento de *Monographella maydis* hasta las 96 h, teniendo actividad fungicida. Mientras que el extracto de hexano y acetona presentan actividad fungistática.

El extracto de diclorometano podría ser utilizado como un biofúngicida contra uno de los principales patógenos del Complejo mancha de asfalto.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Pereyda, J; Hernández, J; Sandoval, J; Aranda, S; De León, C y Gómez, N. Etiología y manejo de la mancha de asfalto (*Phyllachora maydis Maubl.*) del maíz en Guerrero, México (2009). *Agrociencia* 43: 511-519.
- 2. Chagas, D; Oliveira, R; Rocha, B y Da Costa, F. Ethnobotany, Chemistry, and Biogical Activities of the Genus Tithonia (Asteraceae). CHEMISTRY & BIODIVERSITY. Vol. 09, 2012, pp. 210- 235.

HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE PROTEÍNAS AISLADAS DE SUERO DE QUESO PARA LA PRODUCCIÓN DE PÉPTIDOS FUNCIONALES

María Isabel Cortés-Vázquez y Roberto Briones-Martínez

Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del Instituto Politécnico Nacional. icortes@ipn.mx

Agradecimiento: SIP (2014-4699), SIBE y EDI, del Instituto Politécnico Nacional.

RESUMEN

Se obtuvieron preparaciones de polipéptidos y péptidos a partir de proteínas de suero de queso, mediante un procedimiento de hidrólisis limitada asistido por fitoproteasas cisteínicas: papaína y bromelaína, ensayando dos niveles de grado de hidrólisis pH-STAT. Las mezclas de reacción fueron sometidas a ultrafiltración tangencial con membranas de 5 y 50 kDa y se obtuvieron dos fracciones de especies proteínicas con tamaños moleculares homogéneos: entre 5-50 kDa y ≤5 kDa. La funcionalidad de las preparaciones así obtenidas fue caracterizada mediante análisis del índice de actividad emulsionante (IAE); estabilidad emulsionante (EE), y de la actividad antioxidante del 2,2−difenil−1−picrilhidracilo (DPPH). La fracción de polipéptidos con tamaños entre 5-50 kDa, mostraron un cambio importante en el IAE mejorándolo en aproximadamente el 100%; mientras que la fracción compuesta por las especies peptídicas menores a 5 kDa se caracterizaron por su alta capacidad para inhibir la oxidación del DPPH: aproximadamente en un 82%.

INTRODUCCIÓN

Los procesos asistidos por enzimas se caracterizan por transformar de manera muy eficiente, con alta especificidad y bajos requerimientos de energía, diversos biomateriales de interés industrial. Es, por lo tanto, una alternativa importante en el enfoque de *producción más limpia* orientada a dar valor económico a materiales de desecho industrial (1), recuperando, o bien, generando productos de alto valor agregado: biomoléculas con valor nutricional, compuestos bioactivos o funcionales de diversos tipos. Esta estrategia tiene, de manera importante, el impacto adicional de contribuir a la eliminación de escenarios de contaminación ambiental. El uso de enzimas permite recuperar componentes, mediante una separación dirigida que mantiene intactas sus propiedades, razón por la cual se ha incrementado su implementación al impactar en los aspectos regulatorios de seguridad y protección ambiental (2). En la transformación de proteínas con tecnología enzimática, en particular con el manejo consciente de las propiedades de especificidad de sustrato de las proteasas, se pueden generan secuencias peptídicas de tamaño molecular controlado, con nuevas características estructurales a las que corresponderán actividades biológicas y funcionales realzadas, potencialmente útiles en diversas aplicaciones alimentarias o farmacéuticas.

Es ampliamente conocido por la sociedad actual el problema de contaminación ambiental que representa la disposición de desechos de algunos procesos industriales. En el sector alimentario, específicamente, es conocido el caso del suero que queda como materia residual. En algunas

industrias el material es procesado pero en otros casos, sobre todo en quesería de bajo volumen de producción, son desechados a los efluentes. Las consecuencias de esta práctica son que se convierten en graves contaminantes ambientales de cuerpos de agua, ríos, debido a que es un material que se caracteriza por una alta demanda bioquímica de oxígeno para su tratamiento biológico, causando la muerte de la fauna de estos ecosistemas (3).

Cuantitativamente, el suero representa hasta un 90% del volumen de leche (3): se estima que por cada kilogramo de queso producido se generan aproximadamente nueve kilogramos de suero (4). En México, se han publicado datos que establecen que una producción de un millón de toneladas de suero genera aproximadamente unas cincuenta mil toneladas de lactosa y unas cinco mil toneladas de proteína (5).

En suma, considerando que el suero de queso es un material con un alto contenido de proteínas de alto valor, se convierte en un biomaterial ideal para aprovechar su utilidad y darle valor agregado mediante procedimientos tecnológicos que generen nuevos productos con propiedades específicas de tecno-funcionalidad o actividad biológica, con mayor valor económico y susceptibilidad de ser aprovechados en la formulación de productos alimentarios o farmacéuticos.

Una herramienta tecnológica que ha demostrado una alta utilidad en la transformación de proteínas alimentarias es la tecnología enzimática. La hidrólisis de proteínas genera secuencias peptídicas de menor tamaño molecular, que pueden presentar propiedades funcionales y actividades biológicas potencialmente útiles en diversas aplicaciones alimentarias y farmacéuticas. El control de la hidrólisis y de las condiciones del proceso permite mediante el uso de enzimas específicas, la generación de secuencias de aminoácidos con propiedades y características bioquímicas que dependerán de la proteína utilizada, de la extensión del tratamiento enzimático, de las condiciones de proceso, de la especificidad y modo de acción de las preparaciones enzimáticas (6). Además de las modificaciones de la solubilidad, actividad emulsionantes y otras tecno funcionalidades, los hidrolizados de proteínas de suero de queso también pueden estar constituidos de diversas especies con propiedades biológicas que, generalmente, no se expresan o están latentes en la proteína no hidrolizada nativa, hasta que son liberadas o mejoradas mediante procesos de hidrólisis (7,8); péptidos inmunomodulatorios (8); péptidos con actividad antioxidante (9,10); y antihipertensivos (11). En el presente trabajo se presenta los resultados obtenidos en la modificación enzimática con fitoproteasas cisteínicas, papaína y bromelaína, para transformar las proteínas de suero de queso en productos funcionales y/o bioactivos.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales:

El suero de queso fresco fue obtenido de una quesería de baja producción (Cuernavaca, Morelos). Las preparaciones enzimáticas: Papaína y bromelaína (EDC), comerciales.

Métodos:

Reacciones de hidrólisis enzimática pH-STAT (12).

Se realizaron en un Biorreactor de 5 L (Tekne) acoplado a Titulador Automático Titrino 718 (Metrohm) y registro continuo de adición de NaOH para mantener el pH constante. El Grado de Hidrólisis (enlaces rotos en función del tiempo) se calculó a partir de los mili equivalentes de NaOH consumidos. Condiciones operativas: temperatura de 35°C y pH 7.5. La concentración de sustrato ensayada fue del 5 % (peso/vol) en agua desionizada y, la concentración de enzima, equivalente al 1.0 % (peso/peso) con respecto al contenido de proteína del sustrato. La acción enzimática se detuvo mediante tratamiento de la mezcla de reacción a temperatura de ebullición durante 10 minutos, y enfriamiento rápido en baño de hielo. Los hidrolizados fueron almacenados en congelación.

Determinación de actividad proteolítica (caseinolítica).

Mediante el método de Ortega y del Castillo (13) en caseína tipo Hammarsten al 1% en regulador de fosfatos 0.05 M a pH 7.6, previamente desnaturalizada por incubación en baño maría a ebullición durante 20 min. La reacción se efectúa a temperatura de 35 °C durante 10 minutos. La determinación consiste en añadir 0.1 ml a 1.9 ml de sustrato. La determinación se realiza por triplicado. La reacción se detiene añadiendo 3 mL de ácido tricloroacético (ATC) 5%. Simultáneamente se corre un testigo al que se agrega el ATC antes de la enzima. Los tubos se dejan en reposo durante 20 min, se centrifugan a 909 x g durante 25 min y, el sobrenadante, se lee en un espectrofotómetro a 280 nm, contra un blanco de 2 ml de regulador de fosfatos 0.05 M pH 7.6 y 3 ml de ATC 5%.

Ultrafiltración. La ultrafiltración de las fracciones solubles se realizó en un sistema de ultrafiltración tangencial Labscale (Millipore), equipado con membranas de tamaños de 5, 30 y 50 kDa. Las mezclas sometidas a filtración se llevaron al 50% del volumen inicial.

Actividad emulsionante y estabilidad emulsionante.

Mediante el método de Pearce y Kinsella (14). Las emulsiones, mezclas 1:3 de muestra proteínica y de aceite de maíz, se sometieron a homogeneización a 12,000 rpm durante 1 min. Inmediatamente después se tomaron cuidadosamente del fondo del recipiente, alícuotas de 0.1 mL y se diluyeron con 5 mL de dodecilsulfato de sodio (SDS) al 2% en regulador de fosfatos (pH 7.6, 0.05 M). Finalmente se midió la absorbancia de las emulsiones diluidas contra un blanco de regulador de fosfatos (pH 7.6, 0.05 M) a 500 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Cary 60). Los análisis fueron realizados por triplicado. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

Estabilidad emulsionante.

Se determinó medante el método de Pearce y Kinsella (14) en emulsiones de las cuales se tomaron alícuotas de 0.1 mL a tiempos de 3, y 5 min después de la homogeneización, se diluyeron en dodecil sulfato de sodio, SDS, al 2 %, y se leyeron a 500 nm en un espectrofotómetro (Cary 60).

Actividad antioxidante (DPPH).

Utilizando como radical el DPPH (2, 2 – difenil–1–picrilhidracilo), por el método de von Gadow et al (15). La reacción se efectuó agregando 0.5 mL de DPPH 0.1mM a 0.5 mL de muestra, la mezcla es homogeneizada vigorosamente, se mantiene en reposo durante 30 min en la oscuridad y se lee el sobrenadante a 517 nm contra un blanco de metanol y la solución de DPPH como testigo. Los análisis se realizaron por triplicado. La actividad antioxidante se determinó con la siguiente ecuación: AOX % = (As 517nm DPPH – As 517nm muestra) / (As 517nm DPPH *100). Donde: As 517nm DPPH: Absorbancia del DPPH en el tiempo cero; As 517nm muestra: Absorbancia de la muestra a 30

min.

Determinación de contenido de proteína.

Mediante el método de Bradford que consiste en hacer reaccionar 0.1 mL de la solución proteínica con 2 ml del reactivo de Bradford (16), homogeneizar la mezcla, dejar reposar durante 5 min y leer a 595 nm en un espectrofotómetro. La curva tipo se prepara utilizando albúmina de suero de bovino (2.5 mg /10 ml de agua).

RESULTADOS

Actividad emulsionante.

En la figura 1 se muestran los resultados de determinación de índice de actividad emulsionante (IAE) de los hidrolizados enzimáticos de proteínas de suero de queso: mezcla de reacción obtenida en 1 hora de reacción: *hidrólisis limitada*; y, mezcla de reacción obtenida en 4 horas de reacción: *hidrólisis extensiva*; y de las fracciones separadas por ultrafiltración: retenidos y permeados de membranas de 5 y 50 kDa. Los niveles más altos de actividad emulsionante (As 500 nm), 1.73 y 1.48, fueron obtenidos con el hidrolizado 4 horas (HIDR 4H) y el permeado con péptidos menores a 5 kDa (P5), respectivamente. Es decir el incremento o mejora en el IAE en estas preparaciones fue de 105% y 76% respectivamente, con respecto al sustrato sin tratamiento enzimático (S/SE). El grupo conformado por las especies mayores a 50 kDa (R50), el hidrolizado de 1 hora (HIDR 1H), y las especies menores de 50 kDa (P50), mostraron incrementos del IAE (As_{500nm}) entre 1.4-1.33, es decir un 62% de mejora en promedio.

Estabilidad emulsionante.

En la figura 2 se presenta la estabilidad de las emulsiones formadas con las mezclas de hidrólisis a 1 y 4 horas, y de los retenidos y permeados de 50 y 5 kDa. La estabilidad de los dos hidrolizados y del retenido de 50 kDa, presentaron mejor estabilidad que el sustrato sin tratamiento enzimático y que el retenido de 5kDa. Es decir, los hidrolizados, con especies proteínicas de mayor peso molecular, mejoraron la estabilidad de las proteínas de suero de queso no hidrolizadas.

Actividad antioxidante.

En la figura 3 se presentan los resultados de actividad antioxidante del DPPH (% de inhibición de la oxidación del DPPH) del hidrolizado de 4 horas (hidrólisis extensiva) y diversas fracciones separadas por cromatografía en columna de Sephadex G25. Como puede observarse, el hidrolizado de 4 horas y las dos fracciones del permeado de 5 kDa (I y II) presentaron niveles altos de inhibición de la oxidación del DPPH: entre el 99% y el 82%, de manera equivalente al efecto antioxidante del ácido ascórbico (AA) 20 mM, que inhibió la oxidación en un 96%. Los resultados obtenidos son, en general, consistentes con los estudios que informan que son las especies peptídicas de bajo peso molecular las que muestran en general una mayor capacidad de captación de radicales DPPH que las fracciones de mayor peso molecular (17). La actividad antioxidante observada en la mezcla de reacción de la hidrólisis extensiva, sobrenadantes con una alta concentración de proteína soluble (datos no mostrados) se infiere, fue producto de una proporción importante de péptidos de bajo peso molecular. Mientras que los componentes de la fracción de péptidos menores a 5 kDa, que en la determinación de Bradford, debido a los límites de detección del método, resultaron con valores muy bajos de proteína soluble, presentaron diferentes componentes que mostraron buenas propiedades como inhibidores de la oxidación del DPPH.

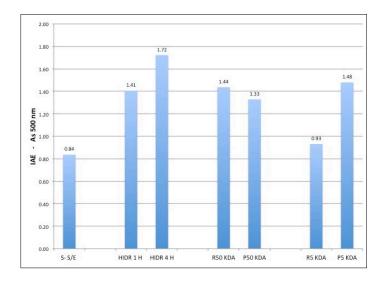


Fig. 1. Índice de actividad emulsionante (IAE) de hidrolizados y fracciones separadas por ultrafiltración. **HIDR 1 H**: tiempo de reacción de 1h (*Hidrólisis Limitada*); **HIDR 4 H**: tiempo de reacción de 4h (*Hidrólisis Extensiva*); **R50 KDA**: mayores de 50 kDa; **P50 KDA**: menores de 50 kDA; **R5 KDA**: mayores a 5 kDa (menores a 30 kDa); **P5 KDA**: menores a 5 kDA; **S/SE**: sustrato sin tratamiento enzimático.

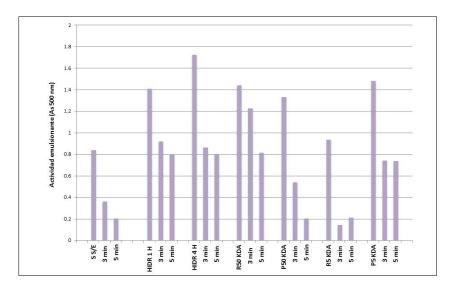


Fig. 2. Estabilidad emulsionante (EE) de hidrolizados y fracciones separadas por ultrafiltración. **HIDR 1** H: tiempo de reacción de 1h (*Hidrólisis Limitada*); **HIDR 4** H: tiempo de reacción de 4h (*Hidrólisis Extensiva*); **R50 KDA**: mayores de 50 kDa; **P50 KDA**: menores de 50 kDA; **R5 KDA**: mayores a 5 kDa (menores a 30 kDa); **P5 KDA**: menores a 5 kDA; **S/SE**: sustrato sin tratamiento enzimático.

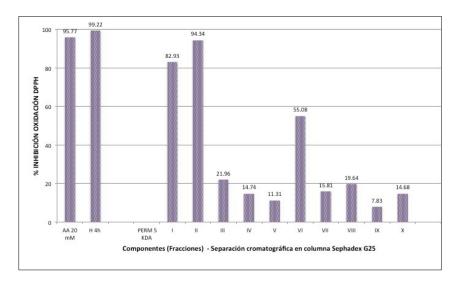


Fig. 3. Actividad antioxidante de hidrolizado (inhibición de la oxidación del DPPH) y componentes (**I a X**) de la fracción de péptidos menores a 5 kDa (permeado de UF) separada en columna de Sephadex G-25. **AA 20 mM:** ácido ascórbico 20 mM; **H 4h:** hidrolizado 4 horas.

CONCLUSIONES

- 1. Se ha desarrollado un procedimiento de producción de péptidos funcionales por hidrólisis de las proteínas del suero de queso utilizando una combinación de las proteasas cisteínicas papaína y bromelaína (comerciales), que permiten explotar al máximo la susceptibilidad del sustrato a la proteólisis.
- 2. Las fracciones e hidrolizados totales que se pueden generar con el procedimiento ensayado puede tener impacto en el desarrrollo de preparaciones con tamaños moleculares específicos o diseñados para su utilización en la formulación de productos que actualmente tienen una alta demanda en un mercado en crecimiento: bebidas funcionales o nutraceúticas, suplementos dietéticos y alimentos varios con características nutricionales.
- 3. El procedimiento ensayado en la hidrólisis limitada de proteínas de suero de queso se caracteriza por utilizar preparaciones enzimáticas de origen vegetal, fitoproteasas (no modificadas genéticamente) que se clasifican dentro de los aditivos "generalmente reconocidos como seguros", por sus siglas en inglés, GRAS (Generally Recognized as Safe).

BIBLIOGRAFÍA

- N.M.P. Bocken*, S.W. Short, P. Rana, S. Evans, "Review. A literature and practice review to develop sustainable business model Archetypes", J Clean Prod 65, 2014, pp. 42-56.
- 2. M, M, Yusoff, M. H. Gordon and K. Niranjan, "Aqueous enzyme assisted oil extraction from oilseeds and emulsion de-emulsifying methods: A review", Trends Food Sci Technol, 41, 2015, pp. 60-82.
- 3. M. I. González Siso, "The biotechnological utilization of cheese whey: A review", Bioresour Technol, 57, 1996, pp. 1-11,
- 4. J. Pavel, "Industrial whey processing technology: An overview", *J. Agric. Food Chem.* 27(4): 1979, pp. 658-661.
- 5. E. Valencia Denicia, M. L. Ramírez Castillo, "La industria de la leche y la contaminación del agua", Elementos 73, 2009, pp. 27-31.
- 6. S. Ch. Cheison and U. Kulozik, "Impact of the environmental conditions and substrate pre-treatment on whey protein hydrolysis: A review, Critical Reviews", In Food Sci Nutr 57: 2, 2017.

- 7. R. Adjonu , G. Doran, P. Torley P, S. Agboola, "Screening of whey protein isolate hydrolysates for their dual functionality: influence of heat pre-treatment and enzyme specificity", Food Chem., 15;136:3-4, 2013, pp. 1435-1443.
- 8. S. F. Gauthier, Y. Pouliot, D. Saint-Sauveur. "Review Immunomodulatory peptides obtained by the enzymatic hydrolysis of whey proteins", Internatl Dairy J, 16, 2006, pp. 1315–1323.
- 9. Q. X. Zhang, H. Wu, Y. F. Ling, R. R. Lu, "Isolation and identification of antioxidant peptides derived from whey protein enzymatic hydrolysate by consecutive chromatography and Q-TOF MS", J Dairy Res, 80, 2007, pp. 367–373.
- 10. R. Hartmann and H. Meisel, "Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications", Curr Opin Biotechnol, 2007, 18, 2007, pp. 163–169.
- 11. B. Konrad, A. Da browska, M. Szołtysik, M. Pokora, A. Zambrowicz, J. Chrzanowska, "The evaluation of dipeptidyl peptidase (DPP)-IV, α-Glucosidase and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activities of whey proteins hydrolyzed with serine protease isolated from Asian Pumpkin (Cucurbita ficifolia)", Int J Pept Res Ther, 20, 2014, pp. 483–491.
- 12. R. Briones–Martínez, "Proteinasas de plantas mexicanas potencialmente útiles en la industria alimentaria. Hidrólisis de proteínas vegetales", 1996, Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, México.
- 13. M.I. Ortega y L.M. Del Castillo L. M, "Actividad de la mexicaina en presencia de altas concentraciones de urea", Ciencia Méx., 24,1996, pp. 247-251.
- 14. K. N. Pearce, K.N. and J.E. Kinsella, "Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique". J. Agric. Food Chem., 26, 1978, pp. 716-723.
- 15. A.E. von Gadow, Joubert, and C.F. Hansmann, "Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibos Tea (Aspalathus linearis), alpha-tocopherol, BHT, and BHA", J. Agric. Food Chem. 45, 1997, pp. 632–638.
- 16. M.M. Bradford. "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye binding", Anal. Biochem., 72, 1976, pp. 248–54.
 - A. Pihlanto, "Review Antioxidative peptides derived from milk proteins", Int Dairy J., 16, 2006, pp. 1306–1314.

EVALUACIONES DE RENDIMIENTO DE MILPA INTERCALADA CON ÁRBOLES FRUTALES EN EL SUR DE VERACRUZ

Carmen Aridai Hernández, Sergio Uribe Gómez, Rigoberto Zetina Lezama Y Andrés Zambada Martínez.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, yumeary@yahoo.com.mx

RESUMEN

El sistema milpa intercalada con árboles frutales (MIAF), ha sido una estrategia de conservación de suelos en zonas agrícolas de ladera, principalmente aplicado en regiones templadas. Desde hace 10 y cinco años se ha iniciado el establecimiento en zonas tropicales y subtropicales en la región de los Tuxtlas, Veracruz. Con el objetivo de evaluar los rendimientos de maíz y frijol al establecerse entre frutales como: limón, carambola y chicozapote en el sistema MIAF, se llevaron a cabo mediciones en los ciclos primavera verano (p-v-) y otoño invierno (o-i) en 2015 y 2016, el rendimiento promedio obtenido para maíz fue de 2.2 a 2.5 toneladas y de 0.5 ton en o-i. En el caso del frijol de o-i se obtuvo un promedio de 400 kg. se entiende que, en el MIAF, la distribución de frutales y cultivos anuales representa una tercera parte de la hectárea, por lo que los rendimientos obtenidos son mayores que los obtenidos en 1 ha de cultivo anual sin MIAF, la diferencia potencial es la reducción significativa en la perdida de suelo y la posibilidad de obtener ingresos diversificados, por la venta de frutas.

INTRODUCCIÓN

El cambio en el uso de suelo, las familias abandonando el campo, hacen que los terrenos dedicados a cultivos, sean menores y no permita tener descansos entre ciclos, así mismo la introducción de frutales con potencial de mercado invaden áreas verdes vírgenes cambiando la vegetación natural del lugar; además aun singuen vigentes los sistemas de producción roza, tumba y quema, por baratos y rápidos, aún no hemos creado la conciencia suficiente para cambiar estas condiciones son factores que ocasionan la degradación de suelos al perder características físicas, químicas y biológicas; este es un aspecto importante y de relevancia nacional por que la pérdida de suelos tiene como efecto la disminución de su capacidad productiva, baja o nula capacidad de retención de agua y por lo tanto regeneración de mantos acuíferos, rompiendo o perjudicando los ciclos naturales de la vida humana, la pérdida de biodiversidad y poniendo en entredicho la seguridad alimentaria entre otros.

México tiene un 40% de su superficie en condiciones de ladera la riqueza orográfica que favorece sus distintos ecosistemas es un aspecto que debemos preservar y cuidar, no solo pensando en la población de las zonas rurales que vive principalmente en esas condiciones, sino en los habitantes de asentamientos urbanos a donde llegan problemas de inundaciones por azolves de ríos o zonas costeras, eso sin contar como se menciona derrumbes y deslaves en zonas altas, estas repercusiones sociales deben contar con alternativas y políticas que promuevan sistemas de producción que amorticen estos desastres. El sistema Milpa Intercalada con Árboles frutales, surge entonces de la esencia de la conservación de suelos en zonas de ladera, pero conlleva detalles que hacen que está tecnología tenga una aplicación compleja que demande productores con conciencia ambiental, amor y dedicación al campo y que hayan adquirido un cumulo de conocimientos en trazos de curvas a nivel, poda y conducción de frutales, manejo de densidades de cultivos anuales, registros, seguimiento a recomendaciones de dosis de fertilización, ordenamiento de la parcela y mantenimiento y conformación de una terraza de cultivo; por ello en la región de los Tuxtlas. Veracruz se ha promovido esta tecnología a lo largo de 15 años y se ha demostrado su funcionalidad y mejora del nivel de vida de los productores, siempre y cuando cumplan con las características mencionadas, en la figura 1-3, se muestran módulos establecidos en 2011, 2005 y 2003, con pendientes de más del 20% esta figura también nos muestra la deforestación en la mayoría de los terrenos de cultivo dejando los suelos desprotegidos y ocasionando las pérdidas de fertilidad que mencionadas con anterioridad.



Ante esto durante 2015 y 2016, se iniciaron evaluaciones de condiciones de suelo, fijación de carbono y evaluación de rendimientos en estas tres parcelas, con miras a garantizar la funcionalidad del sistema a través del tiempo con los diferentes años de plantación, diferentes frutales y grados de pendiente, en este trabajo se presentaran únicamente las evaluaciones de rendimiento en esa región se obtienen 2 ciclos de cultivo primavera-verano (p-v) y otoño-invierno (OI) para maíz y solo en uno de los módulos para frijol, en dos de ellos, solo se tiene frijol en el OI.

TEORÍA

El sistema MIAF, tiene su historia desde la colocación de barreras vivas para la formación de terrazas, así como estudios de pérdidas de elementos, nutrientes y conformación física del suelo en terrenos de ladera, ante la necesidad de obtener mayor provecho en un sistema de producción las barreras vivas evolucionaron a la producción de frutales de forma intensiva en cada uno de los

setos es decir colocados a 1 m de distancia entre ellos, promoviendo la retención de suelo y conformación de la terraza, pero con el aprovisionamiento de frutales para consumo y venta, de este modo en las zonas templadas destacan la producción de durazno y ciruela en un sistema MIAF, con podas en tatura y la producción de cultivos anuales maíz frijol en medio de cada terraza (Cortes, et al., 2005), al trasladar está tecnología a zonas tropicales, Francisco, et al., (2010), realizó estudios con cultivo de chicozapote, mango tommy, limón, guanábana, carambola, principalmente, los árboles en zonas tropicales son perennifolios, por lo que el manejo de podas se vuelve más intensivo, con fines de presentar un dosel abierto a la luz y al aire de los sitios de fructificación y subsecuentemente a los cultivos debajo de estos (Camas, 2011).

La adaptación del sistema a cultivos en zonas tropicales con frutales que demandan en diferente medida el aprovechamiento del agua sistemas radiculares diferentes entre uno y otro, lo que también repercute en la conformación de la terraza. Si puede existir una competencia por nutrientes entre las raíces de las plantas leñosas y las plantas forrajeras herbáceas Frutales del sistema MIAF, en el subtrópico

- Limón: se caracteriza por tener un diámetro de copa de 2 m altura de 1.80 m la poda de conducción también es colocar un árbol aguas arriba y el siguiente árbol a 1 m de distancia aguas abajo, se observó que la carga de limón colocado en un 50 % de su copa, ocasiona desgarre de ramas por lo que se deben realizar prácticas de tutoreo cuando sea necesario. Este cultivo ha presentado adaptación en las tres parcelas se tiene al menos 1 terraza con este frutal a pesar de diferir en tipo de suelo, msnm, y orientación con respecto al este, así mismo el precio de venta se ha mantenido constante con respecto a los otros frutales.
- Carambola: Frutal no tradicional con alto precio en el mercado fuera del mercado local o vecino, pero de amplia adaptación y facilidad de manejo en la región, garantizando 8 meses de cosecha.
- Chicozapote: Frutal de porte más alto al menos 2.5 metros aún con manejo de podas, grosor del tronco del árbol de 20 cm y diámetro de copa de 4 m
- Guanábana: Frutal no tradicional de porte medio 2.2 m de altura, no presenta problemas de desgarre por carga del árbol, pero susceptible a plagas.
- Mango: Frutal de porte más alto al menos 3 metros aún con manejo de podas, grosor del tronco del árbol de 30 cm y diámetro de copa de 5 m, excelente adaptación al clima, pero se requiere mayor manejo de podas.

PARTE EXPERIMENTAL

En un módulo experimental como en las parcelas de los productores, son diferentes los factores que pueden interaccionar en los rendimientos, así pues, durante 2015 y 2016, se tomaron datos de rendimiento ubicados en parcelas. Que se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1.

uauro i.						
Parcela	msnm	Pendiente	Frutales	Maíz P-	Frijol	Frijol
				V y O-I	P-V	O-I
Santa Rosa	900	40 %	Mango, Limón,	Si	Si	Si
Abata			guanábana			
Xiguipilincan	300	20 %	Mango-	Si	No	Si
			Limón,guanábana			
Axochio	60	35 %	Chicozapote, Limon,	Si	No	Si
			Carambola			

El módulo de validación Santa Rosa Abana (SRA) tiene dos trazos de curvas a nivel cuatro hileras de árboles frutales de mango y tres de limón persa en el otro sentido al que se suma una hilera d guanábana, y forestales, que ocupan un área aproximada de 1 hectárea.

El módulo de validación Xiguipilincan (MVX) tiene cuatro hileras de árboles frutales, que ocupan un área aproximada de media hectárea. En la parte alta de la ladera existen dos hileras al contorno de mango Tommy y las hileras inferiores tienen una combinación de limón persa, guanábana y chicozapote.

El módulo experimental Axochio. (MEA) Establecido en el ciclo primavera-verano de 2003, con cinco sistemas de manejo: 1) milpa intercalada con chicozapote (maíz-frijol), 2) Milpa intercalada

con limón persa (2011), 3) Milpa intercalada con carambola (2011) 4) labranza convencional o tradicional (maíz-maíz).

La estimación de rendimiento se realizó en 10 metros de una hilera de maíz y/o frijol para cada uno de los tratamientos correspondientes en cada sistema de manejo y frutales establecidos, y se contó el número de plantas para cuantificar la densidad de la población a la cosecha.

El rendimiento de grano se expresó al 14% de humedad. En el sistema MIAF el rendimiento de maíz y frijol se expresó en función de 5000m2 y 3000 m2 parte de la Ha, debido que fue a la superficie que ocupó según el sistema. Se consideró al testigo la siembra de maíz de forma tradicional o cultivo simple el rendimiento Ton/Ha.

Parte de la evaluación de la productividad de los sistemas se realizó mediante: a) un análisis financiero que tomo en cuenta el rendimiento de grano de maíz y frijol, y fruto b) eficiencia relativa de la tierra.

RESULTADOS

Los resultados esperados eran que los rendimientos de maíz superen la productividad media de los sistemas de producción que no manejan MIAF, lo cual se cumple, debido a que los sistemas tradicionales producen en promedio 2 toneladas/ha, mientras que en los tres modulos establecidos con sistema MIAF, se obtienen los resultados que se muestran en el cuadro 1 pero representan únicamente 1/3 parte de la hectárea, obteniendo cerca o más de la producción media por ha, en el ciclo p-v, así mismo durante el ciclo o-i el rendimiento promedio es de 400 kg/ha el cual se mantiene y se supera en algunas de las parcelas, esto debido a las condiciones edafoclimaticas presentadas en los módulos que tienen un distancia de al menos 40 km de distanciamiento uno del otro y algunas características que describimos con anterioridad.

Cuadro1. Resultados de rendimiento de maíz en módulos con sistema MIAF en 2015 y 2016 (Ton/ha).

,	Primer año 20	15	Segundo año 20	016
Modulo	P-V	O-I	P-V	O-I
Santa Rosa Abata	2.02	1.40	1.50	0.72
Xiguipilincan	1.75	1.30	1.98	0.94
Axochio	2.15	0.41	2.78	1.39

Para el caso de frijol pudimos obtener datos de p-v y o-i en dos módulos diferentes con el sistema MIAF, y los resultados se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Resultados de rendimiento de frijol en módulos con sistema MIAF en 2015 y 2016 (Ton/ha).

	Primer año		
Modulo	O-I 2015	P-V 2016	O-I 2016
Santa Rosa Abata	-	1.3	0.110

Xiguipilinca	-	-	
Axochio	0.75	-	0.327

Aunque cada módulo tiene su particularidad los rendimientos utilizando los diferentes frutales no varían al grado de reducir los rendimientos por debajo del promedio, en el cuadro 3. presentaremos en comportamiento del testigo que es un sistema de manejo tradicional sin terrazas, maíz en ladera tanto en p-v, como o-i.

Cuadro 3. Resultados de rendimiento de maíz en parcelas tradicionales sin MIAF (Ton/ha).

	Primer año 2015		Segundo	año 2016
Modulo	P-V	O-I	P-V	O-I
Santa Rosa Abata	1.75	0.81	1.65	0.926
Xiguipilinca	1.38	0.72	2.10	1.650
Axochio	1.75	0.18	2.77	1.590

CONCLUSIONES

Los rendimientos de cultivos anuales en el sistema MIAF en P-V, son superiores a un sistema tradicional en el 2015 y muy similares en 2016, el ciclo O-I el sistema MIAF comparada con el tradicional es menos constante, en parcelas con productores en el módulo Axochio muestra un incremento favorable además de que en el ciclo 2016 OI las parcelas testigo fueron sembradas con maíz criollo el cual tiene mejor adaptación a la zona que las variedades utilizadas en el sistema MIAF, H-520. Aun así, debemos destacar que en un sistema tradicional no está ocurriendo la conservación de suelos ni la provisión de alternativas de ingresos por la producción de frutales. Los datos presentados representan avances en la investigación de evaluaciones de rendimiento, se considera determinar si no hay diferencias entre los rendimientos de cultivos anuales en los sistemas con diferente frutal, para proponer aquellos que dejen al productor mejores ingresos, todo esto sin perder de vida que el sistema MIAF, busca en primer momento reducir la perdida de suelo, lo cual se cumple al tener buenos rendimientos a través del tiempo preservando la productividad de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Camas G, R. 2011. Erosión hídrica, productividad, captura de carbón y uso de la radiación solar y agua en tres sistemas de manejo, para la agricultura de ladera en el trópico subhúmedo de México. Colegio de Posgraduados, México. 170 pp.
- 2. Cortés F., J.I, A. Turrent F. P.Díaz V., E. Hernández R., R. Mendoza R., E. Aceves R. 2005. Manual para el establecimiento y manejo del sistema milpa intercalada con árboles frutales (MIAF) en laderas. Colegio de Posgraduados, México
- 3. Curti D. S.A., X. Loredo Z., U. Díaz Z., J.A. Sandoval R. y J. Hernández H. 2000. Tecnológia para producir limón persa. INIFAP
- Franciso N.N., A Zambada M., A. Turrent F. J.I. Cortés F. y E. N. Becerra L. 2010. El sistema agroforestal milpa intercalada con árboles frutales: innovación para el pequeño productor de laderas. INIFAP 39 p.
- 5. Hernández L. F.J. 2014. Línea base de carbón en suelos con el Sistema Milpa Intercalada con árboles frutales (MIAF) y biomasa aérea. Colegio de Posgraduados, México. 67 pp.

VERMICOMPOSTEO DE LODOS RESIDUALES DEL RECICLADO DE PAPEL MEZCLADOS CON RESIDUOS SÓLIDOS ORGÁNICOS DE MANEJO ESPECIAL

I.J. Rodríguez Meléndez, D.J. Hernandez Melchor, J.Alarcón Bonilla y M.O. Franco Hernández.

Universidad Tecnológica de Tecámac, km 37.5 carretera federal México-Pachuca, Col. Sierra Hermosa, Tecámac. Estado de México.

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología - IPN, Av. Acueducto S/N, Col. Barrio La Laguna Ticomán, Ciudad de México. México.

RESUMEN

El composteo con lombrices tienen efectos benéficos, físicos, químicos y biológicos sobre los suelos, además de incrementar el crecimiento de la planta y el rendimiento al aplicarlo en cultivos. Se realizaron cinco tratamientos, monitoreando y composteando cinco mezclas porcentuales de cuatro sustratos: lodos residuales del reciclado de papel, estiércol de vaca, residuos sólidos orgánicos, y mulch a diferentes proporciones, manteniendo el último constante a 15%. Se incorporaron 200 lombrices adultas en cada pila. Se analizó la presencia inicial de coliformes totales, *Salmonella* y Huevos de Helminto en cada tratamiento y después de 90 días se evaluó la disminución de coliformes, así como la ausencia de *Salmonella* y Huevos de helminto. Para los metales pesados presentes en la NOM-004-SEMARNAT 2002 se realizó un análisis inicial y final de la relación de la concentración con cada uno de los tratamientos. En conclusión se observó que la mejor proporción de residuos para la producción de vermicomposta fueron los tratamientos 1 y 2, ya que en estas pilas se obtuvo la mayor cantidad de fertilizante, además de que el lodo residual en estos tratamientos tuvieron una alta cantidad de metales pesados que fueron absorbidos por las lombrices al final del bioproceso.

INTRODUCCIÓN

La aplicación de Residuos Sólidos Orgánicos y lodos residuales de uso industrial y biosólidos agrícolas a los cultivos aporta nutrientes. No obstante pueden contener algunos productos tóxicos, incluyendo metales pesados, compuestos orgánicos y microorganismos patógenos como bacterias coliformes o parásitos como los huevos de helminto. Es por eso que se debe tener un control adecuado en el uso de estos residuos orgánicos para evitar la contaminación de los suelos y por consiguiente los cultivos y productos vegetales que toman sus nutrientes del fertilizante orgánico o inorgánico aplicado al suelo para aportar mejores características a dichos productos.

El agua utilizada en la producción de papel contiene pasta y aditivos como arcillas. El tratamiento de estos residuos puede constituir una única etapa dentro del tratamiento del agua residual y es sometido a las distintas fases de depuración físico-químicas como la coagulación y la floculación.

Se ha investigado acerca de los beneficios obtenidos con el uso de lombrices sobre los suelos y se ha demostrado que estos efectos positivos pueden incrementar el crecimiento de la planta y el rendimiento de los cultivos tanto en ecosistemas naturales como en los ecosistemas manejados (Atiyeh *et al.*, 2002).

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizaron cinco tratamientos (pilas de 150 kg) con mezclas porcentuales de cuatro sustratos: lodos residuales del reciclado de papel, estiércol de vaca, residuos sólidos orgánicos (naranja, papaya, plátano, piña, lechuga y jitomate) y mulch a diferentes proporciones. Ver Tabla 1.

Tabla 1. Composición de mezclas propuestas para los experimentos

	LODOS RESIDUALES	ESTIÉRCOL DE VACA	RESIDUOS ORGÁNICOS	MATERIAL ESTRUCTURANTE (MULCH)
	(%)	(%)	(%)	(%)
PILA 1	70	5	10	15
PILA 2	50	10	25	15
PILA 3	30	15	40	15
PILA 4	10	20	55	15
PILA 5	0	25	60	15

Ya definidas las proporciones de cada tratamiento se procedió a la recolección de cada sustrato para la conformación de las 5 pilas (Ver figura 1).





Figura 1. Conformación de pilas de precomposteo

Se compostaron las mezclas durante 24 días, monitoreando el proceso a fin de mantener la temperatura, pH y humedad. En esta primera etapa de acondicionamiento se redujo la actividad proteolítica de los Residuos Sólidos Orgánicos (RSO) para garantizar la sobrevivencia y reproducción de la lombriz.

Al finalizar la etapa de precomposteo se inocularon 200 lombrices adultas con clitelo de entre 5 y 7 cm de longitud (Ver figura 2).



Figura 2. Elección de lombrices adultas

Se llevó a cabo el análisis antes y después del proceso de vermicomposteo, obteniendo el resultado inicial y final en la presencia de coliformes totales, *Salmonella*, huevos de helminto y metales pesados, de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002.

Se llevó a cabo el análisis microbiológico de coliformes totales de cada pila, realizando la preparación de caldo lactosado y verde bilis brillante para las pruebas presuntiva y confirmativa respectivamente (Ver figura 3)





Figura 3. Medios de cultivo para coliformes totales

Se realizaron diluciones de 10⁻⁵, 10⁻⁶ y 10⁻⁷, obteniendo el resultado de coliformes totales en los lodos y en el estiércol de vaca al inicio del proceso, ya que no se considera significativa la aportación de estas bacterias a las mezclas de cada tratamiento por parte de los vegetales y mulch. Se obtuvo una concentración de 9.1 X 10⁹ NMP/10g de coliformes totales en el lodo residual, a diferencia de la concentración obtenida en el estiércol de vaca, que fue de 240 X 10⁷ NMP/10g.

Al final del proceso se obtuvo el resultado en las 5 pilas obteniendo: Pila 1: 93 X10⁴ NMP/10g, Pila 240 X10⁴ NMP/10g, Pila 3: 460 X10⁴ NMP/10g, Pila 4: 21 X10⁴ NMP/10g y Pila 5: 3.6 X10⁴ NMP/10g.

De igual manera fue determinada la presencia de *Salmonella*, de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002, utilizando Caldo terationato y Selenito Cistina para llevar a cabo el preenriquecimiento. Posteriormente en Agar XLD y Agar Sulfito de Bismuto como pruebes confirmativas. Dando como resultado AUSENTE. Ver figura 4.



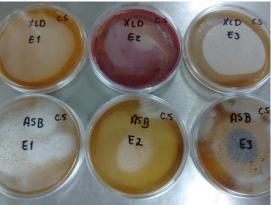


Figura 4. Determinación de Salmonella en las Pilas de vermicomposta

Se determinó la presencia de Huevos de Helminto, de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002 ANEXO V, mismos que fueron AUSENTES al final del proceso. Ver figura 5.



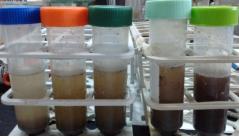


Figura 5. Determinación de Huevos de Helminto en las 5 pilas Por último se determinaron los metales pesados indicados de igual forma en la NOM-004-SEMARNAT-2002, por la técnica de Espectrofotometría de Emisión Óptica (ICP). Ver figura 6.





Figura 6. Espectrofotómetro ICP utilizado para la determinación de metales pesados en las pilas misma que se explica en dicha norma, específicamente para biosólidos, obteniendo los siguientes resultados en las 5 Pilas y en el lodo y estiércol respectivamente.

SUSTRATO/TRATAMIENTO	As	Cd	Pb	Cr	Cu	Hg	Ni	Zn
ESTIERCOL	< L.D.	<l.d.< th=""><th><l.d.< th=""><th>6.667</th><th>4.333</th><th>< L.D.</th><th>2.600</th><th>25.850</th></l.d.<></th></l.d.<>	<l.d.< th=""><th>6.667</th><th>4.333</th><th>< L.D.</th><th>2.600</th><th>25.850</th></l.d.<>	6.667	4.333	< L.D.	2.600	25.850
LODO	< L.D.	<l.d.< th=""><th><l.d.< th=""><th>7.5</th><th>3.133</th><th>< L.D.</th><th>0.850</th><th>36.433</th></l.d.<></th></l.d.<>	<l.d.< th=""><th>7.5</th><th>3.133</th><th>< L.D.</th><th>0.850</th><th>36.433</th></l.d.<>	7.5	3.133	< L.D.	0.850	36.433
P1	0.579	2.452	11.676	18.125	124.555	< L.D.	9.323	73.756
P2	1.974	2.402	10.796	16.289	108.880	< L.D.	6.705	74.577
P3	0.475	2.304	9.333	11.529	68.938	< L.D.	5.880	57.743
P4	1.301	2.259	6.694	15.548	25.900	< L.D.	6.224	40.928
P5	1.384	2.268	6.523	7.075	11.255	< L.D.	4.911	33.888

Tabla 2. mg/kg de metales pesados en sustratos y tratamientos

En esta tabla se observa que los metales pesados: arsénico, cadmio, plomo, cromo, mercurio y níquel no tienen altas concentraciones en cada uno de los tratamientos, a diferencia del cobre y zinc, los cuales de presentaron altas concentraciones con respecto a dos de los sustratos utilizados (lodo residual y estiércol), lo cual se puede explicar por la utilización y aporte de estos metales debido al continuo uso de agua potable para realizar los riegos de cada pila para mantener la humedad en ellas. Dado que el agua potable del grifo cuenta con mayor cantidad de Cu y Zn, se concluye que el aporte de estos metales se debió al riego continuo de las pilas para no perder la humedad y las condiciones de sobrevivencia de las lombrices.

Cabe mencionar que de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002, todas las concentraciones, incluso de Cu y Zn, están dentro de los límites máximos permisibles (<1,500 mg/kg y <2,800 mg/kg respectivamente), que indican que la presencia de éstos no fue suficiente para concluir que la vermicomposta generada no tiene las características necesarias, es decir, que el tipo de lodo que la norma indica es de TIPO A, que de acuerdo a la concentración de mnetales pesados tan baja, es de características EXCELENTES para su uso como fertilizante en los cultivos agrícolas.

RESULTADOS

Las características físicas, químicas y microbiológicas de los sustratos y de los 5 tratamientos fueron evaluadas, y haciendo la recopilación de información se observó que las pilas tienen las condiciones adecuadas para que la lombriz roja Californiana se desarrolle y produzca el fertilizante de calidad. Además se observó que de acuerdo a los resultados microbiológicos obtenidos antes y después del proceso, no se tienen condiciones patógenas que puedan afectar las características de acumulación en cultivos debidas al uso del fertilizante producido. Los metales pesados son índice claro de que los lodos son de calidad excelente para ser utilizados como fertilizante.

CONCLUSIONES

En conclusión se observó que la mejor proporción de residuos para la producción de vermicomposta fue el tratamiento 2, ya que en esta pila se obtuvo la mayor cantidad de fertilizante, que es directamente proporcional a la cantidad de biomasa generada. El lodo contiene metales pesados que fueron absorbidos por las lombrices. Es factible el uso de los 4 sustratos para la

obtención del humus, ya que el tipo de lodo de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002 es A, es decir, EXCELENTEpara su uso agrícola.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Atiyeh, R. M., Lee, S., Edwards, C. A., Arancon, N. Q., & Metzger, J. D. "The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth", Biores. Technol. 2002, 84: 7-14.
- 2. Toccalino, P. A.; Agüero, M. C.; Serebrinsky, C. A. y Roux, J. P. Comportamiento reproductivo de lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) según estación del año y tipo de alimentación. 2004, Rev. Vet. 15(2): 65-69.

PROPUESTA DE UNA BIORREFINERÍA PARA EL MAÍZ AZUL (Zea mays L.)

Alcalde-García Fabiola, Flores-Rojas Luis, Peralta-Marroquín María, Pérez-Monje Berenice, Urizar-Verona Alexander, Ramírez Castillo María Leticia, Flores Ojeda Guadalupe.

Laboratorio de Investigación y Posgrado, Universidad Politécnica de Puebla, 3er Carril del Ejido Serrano S/N, San Mateo Cuanalá, Juan C. Bonilla, Puebla, CP 72640

RESUMEN

México es el centro de origen del maíz, aquí se concentra la mayor diversidad del mundo. Siendo el más importante de los granos producidos en México ocupa el primer lugar de la producción agrícola y aproximadamente el 70% se destina al consumo humano. Lamentablemente, el maíz azul es un cultivo escaso, sólo el 7 % de la superficie de siembra se dedica a esta variedad a pesar de que presenta propiedades nutricionales y antioxidantes [1]. Por otra parte se sabe todo proceso agrícola genera residuos vegetales que no son aprovechados, por esa razón en este trabajo se propuso una biorrefinería para la transformación del maíz azul en productos biológicos seguros y sostenibles tales como harina de maíz, antocianinas, xilanasas (por fermentación sólida) y olote molido. Se realizó un análisis proximal obteniéndose los siguientes resultados: el grano de maíz azul cuenta con una humedad de 16.50 %, cenizas de 2.08 %, grasa 2.88 %, fibra cruda de 11.42 %, proteína 3.25 % y carbohidratos 63.69%; el olote obtuvo una humedad de 17.06 %, cenizas de 1.39 %, grasa 4.19 %, fibra cruda de 33.11 %, proteína 2.96 % y carbohidratos 41.22 %. Para el cálculo de rendimientos, los balances de masa se realizaron en base a un kilogramo de maíz azul del cual se obtuvieron como productos 570.6 g harina maíz/kg maíz, 12 mg antocianinas/kg maíz, 30.21 mg proteína total/kg maíz, 451.19 g de alimento para ganado/kg maíz. Estos resultados permitirán fomentar el cultivo de esta variedad de maíz, no solo para la producción de harina sino también de otros productos de interés comercial como las enzimas y antocianinas.

INTRODUCCIÓN

Gracias a la diversidad de climas, en México se cultiva una gran variedad de especies de maíz incluso se encontró que la producción agrícola en el país se incrementó 6.1 por ciento en los primeros siete meses de 2015, en relación con el mismo periodo de 2014, para ubicarse en 117.6 millones de toneladas. El maíz es el cultivo más importante de México, siendo tres variedades de maíz los más utilizados: el blanco, que se cultiva para el consumo humano por su alto contenido nutricional; el amarillo, destinado principalmente al procesamiento industrial y a la alimentación de los animales; y el maíz azul, que se utiliza principalmente para la elaboración de tortillas, atoles y pinoles. El maíz ha jugado un papel importante a nivel económico a escala mundial durante el siglo XX y los inicios del siglo XXI. En los países industrializados, el maíz se utiliza principalmente como forraje, materia prima para la producción de alimentos procesados y, recientemente, para la producción de etanol. Por lo contrario, en algunos países de América Latina, un gran porcentaje del maíz que se produce o importa se destina al consumo humano. En este sentido, el maíz ha sido y sique siendo un factor de sobrevivencia para los campesinos e indígenas que habitan en la mayoría de los países del continente americano. Aunada a esta problemática como se sabe todo proceso agrícola genera, durante el desarrollo del cultivo y en la cosecha, residuos o desechos vegetales que no son destinados a diferentes usos, aun teniendo en ellos un gran potencial. Una manera de aliviar esta situación es revalorar el cultivo a través del conocimiento de su origen, diversificación en el continente americano, sus propiedades y potenciales. Cabe mencionar que las biorrefinerías son instalaciones de transformación de los recursos biológicos seguros y sostenibles en una variedad de productos de valor agregado [2] Por esa razón en este trabajo se propuso una biorrefinería para el aprovechamiento del maíz azul en productos de valor agregado tales como harina de maíz, antocianinas y enzimas hidrolíticas.

TEORÍA

El maíz es el más importante de los granos básicos producidos en México; ocupa el primer lugar de la producción agrícola del país y aproximadamente el 70% de la producción se destina al consumo humano. Es la forma domesticada de una subespecie de teocintle un pasto silvestre que existe de manera natural en regiones aisladas. México es el centro de origen del maíz, aquí se concentra, muy probablemente, la mayor diversidad de maíz del mundo (Gorriti y col, 2009). En América Latina se han descrito cerca de 220 razas de maíz [3], de las cuales 64 (29%) se han identificado, y descrito en su mayoría, para México. De las 64 razas que se reportan para México, 59 se pueden considerar nativas y 5 que fueron descritas inicialmente en otras regiones pero que también se han colectado o reportado en el país. En la Figura 1 se muestra un cartel resumido de los maíces mexicanos elaborado por CONABIO.



Figura 1 Cartel de Maíces mexicanos tomada de CONABIO.

La mayoría de los maíces azules son típicamente de grano harinoso. El endospermo es de textura suave. El color azul se encuentra en la capa de células llamada aleurona, donde una mayor concentración de pigmentos de antocianina hace que los granos parezcan negros [4]. En el centro del país, además de las tortillas de maíz blanco y amarillo, se consumen productos de maíz nixtamalizado a partir de variedades coloreadas o pigmentadas con tonalidades rojas, azules, moradas y negras, sin embargo, estos maíces pigmentados son producidos en baja proporción por agricultores de subsistencia en pequeñas parcelas para autoconsumo, pues de acuerdo con estimaciones, representa sólo el 10% de la producción nacional de maíz. Se estima que la producción nacional de maíz en el ciclo 2014-2015 será de 22.5 millones de toneladas para una demanda de 32.75 millones de toneladas, lo que da lugar a un déficit de 10.25 millones de toneladas que habría que importar, es decir un 31.3% de las necesidades. Sin embargo, es importante mencionar que los reportes disponibles sobre la producción de maíz en México, no mencionan la producción de maíces pigmentados. En nuestro país, se han descrito razas de maíces pigmentados en los estados de Oaxaca, Chiapas y Estado de México; las razas son: Mushito, Tuxpeño, Olotillo, Olotón, Tehua, Tepecintle, Vandeño, Zapalote Chico y Grande, Bolita y Cónico [5]. Esta variedad contiene más cantidad de fibra que la mayoría de los cereales, casi el doble de calcio que otros tipos de maíz y una menor cantidad de almidón, además su índice glicémico es inferior al del maíz blanco, por lo que es más recomendable para quienes cuidan su consumo de azucares en la dieta y para personas con diabetes. Las antocianinas representan un factor importante en la industria alimentaria debido a la restricción del uso de colorantes sintéticos e incluso en el mercado existen algunas patentes que permiten extraer y estabilizar las estructuras naturales de antocianinas; estas juegan un papel importante en la industria vinícola pro el residuo generado por la fermentación de la uva. Todas las antocianinas son solubles en agua y pueden precipitarse en solución acuosa-alcohólica con sales de plomo que producen un precipitado azul fuerte [6]. El olote del maíz (Zea mays) se encuentra entre las fuentes de recursos no maderables con un alto contenido de xilanas, por lo que ha sido considerado de interés como fuente alternativa de diferentes compuestos químicos de interés comercial o industrial, entre otras fuentes de biomasa [7].

PARTE EXPERIMENTAL

Materia prima

3.1.1 Caracterización física

La materia prima fue obtenida de San Lorenzo Chiautzingo del estado de Puebla. Se midieron los granos y olotes para determinar su tamaño promedio.

3.1.2 Análisis proximal

El análisis proximal del grano y olote se determinó en base a las Normas Oficiales Mexicanas para alimentos, de acuerdo a la Tabla 1. El método para determinar la humedad en grano y olote se estableció con rango de secado de 95° a 105°C. Por su parte, la determinación de cenizas se llevó a cabo mediante la calcinación completa a una temperatura de 650°C. La determinación de proteínas se realizó por el método de Micro-Kjeldahl usando el sulfato de cobre como catalizador y el sulfato de sodio para aumentar la temperatura de la mezcla y acelerar la digestión. La determinación de fibra cruda se basó en la digestión ácida y alcalina de la muestra obteniéndose un residuo de fibra cruda y sales que con calcinación posterior se determinó la fibra cruda.

Tabla 1. Normas para el análisis proximal del maíz azul.

Análisis	Norma Oficial Mexicana
Cenizas	NMX-F-066-S-1978 [8]
Proteína	NMX-F-068-S-1978[9]
Humedad	NMX-F-083-S-1978 [10]
Extracto Etéreo	NMX-F-089-S-1978 [11]
Fibra cruda	NMX-F-090-S-1978 [12]

Procesamiento de la materia prima

El procesamiento de la materia prima inicio con el desgranado, destinando el 70 % del grano a la producción de harina y el 30 % a la producción de antocianinas. Con todo el olote se llevó a cabo una fermentación sólida para la producción de enzimas hidrolíticas.

3.2.1 Obtención de harina

La producción de harina maíz se llevó a cabo a través de una nixtamilización, que consistió en la cocción de los granos en dos litros agua al 1% de hidróxido de calcio y un posterior reposo en el caldo alcalino durante 20 min, el producto obtenido, llamado nixtamal, se lavó con agua para eliminar el exceso de hidróxido de cal y se secó por 72 horas en un secador solar; finalmente el grano se molió para obtener la harina de maíz.

3.2.2 Obtención de antocianina.

La obtención de antocianinas se realizo por medio de soluciones etanólicas en pH ácido y con temperaturas específicas de esta manera se utilizo una solución etanólica al 20%, pH 4, 90°C por 2 horas; que de acuerdo a lo realizado por Gorriti, y col [13], a estas condiciones es posible extraer hasta 47 mg de antocianinas por g de maíz.

3.2.3 Fermentación sólida.

Se realizó una fermentación sólida con Aspegillus sp. y olote previamente secado y triturado con el fin de disminuir el tamaño de partícula, llevando el residuo a una humedad del 80% con solución mineral. Debido a los residuos generados en cada subproceso de obtención de los productos, se realizó una fermentación sólida juntando todos residuos. Se secaron y se determinó el porcentaje de absorción de agua para calcular la cantidad de medio de cultivo adicionado. Se realizó una solución acuosa de esporas de Aspergillus sp ,crecido en agar papa dextrosa, se contó en cámara de Neubauer. De acuerdo al número de esporas, se adicionó el volumen necesario para obtener 1x105 esporas sembradas por gramo de residuo seco. En condiciones asépticas, se mezclaron el residuo y el medio de cultivo estériles con la solución de esporas, hasta homogeneizar lo más posible. Este material fue empacado en una columna de vidrio previamente acondicionada y esterilizada y se dejó incubar durante 15 dias hasta observar el crecimiento del hongo. Las muestras se mezclaron con 5 volúmenes de agua se agitaron durante 30 minutos y se centrifugaron, obteniendo los extractos enzimáticos (sobrenadante). A este sobrenadante se le determinó azúcares reductores por el método del DNS, proteína por el método de Biuret. Además se determinaron las actividades enzimáticas de enzimas hidrolíticas (celulasa, amilasa, pectinasa, xilanasa, inulinasa, invertasas) con el sustrato adecuado, utilizando diferentes curvas estándar con los monómeros respectivos de cada sustrato.

Diagrama de bloques del proceso

En la Figura 2 se muestran los procesos por los que se someterá la materia prima para su completo aprovechamiento y la obtención de los productos deseados.

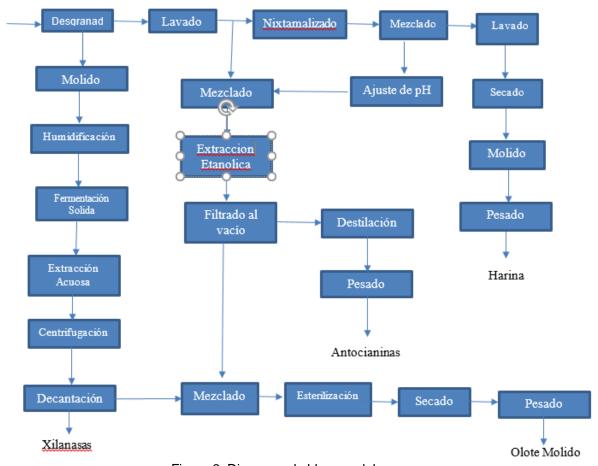


Figura 2. Diagrama de bloques del proceso

RESULTADOS

Caracterización de la materia prima

En la Tabla 2 se muestra la caracterización física del tamaño de la materia prima y en la Tabla 3 los porcentajes de grano y elote.

Tabla 2 Caracterización física del maíz azul.

Maiz Azul	Tamaño (cm)
Grano	1.229±0.344
Olote	13.562±2.569

La Tabla 3 presenta los resultados del análisis proximal; debido a que hay escasa bibliografía del maíz azul se compara con la composición del maíz blanco, podemos observar que el grano y el olote contienen un porcentaje parecido al de humedad y proteína, sin embargo la cantidad de lípidos y carbohidratos aunque difieren entre el olote y el grano del maíz azul son muy similares a los comparados bibliográficamente.

Tabla 3 Composición proximal del grano de maíz.

Componentes	Este trabajo,	maíz azul	Granos de maíz blanco, [14]		
químicos	Grano	Olote	Tabloncillo	Chalqueño	
Humedad (%)	17.063 ± 3.414	16.505±9.268	8.58 ± 0.31	8.29 ± 0.17	
Cenizas (%)	1.398 ± 0.07	2.080±0.087	1.63 ± 0.01	1.52 ± 0.03	
Lípidos (%)	2.88 ± 0.17	4.197±10.193	5.36 ± 0.04	4.91 ± 0.02	
Fibra cruda (%)	11.42 ± 1.26	33.116±9.392	-	-	
Proteína (%)	3.25	2.966	9.04 ± 0.23	9.04 ± 0.12	
Carbohidratos (%)	63.69	41.22	78.5 ± 0.95	82.9 ± 0.86	

Procesamiento de la materia prima

En la Tabla 4 los rendimientos obtenidos en base seca a partir de 1 kg de maíz azul.

Tabla 4 Rendimiento de los productos obtenidos por kg de maíz azul.

Productos	Rendimientos en base seca
Harina de maíz	570.6 g harina/kg maíz
Antocianinas	12 mg antocianinas/kg maíz
Proteína total	30.21 mg Proteína total/kg olote
Alimento para Ganado ¹	451.19 g de alimento para ganado/kg residuos

El rendimiento obtenido para la producción de antocianinas fue muy bajo con un 0.0018% disminuyendo así nuestra producción de harina de maíz debido a que de los 100 kg de maíz inicial 87.9 kg fueron de grano divididos en un porcentaje de 70 para la producción de harina y 30 para la producción de antocianinas. Sin embargo, los costos de venta de antocianinas en el mercado son altos debido al gran impacto que tiene la industria de belleza.

Según distintas bibliografías el maíz tiene altos rendimientos en cuanto a la producción de harina y tortillas teniendo así que de 25 kg de maíz se pueden obtener [15]:

☐ 436.2 kg de tortillas
☐ 24.9 kg de harina
☐ 14.5 kg de almidón o
☐ 14.9 kg de edulcorante o
☐ 9.4 lt. de etanol para gasolina y
☐ 5.1 kg de gluten forrajero al 20% y
☐ 1.3 kg de pasta de gluten al 60% y
☐ 0.730 kg de aceite de maíz

Los productos de la fermentación sólida pueden estar destinados a la obtención de proteína total o de enzimas hidrolíticas, para determinar el potencial de producción de estas enzimas se midió su actividad enzimática en sobrenadante. La Tabla 5 presenta las concentraciones de azúcares reductores y proteína soluble del extracto, a partir de las muestras obtenidas de la fermentación en el tiempo 0 y al final de la misma, se obtuvieron los resultados presentados en ambos tiempos de azúcares reductores, totales y proteína. Podemos observar que la cantidad de azucares aumento debido a la actividad metabólica presente por lo que podemos inferir que la fermentación solida con este producto es viable para la producción de enzimas.

Tabla 5 Evaluación de actividad enzimática de la fermentación solida

Parámetro (g/L)	Tiempo 0 h	Tiempo 15 días
Azúcares reductores	0.0165 ± 0.0004	0.111 ± 0.0359
Azúcares totales		4.218 ± 0.0195
Proteína intracelular		0.0144 ± 0.0043
Proteína extracelular	0.007416 ± 0.00130	0.0177 ± 0.0027

Con respecto a los resultados de las actividades enzimáticas, estas se presentan en la Tabla 6. Se midieron dichas actividades en el momento cero y al dia 15 de incubación a 50°C, por lo que se puede corroborar que la materia prima es perfecta para la producción de enzimas siendo las pectinasas e invertasas las que tienen el mayor rendimiento en estas condiciones.

Tabla 6 Actividades enzimáticas de los extractos proteicos crudos de la fermentación.

	Actividad enzimática, UI				
Enzima	Tiempo 0 h	Tiempo 15 días			
Celulasa	0.0429 ± 0.0149	0.0380±0.0026			
Amilasa	0.0309 ± 0.01518	0.04537 ± 0.0194			
Pectinasa	0.0758 ± 0.0087	0.1117 ± 0.0103			
Xilanasa	0.0563 ± 0.01819	0.0685 ± 0.0346			
Inulinasa	0.0276 ± 0.01739	0.0109 ± 0.0019			
Invertasa	0.0408 ± 0.0187	0.2880 ± 0.0124			

CONCLUSIONES

En general, el maíz azul se mantuvo en dentro del promedio general en su composición química proximal comparado a otras variedades ya estudiadas, presenta una pequeña diferencia en cuanto un aumento de humedad y una disminución de proteína comparada con el maíz blanco que es más consumido en la actualidad además el maíz azul presenta un alto contenido de fibra y carbohidratos, se observan diferencias con el maíz blanco que es más consumido en la actualidad. El rendimiento en cuanto a la producción de harina de maíz es elevado obteniendo pocos residuos como es el olote que tiene un excelente rendimiento en cuanto la producción de proteína total. Por su parte, el alimento para ganado represento una excelente alternativa en el aprovechamiento de los residuos. A pesar de la baja producción de antocianinas, tienen un gran impacto debido a la introducción del concepto de alimento funcional, que ha surgido para referirse a aquellos alimentos, que, por su contenido de sustancias antioxidantes y nutrimentales se vuelven tractivos al público. Por lo tanto, implementar una biorrefinería para el maíz azul es una buena alternativa para aprovecharlo integralmente y darle no sólo un valor agregado si no también fomentar su cultivo y desarrollo sustentable. Cabe mencionar que la utilización de residuos de maíz azul funciona de manera favorable como sustrato en fermentaciones sólidas para la producción de enzimas de interés comercial ya que tiene un alto contenido de carbohidratos y otros nutrientes que favorecen el crecimiento de microorganismos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. A. Castañeda-Sánchez, "Propiedades nutricionales y antioxidantes del maíz azul (Zea mays L.)", Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos, Vol. 5, 2, 2011, pp. 75-83.
- Y. Salinas Moreno, J. Soria Ruíz y E. Espinosa Trujillo (2010); Aprovechamiento y distribución de maíz azul en el Estado de México; SAGARPA.
- 3. M. Goodman y R. McK Bird. (1977). The races of maize IV: Tentative grouping of 219 Latin American races. Economic Botany 31:204-221.
- 4. F. Betrán, Bockholt, y L. Rooney (2001). Blue corn In: specialty corns. Hallauer, A. R. (ed). lowa State University. Ames Iowa, USA. pp. 293-337
- 5. Academia de Ciencias de Morelos (2015) Maíces pigmentados: sabrosos, bonitos y saludables ed. Acmor.
- 6. D. Marcano y M. Hasegawa (2002). Fitoquimica Organica. Universidad Central de Venezuela: Torino.
- A. Córdoba, F. Delgado y G. Toriz, (2010). Generación de compuestos orgánicos en el olote, mediante la oxidación en húmedo. Investigación, Biodiversidad y Desarrollo, 29, 186 -200
- 8. Norma Mexicana NMX-F-066-S-1978. Determinación de cenizas en alimentos. Secretaria de comercio y fomento industrial dirección general de normas. Diario Oficial de la Federación de 7 abril 1961.
- Norma Mexicana NMX-F-068-S-1980. Determinación de proteínas. Dirección general de normas. 4 agosto 1980.
- 10. Norma Mexicana NMX-F-083-1986. Determinación de humedad en productos alimenticios. Dirección general de normas.
- 11. Norma Mexicana NMX-F089-S-1978. Determinación de extracto etéreo (método Soxhlet) en alimentos. Dirección general de normas. Diario Oficial de la Federación de 7 abril 1961.
- 12. Norma Mexicana NMX-F-090-S1978. Determinación de fibra cruda en alimentos. Dirección general de normas. Diario Oficial de la Federación de 7 abril 1961.
- A. Gorriti, F. Quispe, J. Arroyo, A. Córdoba, B. Jurado, I. Santiago, & E. Taype, (2009). Extracción de antocianinas de la corontas de Zea Mays L. "Maíz morado". Ciencia e investigación, 64-74.IDAE. 2010. Plan de acción nacional de energías renovables de España (PANER) 2011 - 2020.

- 14. E. Agama-Acevedo, Y. Salinas-Moreno, G. Pacheco-Vargas y L. Bello-Pérez, (2011) Caracterisitcas físicas y químicas de dos razas de maíz azul: Morfología del almidón; Revistas de ciencias Agrícolas.
- 15. SAGARPA (2009) El Sistema Producto Maíz en Michoacán Bases y Estrategias para Mejorar su Competitividad

FRECUENCIA DE MASTITIS Y AGENTES ETIOLÓGICOS EN ESTABLOS LECHEROS DE TRES REGIONES DEL ESTADO DE JALISCO

José Alberto Camacho Palafóx, Hugo Castañeda Vazquez, Francisco Javier Padilla Ramírez, Martha Alicia Castañeda Vazquez, Erika Patricia Salas Castañeda

Programa de posgrado-MIPPE-UDG

Laboratorio de Mastitis y Diagnóstico Molecular CUCBA-UDG

Departamento de Producción Animal, CUCBA-UDG

RESUMEN

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria, ocasiona una disminución en la producción y calidad de la leche, considerándose como la enfermedad más frecuente y costosa del sector lácteo de todo el mundo.

El objetivo del trabajo fue determinar la frecuencia de mastitis y la presencia de agentes etiológicos asociados en establos lecheros de tres regiones del estado de Jalisco.

Se realizó un estudio transversal entre febrero y mayo del 2016 en el estado de Jalisco, en las regiones de Altos Norte, Altos Sur y Ciénega, seleccionándose 335 vacas de 27 establos con diferentes niveles de tecnificación, recolectando una muestra por cada cuarto, resultando un total de 1,325 muestras.

El diagnóstico de la mastitis subclínica se realizó mediante la prueba de California y para el crecimiento bacteriano se utilizó agar sangre.

Se obtuvo una frecuencia de mastitis en la región Altos Norte del 38.5 % a nivel de cuarto y del 64.5 % a nivel de vaca; en la región Altos Sur fue del 44.4 % a nivel de cuarto y del 71.4 % a nivel de vaca y en la región Ciénega del 51.8 % a nivel de cuarto y del 84.2 % a nivel de vaca.

Las muestras de leche de las tres regiones presentaron una mayor frecuencia de bacterias del género *Staphylococcus* spp, seguido del género *Streptococcus* spp.

La variación de la frecuencia de mastitis y de agentes etiológicos en las distintas regiones fue debida probablemente a la diferencia en la tecnificación de los establos que presenta cada zona.

INTRODUCCIÓN

La mastitis es definida como la inflamación de la glándula mamaria, causada principalmente por microorganismos (Bedolla *et al.*, 2007), siendo considerada como la enfermedad más frecuente y costosa del sector lácteo en todo el mundo (Halaza, 2007), ya que ocasiona una disminución en la

producción y calidad de la leche pudiendo provocar hasta el desecho del animal por pérdida de la funcionalidad de la glándula mamaria (Echeverri *et al.*, 2010).

Aunque se han encontrado alrededor de 137 microorganismos en la vaca afectada con mastitis, sólo un grupo reducido de patógenos son los responsables de la mayoría de los casos (Wolter *et al.*, 2004). Un género que asume una gran importancia es el *Staphylococcus* spp, ya que las bacterias pertenecientes a este género expresan factores de patogenicidad que permiten su persistencia y la diseminación en el huésped (Marqués *et al.*, 2013).

Staphylococcus aureus es considerado uno de los principales agentes causantes de mastitis en el ámbito mundial (El-Sayed, 2006), con una frecuencia de casi el 30% de muestras de vacas con mastitis (Calderón y Rodríguez, 2008), a este patógeno se le atribuyen propiedades invasivas y factores extracelulares como la producción de toxinas (Vasconcelos, 2011).

Jalisco es el primer productor de leche a nivel nacional, en las regiones de Altos Norte, Altos Sur y Ciénega se localizan los municipios más importantes en la producción de leche de vaca del estado, la producción de estas tres regiones representa alrededor de ¾ partes de la producción estatal (SIAP, 2014), las explotaciones lecheras en el estado presentan una gran diversidad ya que van desde explotaciones muy tecnificadas hasta las de subsistencia llamadas de "lechería familiar" (SAGAR., 1999).

El objetivo del trabajo fue determinar la frecuencia de mastitis y la presencia de agentes etiológicos en las tres regiones de mayor importancia lechera del estado de Jalisco.

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó un estudio transversal entre febrero y mayo del 2016, las muestras se obtuvieron de 10 municipios pertenecientes a las tres regiones con mayor índice de producción de leche de vaca del estado de Jalisco.

Mediante un muestreo representativo al azar se seleccionaron 335 vacas de 27 establos de las regiones de Altos Norte, Altos Sur y Ciénega del estado de Jalisco. Tomándose una muestra por cada cuarto funcional, dando un total a 1,325 muestras (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución del muestreo en tres regiones del estado de Jalisco.

Región	Municipios	Establos	Vacas	Cuartos	Nivel de tecnificación de los establos
Altos norte	Encarnación de Díaz	4	53	212	3 Familiares
	Lagos de Moreno	4	46	182	7 Semitecnificados
	San Juan de los	5	67	263	3 Tecnificados
	Lagos				
	Total	13	166	657	
Altos Sur	Acatic	1	12	46	4 Familiares
	Arandas	2	22	88	3 Semitecnificados
	San Miguel el alto	3	40	160	2 Tecnificados
	Tepatitlán de Morelos	3	38	150	
	Total	9	112	444	
Cienega	Atotonilco el Alto	2	16	64	3 Familiares
	La Barca	1	15	59	2 Semitecnificados

Tototlán	2	26	101	0 Tecnificados
Total	5	57	224	
Suma total	27	335	1,325	10 Familiares
				12 Semitecnificados
				5 Tecnificados

Se procedió para el diagnóstico de la mastitis clínica mediante la identificación visual de las alteraciones en la glándula mamaria y la leche y el diagnóstico de la mastitis subclínica se realizó utilizando la prueba de California.

La frecuencia de mastitis se obtuvo de cuartos individuales y a nivel de vaca se consideró positiva desde un solo cuarto con cualquier grado de mastitis.

Para la identificación bacteriana se realizaron las siembras de todas las muestras en agar sangre independientemente del resultado de la prueba de California, se identificó el género de las bacterias por medio de la tinción de Gram y características propias de la colonia (morfología, tamaño, textura, olor y color), además de pruebas bioquímicas para identificar algunas especies presentes en la leche.

La frecuencia de mastitis subclínica y clínica se obtuvo con un intervalo de confianza del 95 %.

El nivel de tecnificación que presentaban las explotaciones lecheras muestreadas fue representativo al tipo de establo de cada región, por lo que mediante una encuesta detallada y con base a la observación y el análisis de la información se clasificaron en: Tecnificado, semitecnificado y familiar.

Para el análisis de la información, frecuencia de la mastitis y la presencia de agentes etiológicos se generaron gráficas de frecuencia.

RESULTADOS

La región Altos Norte obtuvo una frecuencia general de mastitis por animal del 64.5% (IC $_{95\%}$ 57.2 a 71.8). A nivel de cuarto la frecuencia fue del 38.5% (IC $_{95\%}$ 34.8 a 42.2) de la cual la mastitis clínica representó el 1.8 % (IC $_{95\%}$.78 a 2.81) y la mastitis subclínica del 36.7% (IC $_{95\%}$ 33.0 a 40.4).

La región Altos Sur obtuvo una frecuencia general de mastitis a nivel de vaca del 71.4% (IC $_{95\%}$ 63.0 a 79.8). A nivel de cuarto la frecuencia fue del 44.4% (IC $_{95\%}$ 39.7 a 49.0), de la cual la mastitis clínica representó el 2.9% (IC $_{95\%}$ 1.3 a 4.5) y la mastitis subclínica del 41.5% (IC $_{95\%}$ 36.9 a 46.0)

La región Ciénega presentó una frecuencia de mastitis a nivel de vaca del 84.2% (IC $_{95\%}$ 74.7 a 93.7). A nivel de cuarto la frecuencia fue del 51.7% (IC $_{95\%}$ 45.2 a 58.2), de la cual la mastitis clínica representó el 2.2% (IC $_{95\%}$ 0.3.a 4.1) y la mastitis subclínica del 49.5% (IC $_{95\%}$ 43.0 a 56.0).

La distribución de la mastitis en las distintas regiones fue notoria, obteniendo una mayor frecuencia de mastitis subclínica en establos de la región Ciénega, la región Altos Sur mostró la más alta frecuencia clínica, mientras que en la región Altos Norte obtuvo los niveles más bajos tanto de frecuencia clínica como de la subclínica (Figura 1).

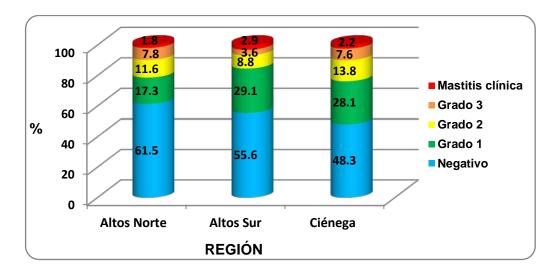


Figura 1. Distribución de la frecuencia de mastitis en establos de tres regiones del estado de Jalisco

Las muestras de leche cultivadas presentaron los siguientes resultado; se obtuvo una mayor frecuencia de bacterias del género *Staphylococcus* spp, representando el 27% del total de las muestras.

La región Altos Norte presento una menor frecuencia de *S. aureus*, estafilococos coagulasa negativos y de *Streptococcus* spp, así como una mayor cantidad de cuartos sin crecimiento. La región Ciénega mostro la mayor frecuencia de *S. aureus*, estafilococos coagulasa negativos y de *Streptococcus* spp (Figura 2).

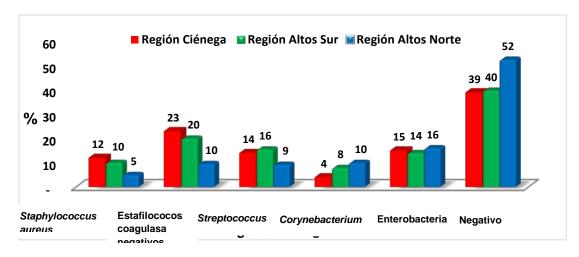


Figura 2. Frecuencia de la presencia de bacterias asociadas a mastitis en establos de tres regiones del estado de Jalisco

CONCLUSIONES

Las diferencias en la frecuencia de mastitis y la presencia de agentes etiológicos que se identificaron entre las tres regiones, probablemente se da por la diferencia en la tecnificación de los establos que presenta cada región, ya que la región de los Altos Norte se caracteriza por una mayor tecnificación y presento una menor frecuencia de mastitis así como una menor frecuencia de agentes etiológicos patógenos, seguido por la región Altos Sur y con una menor tecnificación la región Ciénega, la cual presentó una mayor frecuencia de mastitis subclínica además de una mayor aparición en el cultivo de *S. aureus* y *Streptococcus* spp.

BIBLIOGRAFÍA

- Bedolla, C.C., Castañeda, V.H., and Wolter, W., 2007. Métodos de detección de mastitis bovina. Rev Electrón Vet. 8: 1-17.
- 2. Echeverri, J. J., Jeramillo, M. G., y Restrepo, L. F., 2010. Evaluación comparativa de dos metodologías de diagnóstico de mastitis en un hato lechero del departamento de Antioquía. *Rev.Lasallista investig.7:*49-57.
- 3. El-Sayed, A., Alber, J., Lämmler, C., Jäger, S., Wolter, W. and Castañeda-Vazquez, H. 2006. Comparative study on genotypic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and subclinical mastitis in Mexico. *Vet. Mex.*37:165-179.
- 4. Halaza.T., Huijps. K., Osteras. O. andHogeveen, H., 2007. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management. *VetQuart*. 29:18-31.
- Marqués, V.F., De Souza, M. M. S., Mendonça, E.C.L., Alencar, T.A., Pribul, B. R., Coelho, S. M.O., Lasagno, M. e Reinoso, E.B., 2013. Análise fenotípica e genotípica da virulência de *Staphylococcus* spp. e de suadispersãoclonal como contribuição ao estudo da mastite bovina. *Pesq. Vet. Bras.* 33: 161-170.
- 6. SAGAR. 1999. Situación Actual y Perspectivas de la Producción de Leche de Ganado Bovino en México, 1990-2000. México. pp: 9-11.
- SIAP (Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera) 2015. Leche de bovino, leche de caprino y huevo (producción, precio y valor). Disponible en la Web: http://infosiap.siap.gob.mx/anpecuario_siapx_gobmx/indexmpio.jsp
- 8. Vasconcelos, N. P. 2011. Molecular detection of enterotoxins E, G, H and I in *Staphylococcus aureus* y coagulase-negatives staphylococci isolated from clinical samples of netborns in brazil. *Appl Microbiol*.111(3): 749 -762.
- 9. Wolter, W., Castañeda, H., Kloppert, B. and Zschock, M. 2004. Mastitis Bovina. Ed., *Editorial Universitaria*. p 18, 45, 47 y 48.

OPERACIÓN INTEGRAL DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS

Elizabeth Margarita Silva Rodriguez, Francisco Javier Manriquez Rojas, Maribel Quezada Cruz, Porfirio Raúl Galicia García.

Universidad Tecnológica de Tecamac, Km. 37.5 Col. Sierra Hermosa, Tecamac Estado de México. *ibqelizabeth@hotmail.com

RESUMEN

En la Planta de Tratamiento de Agua Residual Sierra Hermosa (PTAR-SH), ubicada en el parque estatal Sierra Hermosa de Tecámac Estado de México, se lleva a cabo un proceso biológico aerobio para el tratamiento de aguas residuales domésticas, cuyos productos son: agua tratada, que se reutiliza principalmente para riego de áreas verdes y como alimentación de la laguna artificial del mismo parque, y biosólidos. En este estudio se determinaron coliformes fecales, huevos de helminto y metales pesados, para agua tratada y biosólidos; además grasas y aceites, DBO y SST en agua, y Salmonella en biosólidos, con el objetivo de comprobar la eficiencia de los procesos de la PTAR-SH. Los muestreos se realizaron de acuerdo a la NMX-AA-003 y los análisis se realizaron de acuerdo a las normas NOM-001-ECOL-1996, NOM-003-ECOL-1997 y NOM-004-SEMARNAT-2002. En los resultados del análisis de agua se encontró que la cantidad de coliformes fecales y huevos de helminto superan los límites máximos permisibles especificados para el re-uso de contacto directo, a pesar de utilizar la cloración como método terciario; las concentraciones de metales pesados y las pruebas fisicoquímicas están dentro de especificación. Para los resultados de biosólidos se encontró que se clasifican en clase C. Debido al origen doméstico de las aguas residuales, los procesos para la remoción de contaminantes en agua son satisfactorios para re-uso de aqua de contacto ocasional. Aunque los biosólidos cumplen lo especificado, se puede mejorar la clase a excelente para poder disponerlos en usos urbanos, mejorando el tratamiento de estabilización o complementando con un tratamiento químico.

INTRODUCCION

Las aguas residuales de origen doméstico son las que se generan luego de su paso por la actividad humana, contaminándose principalmente con materia orgánica, microorganismos, sólidos provenientes de excrementos, orinas y residuos de la cocina y del aseo, tales como aceites, grasas, restos de comida, detergentes y otros. Estas aguas son peligrosas, debido a la posible presencia de una alta población de microorganismos patógenos. Las bacterias, patógenas y no patógenas, descomponen la materia orgánica mediante procesos de hidrolisis, reducción y oxidación. La composición de este tipo de aguas residuales es de 99 % de agua y 1 % de sólidos, en suspensión y solución. Estos sólidos pueden clasificarse en orgánicos e inorgánicos. Los sólidos orgánicos se pueden clasificar en nitrogenados y no nitrogenados, los nitrogenados son proteínas, ureas, aminas y aminoácidos; los no nitrogenados son principalmente celulosa, grasas y jabones. Los sólidos inorgánicos están formados principalmente por nitrógeno, fósforo, cloruros, sulfatos, carbonatos, bicarbonatos y algunas sustancias tóxicas como los métales pesados: arsénico, cadmio, cromo, cobre, mercurio, plomo y zinc.

El agua residual puede originar problemas medioambientales, la presencia de materia orgánica junto con nutrientes puede provocar alteraciones en la microbiota de un sistema, llegándose a producir eutrofización del medio. La presencia de sustancias tóxicas pueden llegar a causar daños

a los seres humanos (Osorio et al., 2010). Dichos efluentes se deben recolectar y trasladar a un centro de tratamiento en el que se procesen para permitir su retorno al ambiente, sin efectos perjudiciales para la salud humana y el ecosistema.

TEORIA

Contaminantes del agua

Contaminantes de tipo químico son las grasas y aceites, conjunto de sustancias pobremente solubles que se separan de la porción acuosa y flotan formando natas, películas y capas iridiscentes sobre el agua. El parámetro de grasa y aceites incluye ceras, ésteres de cadena larga, compuestos con cadenas largas de hidrocarburos. Estos compuestos pueden ser hidrolizados en ácidos grasos y alcoholes por acción bacteriana. Las grasas y aceites afectan la transferencia de oxígeno en el proceso de tratamiento biológico aerobio.

En aguas residuales y lodos, se hace la determinación de sólidos volátiles y sólidos fijos para obtener una medida de la cantidad de materia orgánica presente; los sólidos suspendidos totales, sólidos suspendidos volátiles y sólidos sedimentables son parámetros de control de proceso, cuando el tratamiento es biológico. Sin embargo, es la demanda bioquímica de oxígeno la determinación para cuantificar correctamente la materia orgánica; la medida supone la cantidad de oxígeno consumido por organismos vivos en la utilización de la materia orgánica presente en un residuo. En aguas residuales domésticas, el valor de la DBO a 5 días representa en promedio un 65-70 % del total de la materia orgánica oxidable.

El análisis bacteriológico del agua es vital en la prevención de epidemias como resultado de la contaminación del agua, especialmente del grupo coliforme. Éste último incluye bacterias de forma bacilar, aerobias y facultativas anaerobias, Gram-negativas, no formadoras de esporas y con la capacidad de fermentar la lactosa, con formación de gas. La presencia de estos organismos en agua es evidencia de contaminación fecal; en aguas residuales se encuentran en promedio 10^6 Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Los parásitos que son patógenos para el hombre se clasifican en dos grupos: los protozoos y los helmintos. Los protozoos son organismos unicelulares cuyo ciclo de vida incluye una forma vegetativa (trofozoito) y una forma resistente (quiste). Los huevos de helminto son un grupo de organismos que incluye los nematodos, trematodos y cestodos. Las características epidemiológicas que hacen de los helmintos patógenos entéricos causantes de infección por contacto con agua contaminada, son su alta persistencia en el medio ambiente, la mínima dosis infecciosa, la baja respuesta inmune y la capacidad de permanecer en el suelo por largos periodos de tiempo. En el estudio de los huevos de helminto se utiliza como parásito indicador a *Ascaris lumbricoides* (CYTED, 2003).

Los metales pesados están presentes naturalmente en los suelos, éstos se añaden frecuentemente al agua residual en el curso de ciertas actividades comerciales e industriales (Giuffré et al.,2005). Normalmente no aparecen en las aguas residuales domésticas (Metcalf y Eddy, 1995). Se considera metal pesado aquel elemento que tiene una densidad igual o superior a 5 g /cm³ cuando está en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20, excluyendo los metales alcalinos y alcalino-térreos (García y Dorronsoro, 2005), aunque en esta definición encajan también elementos esenciales para las plantas como Fe, Cu, Mn, Zn u otros esenciales para los animales como Co, Cr o Ni (Mendoza, 2006). Los elementos As y Se, se consideran como metaloides pero por su efecto contaminante se incluyen dentro de los metales pesados. Estos contaminantes no son biodegradables y pueden acumularse en órganos vitales del cuerpo humano, produciendo efectos tóxicos progresivos (Queirolo et al., 2000). Entre las principales

fuentes de emisión de los metales de mayor preocupación en México se tiene: Mercurio, Plomo y Cadmio (INECC, 2009).

Plantas de tratamiento de aguas residuales

Al cierre de 2012 el registro de plantas de tratamiento de aguas residuales en operación en el país fue de 2,342 instalaciones, con una capacidad instalada de 140 142.08 l/s y caudal tratado de 99 750.23 l/s. Los procesos principales son lagunas de estabilización 31%, lodos activados 30%, UASB (RAFA: Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente) 8%, fosa séptica 4%, fosa séptica y humedal 4% y otros 23% (reactor enzimático, humedales, proceso anaerobio, tanque Imhoff, filtro biológico, laguna aireada, sedimentación, biológico, zanjas de oxidación, tanque de oxidación, biodiscos, proceso aerobio o combinación de alguno de estos) (CONAGUA, 2012); ver Figura 1.

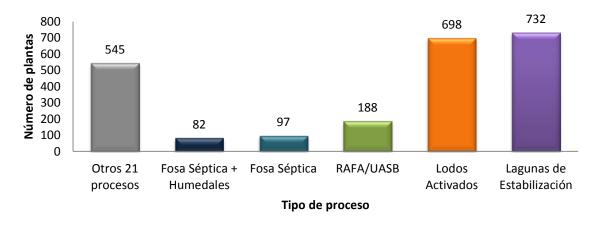


Figura 1. Procesos en el tratamiento de aguas residuales en México.

Algunas características de los procesos más comunes utilizados en el tratamiento de agua se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Procesos de tratamiento de aguas residuales más comunes

Proceso de Tratamiento	Característica
Lagunas de estabilización	Sencillos de operar y mantener. Son estanques con una extensa área superficial y gran volumen. Largo tiempo de proceso.
Lodos activados	Debido a la biomasa suspendida de aireación extendida se requieren equipos de aireación prolongada. Los microorganismos transforman los contaminantes biológicos en biomasa, dióxido de carbono y agua, además de eliminar compuestos como el amonio y otros compuestos nitrogenados.
Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente	Tanques que operan en régimen continuo y en flujo ascendente. En el reactor existen: zona de lecho de lodos, zona de dispersión de microorganismos y zona de separación gas-líquido-sólido. El tratamiento produce metano y dióxido de carbono.
Fosa séptica	Diseñado y construido para recibir las descargas de aguas residuales domiciliarias. Separa parcialmente los sólidos suspendidos, digiere una fracción de la materia orgánica presente y retiene temporalmente los lodos, natas y espumas generadas (NOM-006-CNA-1997).
Humedal	Son tierras que se inundan de manera permanente o intermitentemente, originando un ecosistema híbrido acuático-terrestre. La remoción de contaminantes se da por interacciones sustrato (arena, grava, arcilla) raíces y rizomas de vegetación

emergente (IMTA, 2014)

Estadísticas en 2014 reportan que se generaron 228.74 m³/s de aguas residuales, de las que se colectaron 210.99 m³/s y se trataron 111.25 m³/s, a nivel nacional (SEMARNAT, 2014); del total de municipios y delegaciones sólo en 692 se da algún tratamiento al agua residual para reutilizarla, esto equivale al 37%. De 1940 plantas de tratamiento de aguas residuales que operan a nivel nacional, 112 están en el Estado de México distribuidas en 57 de los 125 municipios, con una capacidad instalada de 7.53 m³/s y 5.16 m³/s de volumen de operación (INEGI, 2016).

En el municipio de Tecámac existen seis plantas de tratamiento para las aguas residuales domésticas, las cuales son administradas por el Organismos Descentralizado de Agua Potable Alcantarillado y Saneamiento de Tecámac; la operación es mediante *lodos activados*. La capacidad instalada en conjunto es de 521 l/s y solo se tratan 338 l/s, lo que representa el 65% de efectividad de las plantas. El agua tratada en la gran mayoría es utilizada por los ejidatarios para el riego de parcelas y en menor cantidad para el riego de áreas verdes dentro del municipio. (Plan de Desarrollo Municipal de Tecámac 2016 - 2018).

El tratamiento mediante lodos activados es un proceso con alta concentración de microorganismos, básicamente bacterias, protozoos y hongos, presentes en forma de conglomerados sueltos de partículas finas que se mantienen es suspensión por agitación. Además de remover la materia orgánica, se lleva a cabo el proceso de biosorción de metales pesados y otros componentes de estructuras químicas complejas (Rajasulochana y Preethy, 2016). Debido a que no existe un método para tratar la mayoría de los contaminantes en un solo paso, es importante, para el medio ambiente y seres vivos, corroborar la eficiencia de los procesos del tratamiento de aguas residuales y de disposición de lodos agotados.

Posterior al uso de lodos activados, una vez que éstos han perdido su eficiencia, son retirados del proceso y estabilizados por diversos procedimientos hasta obtener los biosólidos. Debido a que estos residuos sólidos contienen gran variedad de microorganismos, es importante asegurar que el proceso químico o de secado que se utilice disminuya la cantidad de parásitos y patógenos como Salmonella sp. y coliformes fecales además de descartar la concentración de metales pesados, de acuerdo a normatividad oficial.

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó muestreo de agua tratada, biosólidos, agua de la laguna y sedimento de la laguna de la PTAR-SH. El muestreo y los análisis microbiológicos, fisicoquímicos y de metales, para agua tratada, se realizaron en base a las NMX-AA-004, NMX-AA-005, NMX-AA-028, NMX-AA-042 y NMX-AA-051.

Los resultados se analizaron de acuerdo con la NOM-003-ECOL-1997 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. El muestreo y análisis microbiológicos y de metales pesados se realizaron de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002 Protección ambiental. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final (ver Figura 2).

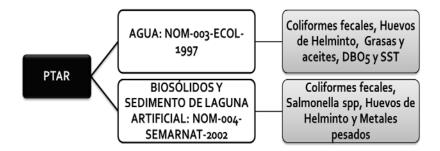


Figura 2. Descripción de análisis realizados en agua y biosólidos de la PTAR-SH En la Tabla 2 se muestran los límites máximos permitidos (LMP) de contaminantes en agua residual tratada, promedio mensual, establecidos en la NOM-003-ECOL-1997.

Tabla 2. Límites máximos permitidos de contaminantes en agua residual tratada.

Tipo de reuso	Coliformes fecales (NMP/100ml)	Huevos de helminto (h/l)	Grasas y aceites (mg/l)	DBO5 (mg/l)	SST (mg/l)
Servicios al público con contacto directo	240	<u>< 1</u>	15	20	20
Servicios al público con contacto indirecto u ocasional	1000	<u><</u> 5	15	30	30

La norma además específica que:

- La materia flotante debe estar ausente
- ➤ El agua residual tratada reusada en servicios al público, no deberá contener concentraciones de metales pesados y cianuros mayores a los LMP establecidos en la NOM-001-ECOL-1996 (Tabla 3).

Tabla 3. Límites máximos permitidos de metales pesados en agua tratada reusada en servicios al público.

p					
Parámetros (mg/l)	Embalses Naturales y artificiales. Uso público urbano				
	Promedio mensual	Promedio diario			
Arsénico	0.100	0.20			
Cadmio	0.100	0.20			
Cobre	4.000	6.00			
Cromo	0.500	1.00			
Mercurio	0.005	0.01			
Níquel	2.000	4.00			
Plomo	0.200	0.40			
Zinc	10.000	10.00			
Cianuro	1.000	2.00			

Los parámetros a controlar en los biosólidos se describen en la tabla 4 para metales pesados y en la tabla 5 para patógenos y parásitos, establecidos en la NOM-004-SEMARNAT-2002

Tabla 4. Límites máximos permitidos para metales pesados en biósolidos.

Contaminante	Clasificación del biosólido			
(mg/l)	Excelentes	Buenos		

	(mg/Kg en base seca)	(mg/Kg en base seca)
Arsénico	41	75
Cadmio	39	85
Cromo	1200	3000
Cobre	1500	4300
Plomo	300	840
Mercurio	17	57
Níquel	420	420
Zinc	2800	7500

Tabla 5. Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos presentes en biosólidos y lodos.

Clase	Coliformes fecales	Salmonella spp	Huevos de helminto
	(NMP/g en base seca)	(NMP/g en base seca)	(h/g en base seca)
Α	<1000	<3	<1viables
В	<1000	<3	<10
С	<2000 000	<300	<35

RESULTADOS

Resultados del agua residual y agua de la laguna artificial

En la Tabla 6 se presentan los resultados de agua tratada y agua de la laguna artificial, con lo especificado en normas.

Tabla 6. Resultados de los análisis de agua tratada y agua de la laguna de la PTAR-SH

Parámetro	Especificaciones de la NOM-003-ECOL-1997 y NOM- 001-ECOL-1996		Agua tratada de la PTAR-SR	Agua de la Laguna del parque SR
Coliformes fecales	<240	D	>240	>240
(NMP/100ml)	<1000	0	>240	<i>></i> 240
Huevos de helminto	<u><</u> 1	D	4	400
(h/l)	<u><</u> 5	0	4	400
Grasas y aceites (mg/l)	15	D	8.70	8.00
Grasas y aceites (mg/i)	15	0	0.70	6.00
DBO ₅ (mg/l)	20	D	4.40	28.00
DBO ₅ (IIIg/I)	30	0	4.40	26.00
SST (mg/l)	20	D	13.10	21.36
331 (IIIg/I)	30	0	13.10	21.50
Arsénico (mg/l)	0.1	PM	nd	nd
Cadmio (mg/l)	0.1	PM	0	0
Cianuro (mg/l)	1	PM	Nd	nd
Cobre (mg/l)	4	PM	0.0090	0.0077
Cromo (mg/l)	0.5	PM	0	0
Mercurio (mg/l)	0.005	PM	Nd	nd
Níquel (mg/l)	2	PM	0.0050	0.0140
Plomo (mg/l)	0.2	PM	0.0520	0.0163
Zinc (mg/l)	10	PM	0.1600	0.1900

*nd: no determinado, D: uso del agua en servicios de contacto directo, O: uso de agua en servicios de contacto ocasional, PM: promedio mensual

De los resultados analizados se puede observar lo siguiente:

- Los coliformes fecales superan el LMP, tanto en agua tratada como la de la laguna.
- El agua tratada que será utilizada para servicios de contacto directo se trata con cloro para disminuir la presencia de coliformes fecales.
- Existe presencia de huevos de helminto en cantidad superior a lo permitido, tanto en agua tratado como en agua de la laguna. Existe evidencia de una mayor concentración de huevos de helminto hace siete años, con la identificación de Taenya (60%), Ascaris(30%) y Hymenolepis (10%), indicadores de contaminación por parásitos. (Domínguez G. O., 2009)
- Respecto a las pruebas fisicoquímicas, las cantidades de grasas y aceites así como sólidos suspendidos totales están dentro de los LMP. La DBO obtenida muestra mínima concentración y también está dentro de los LMP.
- Debido a que el agua residual que se trata en la PTAR-SR es de tipo doméstica se tiene que la presencia de metales pesados es mínima, siendo no detectable para cadmio y cromo. Arsénico, mercurio y cianuros no fueron determinados.

Resultados de los biosólidos

Para caracterizar a los biosólidos (la NOM-004-SEMARNAT-2002) primero se determina que la presencia de metales pesados esté dentro los LMP, para proceder al análisis de patógenos y parásitos. En la tabla 7 se muestran los resultados respecto a la pre-clasificación de lodos en excelentes y buenos. En este criterio, tanto los biosólidos como el sedimento de la laguna son de calidad excelente, los metales pesados se encuentran muy por debajo de los LMP.

Tabla 7. Resultados de análisis de metales pesados en biosólidos y en sedimento de la laguna.

iiu.				
Parámetro	Especificaciones de la NOM- 004-SEMARNAT-2002			Sedimento
Metales			Biosólidos	de
(mg/kg en base	Excelente	Bueno		Laguna
seca)				
Arsénico	41	75	Nd	nd
Cadmio	39	85	0.44900	0.54405
Cromo	1200	3000	3.624	6.177
Cobre	1500	4300	9.1470	10.3372
Plomo	300	840	0.00	0.00
Mercurio	17	57	Nd	nd
Níquel	420	420	12.69600	13.44705
Zinc	2800	7500	104.7730	106.0192

*nd: no determinado

El promedio de diferencias de metales en biosólidos y metales en sedimento de la laguna no es significativo (a un nivel del confianza de 0.05 con estadístico de prueba t), aun cuando el promedio en el sedimento sea ligeramente mayor; este estudio debe continuar realizándose para detectar cualquier acumulación de metales en el agua o sedimentos de la laguna.

Una vez realizada la caracterización de biosólidos y sedimentos en base al criterio de detección de metales pesados, se procede al análisis por clase, en base a la detección de patógenos y parásitos. En la Tabla 8 se comparan los resultados con los biosólidos Clase A, B y C.

Parámetro	Especificaciones of	Especificaciones de la NOM-004-SEMARNAT-2002				
Patógenos y parásitos	Clase A	Clase B	Clase C	Biosólidos		
Coliformes fecales (NMP/g en base seca)	<1000	<1000	<2000 000	2530		
Salmonella spp. (NMP/g en base seca)	<3	<3	<300	2		
Huevos de helminto (h/g en base seca)	<1viables	<10	<35	2		

Tabla 8. Análisis de patógenos y parásitos en biosólidos y en sedimento de la laguna.

De esto se desprende que:

- La presencia de metales pesados está muy por debajo de los límites máximos, se pueden considerar de calidad excelente. No existen resultados para arsénico y mercurio. Plomo no fue detectado.
- ➤ Debido a que existen 2530 NMP/g en base seca de coliformes fecales, los biosólidos no pueden ser caracterizados como de Clase A o B, aunque se reporten solo 2 NMP de Salmonella spp./g y 2 huevos de helminto por gramo, en base seca. Los biosólidos tipo C se pueden aprovechar para usos forestales, mejoramientos de suelos y usos agrícolas.
- Aunque existe presencia de coliformes fecales y huevos de helminto en el agua tratada en a la PTAR, los procesos de estabilización de los lodos generados que se llevan a cabo en la PTAR-SH disminuyen dichas concentraciones.

CONCLUSIONES

El agua tratada tiene una eficiencia de degradación cuyos parámetros fisicoquímicos y presencia de metales cumplen con lo establecido por las normas de la Comisión Nacional del Agua. Siendo aguas residuales de origen doméstico, la presencia de metales está dentro de los límites establecidos.

La presencia de coliformes fecales y huevos de helmintos, por encima de la norma, indican contaminación o un proceso de tratamiento deficiente; el uso de cloración es un proceso complementario antes de reutilizar el agua en uso público urbano.

Cuando el agua tratada es descargada a la laguna artificial del mismos parque, se debe considerar que es agua estancada con las condiciones ambientales adecuadas para el desarrollo de parásitos y patógenos, por lo que es importante el seguimiento continuo de acuerdo a la NOM-001-ECOL-1996, pues aunque la laguna no es natural y no existe contacto con personas, es un bien de la Nación.

Por otro lado, los biosólidos son clasificados como de clase C debido a la concentración de coliformes fecales y huevos de helminto viables, sin embargo estas cantidades pueden minimizarse mejorando el tratamiento de estabilización o complementándolo con un tratamiento químico.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. CONAGUA (2012). Inventario Nacional de Plantas Municipales de Potabilización y de Tratamiento de Aguas Residuales en Operación, Diciembre 2012.
- 2. CYTED (2003). Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua. Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales

- domésticas. Capítulo 20 Indicadores de contaminación fecal en aguas. Argentina. Encontrado en: http://tierra.rediris.es/hidrored/ebooks/ripda/pdfs/Capitulo 20.pdf
- Domínguez G. O. (2009). Determinación de huevos de helminto en la laguna del parque estatal Sierra Hermosa. Reporte Técnico para para obtener el título de Técnico Superior Universitario en Biotecnología. UTTec. Estado de México. Págs 45.
- García, I. y Dorronsoro C. (2005). Contaminación por metales pesados. En: Tecnología de suelos. Departamento de Edafología y Química Agrícola, Universidad de Granada, Granada, España.
- 5. Giuffré, L., Ratto S., Marbán L., Schonwald J. y Romaniuk R. (2005). Riesgo por metales pesados en horticultura urbana. Ciencia del Suelo 23(1), 101-106.
- 6. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, IMTA (2014) Sistemas de humedales para el manejo, tratamiento y mejoramiento de la calidad del agua. Memorias de la Segunda Conferencia Panamericana en Sistemas de Humedales para el manejo, tratamiento y mejoramiento de la calidad del agua. Morelia, Michoacán, México.
- 7. Metcalf y Eddy (1995). Ingeniería de aguas residuales. Mc. Graw-Hill.
- 8. Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. DOF.
- Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997 Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. DOF.
- Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 Protección ambiental. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. DOF.
- 11. Norma Oficial Mexicana NOM-006-CNA-1997. Fosas sépticas prefabricadas. Especificaciones y métodos de prueba.
- 12. Osorio, F., Torres, J. C. y Sánchez, M. (2010). Clasificación de Agua Residual. *Tratamiento de aguas para la eliminación de microorganismos y contaminantes*. Madrid, España: Ediciones Días de Santos, (pp. 25-29)

CONTRIBUCIÓN DE LAS LEGUMINOSAS Y LOS HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EN LA FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON METALES PESADOS

Eduardo González Valdez, Ezequiel González Reyes, Verónica Lizbeth González Valdez, Edith Lorena Arroyo Ordaz, Carlos Bedolla Cedeño, Eduardo Manzanares Acuña, y Alejandro Alarcón.

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Universidad Nacional Autónoma de México Universidad Autónoma de Zacatecas Colegio de Postgraduados. *Correo electrónico: lalogvaldez@yahoo.com.mx

RESUMEN

La fitorremediación es un método biológico capaz de aprovechar la capacidad de ciertas plantas para extraer metales pesados (MP) del suelo y promover la restauración de sitios contaminados. Los sitios con mayor contaminación con MP, usualmente contienen suelos pobres en nutrientes, las especies vegetales son de crecimiento lento y producen una cantidad limitada de biomasa. Para superar esta desventaja, se puede introducir hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en simbiosis con la planta, o leguminosas en simbiosis con bacterias formadoras de nódulos llamadas colectivamente rizobios. Los microorganimos rizosféricos asociados, se han propuesto como una tecnología biológica capaz de estabilizar o remover contaminantes inorgánicos del suelo. Lo que contribuye a promover crecimiento vegetal, mediante la absorción de nutrientes. En sitios contaminados, los HMA presentan la capacidad de translocar estos elementos traza a la parte aérea (fitoextracción), o estabilizarlos en la raíz (fitoestabilización); y la simbiosis rizobioleguminosa como un sistema de biorremediación, lo cual ayuda a fomentar la rehabilitación de un sitio contaminado con iones metálicos. Esta revisión ofrece una visión general de los aspectos básicos de la contaminación del suelo con MP, describe la fitorremediación como una alternativa biológica para la restauración del suelo, destaca la importancia de la simbiosis leguminosa-rizobio y los HMA en simbiosis con la planta.

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados (MP) son componentes naturales del suelo, y muchos de estos elementos son esenciales para el desarrollo vegetal, por ejemplo, cobre (Cu), zinc (Zn), hierro (Fe), manganeso (Mn), níquel (Ni), y cobalto (Co), por el contrario, el cadmio (Cd), mercurio (Hg), plata (Ag), cromo (Cr), y plomo (Pb), son extremadamente tóxicos en niveles elevados (Cetin et al., 2011). Debido al rápido desarrollo de la economía global, industrial y de urbanización, se ha generado un aumento en la acumulación de metales y metaloides en el suelo (Oves et al., 2010). Los MP pueden ser encontrados en el suelo, y al ser las plantas expuestas a diferentes condiciones de estrés ambiental, como un bajo nivel de aqua, temperaturas extremas, elevada acidez o alcalinidad, poca disponibilidad de nutrientes, los MP pueden reducir el crecimiento y productividad de la planta; sin embargo, las plantas poseen mecanismos que ayudan a tolerar este estrés generado, al inducir una simbiosis con los hongos y microorganismos de la rizosfera, lo cual promueve la supervivencia en sitios perturbados con MP. Entre estas simbiosis, la simbiosis micorrízica es la responsable de la absorción de nutrientes en el suelo, de promover la productividad en la planta y de inducir resistencia al estrés (Fusconi y Berta, 2012). Además, también se ha encontrado que en los programas de fitorremediación, las leguminosas asociadas con bacterias fijadoras de nitrógeno son particularmente útiles, puesto que el suelo contaminado frecuentemente contiene bajos niveles de materia orgánica y el crecimiento de la planta es restringido por las deficiencias de nitrógeno (Gomes et al., 2013). La interacción rizobio-leguminosa puede mejorar el contenido de nitrógeno en suelo y promover el crecimiento vegetal (Gomes et al., 2013; Hao et al., 2014).

Nuevas estrategias biológicas han surgido como una alternativa para restaurar sitios contaminados (Azcon *et al.*, 2010). Un proceso alternativo es la fitorremediación, "uso de plantas para extraer, secuestrar, y detoxificar contaminantes, es una tecnología aceptada para la remediación de un suelo contaminado (Liang *et al.*, 2009; Vamerali, Bandiera y Mosca, 2010). Esta es una de las

pocas técnicas de descontaminación que preserva la estructura del suelo y la comunidad microbiana (Bissonnette *et al.*, 2010).

Estudios previos han señalado la contribución de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en simbiosis con las plantas superiores al aumentar la eficiencia en la eliminación de MP en suelo (Biró et al., 2009). Esto contribuye a mejorar la estabilización de metales en suelo (fitoestabilización) o promueve la transferencia de contaminantes inorgánicos a la parte aérea de la planta hospedadora (fitoextracción) (Liang et al., 2009). Además, las especies vegetales como las leguminosas son usualmente los primeros colonizadores en suelos degradados y pobres en nutrientes (Gomes et al., 2013). Se ha demostrado que la simbiosis entre la leguminosa y los rizobios tolerantes a metales pesados, mejora la eficiencia en la remediación de sitios contaminados (El Aafi et al., 2012). Lo cual ha sido propuesto como un sistema que puede contribuir en la fitorremediación de suelos contaminados con MP (El Aafi et al., 2012; Hao et al., 2014). Esta revisión ofrece una visión general de los aspectos básicos de la contaminación del suelo con MP, describe la fitorremediación como una alternativa biológica para la restauración del suelo, destaca la importancia de la simbiosis leguminosa-rizobio y los HMA en simbiosis con la planta.

Los metales pesados

Los MP son componentes naturales de la corteza terrestre, pero en muchos ecosistemas, la concentración ha aumentado y alcanzado niveles tóxicos (Pilon-Smith y Freeman, 2006; Gamalero et al., 2009; Sarma, 2011; De Souza et al., 2012). Su alta concentración en el suelo, se ha convertido en un problema mundial (Marrero-Coto et al., 2010; Bhargava et al., 2012; Ali et al., 2013) que afecta negativamente la salud humana y el ambiente (Gamalero et al., 2009). Cualquier metal o metaloide que cause problemas ambientales, y no pueda ser degradado biológicamente debe ser considerado como un MP (Garbisu y Alkorta, 2001; Sarma, 2011).

El término MP se refiere a cualquier elemento metálico que tiene una densidad relativamente alta y es tóxico o venenoso aun en bajas concentraciones (Duruibe *et al.*, 2007; Nagajyoti *et al.*, 2010; Bhargava *et al.*, 2012). Los MP en un término general, se aplica a un grupo de metales de transición, lantánidos y algunos metaloides, con densidad atómica mayor o igual a 5 g/cm³ en su forma elemental (Duruibe *et al.*, 2007; Marrero-Coto *et al.*, 2010; Nagajyoti *et al.*, 2010; Vamerali *et al.*, 2010; Miransari *et al.*, 2011a,b) y con un número atómico mayor de 20 (Vamerali *et al.*, 2010).

Hongos micorrízicos arbusculares

Los HMA son biótrofos obligados en las plantas superiores y constituyen uno de los grupos de microorganismos más difundidos en el suelo (Abdel Latef, 2011). Su asociación simbiótica es mutuamente benéfica (Aguilera *et al.*, 2014). Ellos son una parte integral de los ecosistemas terrestres y forman simbiosis con más del 90 % de las especies vegetales (Liang *et al.*, 2009; Abdel-Fattah y Asrar, 2012). Esta interacción micorrízica arbuscular (MA) ocurre en la mayoría de los hábitats y climas, e incluye suelos perturbados, como los derivados de actividades mineras (Khan, 2005).

HOngos micorrízicos arbusculares en la fitorremediación de metales pesados

Los metales interactúan con los hongos en diferentes vías, lo cual depende la especie metálica, organismo y ambiente. Muchos metales son esenciales para la vida, por ejemplo, Na, K, Cu, Co, Ca, Mg, Mn y Fe, pero todos exhiben toxicidad cuando se presentan arriba de ciertos umbrales. Otros metales, Cs, Al, Cd, Hg y Pb, no tienen función biológica, pero pueden ser acumulados por los hongos. A pesar de la aparente toxicidad, muchos hongos sobreviven, crecen, en sitios contaminados con elementos traza y una variedad de mecanismos contribuye a su tolerancia (Gadd, 2008).

Los desechos residuales generados por actividades mineras regularmente contienen altas cantidades de MP en suelo (Alguacil *et al.*, 2011) que suelen tener efectos adversos sobre los procesos microbianos (Ho-Man *et al.*, 2013). Sin embargo, en este tipo de suelo extremadamente contaminados con MP se ha demostrado que los HMA pueden beneficiar a la planta hospedante (Liang *et al.*, 2009): (1) al mejorar la absorción de nutrientes (Aguilera *et al.*, 2014), (2) proporcionar mayor crecimiento vegetal (Cetin *et al.*, 2011), (3) mayor absorción de agua (Miransari, 2011a,b), (4) aumento de la tolerancia a la sequía (Abdul-Wasea y Khalid, 2011), (5) suprimir la infección de

patógenos (Bharadwaj *et al.*, 2008; Miransari, 2011a), se mejora la tolerancia en la planta con respecto a los MP (Cetin *et al.*, 2011), (6) incrementa la bioacumulación de elementos inorgánicos en los tejidos aéreos de la planta o por el contrario, se reduce la concentración en la especie vegetal (Bissonnette et al., 2010); (7) restaurar sitios contaminados con contaminantes inorgánicos (Khan, 2005; Liang et al., 2009).

Los HMA al colonizar la raíz de la planta en sitios contaminados con MP (Usman et al., 2009; Cetin et al., 2011), indica que estos hongos han desarrollado mecanismos específicos de tolerancia, secuestro y acumulación contra estos elementos (Arriagada et al., 2009b; Biró et al., 2009; Alquacil et al., 2011). La colonización ayuda en la revegetación de suelos contaminados (Alguacil et al., 2011). Sin embargo, el papel de los hongos micorrízicos en fitorremediación no está completamente entendido. Diversos estudios han demostrado que los HMA desarrollan mecanismos que permiten la acumulación del metal en la raíz de la planta y previenen su translocación a brotes (Meier et al., 2012); lo cual ayuda a la fitoestabilización de MP en suelo (Liang et al., 2009). No obstante, otros estudios han demostrado que los HMA promueven la absorción y transferencia de MP a los brotes (fitoextracción) (Liang et al., 2009; Meier et al., 2012). Aunque existe una gran cantidad de literatura sobre los efectos de la colonización micorrízica arbuscular en las plantas sometidas a estrés con MP (Gohre y Paszkowski, 2006), también hay observaciones contradictorias, con una amplia variación en los resultados (Leyva et al., 2002; Gaur y Adholeya, 2004; Citterio et al., 2005; Gohre y Paszkowski, 2006; Khade y Adholeya, 2007; Mathur et al., 2007; Jankong y Visoottiviseth, 2008; Liu et al., 2011). Por lo que el impacto de los hongos micorrízicos en la fitorremediación aún es controversial (Gamalero et al., 2009; Liu et al., 2011). Poco se ha estudiado sobre el sinergismo entre el hongo y la planta hospedante en la tolerancia a MP (Hall, 2002), además, los efectos de los HMA en la absorción de MP en la planta es aún poco entendido (Citterio et al., 2005; Arriagada et al., 2009b; Arriagada et al., 2009a).

La simbiosis con HMA ha sido propuesta como uno de los mecanismos de tolerancia de la planta a MP (Hall, 2002; Jamal et al., 2002; Arriagada et al., 2005; Gamalero et al., 2009). La absorción del metal por la planta inoculada con el HMA puede variar drásticamente en función de la cepa utilizada, la combinación del hongo con la planta hospedante, el tipo de metal (Gamalero et al., 2009; Novoa et al., 2010), las propiedades físicoquímicas del suelo (nivel de fertilidad y pH) (Novoa et al., 2010; Cetin et al., 2011), la especiación del metal y la concentración del metal en suelo (Liang et al, 2009). Por ello la selección apropiada de la cepa será de gran importancia en la estrategia de fitorremediación a emplear (Jamal et al., 2002; Gaur y Adholeya, 2004).

Los HMA han mostrado incrementar la acumulación (Jamal *et al.*, 2002; Citterio *et al.*, 2005) de elementos traza como el Cobre (Cu), Niquel (Ni), Plomo (Pb) y Zinc (Zinc) (Jamal *et al.*, 2002), mientras que otros reportes indican que los HMA mejoran la tolerancia en la planta a los MP, como ocurre en *Helianthus annuus* L. (girasol) o *Glycine max* (soya) cuando son asociados con *Glomus intraradices* y *Glomus mossae* respectivamente (Davies *et al.*, 2001; Jamal *et al.*, 2002; Citterio *et al.*, 2005). *Glomus intraradices* es considerado por ser más tolerante que otros genotipos de HMA (Gohre y Paszkowski, 2006; Ker y Charest 2010). La especie de *Helianthus annuus* L. con *G. intraradices* contribuye a mejorar la captación y tolerancia de la planta a Ni (Citterio *et al.*, 2005), asimismo, la simbiosis de *H. annuus* con *G. intraradices*, logró una mayor eliminación del Cr, debido a su mayor producción de biomasa (Davies *et al.*, 2001). El hongo *G. mossae* mejoró la translocación de Ni en *Cannabis sativa* L de la raíz a brotes. Castillo *et al.*, 2011 informaron que *G. intraradices* con *Tagetes erecta* mejoró los rendimientos en la fitoacumulación de Cu. Lo cual lo hace un excelente prospecto para su uso.

Contribución de los hma en la fitoestabilización y fitoextracción de metales pesados

Los HMA son capaces de aliviar la toxicidad causada por metales pesados. Estos hongos son capaces de inmovilizar metales en la rizosfera, al secretar sustancias: (1) capaces de precipitar al metal en forma de gránulos de polifosfato (Biró *et al.*, 2009; Javaid, 2011), (2) unirlo a la pared celular del hongo que contiene grupos amino, hidroxilo, carboxilo y proteínas que tienen la capacidad de sorber el contaminante (Khan, 2006; Javaid, 2011), (3) producir una glicoproteína insoluble llamada glomalina que liga metal pesado y reduce la biodisponibilidad por sorción y secuestro (Meier *et al.*, 2012). Esto hace al HMA un candidato para procesos de fitoestabilizacón con MP.

Los procesos de simbiosis planta-hongo juegan un papel ecológico importante en procesos de restauración al ayudar a las especies vegetales a sobrevivir en ambientes altamente contaminados (Khan, 2006; Cetin et al., 2011). Previos estudios han descrito diferentes especies vegetales en simbiosis con HMA en la fitoestabilización. Se estudiaron los efectos de la simbiosis de *Glomus mossae* y *Zea mays* cultivado en un suelo contaminado con Pb, Zn y Cd. *G. mossae* promovió el crecimiento vegetal en el maíz. La mayor acumulación de Pb, Zn y Cd se logró en la raíz. La translocación de los metales a la parte aérea no fue significativa. Estos resultados indican que esta simbiosis puede favorecer los procesos de fitoestabilización en suelos contaminados con Pb, Zn, y Cd. Al reducir la absorción de estos metales a las parte aérea de la planta (Liang et al., 2009).

El término fitoextracción se utiliza para referirse a la transferencia de contaminantes inorgánicos del suelo a la parte aérea de la planta. Es una técnica usada para limpiar sitios contaminados (Bissonnette *et al.*, 2010). La eficiencia de los procesos de fitoextracción de metales pesados en el suelo se maximiza por la presencia de HMA (Biró *et al.*, 2009). El HMA se ha caracterizado por promover un rápido crecimiento en la especie vegetal, lo que lo hace útil en los procesos de fitoextracción de MP (Bissonnette *et al.*, 2010). Se han descrito diferentes especies vegetales en simbiosis con HMA en la fitoextracción de MP. Por ejemplo, se evaluó la tolerancia de *Eucalyptus globulus* en simbiosis con *Glomus deserticola* al arsénico. Esta simbiosis logró incrementar la concentración de As en la parte aérea de *E. globulus* en niveles superiores a la planta no micorrízada. Lo que hace a *G. deserticola* un candidato viable para procesos de fitoextracción en un suelo contaminado (Arriagada *et al.*, 2009a).

Se analizó el potencial de fitoextracción de MP de *Salix viminalis* y *Populus generosa* inoculado con *Glomus intraradices*. Ambas especies vegetales produjeron un alto rendimiento de biomasa. *S. viminalis* acumuló la mayor concentración de MP. Lo que hace a *S. viminalis* un candidato viable para la rehabilitación de sitios ligeramente contaminados con Cd y Zn (Bissonnette *et al.*, 2010).

Asociación simbiótica leguminosa-rizobio

Las plantas comúnmente obtienen su N y P del suelo a través de los fertilizantes o materia orgánica. La disponibilidad del N en suelo es un factor que limita el desarrollo de las especies vegetales (Sánchez-Pardo y Zornoza, 2014). Muchos géneros de leguminosas han resuelto este problema de disponibilidad de N al interactuar con microorganismos que habitan en la rizosfera (Pajuelo *et al.*, 2011). Entre los microorganismos benéficos que mejoran la eficiencia del suelo y el crecimiento de la planta, se encuentra a los HMA y las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) que incluyen las bacterias fijadoras de nitrógeno, así como los rizobios que establecen simbiosis con las leguminosas (Miransari *et al.*, 2011a,b).

Las bacterias benéficas de vida libre son conocidas como BPCV, capaces de promover el crecimiento en la planta al colonizar la raíz. Estas BPCV también se denominan rizobacterias promotoras de nódulos y se asocian con la rizosfera. Las BPCV se dividen en 2 grupos de acuerdo al sitio donde residen: (1) bacterias simbióticas. Se alojan dentro de la célula de la planta, producen nódulos, y son localizadas en estructuras especializadas; (2) rizobacterias de vida libre. Viven fuera de la célula de la planta y no producen nódulos, pero promueven el crecimiento de la planta (Hayat et al., 2010). Las bacterias simbióticas más conocidas son los rizobios (Hayat et al., 2010; Abd-Alla et al., 2014).

Los rizobios se caracterizan por establecer simbiosis con las leguminosas y formar nódulos en las que fijan nitrógeno atmosférico y lo hace disponible para la planta (Mehboob *et al.*, 2009). Este grupo es considerado un habitante prominente en la rizosfera (Hernández *et al.*, 2012).

La simbiosis rizobio-leguminosa ha sido ampliamente estudiada por su capacidad por fijar nitrógeno, lo cual es de vital importancia para mantener la fertilidad de los suelos (Abd-Alla *et al.*, 2012; Mandal y Bhattacharyya, 2012; Laranjo *et al.*, 2014). Este proceso de fijación biológica de nitrógeno (FBN) representa el 65% del N que en la actualidad se utiliza en la agricultura (Hayat *et al.*, 2010). La falta de fijación de N puede llevar a pérdidas sustanciales en el rendimiento de cultivos de las leguminosas (Garg y Bhandari, 2012), lo cual puede ser atribuido en parte a los efectos de los metales pesados sobre los rizobios (Abd-Alla *et al.*, 2012; Laranjo *et al.*, 2014). Existen rizobios tolerantes a MP, que se han utilizado para remediar suelos contaminados o para degradar compuestos orgánicos en simbiosis con la planta. Esta simbiosis puede remover exitosamente contaminantes complejos en suelos perturbados (Hayat *et al.*, 2010).

Rizobios resistentes a metales pesados aislados de suelos contaminados

La interacción planta-bacteria que ocurre en un suelo contaminado con elementos traza se ha dirigido principalmente en el contexto de la fitorremediación (Sessitsch *et al.*, 2013). Las principales funciones de las bacterias al estar en simbiosis son: (1) proveer nutrientes al cultivo, (2) estimular el crecimiento vegetal a través de la producción de hormonas, (3) controlar o inhibir la actividad de patógenos en la planta, (4), mejorar la estructura del suelo, (5) descomponer contaminantes orgánicos a través de la biorremediación de suelos contaminados (Hayat *et al.*, 2010).

Los rizobios se han aislado de leguminosas cultivadas en áreas contaminadas con MP. Estos rizobios se han caracterizado por presentar alta tolerancia y efectividad en la fijación de N. Además, se ha encontrado que las leguminosas presentes en estos sitios, tienen menor número de nódulos, y la actividad de fijación de N disminuye (Pajuelo *et al.*, 2008).

En los últimos años, se ha citado una diversidad de rizobios resistentes a MP (Cuadro 1). Muchos de ellos pertenecen a diferentes géneros: *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (*Pajuelo et al.*, 2011).

Cuadro 1. Ce	epas de	rizobios	aisladas	s de resi	duos mi	neros co	on MP y	rango d	e tolerar	ncia
Especie	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb	As	Cr	Co	Hg	Cita
	(mM)	(mM)	(mM)	(mM)	(mM)	(mM)	(mM)	(mM)	(mM)	
Rhizobio sp	0.5-2	0.5-2	0.1-1	0.25- 1	3-6	1-10	-	0.1-4	5-20	Pajuelo et al. (2008a)
Sinorhizobium	-	1.4	-	-	-	10	-			Pajuelo et al. (2008b)
Mesorhizobium	16- 32	2.2	0.3- 0.5	-	-	-	9-6	-	-	Hao <i>et</i> <i>al.</i> <i>(</i> 2014)
Bradyrhizobium	<1	1.5	< 0.5		2	2	-			
<i>Mesorhizobium</i> sp	-	-	-	-	-	-	7.7	-	-	Pajuelo <i>et al.</i> (2011)

El uso de rizobios resistentes a metales en simbiosis con leguminosas en suelos contaminados, desempeñan una alternativa prometedora para la restauración de suelos que se han degradado por las actividades mineras.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La asociación entre plantas y hongos micorrízicos arbusculares, debe ser tomada en cuenta para aminorar la toxicidad de los metales ante la planta. Una selección de la cepa apropiada, la planta, el metal y las propiedades químicas del suelo, son factores que deben considerarse en un proceso de fitorremediación. En futuras investigaciones, será necesario incluir la simbiosis micorrizica arbuscular en el diseño de programas de fitorremediación, con el objetivo final de aumentar su eficiencia en la fitoestabilización o fitoextracción de MP.

La simbiosis rizobio-leguminosa es una opción para la restauración de suelos perturbados por metales pesados. La cual hace uso de procesos biológicos mejor conocidos como biorremediación y fitorremediación. En este tipo de simbiosis bacteria-planta predominan los procesos de fitoestabilización, lo cual es benéfico para estabilizar los contaminantes inorgánicos en el suelo.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Abd-Alla MH Morsy FM El-Enany A-W E Ohyama T (2012). "Isolation and characterization of a heavy-metal-resistant isolate of Rhizobium leguminosarum bv. viciae potentially applicable for biosorption of Cd2 and Co2." International Biodeterioration & Biodegradation 67: 48-55.
- Abdel-Fattah GM Abdul-Wasea AA (2012). "Arbuscular mycorrhizal fungal application to improve growth and tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants grown in saline soil." Acta Physiol Plant 34: 267-277.
- Abdel Latef AAH (2011). "Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and copper on growth, accumulation of osmolyte, mineral nutrition and antioxidant enzyme activity of pepper (Capsicum annuum L.)." Mycorrhiza 21(6): 495-503.
- 4. Abdul-Wasea AA Khalid ME (2011). "Alleviation of drought stress of marigold (Tagetes erecta) plants by using arbuscular mycorrhizal fungi." Saudi Journal of Biological Sciences 18(1): 93–98.
- Aguilera P Cornejo P Borie P Barea JM von Baerc J Oehl F (2014). "Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with Triticumaestivum L. plants growing in an Andosol with high aluminum level." Agriculture, Ecosystems and Environment 186: 178–184.
- 6. Ali H Khan E Sajad MA (2013). "Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications." Chemosphere 91: 869–881.
- 7. Alguacil MM Torrecillas E Caravaca F Fernández DA Azcón R Roldán A (2011). "The application of an organic amendment modifies the arbuscular mycorrhizal fungal communities colonizing native seedlings grown in a heavy-metal-polluted soil." Soil Biology & Biochemistry 43: 1498-1508.
- 8. Arriagada C Herrera MA and Ocampo JA (2005). "Contribution of arbuscular mycorrhizal and saprobe fungi to the tolerance of eucalyptus globulus to pb." Water, Air, and Soil Pollution 166: 31-47.
- Arriagada C Aranda E Sampedro I Garcia-Romera I Ocampo JA (2009a). "Contribution of the saprobic fungi Trametes versicolor and Trichoderma harzianum and the arbuscular mycorrhizal fungi Glomus deserticola and G. claroideum to arsenic tolerance of Eucalyptus globules." Bioresource Technology 100: 6250-6257.
- Arriagada C Aranda E Sampedro I Garcia-Romera I Ocampo JA (2009b). "Interactions of Trametes versicolor, Coriolopsis rigida and the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus deserticola on the copper tolerance of Eucalyptus globulus." Chemosphere 77: 273-278.
- 11. Azcón R Perálvarez MC Roldán A Barea JM (2010). "Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Bacillus cereus, and Candida parapsilosis from a Multicontaminated Soil Alleviate Metal Toxicity in Plants." Microb Ecol 59: 668-677.
- 12. Bhargava A Carmona FF Bhargava M Srivastava S (2012). "Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals." Journal of Environmental Management 105: 103-120.
- 13. Biro I Nemeth T and Takacs T (2009). "Changes of Parameters of Infectivity and Efficiency of Different Glomus mosseae Arbuscular Mycorrhizal Fungi Strains in Cadmium-Loaded Soils." Communications in Soil Science and Plant Analysis 40: 227-239.
- 14. Bissonnette L St-Arnaud M Labrecque M (2010). "Phytoextraction of heavy metals by two Salicaceae clones in symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi during the second year of a field trial." Plant Soil 332: 55-67.
- 15. Castillo OS Dasgupta-Schubert N Alvarado CJ Zaragoza EM Villegas HJ (2011). "The effect of the symbiosis between Tagetes erecta L. (marigold) and Glomus intraradices in the uptake of Copper(II) and its implications for phytoremediation." New Biotechnology 29(1): 156-164.
- 16. Cetin SC Karaca A Kizilkaya R and Turgay OC (2011). Role of Plant Growth Promoting Bacteria and Fungi in Heavy Metal Detoxification. Detoxification of Heavy Metals, Soil Biology, I. S. a. A. V. (eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 30: 369-388.
- 17. Citterio S Prato N Fumagalli P Aina R Massa N Santagostino A Sgorbati S Berta G (2005). "The arbuscular mycorrhizal fungus Glomus mosseae induces growth and metal accumulation changes in Cannabis sativa L." Chemosphere 59(1): 21-29.

- 18. Davies FT Puryear JD Newton RJ Egilla JN Saraiva Grossi JA (2001). "Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (Helianthus annuus)." Journal of Plant Physiology 6(158): 777-786.
- 19. De Souza LA Lopez de Andrade SA Ribeiro de Souza SC Schiavinato MA (2012). "Arbuscular mycorrhiza confers Pb tolerance in Calopogonium mucunoides." Acta Physiol Plant 34: 523-531.
- 20. Duruibe JO Ogwuegbu MOC and Egwurugwu JN (2007). "Heavy metal pollution and human biotoxic effects." International Journal of Physical Sciences 2(5): 112-118.
- 21. El Aafi N Brhada F Dary M Maltouf AF and Pajuelo E (2012). "Rhizostabilization of metals in soils using lupinus luteus inoculated with the metal resistant rhizobacterium serratia sp. msmc541." International Journal of Phytoremediation 14: 261–274.
- 22. Fusconi A and Berta G (2012). Environmental Stress and Role of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism,. Ahmad and M.N.V. Prasad (eds.). Italy, Springer Science+Business Media: 197-214.
- 23. Gadd GM. (2008). Fungi and Their Role in the Biosphere. In Sven Erik Jørgensen and Brian D. Fath (Editor-in-Chief), Global Ecology. Vol. [2] of Encyclopedia of Ecology, 5 vols. pp. [1709-1717] Oxford: Elsevier.
- 24. Gamalero E Lingua G Berta G and Glick BR (2009). "Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses to heavy metal stress." Canadian Journal of Microbiology 55: 501-514.
- 25. Garbisu C Alkorta I (2001). "Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment." Bioresource Technology 77(3): 229-236.
- 26. Garg N y Bhandari P (2012). "Influence of Cadmium Stress and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Nodule Senescence in Cajanus Cajan (L.) MILLSP." International Journal of Phytoremediation 14: 62-74.
- 27. Gaur A and Adholeya A (2004). "Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils." Current Science 86(4).
- 28. Gohre V Paszkowski U (2006). "Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal Phytoremediation." Planta 223: 1115-1122.
- 29. Gomes MP Carvalho M Carvalho GS Marques TCLLSM Garcia QS Guilherme LRG y Soares AM (2013). "Phosphorus improves arsenic phytoremediation by anadenanthera peregrina by alleviating induced oxidative stress." International Journal of Phytoremediation 15: 633–646.
- 30. Hall JL (2002). "Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance." Journal of Experimental Botany, 53(366): 1-11.
- 31. Hao X Taghavi S Xie P Orbach MJ Alwathnani HA Rensing C Wei G (2014). "Phytoremediation of Heavy and Transition Metals Aided by Legume-Rhizobia Symbiosis." International Journal of Phytoremediation 16(2): 179-202.
- 32. Hayat R Ali S Amara U Khalid R Ahmed I (2010). "Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review." Ann Microbiol 60: 579–598.
- 33. Hernández JL Cubillos-Hinojosa JG y Milian PE (2012). "Aislamiento de cepas de Rhizobium spp., asociados a dos leguminosas forrajeras en el Centro Biotecnológico del Caribe." Revista Colombiana de Microbiología Tropical 2(2): 51-62.
- 34. Ho-Man L Zhen-Wen W Zhi-Hong Y Kin-Lam Y Xiao-Ling P and Kwai-Chung C (2013). "Interactions Between Arbuscular Mycorrhizae and Plants in Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils: A Review." Pedosphere 23(5): 549–563.
- 35. Jamal A Ayub N Usman M and Khan AG (2002). "Arbuscular Mycorrhizal Fungi Enhance Zinc and Nickel Uptake from Contaminated Soil by Soybean and Lentil." International Journal of Phytoremediation 4(3): 205–221.
- 36. Javaid A (2011). Importance of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soils. Biomanagement of Metal-Contaminated Soils. 20: 125-141.
- 37. Jankong P Visoottiviseth P (2008). "Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on plants growing on arsenic contaminated soil." Chemosphere 72(7): 1092-1097.
- 38. Ker K Charest C (2010). "Nickel remediation by AM-colonized sunflower." Mycorrhiza 20: 399-406.

- 39. Khade SW and Adholeya A (2007). "Feasible Bioremediation through Arbuscular Mycorrhizal Fungi Imparting Heavy Metal Tolerance: A Retrospective." Bioremediation Journal 11(1): 33-43.
- 40. Khan AG (2006). "Mycorrhizoremediation an enhanced form of phytoremediation." J Zhejiang Univ Science B 7(7): 503-514.
- 41. Khan AG (2005). "Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation." Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 18: 355-64.
- 42. Laranjo M Alexandre A Oliveira S (2014). "Legume growth-promoting rhizobia: An overview on the Mesorhizobium genus." Microbiological Research 169: 2–17.
- 43. Leyval C Joner EJ Del Val C Haselandter K (2002). Potential of arbuscular mycorrhizal fungi for bioremediation. Mycorrhizal technology in agriculture: 175-186.
- 44. Liang CC Li T Xiao YP Liu MJ Zhang HB and Zhao ZW (2009). "Effects of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on maize grown in multi-metal contaminated soils." International Journal of Phytoremediation 11: 692-703.
- 45. Liu LZ Gong ZQ Zhang YL Li PJ (2011). "Growth, Cadmium Accumulation and Physiology of Marigold (Tagetes erecta L.) as Affected by Arbuscular Mycorrhizal Fungi." Pedosphere 21(3): 319-327.
- 46. Mandal SM Bhattacharyya R (2012). Rhizobium-Legume symbiosis: A model system for the recovery of metal-contaminated agricultural land. Toxicity of Heavy Metals to Legumes and Bioremediation. A. Z. e. a. (eds.), Springer-Verlag Wien: 115-118.
- 47. Marrero-Coto J Díaz-Valdivia A y Coto-Pérez O (2010). "Mecanismos moleculares de resistencia a metales pesados en las bacterias y sus aplicaciones en la biorremediación." Revista Cenic Ciencias Biológicas, 41(1): 67-78.
- 48. Mathur N Singh J Bohra S Quaizi A and Vyas A (2007). "Arbuscular mycorrhizal fungi: a potential tool for phytoremediation." Journal of Plant Sciences 2(2): 127-140.
- 49. Mehboob I Naveed M y Zahir za (2009). "Rhizobial Association with Non-Legumes: Mechanisms and Applications." Critical Reviews in Plant Sciences 28(6): 432-456.
- 50. Meier S Borie F Bolan N Cornejo P (2012). "Phytoremediation of Metal-Polluted Soils by Arbuscular Mycorrhizal Fungi." Critical Reviews in Environmental Science and Technology 42(7): 741-775.
- 51. Miransari M (2011a). "Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals." Biotechnology Advances 29(6): 645-653.
- 52. Miransari M (2011b). "Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria." Appl Microbiol Biotechnol 89: 917-930.
- 53. Nagajyoti PC Lee KD Sreekanth TVM (2010). "Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review." Environmental Chemistry Letters 8: 199-216.
- 54. Novoa DM Palma SS and Gaete OH (2010). "Effect of arbuscular mycorrhizal fungi glomus spp. inoculation on alfalfa growth in soils with copper." Chilean journal of agricultural research 70(2): 259-265.
- 55. Oves M Zaidi A Khan MS (2010). Role of Metal Tolerant Microbes in Legume Improvement. Microbes for Legume Improvement. M. S. K. e. a. (eds.): 337-352.
- 56. Pajuelo E Dary M Palomares AJ Rodriguez-Llorente ID Carrasco JA and Chamber MA (2008a). Biorhizoremediation of heavy metals toxicity using rhizobium-legume symbioses. Biological Nitrogen Fixation: Towards Poverty Alleviation through Sustainable Agriculture. F. D. D. e. a. (eds.), Springer Science: 101-104.
- 57. Pajuelo E Rodriguez-Llorente ID DaryM Palomares AJ (2008b). "Toxic effects of arsenic on Sinorhizobium- Medicago sativa symbiotic interaction:." Environmental Pollution 154: 203-211
- 58. Pajuelo E Rodríguez-Llorente ID Lafuente A and Caviedes MA (2011). Legume—Rhizobium Symbioses as a Tool for Bioremediation of Heavy Metal Polluted Soils. Biomanagement of Metal-Contaminated Soils, M. S. K. e. a. (eds.). Environmental Pollution. 20: 95-123.
- 59. Pilon-Smits EAH Freeman JL (2006). "Environmental Cleanup using Plants: Biotechnological Advances and Ecological Considerations." Frontiers in Ecology and the Environment 4: 203-210.

- 60. Sánchez-Pardo B Zornoza P (2014). "Mitigation of Cu stress by legume–Rhizobium symbiosis in white lupin and soybean plants." Ecotoxicology and Environmental Safety 102: 1-5
- 61. Sarma H (2011). "Metal Hyperaccumulation in Plants: A Review Focusing on Phytoremediation Technology." Journal of Environmental Science and Technology 4(2): 118-138.
- 62. Sessitsch A Kuffner M Kidd P Vangronsveld J Wenzel WW Fallmann K Puschenreiter M (2013). "The role of plant-associated bacteria in the mobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils." Soil Biology & Biochemistry 60: 182-194.
- 63. Usman ARA Mohamed HM (2009). "Effect of microbial inoculation and EDTA on the uptake and translocation of heavy metal by corn and sunflower." Chemosphere 76: 893-899.
- 64. Vamerali T Bandiera M Mosca G (2010). "Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review." Environmental Chem Letter 8: 1-17.

DISTRIBUCIÓN DE GÉNERO Y PESO CORPORAL DE LOS FETOS EN LOS CUERNOS UTERINOS DE LA RATA *WISTAR*

Bárbara Ruíz Velásquez, Mayvi Alvarado, Pablo Pacheco, Ismael Jiménez, Robyn Hudson.

Neurobiología del Desarrollo, Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria 04510, México, D.F.

CINVESTAV-IPN barbara esto94@hotmail.com; Tel. 22 82 43 02 95

RESUMEN

Se han realizado estudios en la rata albina y el conejo durante las primeras edades posnatales, con relación a la interacción de las crías dentro de una misma camada. Se sabe que existen diferencias desde el nacimiento en el peso corporal y se han clasificado en: pesados, intermedios y ligeros. Además, se conoce que el orden de nacimiento está relacionado con el cuidado materno repercutiendo en su desarrollo. Con base en los datos antes mencionados, el objetivo en este trabajo fue analizar la posición de los fetos en los cuernos uterinos a la edad embrionaria de 21días (E21) y la relación que existe entre el peso corporal y el género. Se utilizaron 10 camadas provenientes de hembras vírgenes con peso entre los 280-380gr a edad de 80 días (P80), a las cuales, se les dio seguimiento del ciclo estral y se pusieron a cruzar con machos expertos, previamente clasificados como pesados o ligeros. Las hembras preñadas a E21 se sometieron a cesárea para la extracción de los fetos. De cada individuo se tomó nota de su peso, género y posición dentro del cuerno uterino. Los resultados obtenidos, mostraron que los fetos más pesados de las camadas fueron localizados, 4 en el cuerno uterino derecho y 6 en el izquierdo. La posición de los fetos de acuerdo a los más pesados, 71 % se localizó cercano al útero y en cuanto a los más ligeros el 52.9 % se localizaron cercanos al ovario. Los fetos vecinos de los machos más pesados, fueron principalmente hembras con un 74.75% y sólo un 24.92% fueron machos. Los machos más pesados se localizaron cercanos al útero independientemente del cuerno uterino. Lo antes mencionado está en relación directa con en el orden de nacimiento, por lo tanto los machos pesados serían de los primeros en nacer.

INTRODUCCIÓN

La interacción de los animales dentro de una misma camada se ha explorado en animales altriciales, como es el caso de la rata albina (*Rattus norvergicus albinus*) y el conejo (*Oryctolagus cuniculus*). Además se sabe que existen diferencias intracamada desde el nacimiento en el peso corporal y se han clasificado en: pesados, intermedios y ligeros. En el conejo domestico se encontró que las crías más pesadas tienen un mayor consumo de leche y por ello presentan una mayor conversión de la leche en biomasa corporal, esto muestra la importancia que tienen los compañeros dentro de una misma camada respecto a la competencia y su ganancia de peso. Por otro lado, existen evidencias de la importancia que tiene el crecimiento individual, en donde se ha mostrado que repercute en la posición de la cría dentro del nido; las crías pesadas ocupan la parte central del grupo y presentan una menor actividad motora, en comparación de sus compañeras más ligeras. Además se sabe que la posición de la cría dentro del cuerno uterino y el género, repercute en los niveles de testosterona de las hembras; las hembras que se encuentran entre dos machos tendrán niveles de testosterona más elevados en comparación con sus hermanas que se encuentran entre un macho y una hembra.

ANTECEDENTES

En los mamíferos los cuidados maternales se expresan de diferentes formas en los que algunas crías reciben mayor frecuencia de cuidados maternos en comparación a otros y esto se da principalmente en aquellos cuyas camadas son grandes, el trato diferencial promueve vínculos

fuertes y débiles entre la madre y la cría, cabe resaltar que la conducta maternal es de suma importancia para el desarrollo y la supervivencia de las crías desde que nacen hasta la etapa adulta. En el estudio realizado por Moy-López y colaboradores en 2008, hacen una comparación entre la cepa Wistar y la Srague Dawley, en el que muestran que en la cepa Sprague Dawley la madre tiene un mayor apego y preferencia hacia los machos que hacia las hembras, sin embargo, en la cepa Wistar no tiene preferencia por el género pero si tiene un mejor apego maternal con sus crías, tanto por el lado de éstas como de la madre.

El desarrollo posnatal y peso de las crías también se puede ver influenciado por el número de hermanos dentro de una misma camada, esto fue demostrado por Bautista y colaboradores en 2010 en el cual estudiaron las diferencias en el peso de las crías que hay en relación con el tamaño de la camada, pequeñas y grandes. Por lo tanto, las camadas grandes el peso corporal es menor en comparación de las camadas pequeñas, estas diferencias fueron evidentes cuando las crías más pesadas aumentaron su peso significativamente en el día P2, por otra parte, encontraron que en crías de camadas pequeñas el porcentaje general de actividad es menor en comparación con camadas grandes y en cuanto al peso de los individuos, las ratas con un menor peso corporal tienen un mayor porcentaje de actividad, un incremento en las conductas proactivas y un menor número de contactos dentro del nido. También hay algunas observaciones que sugieren que existe una correlación positiva entre el peso del nacimiento con el consumo de la leche y el porcentaje en la conversión de biomasa corporal. Además se ha mostrado que la posición de la cría dentro del nido no solo se ve influenciado después del nacimiento, existen estudios en los cuales, se ha mostrado que dependiendo de la posición de la cría dentro del cuerno uterino afectará a esta, un claro ejemplo se muestra en un estudio realizado por Even en 1992 en la que se menciona que entre los fetos hay una conexión por medio de las membranas que separan a estos permitiendo que el fluido de testosterona llegue en mayor cantidad al cérvix que al ovario, es decir, los fetos más cercanos al cérvix y los que se encuentren entre machos tendrán mayores cantidades de testosterona sin importar el sexo. Por otro lado, se ha reportado en ratones que las hembras localizadas entre machos dentro del cuerno uterino tendrán mayores concentraciones de fluido amniótico, mayores concentraciones de testosterona en sangre y menores de estradiol a comparación de sus hermanas que se localizan entre dos hembras (vom Saal, 1980; vom Saal, 1991).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como se ha mencionado, se sabe que existen diferencias intracamada desde el nacimiento en el peso corporal y que la interacción de los animales dentro de una misma camada resulta importante para su desarrollo posnatal. Ya que se ha mostrado que dentro de una misma camada, el peso individual y el tamaño de esta repercuten en el desarrollo de la cría dándoles ciertas ventajas a los más pesados como es el acceso al sitio térmico y al estilo conductual que conlleva a una diferencia en la temperatura corporal (Rödel et al., 2008), también existen desventajas para las crías ligeras, que en consecuencia obtienen menos acceso al pezón de la madre y por lo tanto su consumo de leche es menor repercutiendo en su peso y supervivencia (Gilbert, 1995). Por otro lado, dependiendo de la posición que ocupan dentro del cuerno uterino y de sus hermanos vecinos, esto influirá en los niveles de testosterona que tendrán independientemente del género del feto (vom Saal, 1980; vom Saal, 1991). Sin embargo, hasta ahora no se ha analizado la relación que existe entre el peso y género de los fetos dentro de los cuernos uterinos y tampoco se sabe si el orden de nacimiento dará una ventaja o desventaja en el desarrollo posnatal. Por lo tanto, resulta interesante saber si las diferencias de peso y género establecidas desde la posición del feto dentro del cuerno uterino de la rata Wistar pueda ser relevante en el desarrollo posnatal de las crías, va que probablemente la madre podría tener cierto apego materno por los primeros en nacer. aunque no una preferencia, sin embargo esto estaría dando una ventaja a las crías cercanas al útero. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo es analizar la posición de los fetos en los cuernos uterinos y la relación que existe entre el peso corporal y el género en el día embrionario 21 (E21).

PARTE EXPERIMENTAL

Para la realización del trabajo se utilizaron 10 camadas provenientes de hembras con peso

entre los 280gr y 380gr, las cuales fueron monitoreadas a partir de 5 días después de la apertura vaginal, llevando el control de su ciclo estral mediante la técnica de citología vaginal exfoliativa, después de presentar 4 ciclos regulares (P80 aproximadamente), estas se cruzaron en la fase de proestro tardío con machos expertos previamente clasificados como pesados o ligeros, mismos que fueron sometidos a dos eyaculaciones para así obtener a las hembras preñadas. Cada hembra preñada fue alojada en una caja de acrílico individual hasta el día E21, día en que fue anestesiada con 2% de isoflurane. Se realizó una incisión en la región abdominal a la altura de la línea media, dejando al descubierto los cuernos uterinos para la extracción de los fetos como se muestra en la fotografía 1. Posteriormente, la rata fue sacrificada con sobredosis del mismo anestésico. Se extrajo cada uno de los fetos, tomando nota de su peso, género y posición dentro del cuerno uterino.





Fotografía 1. Distribución de los fetos después de la extracción de acuerdo a la posición ocupada dentro de los cuernos uterinos.

RESULTADOS

Se obtuvieron 10 camadas con un promedio de 3.54gr a 5.34gr por cada una de estas. De las cuales se obtuvieron un total de 96 fetos, en cuanto a la distribución por género en los cuernos uterinos, siempre fue mayor el número de hembras que el número de machos, 54% y 46% respectivamente. Considerando los animales más pesados y más ligeros de cada camada, el 100% de los más pesados correspondieron a los machos y el 90% de los más ligeros a las hembras.

De los 96 fetos obtenidos, 57 se encontraron en el cuerno uterino derecho y 39 en el izquierdo, de los cuales fueron de 4-8 en el derecho y de 0-7 en el izquierdo, ya que, probablemente como describe Even en 1994, los niveles de sangre son mayores en el cuerno uterino derecho que en el izquierdo, sin embargo, los animales más pesados por cada camada fueron localizados, 4 en el cuerno uterino derecho y 6 en el izquierdo. Aunque, estudios realizados en conejo, mostró que los más pesados ocupara los lugares extremos, es decir, cercanos al ovario y al útero, sin importar el género del feto (Hudson et al. 2015), cabe mencionar que en el análisis en rata lo que encontramos presentó diferencias en tal distribución. En nuestro análisis se consideró a partir de 3 fetos por cuerno uterino, cuya posición de los animales se clasificó en 3 regiones: O; cercano al ovario, M; mitad del cuerno uterino y C; cercano al cérvix. Lo que se observó fue que de acuerdo a los más pesados, el 71 % se localizó en C y el 14.5% tanto en M como en O y en cuanto a los más ligeros el 53 % se localizó en O, 5.8% en M y 41.2% en C, los fetos que se localizaron con respecto al macho pesado en posición anterior o posterior, las hembras representaron, el 88.8% y 80%

respectivamente, el resto fueron machos, esto nos llevaría a preguntarnos, cuál es el orden de nacimiento y porqué los machos más pesados en su mayoría se encuentran cercanos al cérvix y porqué presentan hembras vecinas más ligeras. Por otra parte, podríamos esperar que los niveles de testosterona de los machos y hembras cercanos al cérvix sean más altos que los de sus hermanos, esperando que estos probablemente fueran más agresivos. Además podemos intuir que los machos más pesados serían de los primeros en nacer y probablemente tendría un mejor apego materno, aunque no preferencial. En cuanto al número total de crías que se obtuvieron de la cruza con machos pesados fue de 9 a11 y de los machos ligeros fue de 2 a 6 y de 11 a 14, lo que daría una ventaja o desventaja a las crías con mayor o menor número de individuos.

	PESADOS	LIGEROS
CERCANO AL ÚTERO	71%	41.2%
MITAD DEL CUERNO UTERINO	14.5%	5.8%
OVARIO	14.5%	53%
TOTAL DE MACHOS	100%	0%
TOTAL DE HEMBRAS	10%	90%
NÚMERO DE CRÍAS DE ACUERDO AL PESO DEL MACHO	9-11 CRÍAS	2-14 CRÍAS

Tabla 1. Clasificación de las crías; pesados y ligeros, de acuerdo a la posición dentro del cuerno uterino. Total de crías en relación al género y número de crías obtenidas de la cruza de machos pesados y ligeros.

CONCLUSION

En la distribución de las hembras fue similar la posición cercana al ovario y al cérvix.

En el cuerno uterino derecho se encontró el mayor número de crías, en el izquierdo los fetos más pesados que siempre fueron machos, estos a su vez presentaron casi siempre una hembra vecina tanto en posición anterior como en posterior, los machos más pesados se localizaron cercanos al cérvix independientemente del cuerno uterino.

Lo antes mencionado está en relación directa con en el orden de nacimiento, por lo tanto los machos pesados serían de los primeros en nacer, lo que en conjunto pudiera implicar ventajas durante el desarrollo y en la competencia intracamada.

Por otro lado podemos decir que para la obtención de camadas promedio es conveniente la cruza con una macho pesado, por otra parte, para la obtención de camadas con mayor variabilidad en el número de crías se debería cruzar con un macho ligero.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 A. Bautista, H. G. Rödel, "Intrauterine position as a predictor of posnatal growth an suvival in the rabbit", Physiology and behaivor 138 (2015) pp. 101-106
- 2 A. Bautista, R. Hudson, "Development of behaivor in the litte huddle in rat pups: within- and between-litter differences" (2010) Dev psychobiol. 52 (1) pp. 35-43
- 3 Gilbert C, Blanc E, "Role of hudding on the energetic of growth in a new born artricial mammal", (2007), Am J PhysiolRegulIntegr Com 293 pp 867-876

- 4 M. D. Even, F. F. vom Saal, "Differences in blood flow to uterine segments and placentae in relation to sex, intrauterine location and side in pregnant rats", Journal of reproduction and fertility 102 (1994), pp. 245-252
- 5 M. D. Even, F. F. vom Saal, "Transport of steroids between fetuses via amniotic fluid in relation to the intrauterine position phenomenon in rats", Journal of reproduction and fertility 96 (1992), pp. 709-716
- 6 N. A. Moy- López, "Caracterización del apego materno en ratas Wistar y sprague dawley", (2008) e-Genosis Vol. 6, Art. 4
- 7 R. Lucio, "Erección, emisión y eyaculación", Biología de la reproducción, UAM-I, México. 305-333

PULPA DE CAFÉ EN LA ALIMENTACIÓN DE GANADO Y SU EFECTO EN LA PRODUCCIÓN DE LECHE Y CONSUMO VOLUNTARIO

Pedraza-Beltrán Paulina E.

Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal INIFAP, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UAEMéx. <u>pedraza.paulina@inifap.gob.mx</u>.

RESUMEN

La pulpa de café es un residuo que generalmente se desecha en suelos y ríos, generando contaminación ambiental, algunos estudios sugieren darle un uso alterno, así como en compostas y en la alimentación animal, no obstante, existen pocos estudios para determinar la cantidad de subproducto que se puede administrar en la dieta de animales. El objetivo del estudio fue evaluar tres niveles de pulpa de café (Coffea arábica) en la alimentación de vacas lecheras en pastoreo sobre producción de leche y consumo voluntario. El experimento se realizó en un sistema de producción a pequeña escala, se usó un diseño experimental de cuadrado latino 4X4. Se utilizaron cuatro vacas multíparas de raza Holstein-Cebú en su segundo tercio de lactancia, con peso vivo y producción de leche promedio de 477±7kg y 12.1kg/d respectivamente. Las vacas permanecieron 10h en una pradera de pasto Estrella (Cynodon plectostachius), con carga animal de 3 vacas por hectárea. Todas las vacas recibieron 6 kg de concentrado. Los tratamientos fueron: T1= 0, T2= 0.6, T3=0.9 y T4=1.2 kg de pulpa de café/animal /día. El consumo de forraje se estimó mediante la técnica de los n-alcanos. No se observaron diferencias (P>0.05) para producción de leche, composición de leche, peso vivo y consumo voluntario. El promedio de producción de leche fue 12.2, 14.7, 14.4 y 12.2 kg/vaca/día para el T1, T2, T3 y T4 respectivamente. Se concluye que la pulpa de café puede ser usada en la dieta de ganado lechero sin comprometer la producción de leche.

INTRODUCCIÓN

La topografía, altura, clima y suelo de México le permite cultivar y producir variedades de café clasificadas como las mejores a nivel mundial. México ocupa el séptimo lugar de producción de café a nivel mundial y el primer lugar como productor de café orgánico y uno de los productores de las primeras variedades de café Gourmet. El café se produce sobre una superficie de 750 mil hectáreas en doce estados de la República Mexicana, situados en la parte centro-sur del país. Estos estados son: Colima, Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tabasco y Veracruz. El 83% de la producción nacional se exporta y únicamente el 17% se destina a consumo nacional. Por otro lado, cabe mencionar que la producción de café involucra a aproximadamente 500, 000 productores en su mayoría pequeños productores (Pedraza-Beltrán et al, 2012). La pulpa de café es el residuo del beneficio del café y constituye una fuente de contaminación al ambiente debido a que generalmente es vertido en ríos y suelo. (Murthy y Naidu, 2012), no obstante, algunos estudios mencionan que se puede dar un valor agregado sin afectar el medio y se han desarrollado algunas propuestas de uso alterno como compost o en la alimentación animal (peces, aves y rumiantes). De acuerdo a Ulloa et al. (2012), se estima que la producción mundial de pulpa de café asciende a 22 millones de toneladas. Por lo que es necesario buscar un equilibrio entre la producción y el uso adecuado de este subproducto. La pulpa de café es rica en carbohidratos solubles (35%), además contiene aproximadamente 5% de proteína, 30.8 % de fibra cruda y 10.7% de minerales (Esquivel y Jiménez, 2012). Una limitante de su uso en la alimentación animal es su contenido de metabolitos secundarios, como polifenoles y cafeína, no obstante, algunos estudios recomiendan su uso en la alimentación de ganado en niveles bajos de inclusión de la dieta (Murthy y Naidu, 2012, Mazzafera, 2002). En algunos países se ha usado en la alimentación de ganado con niveles de inclusión que van desde 30% en bovinos de leche y una inclusión hasta de 18% en el concentrado (Rocha et al., 2006). Se ha observado que la presencia de cafeína y otros compuestos fenólicos en la pulpa de café aparentemente no tienen efectos negativos sobre el desempeño animal en los niveles antes reportados (Pedraza-Beltrán et al, 2012; Souza et al., 2006). Siendo la pulpa de café un recurso poco evaluado *in vivo*, y considerando sus características físico-químicas, el objetivo del estudio fue evaluar tres niveles de pulpa de café (*Coffea arábica*) en la alimentación de vacas lecheras en pastoreo sobre producción de leche y consumo voluntario

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimiento experimental. El trabajo se llevó a cabo en una unidad de producción de leche a pequeña escala ubicada en la comunidad de Rincón de Aguirre del Municipio de Tejupilco, al sur del Estado de México, esta comunidad se encuentra entre los paralelos 18º 45' 30" y 19º 04' 32" de latitud norte, y entre los meridianos 99º 59' 07" y 100º 36' 45" de latitud oeste, con una altitud de 1, 340 msnm. El estudio tuvo un diseño experimental de cuadro latino 4X4, se utilizaron cuatro vacas cruza Holstein-Cebú de peso y producción de leche promedio de 477 ± 7 kg y 12 ± 2.7 kg/d respectivamente. Los animales se desparasitaron antes de que el estudio diera inicio. El experimento se llevó a cabo en cuatro periodos con duración de 21 días, de los cuales en los últimos seis días se tomaron muestras de leche, heces y forraje para su posterior análisis de laboratorio. Las vacas fueron ordeñadas a mano por la mañana y por la tarde, se tomó una muestra representativa en cada ordeño, al final del día se mezcló la muestra de la mañana con la de la tarde para tener una muestra por vaca por día, posteriormente fueron analizadas para obtener proteína, grasa y sólidos totales con ayuda de un analizador ultrasónico (EKOMILK, EON Trading LLC, Bulgaria). El peso vivo se registró al inicio y al final de cada periodo experimental con ayuda de barras portátiles (Gallagher Weighing System, modelo W310). Las vacas permanecieron en una pradera de pasto estrella (Cynodon plectostachius), con carga animal de 3 vacas por hectárea. Las vacas recibieron 6 kg de concentrado al día el cual se ofreció en dos partes, 3 kg por la mañana y 3 kg por la tarde, su composición se muestra en la Tabla 1. Los tratamientos (T) consistieron en adicionar diferentes niveles de inclusión de pulpa de café en la dieta, T1= 0, T2= 0.6, T3=0.9 y T4= 1.2 kg MS/vaca/día. La pulpa de café se mezcló con el concentrado para asegurar su consumo y se ofreció en la ordeña de la tarde.

Cuadro 1. Composición química del concentrado, pasto estrella y pulpa de café utilizados en el estudio.

Variable		MS	FDN	FDA	PC	Fenoles	Taninos
						totales	totales
			g/kg MS	g/kg MS	g/kg MS	%	%
Concentrado		890	141	52	296	-	-
Pulpa de café		860	353	279	85	3.5	2.2
	Periodo						
Pasto estrella	P1	50	721	357	82		
	P2	55	657	334	97		
	P3	64	657	318	122		
	P4	72	598	285	155		

media	60.3	658	323	114
SEM	4.8	21.1	15.1	16

MS=materia seca, FDN=fibra detergente neutro, FDA=Fibra detergente ácido, PC=Proteina cruda, SEM=Error estandar de la media.

El consumo de materia seca se estimó mediante la técnica de n-alcanos propuesta por Dove y Mayes (2000). Cada vaca recibió 500 mg/d de N-alcano C32 a partir del día 10 de cada periodo experimental, el cual fue dosificado diariamente durante la comida de la tarde. La extracción de N-alcanos se realizó de acuerdo a Mayes et al. (1986). El consumo de materia seca fue calculado con la Ecuación (1).

$$CMS = Dj \times {\binom{Fj}{Fi}} / \left(Hi - {\binom{Fj}{Fi}} * Hj\right)$$
 Eq. (1)

En donde: CMS= Consumo de material seca (kg MS/d; D*j*= alcano dosificado diariamente (mg de C32/d); Fi: Hi=concentraciones de cadena impar de N-alcanos en forraje y heces (mg/kg de MS); Fj:Hj= concentraciones de cadena par de N-alcanos (mg/kg de MS).

Análisis químicos. Las muestras de forraje fueron secadas en una estufa de aire forzado a 60°C hasta obtener peso contante. Posteriormente fueron molidas para determinar el contenido de materia seca, cenizas y materia orgánica. El contenido de nitrógeno fue obtenido usando el método Kjeldahl y se multiplico por el factor 6.24 para estimar el contenido de proteína cruda (AOAC, 1995). Las fracciones de fibra fueron determinadas usando un analizador de fibras (ANKOM 200 Technology Corporatión, Fairport, NY). El contenido de fenoles y taninos totales de la pulpa de café se determinaron por el método de Folin-Ciocalteu usando ácido tánico como estándar para realizar la curva de calibración (Makkar, 2003).

Análisis de los resultados. Los resultados de producción y composición de la leche, peso vivo y consumo voluntario fueron analizados con un análisis de varianza para un diseño experimental cuadro latino 4X4. Se aplicó la prueba de Tukey cuando se observaron diferencias entre las medias. Para el análisis de los datos se usó el comando de modelo general lineal del paquete estadístico Minitab v13 (2003)

RESULTADOS

La composición química es similar a lo reportado por Pandey y Soccol (2000) particularmente en taninos, fenoles y proteína cruda (ver Cuadro 1), no obstante, fue diferente en el contenido de FDN, en este estudio se observaron valores más altos (353 y 210 g/kd de MS), esta diferencia probablemente es debido al procesamiento del café que en este caso fue el método seco. El promedio de proteína cruda en el pasto fue de 114 g/kg MS, valor similar al reportado por otros autores para el pasto estrella cosechado en Tejupilco Estado de México (López-González et al., 2010), no obstante, se ha reportado un contenido hasta de 90 g/kg MS para pastos tropicales (de Souza et al., 2005). La inclusión de pulpa de café no mostró efectos negativos sobre las variables evaluadas (ver Cuadro 2) sugiriendo que se puede adicionar a la dieta de ganado lechero hasta 1.2 kg por día sin afectar la producción ni la composición de la leche ni el consumo de forraje en vacas de doble propósito. Algunos autores, señalan que se puede incluir hasta un 10.5 y 20% la pulpa de café en el consumo total de materia seca (CTMS) sin afectar la producción de leche (Mazzafera 2002; de Souza et al., 2005; Noriega et al., 2008). El nivel de inclusión más alto en el presente estudio es cercano a lo reportado previamente por estos autores. Los resultados de la producción

de leche obtenidos en este estudio sugieren que tasas bajas de inclusión de pulpa de café en la dieta (0.6-0.9 kg MS/d) puede proporcionar mejores resultados comparados con la alta inclusión de pulpa de café (1.2 kg MS/d), puesto que mostraron un incremento numérico de 19.5% respecto al Tabla 2), no obstante, no se encontraron diferencias (P>0.05). Probablemente, este efecto podría ser debido al contenido moderado de taninos y fenoles en la pulpa de café, (Murthy y Naidu, 2012) el cual podría incrementar el flujo de la proteína del alimento al intestino delgado. De acuerdo a Nurfeta (2010) bajos niveles de taninos son ligados a la proteína del alimento formando un complejo tanino-proteína, el cual actúa como proteína de paso y puede absorberse en intestino delgado más eficientemente lo cual ha sido asociado a un incremento en la producción de leche, por ejemplo, en un estudio realizado por Dubey (2007) se observó que la producción de leche incrementó significativamente de 9.46 (control) a 10.35 kg/d cuando alimento a ganado lechero con 3% de taninos de vainas de Acacia nilotica. Por otro lado, se observó bajo consumo de pasto estrella, el promedio fue de 3.6±0.3, 3.2±0.3, 3.6±0.2, 3.6±0.5 para el T1, T2, T3 y T4 respectivamente. Los resultados muestran que la adición de pulpa de café en la dieta, no afectó el consumo de pasto ni el consumo total, las diferencias significativas (P<0.05) que se observaron en el consumo total, fue debido a la cantidad de pulpa de café en la dieta, en el Cuadro 2 se puede observar que el consumo más alto fue en el T4 que recibió 1.2 kg MS/d, mientras que el T1 que mostró el consumo total más bajo debido a que no recibió pulpa de café. De acuerdo a Pedraza-Beltrán et al. (2012), la pulpa de café puede reemplazar a ingredientes de alta calidad en la dieta de ganado lechero, así como canola y grano de maíz (hasta en un 20%), sin afectar la producción de leche ni el consumo voluntario. Estos autores, observaron una producción de leche y consumos de pasto relativamente bajos (7.1 y 3.3 kg/vaca/d, respectivamente), estos resultados fueron atribuidos a la baja disponibilidad de pasto Bahía (Paspalum notatum) y no a la adición de pupa de café en la dieta. Se sabe que la producción de pasto Bahía en esta área de estudio es baja (Avilés et al., 2008).

Cuadro 2. Efecto de la inclusión de pulpa de café sobre producción de leche, composición de leche, peso vivo y consumo voluntario de pasto estrella (*Cynodon plectostachius*).

Inclusión	Producción	Composición de la leche					
de Pulpa de café	de leche		g/kg		Peso vivo	Consumo de pasto	CTMS
Kg MS/d	Kg/d	Grasa	PC	ST	kg	kg MS/d	kg/d
T1 (0)	12.3±2.2	39.4±2.8	31.2±4.5	119.5±1.1	494±9.2	3.6±0.3	9.6±0.3 ^b
T2 (0.6)	14.7±2.2	39.7±4.7	30.9±7.0	123.0±0.8	492±5.14	3.2±0.3	9.8±0.3 ^b
T3 (0.9)	14.5±1.8	34.1±5.0	30.6±4.9	118.7±0.2	480±9.2	3.6±0.2	10.5±0.2 ^a
T4 (1.2)	12.3±1.3	40.9±2.3	31.4±5.9	123.6±0.6	475±6.0	3.6±0.5	10.8±0.5 ^a
SEM	1.7	2.2	0.5	3.5	8.0	0.21	0.21

T= tratamiento, PC= proteína cruda, ST= sólidos totales, CTMS= consumo total de materia seca, SEM= error cuadrado de la media

Estudios previos en esta zona de estudio muestran que la producción de pasto estrella es mayor (19 kg MS/ha.) que la acumulación neta de pasto Bahía (Yong-Ángel et al., 2012; Avilés et al., 2008). El consumo de pasto en el presente estudio probablemente se vio afectado por la alta tasa de suplementación con concentrado (6kg/d). Por ejemplo, Pérez-Ramírez et al. (2008) observaron una disminución en el consumo de pasto (<8.4 kg/vaca/d de pasto) cuando suplementaban con altas cantidades de concentrado (10 kg MS/vaca/d) estos autores atribuyeron este efecto a la falta de motivación al pastoreo debido a que vacas suplementadas con bajas cantidades de

concentrado (5 kg MS/vaca/d) mostraron una mayor motivación al pastoreo (11.5 kg MS/vaca/d). No obstante, existe la necesidad de realizar más estudios relacionados al consumo de forraje en pastoreo en zonas de clima tropical, debido a que la información que existe se ha realizado en mayor medida en zonas de clima templado.

CONCLUSIONES

La pulpa de café puede ser utilizada en la alimentación de ganado hasta un nivel de 1.2 kg MS/d sin afectar la producción y composición de la leche ni el consumo voluntario. El bajo consumo de pasto observado se atribuye al efecto de sustitución con el concentrado, debido a la alta tasa de suplementación. Los resultados muestran que la pulpa de café puede tener un uso más sustentable en las zonas productoras de café.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Association of Official Analytical Chemists [AOAC]. 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. Arlington, VA, USA.
- 2. N. F. Avilés, A. Espinoza-Ortega, O. A. Castelán-Ortega, C. M. Arriaga-Jordan, "Sheep performance under intensive continuos grazing of native grasslands of Paspalum notatun and Axonopus compressus in the subtropical regions of the Higlands of Central México", Trop. Anim. Health Pro., Vol. 40, 2008, pp.509-515.
- 3. L. A. de Souza, R. Garcia, S. C. V. Filho, F. C. Rocha, J. M. S. Campos, L. S. Cabral, K. F. Gobbi, "Effects of feeding coffee hulls on intake, digestibility and milk yield and composition of lactating dairy cows", R. Bras. Zootec, Vol. 34, 6, 2005, pp. 2496-2504.
- 4. H. Dove, R. W. Mayes, "Using n-alkanes and other plant wax components to estimate intake, digestibility and diet composition of grazing/browsing sheep and goats", Small Ruminant Res, Vol 59, 2000, pp. 123-139.
- 5. D. Dubey, "Studies on degradation of tannins from *Acacia nilotica* pods and their influence on nutrient utilization, milk production and reproduction in dairy animals" Ph Degree Thesis, Deemed University, NDRI, Karnal, Haryana, India, 2007.
- 6. P. Esquivel, V. M. Jiménez, "Functional proprieties of coffee and coffee by products". Food Res. Int., Vol. 46, 2, 2012, pp. 488-495.
- 7. Food and Agriculture Organization of the United Nations, News Division, 2016 [FAOSTAT]. Available from: http://www.fao.org/agronoticias/agro-noticias
- 8. A. Jayanegara, E. Wina, C. R. Soliva, S. Marquardt, M. Kreuzer, F. Leiber, "Dependence of forage quality and methanogenic potential of tropical plants on their phenolic fractions as determined by principal component analysis". Anim. Feed Sci. Technol, Vol 163, 2011, pp. 231–243.
- 9. F. López-González, J. G. Estrada-Flores, F. Avilés-Nova, G. Yong-Ángel, P. Hernández-Morales, R. Martínez-Loperena, P. E. Pedraza-Beltrán, O. A. Castelán-Ortega, "Agronomic evaluation and chemical composition of African star grass (*Cynodon plectostachius*) in the southern region of the state of Mexico" Trop. Subtrop. Agroec., Vol. 12, 1, 2012, pp. 151-159.
- H. P. S. Makkar, "Chemical, protein precipitation and bioassays for tannins, tannin levels and activity in unconventional feeds and effects and fate of tannins", in *Quantification of* tannins in tree and shrub foliage (Kluwer Academics Publishers, Netherlands, 2003) pp1-42
- R. W. Mayes, C. S. Lamb, P. M. Colgrove, "The use of dosed and herbage n-alkanes as markers for the determination of herbage intake". J. Agric. Sci. Cambidge, Vol. 107, 1986, pp. 161-170.
- 12. C.S. Mayne, L. A. Wright, G. E. J. Fisher, "Grassland Management under Grazing and Animal Response", in *Grass: Its production and Utilization* (British Grassland Society, Blackwell Science Ltd, London, 2000) pp. 247–291.
- 13. P. Mazzafera, "Degradation of caffeine by microorganisms and potential use of decaffeinated coffee husk and pulp in animal feeding". Sci. Agric., Vol. 59, 4, 2002, pp. 815–821.
- 14. MINITAB, v14, User's guide II: data analysis and quality tool. (Minitab, USA, 2003).

- 15. P. S. Murthy, M. M. Naidu, "Sustainable management of coffee industry by products and value addition- a review". Resour. Conserv. Recy, Vol. 66, 2012, pp. 45-58.
- 16. S. A. Noriega, A. R. Silva, S. M. García, "Utilización de la pulpa de café en la alimentación Animal. Zootecnia Trop". Vol. 26, 4, 2008, pp. 419-419.
- 17. A. Nurfeta, "Feed intake, digestibility, nitrogen utilization, and body weight change of sheep consuming wheat straw supplemented with local agricultural and agro-industrial by-products", Trop. Anim. Health Prod, Vol. 42, 2010, pp. 815–824.
- 18. P. E. Pedraza-Beltrán, J. G. Estrada-Flores, A. R. Martínez-Campos, I. Estrada-López, A. A. Rayas-Amor, G. Yong-Angel, M. Figueroa-Medina, F. Avilés-Nova, O. A. Castelán-Ortega OA, "On-Farm evaluation of the effect of coffe pulp suplementation on milk yield and dry matter intake of dairy cows grazing tropical grasses in central Mexico". Trop. Anim. Health Pro, Vol. 44, 2012, pp. 329-336.
- 19. E. Pérez-Ramírez, R. Delegarde, L. Delaby, "Herbage intake and behavioural adaptation of grazing dairy cows by restricting time at pasture under two feeding regimes". Animal, Vol. 2, 9, 2008, pp.1384-1392.
- F. C. Rocha, R. García, A. W. P. Freitas, A. L. de Souza, K. F. Gobbi, S. C. V. Filho, R. G. Tonucci, G. C. Rocha, "Casca de café em dietas para vacas em Lactação:consume,digestibilidade produção e composição de leite"., R. Bras. Zootec.., Vol. 35, 5, 2006, pp. 2163-2171
- 21. R. J. B. Ulloa, J. A. S. Verreth, "Growth, feed utilization and nutrient digestibility in tilapia fingerlings (*Oreochromis aureus Steindachner*) fed diets containing bacteria-treated coffee pulp". Aquacul. Res., Vol. 33, 2002, pp.189-195.
- 22. G. Yong-Ángel, V. C. Pires-Silveira, F. Avilés-Nova, O. A. Castelán-Ortega, "Modeling growth of star grass (*Cynodon plectostachyus*) in the subtropical regions of central Mexico" Trop. Subtrop Agroec.Vol. 15, 2012, pp. 273 300.

EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE PARA PROLONGAR LA VIDA DE ANAQUEL DEL ARÁNDANO (VACCINIUM ASHEI READE)

Merced Morales Morales, Raquel García Barrientos y Ma. Elizabeth Montiel Huerta

Instituto Tecnológico de Apizaco

Universidad Politécnica de Tlaxcala. merced.morales.morales@gmail.com.

RESUMEN

Los recubrimientos comestibles (RC) elaborados a partir de mucílago de sábila (Aloe vera) y grenetina fueron aplicados para prolongar la vida de anaquel del arándano orgánico de la variedad "ojo de conejo" (Vaccinium ashei Reade). Se ejecutó un seguimiento fisicoquímico durante el almacenamiento. Para evaluar la calidad poscosecha de la aplicación de los RC que corresponden a los tratamientos en un diseño experimental completamente al azar, con una análisis de varianza y una prueba de comparación de medias Tukey con un P≤0.05, durante 25 días, donde las variables que se analizaron fueron Acidez Titulable (AT), Sólidos Solubles Totales (SST), pH, pérdida fisiológica de peso, índice de deterioro y color.

La aplicación de los RC permitió mantener la calidad de los frutos sometidos al tratamiento, la pérdida de peso fue la variable con mayor relevancia, presentando una merma superior en el Tratamiento Testigo (TT) comparada con el Tratamiento Recubierto (TRC) y el Tratamiento Recubierto y Desinfectado (TRD). La película formada conserva las características de los frutos, que aprueban la aceptación la futura en el mercado. Lo anterior permite considerar este RC como una alternativa viable para alargar la vida anaquel del arándano, bajo las condiciones óptimas de refrigeración.

INTRODUCCIÓN

El arándano, es un fruto carnoso simple, con el pericarpio comestible, es una baya que pertenece a la familia de las Ericáceas del genero *Vaccinium*, es una de las frutas más valoradas actualmente en el mercado mexicano (Kumar and Dey, 2011). Los antioxidantes que contienen ayudan a combatir los radicales libres, los cuales al estar presentes en el organismo generan daño celular, estando vinculados, a la aparición del cáncer. Los arándanos además ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares y su consumo aumenta el nivel de colesterol "bueno" en la sangre. Paralelamente, la Vitamina C que posee contribuye a mejorar el sistema inmunológico (Cataldo, 2011).

Los arándanos son frutos muy perecederos, debido principalmente a la tasa de respiración, se considera que son climatéricos, debido a que presentan un marcado aumento en la actividad respiratoria, el cual se produce con posterioridad a la cosecha, si son recolectados en madurez fisiológica, en el periodo final de maduración de los arándanos se intensifica el color de la epidermis y se produce un incremento de la respiración (Godoy, 2004).

El arándano tiene una vida en anaquel muy corta, la comercialización de estas frutas se lleva a cabo en un breve período, ya que son altamente susceptibles al deterioro causado por desórdenes fisiológicos y patológicos en la postcosecha. La preservación de la calidad (organoléptica, comercial, microbiológica y nutritiva) de este producto frutícola y la satisfacción de las crecientes exigencias de los mercados internacionales, dependerá de mejorar los tratamientos postcosecha. La mayor inversión de producción en este cultivo se emplea en la comercialización, debido a los altos costos que generan los métodos de enfriamiento para su preservación. El propósito de esta investigación será contribuir con la presentación de soluciones que permitan incrementar la preservación del fruto, a partir de la aplicación de recubrimientos comestibles. Los recubrimientos comestibles son capas delgadas de materiales plastificantes aplicados sobre la superficie exterior de los alimentos. Algunas de sus funciones son proteger los productos del daño mecánico, físico y químico y de la actividad microbiológica (Mei, et al., 2013).

El propósito principal es retardar la pérdida de humedad, pueden ser elaborados con carbohidratos (celulosa y derivados, almidón, carrageninas, alginatos, agar – agar y pectinas), lípidos (ceras) y proteínas (proteína de soya, suero, colágeno), la adición del recubrimiento puede mejorar la permeabilidad del agua en el alimento (Lim, *et al.*, 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Procesos Biotecnológicos de la Universidad Politécnica de Tlaxcala. Para la fase de campo se identificó una huerta comercial, con manejo orgánico, ubicada en la comunidad de Tepoxcuautla, Zacatlán, Puebla. La cosecha se realizó cuando los frutos alcanzaron el grado de madurez comercial, al final de la temporada de producción. Después de la recolección a los frutos se les aplicó un preenfriamiento para evitar daño.

Se utilizó como polímero grenetina, mucílago de sábila (*Aloe vera*) como solvente y plastificante se adicionó glicerol.

Método de extracción de mucílago

Se utilizaron pencas de sábila donde la primera etapa de la extracción consistió en realizar un corte de 25 hojas de un tamaño aproximado de 15-20 cm de largo y de 3 - 4 cm de ancho, con un peso promedio de 28 g por hoja. Posteriormente, se realizó otro corte a una distancia de 2 cm arriba del punto de frotación de cada hoja, para así evitar contaminación microbiana; antes de realizar el corte, se lavó y se desinfectó la hoja de sábila. Después se eliminaron las espinas, así como las epidermis del haz y del envés de la hoja, la pulpa fue trozada en pequeños cuadros y se realizó la molienda del mucílago con un extractor de jugo (Black and Decker, modelo JE2200B) posteriormente se pasó por tela de gasa y para eliminar las burbujas y fibras del material se centrifugó a 300 rpm. Con el objetivo de separar al máximo el mucílago extraído de las impurezas se sometió a un nuevo filtrado con otra coladera y se introdujo a refrigeración a una temperatura de 8°C.

Obtención de películas biodegradables por el método de vaciado en placa.

Se utilizó una solución filmogénica constituida por grenetina, mucílago se sábila y glicerol. Se hicieron tres formulaciones para la solución. La primera al 1% glicerol y 2% grenetina, la segunda 0.5% glicerol y 2% grenetina, finalmente una 1% glicerol y 5% grenetina con respecto al peso del

mucílago para tener una solución al 100 % en peso. Para hacer las medidas de masa de cada uno de los componentes de la solución se utilizó una balanza analítica (OHAUS Pioner DA512C) con una precisión de 0.001g.

La solución (mucilago de sábila, grenetina y glicerol) se vació en un vaso de precipitados, ésta se puso a una agitación constante de 30 rpm y calentamiento usando una parrilla magnética (Termo Científic, modelo PMC), la cual permitió una agitación y una completa homogeneización de la solución.

La parrilla se calentó desde temperatura ambiente hasta 40°C (para asegurar la gelatinización total de la grenetina). La grenetina se adicionó a temperatura ambiente cuando se alcanzó la T° sugerida, se mantuvo el calentamiento y solo se dejó el agitador durante una hora hasta que la temperatura descendió a 20°C. Finalmente se vertió la solución filmogénica en cajas Petri con un volumen de 9 ml y se colocaron en un lugar totalmente plano para su homogeneidad y se mantuvieron en reposo en un lugar completamente seco durante un periodo de 24 horas, posteriormente las películas se desprendieron de la caja cuidadosamente y se almacenaron en bolsas ziploc para evitar su hidratación.

Caracterización de películas

Las películas obtenidas fueron caracterizadas antes de ser utilizadas como recubrimiento mediante varias actividades que se mencionan posteriormente:

Grosor de las películas

Para determinar el grosor de las películas obtenidas por vaciado en placa, se utilizaron muestras en forma circular, posteriormente se tomaron las medidas en tres puntos aleatorios de la superficie de las probetas mediante un micrómetro Mitutoyo Digimatic Micrometer con una precisión de 0.001, y se tomó el promedio como el valor del grosor.

Rugosidad de las películas

Para determinar la rugosidad de los recubrimientos obtenidos por el método de vaciado en placa se tomaron manualmente muestras circulares cm y se sometieron al Mitutoyo Surftest SJ-301 para determinar las variables Ra, Rz y Rq, las lecturas correspondientes se realizaron por duplicado.

Aplicación de PB en frutos de arándano

Las películas elaboradas por vaciado en placa se utilizaron para recubrir frutos de arándano, para observar su efectividad como recubrimiento y para evaluar el retardamiento de la oxidación. Primero se seleccionaron arándanos en estado de madurez comercial, se procedió con la aplicación de tres tratamientos para hacer una comparación sobre el deterioro del fruto a temperatura ambiente. En el primer tratamiento, la muestra no se le adicionó ningún aditivo, el cual se le denominó tratamiento testigo (TT); el segundo tratamiento con el mismo tamaño se sumergió en una solución desinfectante diluida (plata ionizada al 0.15%) durante 15 minutos (TRD) y el último tratamiento consistió en aplicar los recubrimientos por inmersión (TRC), las frutas fueron sumergidas en la dispersión del biopolímero por un minuto seguido de 30 segundos de escurrimiento. Debido a que estas formaron parte del fruto sustituyendo la corteza natural se consideran como películas comestibles (TRC). Las pruebas con los tratamientos mencionados se realizaron a temperatura ambiente.

Acidez Titulable.

Se maceró una muestra de arándano de cada tratamiento en un mortero de porcelana hasta tener una solución uniforme, se tomaron 10 g de muestra mediante una balanza analítica digital (OHAUS

Pioner DA512C) y se aforó con agua destilada hasta obtener 50 ml. Posteriormente se filtró y se utilizó un volumen final de 25 ml para titular con NaOH 0.01 N hasta obtener un pH de 8.2, de acuerdo a lo expresado por (Altamirano, *et al.*, 2013).

Sólidos Solubles Totales

El contenido de sólidos solubles totales se obtuvo por el método de la A.O.A.C. (1970), el cual consistió en macerar una muestra de los tres tratamientos hasta tener una mezcla homogénea, se tomaron tres gotas que se colocaron en un refractómetro WYA-25 DIGITAL ABBE REFRACTOMETER dónde se realizó la lectura correspondiente

pΗ

Para determinar esta variable, se trituró una repetición de cada tratamiento en un mortero, posteriormente el extracto que se obtuvo se colocó en un vaso de precipitados. Por último se calibró el potenciómetro (CONDUCTRONIC, modelo PH120), con una solución buffer pH 7.0 + 0.2 y 10 + 0.2., y se colocó en el vaso correspondiente para determinar el pH.

Pérdida de peso. El análisis se realizó por triplicado, el peso de los frutos fue medido con una balanza analítica (OHAUS Pioner DA512C). Los resultados fueron expresados con relación al porcentaje de pérdida acumulada.

Color.

El color fue medido en los cuatro puntos del fruto con cuatro repeticiones, el índice de color puede estar entre los siguientes rangos y puede utilizarse como variable de control de calidad en alimentos. Esta variable se determinó a través del método de fotografía convirtiendo las coordenadas con el programa COLORMINE tanto en frutas recubiertas como en las de control. Se determinaron las parámetros de la escala CIE lab Luminosidad (L*) y parámetros de cromaticidad a* (rojo verde) y b* (amarillo-azul). (Murillo, et al., 2011). Las mediciones se realizaron en tres frutos durante los días 0, 5, 10, 15, 20 y 25.

RESULTADOS

Los datos se analizaron como un diseño completamente al azar (DCA), en el que se tuvieron tres tratamientos, cada uno con tres repeticiones, teniendo así nueve unidades experimentales.

Los tratamientos fueron sometidos a dos factores y seis niveles de estudio diferentes

TT Testigo + refrigeración (8 °C, HR 75%).

TRD Solución 1 de recubrimiento: P1= (5% pectina, 1% glicerol) + refrigeración (8 °C, HR 75 %) + desinfectante (plata ionizada al 0.15%)

TRC Solución 2 de recubrimiento: P1= (5% pectina, 1% glicerol) + refrigeración (8 °C, HR 75 %)

Grosor de películas

En la presente investigación se obtuvieron películas de *aloe* vera y grenetina por el método de vaciado en placa, las tres formulaciones presentaron un grosor diferente por la concentración de materiales utilizados en las soluciones filmogénicas Para el caso de las películas obtenidas por el método de vaciado en placa con proporciones 1% glicerol, 2% grenetina, presentaron un grosor promedio, con valor de 0.015mm, la siguiente película con 0.5 glicerol y 2% grenetina obtuvo un grosor promedio de 0.19 mm sin embargo, las películas obtenidas por la formulación 1% glicerol,

5% grenetina presentaron un grosor estadísticamente significativo, con un valor de 0.018 mm. Este tipo de recubrimientos de alimentos frescos es el menor grosor, el cual permite que el recubrimiento pueda adherirse completamente en toda la superficie de los frutos. También, permite el intercambio gaseoso entre el fruto y el ambiente manteniendo la estabilidad en la respiración y en la producción de etileno, retardando la degradación de los pigmentos y por ende la senescencia (Ramos, 2014).

Los valores del grosor obtenidos concuerdan con los obtenidos por López (2011), quien reportó resultados positivos usando el método de vaciado en placa, concluyendo que la variabilidad depende de la cantidad de masa que se utiliza y que en el método por vaciado en placa es más fácil controlar las cantidades de materiales.

Rugosidad de películas

La rugosidad de las piezas se determinó en dos muestras de las tres formulaciones obteniendo los siguientes resultados correspondientes a la altura total del perfil de rugosidad (Rq), Altura máxima del perfil de rugosidad (Rz), y Altura total del perfil de rugosidad (Ra):

Formulación	Ra	Rz	Rq
1% Glicerol 2% Grenetina	56.275	280.175	69.425
0.5% Glicerol 2% Grenetina	54.325	212.375	66.150
1% Glicerol 5% Grenetina	31.625	158.500	38.475

Acidez Titulable

La presencia de ácidos en los frutos de arándano durante el periodo de almacenamiento comprendido del día 0 hasta el a 25 presentaron rangos para el caso de los TRC 1.409 – 1.492, del TT 1.385 – 0.916 y para el caso del TRD 1.410 – 1.580 valores inferiores a los reportados por Moncayo (2013) En la Figura 8 se observa la presencia de ácido cítrico donde ocurrió una disminución drástica en los primero cinco días, para recuperarse después del décimo día, en el caso del tratamiento control la perdida de ácido fue prominente en los diez días iniciales, para después controlarse de y mantener su tendencia de cadencia. Moncayo (2013), asocia este comportamiento con la disminución del consumo de los ácidos durante el proceso de respiración y esto puede ser consecuencia de la protección lograda por la aplicación del recubrimiento.

рΗ

Durante el periodo de almacenamiento los valores de pH se presentaron diferencias entre los tratamientos recubiertos hasta el día 10 para TRC 2.81, 2.81 y 2.8, el TRD 2.82, 2.79 y 2.77, lo que es semejante a los datos presentados por Moncayo (2013) para posteriormente lograr una relación inversa hasta el día 15 y finalizar con un pH de 3.15 y 2.89 respectivamente. El tratamiento control logro alcanzar un aumento en esta variable en el día 15 y cerrar el ciclo de observación en el día 20 con 2.89, las tendencias que se presentaron fueron reportadas por Duan, et al., (2011). El pH es un punto importante desde el punto de vista sensorial de las frutas, cuando el pH aumenta la percepción de dulzor sufre el mismo cambio. Lo que este análisis significa que los frutos con recubrimientos alcanzan un mayor pH en el día 15, consiguiendo así un mayor grado de dulzura en el sabor en ese mismo día, lo cual genera la alternativa ideal de comercializar el producto dentro de ese periodo para que el cliente obtenga lo mejor de esta característica.

Pérdida de peso

La pérdida de peso se produce por la disminución en la concentración de agua, ocasionada por el proceso de respiración y transpiración (Moncayo, 2013). Como se muestra en la Figura 1, el TRC permitió disminuir la perdida de agua alcanzando sólo el 17.6% y el TRD el 20.32%, comparado con el TT generó una gran pérdida de agua de hasta el 32.6% en los 254 días de observación respectivamente, lo que represento una tercera parte del peso total de los frutos sin recubrir

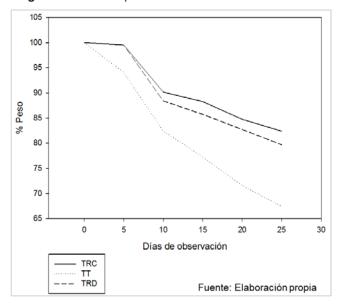


Figura1. Pérdida de peso en arándano con recubrimiento comestible.

Sólidos Solubles Totales (SST)

Los parámetros de SST presentes en la siguiente tabla, no muestran diferencia significativa entre los tratamientos en el periodo de almacenamiento, logrando en los tratamientos con recubrimiento mantener sus valores, la tendencia que muestra en los SST, es explicada debido a que los azucares resultantes de la hidrolisis de la sacarosa se utilizan como sustrato de las reacciones metabólicas de la respiración (Altamirano, *et al.*, 2013).

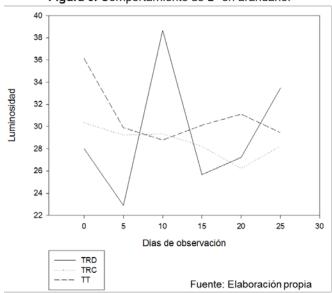
_	Sólidos Solubles Totales (°Bx)				
_	TRC	TT	TRD		
D0	11.5	11.4	11.6		
D5	11.2	11.4	11.6		
D10	11.8	11.1	11.4		
D15	12.4	10.8	11.8		
D20	11.8	10.7	11.8		
D25	11.8	10.6	11.7		

Color

En las figura 2 se muestra la saturación de color (C*) para cada tratamiento presentando diferencias no significativas, asimismo la luminosidad (L*) en el tratamiento TRD obtuvo los valores más altos en el día 10 (Figura 3), todas los tratamientos mostraron un color violeta, azulado oscuro representado por el matiz (Hue), pero TRC y TRD fueron inferiores debido a la adhesión del recubriendo sobre su superficie (Figura 4).

Figura 2. Comportamiento de C* en arándano. 22 20 18 Saturación 16 14 12 10 0 10 15 20 25 30 Días de observación TRD TRC TT Fuente: Elaboración propia





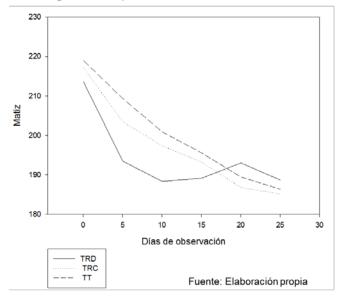


Figura 4. Comportamiento de Hue en arándano.

CONCLUSIONES

La apliacación de un recubrimiento elaborado de *Aloe vera* resulta una opción para prolongar la vida de anaquel del arándano para su comercialización en fresco bajo las condiciones optimas de refrigeración, la tercera formulación (1% glicerol, 5% grenetina) resulta idonéa además que durante el periodo de almacenamiento la superficie se mantiene fresca y evita los daños por frío, es importante mencionar que dadas las caracteristicas y el origen de los insumos de este recubrimiento, puede ser aplicados en frutos bajo condiciones de producción organicas, su empleo esta respaldado por la normativa vigente en el país para este sector.

- Altamirano, R. S. E., Gutiérrez T. J., Raya P.J. C., Ramírez P. J. G. y Arellano, N.A. (2013). Evaluación poscosecha de dos variedades de fresa con recubrimiento comestible bajo condiciones de refrigeración. XV Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Colima, Méx. pp 286- 291.
- 2. Cataldo, N. C., (2011). Proyecciones de temporada 2011/2012. Edición especial internacional. Arándanos en Chile, es una publicación elaborada y distribuida por portal frutícola. Recuperado de http://www.apama.com.ar/Revista-arandanos-de-Chile.pdf
- 3. Duan, J., Wu, R., Strick, B. C., & Zhao, Y., (2011). Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and Elliott) under commercial storge conditions. Postharvest Biology and Technology, 59 (1), 71 79, doi: 10.1016/j.postharvbio.2010.08.006
- 4. G. Evans, "Perspectiva on the development of high-toughness ceramics", J. Am. Ceram. Soc., Vol. 73, 2, 1990, pp. 187-206.
- 5. Godoy. C. A., 2004. Conservación de dos variedades de arándano alto en condiciones del frío convencional. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar de Platea, Balcarce Buenos Aires, Argentina. Rev. FCA UNCuyo tomo XXXVI Nº 1.
- 6. Gull, DA, Cartagena IA, French E. 1982. Análisis de calidad de tomate para lograr un mejor producto. Instituto Boliviano de Tecnología Agropecuaria. (I.B.T.A.) y la Misión Agrícola. Universidad de Florida (U.F.L.A.). Perú, pp.17-26.

- 7. Kester, JJ. Fennema, O. (1986) *Edible films and coatings: a review.* Food Technology. 40:47-59.
- 8. Kumar, S. Dey, P. (2011) Effects of different mulches and irrigation methodos on root growth, nutrient uptake, water use efficiency and yield of strawberry. Scientia Horticulturae 127:318-324.
- 9. Lim, R., Stathopoulos, C. E., & Golding, J. B. (2011). Effect of edible coatings on some quality characteristics of sweet cherries. International food Research Journal, 18(4), 1237-1241.
- 10. López O. V., 2011, Desarrollo, caracterización y aplicación de envases biodegradables a partir de almidón. Tesis doctoral.
- 11. Mei, J., Yuan, Y., Guo, Q., Wu, Y., Li, Y., & Yu, H. (2013). *Characterization and antimicrobial properties of water chestnut starch chitosan edile films.* International journal of biological macromolecules, 61C, 169 174. Doi: 10.1016/j-ijbiomac.2013.06.026.
- 12. Moncayo, M. D. C. (2013) Desarrollo de un recubrimiento comestible a partir de biopolímero para prolongar la vida útil de frutas frescas. Tesis de posgrado. Universidad Autónoma de Colombia.
- Murillo, M, M.M., Pedroza, I. R., Lobato, C., Martínez, F. A., Veron, C. E. J. (2011). Desingning W1/O/W2 double emulsions stabilizes by protein polysaccharide complexes for producing edible films; Rheological, mechanical an water vapour properties. Food Hydrocolloids, V, 25, p. 577 – 585.
- 14. Ramos J. V. (2014). Obtención, caracterización y aplicación de películas biodegradables en aguacate y manzana mínimamente procesados. (Tesis de licenciatura). UIEPA. Puebla, Méx.
- 15. Vieria, J. M., Flores López M. L., Jasso de Rodríguez, Sousa, A. A., Martins J. T. (2016). Effect of Chitosan - Aloe vera coatings on postharvest quality of blueberry (Vaccinium corymbosum) fruit. Postharvest Biology and Technology 116. Pp 88-97

EVALUACIÓN DE DIFERENTES COMPOSTA TIPOS BOCASHI PARA LA PRODUCCIÓN DE CALABACITA (Cucurbita pepo L)

Alicia de Luna-Vega, María Luisa García-Sahagún, Eduardo Rodríguez-Guzmán, Enrique Pimienta-Barrios, Salvador González-Luna y Ma. Cruz Arriaga Ruiz

dva20851@cucba.udg.mx

INTRODUCCIÓN

La producción orgánica en México se inicia en la década de 1980 en cultivos hortícolas, las cuales han representado una fuente de alimentación a lo largo de la historia de la humanidad; actualmente se les confiere alto valor dietético y por su versatilidad de consumo tanto en fresco como procesado, obtienen gran importancia en su interacción con el hombre. El abuso en la adición de fertilizantes inorgánicos para aumentar la producción daña el suelo, el agua y provocan daños ecológicos. De Luna y Vázquez (2009) En relación a los abonos orgánicos Ferreira y Santamaría (1997), propone el uso de tecnologías que devuelven al suelo el componente biológico perdido, como son las compostas. Con el presente trabajo, se pretende determinar la factibilidad de la producción de calabacita empleando dos tipos de composta orgánica tipo bocashi bajo un sistema de producción orgánico y proponer una metodología que permita una mayor rentabilidad de la inversión a corto y largo plazo

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en los terrenos del Campo Experimenta del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara. Se ubica en el predio Las Agujas, municipio de Zapopan, Jalisco, localizado en la región centro del estado, en las coordenadas extremas de 20°25'30" a 20°57'00" de latitud norte y 103°19'30" a 103°39'20" de longitud oeste, a una altura de 1,548 metros sobre el nivel del mar (Los municipios de Jalisco, 2008). I. El trabajo se estableció utilizando un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones. La parcela útil fue de un surco de 1.20 m de ancho por 10 m de largo.

La cantidad de la composta aplicada correspondió a 10 ton ha 11.

Para observar el efecto de los abonos orgánicos en la calabacita. Se realizó como primera fase, la preparación de las dos diferentes compostas tipo bocashi, conteniendo cada uno los siguientes materiales: La elaboración de la composta1 se realizó utilizando 50 kg de estiércol de bovino, 50 kg de residuos de pasto obtenido a partir de la poda, hojas secas y los desperdicios de frutas y verduras, 50 kg de rastrojo de maíz, melaza, ceniza de carbón, azúcar y levadura. Para la composta 2 se utilizó 50 kg de estiércol de cerdo, 50 kg de residuos de pasto obtenido a partir de la poda, hojas secas y los desperdicios de frutas y verduras, 50 kg de rastrojo de maíz, melaza, ceniza de carbón, azúcar y levadura cuadro 1, estos ingredientes se pusieron a fermentar durante 21 días, la preparación consistió en construir un "montón" a partir de capas paralelas de cada uno de los materiales, se aplicó el agua para humedecer sin provocar escurrimiento.

En los primeros tres días se mezcló el montón por la mañana y por la tarde y a partir del cuarto día, se volteo una sola vez. Finalmente, entre los 12 y 15 días el abono fermentado logró su maduración, su temperatura fue igual a la ambiental, adquiriendo un color gris

oscuro, estaba con una humedad relativa del 45% y de consistencia suelta después se hicieron análisis, tomando los parámetros de humedad, materia orgánica, cenizas, carbón orgánico, nitrógeno total, relación C/N, fosforo total, potasio total sodio total, calcio total, magnesio, pH, para las variables químicas y para las físicas, capacidad de absorción de agua, densidad aparente e infiltración, conductividad eléctrica y capilaridad.

Cuadro 1. Los tratamientos evaluados.

Tratamientos	Excreta	Residuos
1	Testigo	Sin composta y con fertilizante convencional para calabacita.
2	Bovino	Estiércol de bovino, 50 kg de residuos de pasto obtenido a partir de la poda, hojas secas y los desperdicios de frutas y verduras, 50 kg de rastrojo de maíz, melaza, ceniza de carbón, azúcar y levadura.
3	Cerdo	Estiércol de cerdo, 50 kg de residuos de pasto obtenido a partir de la poda, hojas secas y los desperdicios de frutas y verduras, 50 kg de rastrojo de maíz, melaza, ceniza de carbón, azúcar y levadura.

Surcos sin composta (testigo). 2) Surcos con composta (I). 3) Surcos con composta II. La semilla utilizada fue semilla comercial de calabaza de la variedad Zucchini, el lomo del surco fue acolchado con plástico plata/negro de 100 micras de espesor perforado para establecer plantas cada 35 cm, por debajo del acolchado se colocó la cintilla con emisores cada 20 cm. colocando ésta al centro del surco. La aplicación de la composta se realizó a la siembra, incorporándola con un paso de rastra.

Los datos fueron analizados mediante el análisis de varianza para el factor rendimiento y la prueba de medias de Tukey por medio de SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados para los parámetros evaluados de las compostas tipo bocashi se muestran en el siguiente cuadro 2. Con base a los resultados obtenidos del análisis físico-químicos de los dos diferentes compostas. Se observa mayor contenido de minerales en la composta elaborada con estiércol de cerdo por el tipo de alimentación y aparato digestivo de las dos especies estudiadas, a su vez las compostas cumple con los requisitos para utilizarse como abono orgánico en la producción de calabacita.

Cuadro 2. Composición química de las compostas tipo bocachi e indicadores de calidad considerados en la evaluación de las compostas.

Determinaciones	Método	Resultados de la composta l	Resultados de la composta II	Rangos típicos de la composta %
Propiedades químicas				
Humedad (%)	Gravimetría	46.29	46.60	30-60
Materia orgánica (%)	Gravimetría	27.40	27.88	20-60
Cenizas (%)	Gravimetría	75.12	75.20	
Carbono orgánico (%)	Calculado	14.53	14.60	
Nitrátos (mg/kg)	Kjeldahl	30.50	57.82	
Relación	Calculado	25.81	26 - 30	25-30

carbono/nitrógeno (C/N)				
Fósforo total (mg/kg)	Espectrofotóme tro	300.00	498.00	0.2-1
Potasio total (mg/kg)	Absorción atómica	10,320	10,380	0.2-2
Sodio total (mg/kg)	Absorción atómica	22.98	18.10	0.52 - 1
Calcio total (mg/kg)	Absorción atómica	79.25	75.96	1.6 - 3
Magnesio (mg/kg)	Absorción atómica	1.20	1.925	0.4 - 1
pН	Potenciómetro	7.40	7.42	7 - 14
Conductividad eléctrica (mmhos/cm)	Conductímetro	1.50	1.46	1 - 8
Propiedades físicas				
Densidad aparente (gm/ml)		0.84	0.82	
Capacidad de absorción (%)		41.60	40.28	
Velocidad de infiltración segundos		60 segundos	65 segundos	
Tamaño partículas (mm)		12	15	10 - 25

Conforme a los resultados del análisis de varianza, podemos observar que existe diferencia altamente significativa al 1% de probabilidad entre tratamientos para el factor rendimiento en kg ha^{- II} (Cuadro 3).

Cuadro No. 3 Análisis de varianza para la variable producción de calabacita

Fuentes de	GL	Suma de	Cuadrados	F	F de
variación		cuadrados	medios	calculada	tablas
Bloques	3	3.826	1.275	NS	
Tratamientos	2	255.800	127.800	12.240**	9.78
Error	6	93.158	15.520		
experimental					
Total	11				

Cuando se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey para la variable rendimiento, se observa que el tratamiento (1) testigo fertilización convencional, superó a la producción del tratamiento 3 composta orgánica (II), así mismo al tratamiento 2 surcos con composta orgánica (I) fue superada por la composta (II). (Cuadro 3).

Cuadro 3. Prueba de medias de Tukey para producción de calabacita

Tratamiento	Rendimiento/ha	
Tratamiento 1	22.8	Α
Tratamiento 3	19.9	В
Tratamiento 2	11.5	С

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Ruiz y Torres (1988), donde encontraron que con la aplicación de composta orgánica obtuvieron los mayores rendimientos.

CONCLUSIONES

La siembra de calabacita con la aplicación de dos diferentes tipos de composta orgánica bocachi independiente mente de la excreta utilizada permitió obtener buenos rendimientos de calabacita variedad Zucchini, sin la aplicación de fertilizantes químicos, lo que es una gran ventaja y una mayor rentabilidad a corto y largo plazo, sobre la agricultura convencional y el medio ambiente.

- 1. Araní C., M. (2005). Influencia de la densidad de plantas y de la aplicación de enmiendas orgánicas al suelo en el cultivo de Cedrón Paraguay (*Lippia citriodora* L.) en el segundo año. San Pedro de Ycuamandyyu: Paraguay.
- Calzada, M. (2003) Tendencias del mercado orgánico mundial. Oportunidades para Latinoamérica, CD Mov. Arg. Prod. Orgánica (MAPO). Cámara de Comercio.
- 3. Centro de Comercio Internacional (UNCTAD/OMC) (2001) Los mercados mundiales de frutas y verduras orgánicas. Netherlands. FAO. pp. 4-10.
- 4. Orellana B, F. E. (1997) Efecto de dos abonos orgánicos y tres niveles de fertilización química en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Buenavista: Saltillo Coahuila (México).
- 5. Bravo, L. A. G., J. A. García S. (2000) El acolchado del suelo, un equipo práctico para realizarlo. 500 Tecnologías Lave en Mano. INIFAP, SAGAR. Serie 2000 Tomo II. pp.73
- Brown E. J., W. D. Goff, J. M. Dangler, W. Hogue, M. S. West (1992) Plastic mulch color inconsistently affects yield and earliness of tomato. Hortscience 27(10):1135.
- 7. Cruz, V. A. (2000). Riego por goteo para el cultico de chile seco en Zacatecas. 500 Tecnologías Llave en Mano. INIFAP, SAGAR. Serie 2000 Tomo II. pp. 170-171.
- 8. Dainello, J. F., S. J. D. Cotner (1991). Cultural practices. Vegetable Grower's Handbook. TAES. USA.
- 9. Delate, K, H. Friedrich, V. Lawson (2003) Organic pepper production systems using compost and cover crops. Biol. Agric. Hortic. 21(2):131-150.

- Delate, K. and C. A. Cambardella. (2004) Agroecosystem Performance during Transition to Certified Organic Grain Production. Agron. J. 96: 1288 -1298.
- 11. De Luna, V, A; Vázquez, A, E. 2009 Elaboración de Abonos Orgánicos. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara., pp 4-12
- 12. De Luna, V, A. (2014) Lo práctico de la agricultura orgánica Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara., pp 42-51
- 13. García-Díaz, C. A., R. Chaidez B., S. M. del Campo V., A. Losada V., J. López G., V. Trueba, J. A. Castañeda, J. González G. (2005) El sistema de macrotúneles: Una opción para incrementar la producción y la eficiencia en el uso del agua en chile güero 447
- 14. Memorias de la Segunda Convención Mundial del Chile, Zacatecas, Zac. México. pp. 139-142.
- 15. García, S. J. A., Nava P. R. (2000). Como evaluar el rendimiento de chile habanero y aprovechar mejor el sistema de riego por cintilla. 500 Tecnología Lave en Mano. INIFAP, SAGAR. Serie 2000 Tomo II. pp. 107
- 16. Kasperbauer, J. M., P. G. Hunt. (1993). US DA researchers study effects of colored mulch on plant growth. Newsline. Product and applications information. LI-COR, INC. Vol. 3 No. 1. Lincoln, Nebraska. USA.
- 17. Madrid, C. M. (2000). Uso de plástico en hortalizas. 500 Tecnologías Llave en Mano. INIFAP, SAGAR. Serie 2000 Tomo II. pp. 86.
- 18. McAndrews, G. M., M. Liebman, C. A. Cambardella, T. L. Richard. (2006) Residual effects of composted and fresh solid swine (*Sus scrofa* L.) manure on soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] growth and yield. Agron. J. 2006 98:873-882.
- 19. Lamont Jr., W. J. (1992). Horticulture and drip irrigation. A modern vegetable production system includes plastic mulching and supply of water and fertilizer drop by drop. Agribusiness Worldwide 14(1):4-10.
- 20. Mirafuentes, H. F. (2000). Control de virosis en chile jalapeño y habanero con acolchado. 500 Tecnologías Lave en Mano. INIFAP, SAGAR. Serie 2000 Tomo II. p. 73
- 21. Ramírez V. J. (1991). El acolchado con plástico y los cultivos hortícolas. Revista Agronomía en Sinaloa. No. 3. Culiacán, Sinaloa. pp. 2-7.

- 22. Rendón, V. D. (1997). Sinaloa. Una versión de futuro. Centro de Estudios Estratégicos. ITESM. Culiacán, México. pp. 171-183.
- 23. Rendón, V. D. (1995). Estudio estratégico del Estado de Sinaloa. Centro de Estudios Estratégicos. ITESM. Culiacán, México. pp. 4-18, 100-115.
- 24. Tejada, M., J. L. Gonzalez. (2007) Application of Different Organic Wastes on Soil Properties and Wheat Yield. Agron J. 99:1597-1606.
- 25. Vásquez H. A., V. López G., G. Rodríguez E., A. B. Vargas G., I. Meneses M. (2005) Aplicación del bioabono Bocashi en chile Jalapeño bajo dos condiciones ambientales de cultivo. In: Memorias de la Segunda Convención Mundial del Chile 2005, Zacatecas,

EVALUACIÓN DE SILICIO Y ALGAS MARINAS EN EL DESARROLLO Y RENDIMIENTO DE CHILE PIMIENTO Capsicum annuum (Solanaceae)

María Luisa García Sahagún, Salvador González Luna, Alicia de Luna Vega, Josafat Campos González y Edgar Missael Ramos Zepeda

Universidad de Guadalajara, CUCBA, División de Ciencias Agronómicas, Departamento de Producción Agrícola, Km 15.5 carretera a Nogales, Las Agujas, Zapopan, Jalisco, México, Tel. 0133-3777-1169. Email: mgarcia@cucba.udg.mx.

INTRODUCCIÓN

La exportación de chile pimiento es una actividad de gran importancia económica en México. Durante el 2014 se generaron 745 millones de dólares por el comercio exterior (INEGI,2014). Las algas marinas incorporadas al suelo favorecen la calidad de los frutos porque administran a los cultivos todos los macro y micro nutrimentos, además aportan agentes quelatantes como ácidos algínicos, fúlvicos y manitol así como vitaminas y enzimas (Crouch y Van Staden,1992; Biotropic,2011). Considerando lo anterior el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de algas marinas en la calidad de frutos de chile pimiento (Capsicum annuum) aplicadas a diversas mezclas de sustratos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El proyecto se realizó durante 2016, en el invernadero del cuerpo académico UDG-CA-55 Cultivos Protegidos, ubicado en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas Agropecuarias. Se utilizó chile pimiento morrón color morado, de la casa comercial Enza zaden, podada a dos tallos, producida en una mezcla de tezontle y estopa de coco en una relación 70:30. Se realizó la caracterización granulométrica del sustrato y se aplicó una solución nutritiva con macro y micronutrientes. Los tratamientos aplicados fueron Armurox® y Silktek® (productos comerciales que contienen silicio), Armurox® + Seeaweed®, Silktek® + Seaweed® y el Testigo. Cabe aclarar que el producto Seaweed® contiene el alga marina Macrocystis pyrifera y algunos micronutrientes. Las aplicaciones se realizaron considerando las dosis recomendadas por la casa comercial durante el trasplante y cada 15 días hasta la fructificación (frutos con madurez fisiológica). Las variables evaluadas fueron: Longitud de tallo, grosor de tallo, número de hojas y rendimiento. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones, como prueba de comparación de medias se utilizó Tukey (≤0.05) y los datos se analizaron utilizando el paquete estadístico NCSS (Hintze, 2001).

RESULTADOS

CUADRO 1. Determinación de la granulometría y densidad aparente en la mezcla de sustrato (tezontle y estopa de coco).

Sustrato	Tezontle 70 % + Estopa 30%	%
Tamis (mm)	(cm3)	
< 7	90	23.68
7-4.86	58	15.26
4.86-3	60	15.79
3-1.5	52	13.68
>1.5	120	31.58

Total	380	100
Densidad aparente	0.928 g/cm ²	

CUADRO 2. Resultados del análisis de varianza por efecto de las fechas, tratamientos e interacción de fechas por tratamientos.

Fuente de variación	Longitud de tallo	Grosor de tallo	Número de hojas	Rendimiento
Fecha	180.00*	161.89*	140*	207.01*
Tratamiento	0.71	0.49	0.63	4.62*
FxT	1.33	0.45	3.33*	2.06*

^{*} Significativo (p≤0.05)

CUADRO 3. Prueba de comparación de medias de Tukey (p≤0.05) para las variables de desarrollo por el efecto de aplicación de silicio y algas marinas durante las fechas de evaluación.

Fecha	Longitud de tallo	Grosor de tallo	Número de hojas	Rendimiento (g)
	(cm)	(cm)		
7/02/16	31.64 c	0.76 c	17.45 c	266.97 a
18/02/16	34.70 c	0.92 b	41.97 a	264.56 a
21/03/16	40.93 a	1.005 a	21.65 b	94.79 b
04/04/16	43.63 a	1.042 a	21.30 b	90.58 b

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales

CUADRO 4. Prueba de comparación de medias de Tukey (p≤0.05) para las variables de desarrollo en plantas de pimiento por el efecto de los tratamientos con silicio y algas marinas.

Tratamiento	Longitud de tallo	Grosor de tallo	Número de hojas	Rendimiento
	(cm)	(cm)		(g)
Armurox.	37.65 a	0.990 a	26.31 a	172.91 b
Siltek	37.39 a	0.940 a	25.81 a	216.88 a
Armurox + Seaweed	38.26 a	0.918 a	24.15 a	169.22 c
Siltek + Seaweed	39.39 a	0.962 a	25.53 a	165.62 c
Testigo	35.94 a	0.934 a	26.15 a	171.49 b

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales

El tratamiento con Siltek + Seaweed produjo la mayor longitud de tallo, y los tallos con mayor grosor se observaron con el tratamiento de Armurox. La aplicación de los tratamientos evaluados no tuvo efecto en el número de hojas. El mayor rendimiento se produjo por efecto del tratamiento con Silktek. Las plantas tratadas con extractos de algas muestran incremento en los rendimientos y la calidad post cosecha del fruto, además exhiben mayor resistencia a las plagas y enfermedades (Khan et al., 2009). Esto se debe a que contienen macro y micronutrientes, una diversa gama de compuestos orgánicos, proteínas y aminoácidos y una gran variedad de vitaminas (Hong et al., 2007). Diversos estudios han mostrado que el silicio influye en el crecimiento y rendimiento de las plantas (Balakhnina y Borkowska, 2013).

CONCLUSIONES

La aplicación de silicio y algas marinas tuvo un efecto positivo durante el desarrollo de chile pimiento en las variables de longitud y grosor de tallo, y rendimiento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a PROFOCIE 2015, por el financiamiento otorgado al Cuerpo Académico CA-55 Cultivos protegidos, para el desarrollo del proyecto de investigación.

- 1. Agroaspe, 2017. Silik-tek. http://www.agroaspe.com/renate/. Consultada el 25 de marzo de 2017.
- 2. Bastida, A. 1999. El Medio de Cultivo de las Plantas. Sustratos para Hidroponía y Producción de Plantas Ornamentales. Serie de publicaciones AGRIBOT No. 4 UACH. Preparatoria Agrícola, Chapingo, Mexico 72 pp.
- 3. Bioiberica, 2017. Armurox. https://www.bioiberica.com/salud-vegetal/soluciones-para-el-estres-vegetal/vinedo/armurox/. Consultado el 25 de marzo de 2017.
- 4. Biotropic, 2011. Soluciones ecológicas para la agricultura moderna. Alga 600
- 5. http://www.biotropic.com.mx/detalle_producto.php?producto=6. Consultado el 6 de febrero de 2016.
- Blunden, G.1973. Effects of liquid seaweed extracts as fertilizers. Proc. Seventh International Seaweed Symposium. In ref. 3.School of Pharmacy, Polytecnic, Park Road, Portsmouth, Hants, England.
- 7. Bruton, B.D.1994. Mechanical injury and latent infections leading to postharvest
- 8. decay. HortScience 29: 747-749.
- 9. Canales, B. L. 2000. Enzimas-algas. Posibilidad de uso para estimular la producción agrícola y mejorar los suelos. Revista Terra, volumen 17, número 3.
- 10. Craigie, J.S. 2011. Seaweed extract stimuli in plant Science and Agricultura. J. Appl. Phycol 23:371-393.
- 11. Crouch, L. y J. Van Staden. 1992. Evidence of the presence of plant growth regulators in commercial seaweed products. Department of Botany University of Natal, Republic of South Africa
- 12. Cruz, E. 2000. Uso de harina de kelp (Macrocystis pyrifera) en alimentos para camarón. Programa Maricultura. FCB. Universidad Autónoma de Nuevo León
- 13. De Waard , M.A., Geoggopoulos S.G., Hollomon D.W., Ishii H., Le Roux P., Ragsdale N.N., Schwinn F.J.1993.Chemical control of plant diseases: problems and prospects. Ann. Rev. Phytopathol 3:403-421.
- 14. Dios-Delgado, Ignacio de; Sandoval-Villa, Manuel; Rodríguez-Mendoza, Ma. de las Nieves; Cárdenas- Soriano, Elizabeth. 2006. Aplicaciones foliares de calcio y silicio en la incidencia de mildiu en lechuga. Terra Latinoamericana, vol. 24, núm. 1, enero-marzo, 2006, pp. 91-98. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, México.
- Hernández, H. M.R., Santacruz R.F., Ruiz-López M.A., Jeffrey N., Hernández C.G. 2013. Efecto de extractos de algas marinas como promotores de crecimiento e inductores de resistencia en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*). J. Apply Phycol. DOI 10.1007/s10811-013-0078-4.
- 16. Hong, D.D., Hien H.M. y Son P.N. 2007. Seaweeds from Vietnam used for functional food, medicine and biofertilizer. J. Appl. Phycol. 19:817-826.
- 17. INEGI, 2014. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. http://www.inegi.org.mx/. Consultada el 10 de marzo de 2015.
- 18. Jarvis, 1987. The uptake and transport of silicon by perennial ryegrass and wheat. Plant Soil 97: 429-437.
- 19. Khan, W., Rayirath U.P., Subramanian S., Jithesh M.N., Rayorath P., Hodges D.M., Critchley A.T., Craigie J.S., Norrie J. y Prithiviraj B. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. Plant Growth Regul 28:386-399.

- 20. Lynn, L.B. 1972. The chelating properties of seaweed extracts *Ascophyllum nodosumvs. Macrocystis pyrifera* on the mineral nutrition of sweet peppers Capsicum annum. MSc. Thesis, Clemson University, Clemson, South Carolina, USA.
- 21. Marschner, H.1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd. Ed. Academic Press. London. Uk.
- 22. SIAP, 2014. Márgenes de comercialización del chile pimiento. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/84349/MargenComer_ChilePimiento_Oct2 014.pdf
- 23. Silva, E. M. 2015. Evaluación de la acción de algas marinas en el desarrollo, rendimiento y calidad de gerbera (*Gerbera jamesonii*, Bolus). Tesis de Licenciatura. Carrera de Ing. Agrónomo. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara.

DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES EN PRODUCTOS DE MAÍZ AZUL Y BLANCO NIXTAMALIZADOS

García-Andrade L., Yahuaca-Juárez B., Vázquez-Landaverde P.A., Cortés-Penagos C.J., Juárez-Ayala M.J.

Facultad de Químico Farmacobiología, UMSNH Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del IPN, Unidad Querétaro, E-mail yajuabe@yahoo.com.mx

RESUMEN

El proceso de nixtamalización es el cocimiento alcalino de granos de maíz, seguido de una molienda del grano cocido (nixtamal) y la obtención de la masa, harina y tortilla. En la nixtamalización, el aroma es el resultado de una compleia combinación de compuestos volátiles que originalmente se encuentran en el maíz o son producidos durante el proceso. Los compuestos volátiles mayoritarios que forman parte del perfil aromático están relacionados con los atributos sensoriales del maíz blanco y azul. El objetivo fue determinar los compuestos volátiles de la masa, harina y tortilla de maíz blanco AS900 y azul Tziranza. El proceso de nixtamalización consistió en el cocimiento de los granos de maíz en solución alcalina Ca(OH)₂ (1 %) durante 30 a 45 min a 95°C, reposo 12 h, posteriormente el nixtamal fue lavado y molido para la obtención de masa y formación de tortilla. Se utilizó la técnica HS-SPME para determinar compuestos volátiles en el grano de maíz, masa y tortilla de ambas variedades. Los resultados indican una relación entre los compuestos volátiles encontrados en el grano de maíz blanco y sus productos nixtamalizados masa y tortilla (nonanal, hexanal, acetona, furan 2-pentil, ácido benzoico, ácido tálico, D-limoneno y ácido acético). En el maíz Tziranza y sus productos nixtamalizados se encontraron compuestos volátiles como heptanal, nonanal, hexanal, ácido benzoico, limoneno, ácido tálico y el furan 2-pentil En conclusión, la variedad del maíz y el proceso de nixtamalización ejercen un efecto en el tipo de compuestos volátiles de cada producto.

INTRODUCCIÓN

El maíz es el cultivo más importante de la agricultura mexicana, no sólo por la relevancia que en materia de alimentación representa para la población, sino también por sus múltiples usos como materia prima en la industria, ya sea como insumo directo o los subproductos de éste. El proceso mediante el cual se obtienen dichos productos es la nixtamalización.

La nixtamalización inicia con el cocimiento alcalino de los granos de maíz, seguido de la molienda del grano cocido (nixtamal) y la obtención de la masa que es deshidratada, cernida, clasificada y envasada. La técnica se basa en el cocimiento de los granos de maíz (1 Kg) en agua (2-3 litros) con álcali, preferentemente Ca(OH)₂ (1-2 %) durante 10-40 min a 85-100 °C. El grano se deja reposar entre 8-24 h en la solución de cocción (nejayote), posteriormente se lava de 2 a 4 veces con agua para eliminar el nejayote constituido por cal y componentes del grano (5.11 % proteína, 19.29 % fibra cruda, 52.45 % extracto libre de nitrógeno, y 23.15 % de cenizas del cual el calcio representa el 56.4 %); finalmente es obtenido el maíz nixtamalizado o nixtamal que llega a tener hasta un 45 % de humedad. El nixtamal es molido en un molino de piedras para obtener masa, el proceso de molienda requiere, para llevarse a cabo con buen término, la adición de agua llegando a tener la masa de 48 a 55 % de humedad (Nogueira-Terrones y col., 2004; Sefa-Dedeh y col., 2004; y Paredes-López y col., 2009; Ruiz-Gutiérrez y col., 2010; Valderrama-Bravo y col., 2010). La

masa que resulta de la molienda, consiste en segmentos de germen, residuos de pericarpio y endospermo unidos por el almidón parcialmente gelatinizado, y por proteínas y lípidos emulsificados. La masa es moldeada para formar tortilla y esta es cocida a ≈250 °C .

Cuando se lleva a cabo la nixtamalización bajo las mismas condiciones de proceso pero con diferentes variedades de grano de Maíz se obtienen diferentes perfiles aromáticos. De tal forma que el aroma resultante puede variar de acuerdo a la composición química del grano de maíz y las condiciones de nixtamalización. El aroma constituye uno de los atributos sensoriales de mayor relevancia en los productos alimenticios. El olor es la percepción por medio de la nariz de sustancias volátiles liberadas en los alimentos a diferencia del aroma que consiste en la percepción de las sustancias olorosas y aromáticas de un alimento después de haberse puesto en la boca.

En la nixtamalización, el aroma es el resultado de una compleja combinación de compuestos volátiles que originalmente se encuentran en el maíz o son producidos durante el proceso, en sí la propia adición de Ca(OH)₂ provoca la generación de notas peculiares en los productos, aunado al proceso de nixtamalización, posteriormente el molido del nixtamal para la formación de masa y esta a su vez para la elaboración de tortilla en comal de hierro a 270°C y del proceso de secado que se le da a la masa para la formación de harina nixtamalizada genera una serie de compuestos volátiles (Su y Chen, 2007).

Los compuestos orgánicos volátiles (COV) son todos aquellos compuestos que se presentan en estado gaseoso a la temperatura ambiente normal o se convierte fácilmente en vapores o gases. Se han identificado compuestos que comprenden el aroma en la tortilla como el, 3- hydroxy-2-butanona, hexanal, 2-aminoacetofenona, 4-vinilguaiacol, hexanal penatanol, 2- aminoacetona. Estudios indican que compuestos con gran probabilidad de contribución en el aroma de la tortilla incluyen 2-aminoacetato-fenona, β -inona, 3-metilbutanol, 4-vinilguaiacol, hexanal. (Ron G y C. Ling,1995).

PARTE EXPERIMENTAL

Material biológico.

Se utilizaron 1 variedad de granos de maíz blanco y 1 variedad de maíz azul de calidad nixtamalera, ambos de endospermo duro. Se adquirió maíz blanco mejorado AS900 del estado de Durango de la empresa Aspros y Maíz azul criollo Tziransa en el municipio de Paracho, Michoacán.

Proceso de Nixtamalización

La cocción del maíz se realizó en una solución alcalina en una relación 1:3 (maíz/agua), a 94 °C por 45 min para el maíz AS900 y 30 min para el maíz azul Tziranza. Con una concentración de hidróxido de sodio al 1% y un de tiempo de reposo de 12 horas. El nixtamal se lavó a chorro de agua por 5 min, para eliminar los residuos de nejayote. Posteriormente, el nixtamal se molió en un molino de piedra (marca FUMASA) para la obtención de la masa, fue moldeada para formar la tortilla y fue cocida a ≈250 °C en comal de hierro. Los productos nixtamalizados, masa, harina y tortilla, fueron molidos y tamizados en malla de 300 micras y se congelaron a -20°C para las posteriores determinaciones.

Análisis cualitativo de compuestos volátiles aromáticos

Los compuestos volátiles aromáticos fueron extraídos a través de la técnica modificada de HS-SPME y analizados por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas de impacto electrónico y analizador de cuadrupolo (García-Esteban y col., 2004; Majcher y Jelen, 2009). Se preparó vial con 5g de muestra al 10 % en agua, se preparó una solución patrón etil caproato en metanol a 100 ppm, 10 ppm y 1 ppm, los viales fueron colocados en baño María a 50 °C durante 50 min con agitación 1 min y 120 min de extracción, se absorbió con fibra SPME divinilbenceno, carboxen, polimetilsiloxano (2cm-50/30µ) y se desorbió térmicamente 2 min en puerto de inyección. La identificación de espectros se realizó por comparación de espectros de masas con biblioteca NIST tomando como identificación positiva un porcentaje de parecido mínimo de 80 %. El equipo utilizado fue un Cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies modelo 7890 A, Espectrómetro de Masas Cuadrupolar con impacto electrónico marca Agilent Technologies modelo 5975 C, automuestreador marca Gerstel modelo MPS2.

Diseño experimental y Análisis estadístico

Se estableció un diseño estadístico unifactorial, con dos tratamientos: maíz blanco y maíz azul, teniendo como constantes la concentración de hidróxido de calcio al 1% y el tiempo de reposo de 12h. El análisis estadístico de los datos se realizó usando el paquete estadístico JMP versión 6 con el que se llevó a cabo una prueba de T para determinar diferencias significativas (P≤0.05).

RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 71 compuestos volátiles para los productos del maíz AS900 (grano, masa, harina y tortilla), de los cuales 48 compuestos volátiles se presentan en grano de maíz, 34 en masa, 47 en harina y 42 en tortilla (Tabla 1).

Tabla 1. Compuestos volátiles en productos de maíz nixtamalizado

		Total de compuestos volátiles
Siete grupos funcionales		
1.	Alcoholes	3
	Aldehídos y Cetonas	
	Compuestos nitrogenados	18
4.	Furanos y Compuestos aromáticos	
5.	Isoprenoides	3
6. 7	Ácidos grasos Otro	20
/.	Ollo	36

	2
	17
	3
AS900	71
Grano Manage	48
Masa Harina Tantilla	34
Tortilla	47
	42
Tziranza	66
GranoMasa	42
Harina	37
Tortilla	42
	36

Los compuestos volátiles obtenidos se dividieron por grupos funcionales, en los alcoholes alifáticos se observa que la harina presenta la mayor cantidad de estos compuestos, en aldehídos y cetonas hay una cantidad mayor en harina y tortilla, de los compuestos como furanos y compuestos aromáticos se presenta la mayor cantidad de compuestos en harina, en los compuestos isoprenoides el D-limoneno está presente en todos los productos y el limoneno solo está presente en masa y harina, hay compuestos como el ácido acético que se mantienen presentes en todos los productos, aunque las concentraciones varían (Figura 1).

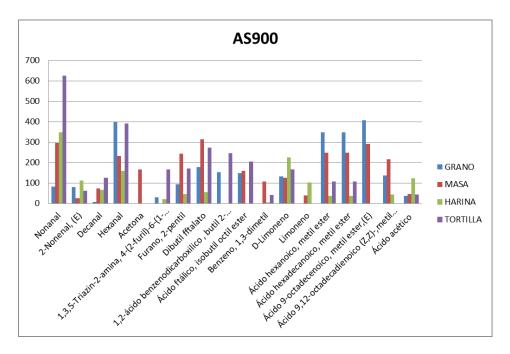


Figura 1. Compuestos volátiles de mayor concentración en productos nixtamalizados de maíz AS900

Se obtuvieron un total de 66 compuestos volátiles para los productos del maíz Tziranza (grano, masa, harina y tortilla), de los cuales 42 compuestos volátiles se presentan en grano de maíz, 37 en masa, 42 en harina y 36 en tortilla (Tabla 1). Por grupos funcionales, los alcoholes alifáticos se presentan solo en la harina (1-hexanol y ciclohexanol-2-(1,1-dimetiletil), en aldehídos y cetonas se presentan la mayor cantidad de compuesto volátiles en harina y tortilla, los compuestos nitrogenados se encuentran en mayor cantidad en tortilla, isoprenoides como el D-Limoneno en grano, harina y tortilla, ácidos grasos se observaron en mayor cantidad en grano y menor cantidad en masa y harina (Figura 2).

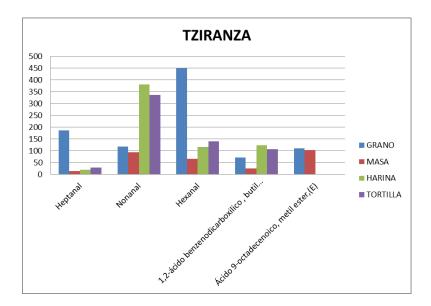


Figura 2. Compuestos volátiles de mayor concentración en productos nixtamalizados de maíz Tziranza

Buttery y Ling (1995) encontraron que en compuestos volátiles en maíz blanco en harina de masa nixtamalizada y tortilla, por GC-MS encontraron 54 compuestos de los cuales 17 fueron encontrados por HS-SPME en esta investigación estos fueron: 1-octen-3-ol, hexanal, 2-heptanona, heptanal, 2-heptanal (E), nonanal, 2-nonanal (E), 2-undecanona, furfural, benzaldehído, fenilacetoaldehido, acetofenona, metil salicilato, ácido benzoico, vainillina, limoneno, D-limoneno y 3-metilpropanal. Papadopoulou y Roussis (2008) reportaron aldehídos volátiles como el pentanal, hexanal, octanal, nonananal y decanal, productos de la oxidación secundaria del aceite de maíz, estos compuestos fueron reportados en HS-SPME.

La cantidad de compuestos volátiles fue menor en el maíz Tziranza, tanto en el grano como en sus productos nixtamalizados en comparación del maíz AS900;

En la tabla 2 se presentan los compuestos volátiles aromáticos, entre los compuestos con mayor concentración encontrados en los productos nixtamalizados destacan el nonal, 2-nonal, el decanal, el hexanal, la acetona, el 1,3,5-Triazin-2-amina-4-(2-furil)-6-(1-piperidil), el 2-furano-pentil, el ácido talico, el benzeno, el D-Limoneno y el ácido acético, estos presentan olores característicos y determinantes en el perfil aromático de los productos.

Tabla 2. Compuestos volátiles que proporcionan olor con características aromáticas.

Compuestos	Olor
1-Hexanol	césped recién cortado
Ciclohexanol, 2-(1,1-dimetiletil)-	Alcanfor
Heptanal	Frutal
2-Heptenal, (E)-	Frutal
2-Nonanone	floral y afrutado

NonanalRosaDecanalTrigo2,4-Nonadienal, (E,E)-Pepino

Hexanalhierba segadaAcetonaManzana2-Nonenal, (Z)-Rancio

2-Undecanona herbáceo, afrutado,

Octanal dulce Frutas
Butanal, 3-metil Acre

1,3,5-Triazin-2-amina, 4-(2-furil)-6-(1-piperidil) Tierra, especias,

pimienta verde,
Tierra, especias,
pimienta verde
Cloroformo

Ácido Benzoico, metil esterligero a dulceBenzeno, 1-etil-4-metoxi-ligero a agrioNaftalenoAlquitrán

Fenol, 2,4-bis(1,1-dimetiletil) humo de madera y

alquitrán caustico

Dibutil Talato ligero olor a

solvente Camomila

Metil tetradecanoatodébil, oleoso, mielBenzaldeidoalmendras amargas

Acetofenona Naranja
Ácido Butanoico, 2-metil-, etil ester Rancio
Naftaleno, 2-metilVanillina Vanillina

Ácido Talico, decil isobutil ester

Azuleno

VanillinaVainillaalfa.-Cubebenoclavo de olorD-LimonenoCítricoLimonenoOlor a cítricoÁcido acéticoAgrio, Vinagre

CONCLUSIONES

Cada variedad de maíz así como sus productos nixtamalizados presentan compuestos volátiles específicos, aunque comparten algunos compuestos entre las dos variedades y los diferentes productos no mantienen la misma concentración. Los compuestos volátiles principals en AS900 y sus productos nixtamalizados fueron el nonanal, hexanal, acetona, furan 2-pentil, ácido benzoico, ácido tálico, D-limoneno y ácido acético y en Tziranza y sus productos nixtamalizados fueron heptanal, nonanal, hexanal, ácido benzoico, D-limoneno, ácido tálico y el furan 2-pentil. La variedad del maíz y el proceso de nixtamalización ejercen un efecto en el contenido de compuestos volátiles de cada producto.

- 12. AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Ed. by Association of the Official Analytical Chemistry. Arlington, USA.
- Campo Mexicano, 2011. Situación actual y perspectivas del maíz en México 1996 2012. Consulta: noviembre 2011. http://www.campomexicano.gob.mx/portal_siap/Integracion/EstadisticaDerivada/Comer cioE xterior/Estudios/Perspectivas/maiz96-12.pdf
- 14. Castillo V.K.C., Ochoa M.L.A., Figueroa C.J.D., Delgado L.E., Gallegos I.J.A., Morales C.J., 2009. Efecto de la concentración de hidróxido de calcio y tiempo de cocción del grano de maíz (*Zea mays* L.) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas y reológicas del nixtamal. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 59(4):425-432.
- 15. FAO, 1993. El maíz en la nutrición humana. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Colección FAO: Alimentación y nutrición, №25) http://www.fao.org/docrep/T0395S/T0395S00.htm#Contents ISBN 92-5-303013-5. Consulta: diciembre 2011
- Fernández-Muñoz J.L., Rodríguez M.E., Pless R.C., Martínez-Flores H.E., Leal M., Martínez J.L., and Bolaños L., 2002. Changes in Nixtamalized Corn Flour Dependent on Postcooking Steeping Time. Cereal Chemistry, 79(1):162-166.
- 17. Flores-Farías R., Martínez-Bustos F., Salinas-Moreno Y., Ríos E., 2002. Caracterización de harinas comerciales de maíz nixtamalizado. Agrociencia, 36:557-567.
- 18. García-Méndez S., 2004. Estudio nutricional comparativo y evaluación biológica de tortillas de maíz elaboradas por diferentes métodos de procesamiento. Tesis Maestría en Ciencias en Tecnología Avanzada. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, IPN; Querétaro, México.
- Gómez Mh, McDonough CM, Rooney LW, Waniska RD. 1989. Changes in corn and sorghum during nixtamalization and tortilla baking. Journal of Food Science, 54:330-336
- 20. González-Rojas K., García-Salazar J.A., Matus-Gardea J.A., Martínez-Saldaña T., 2011. Vulnerabilidad del mercado nacional de maíz (*Zea mays* L.) ante cambios exógenos internacionales. Agrociencia, 45:733-744.
- JoeMin L., Dong-Hawn K., Pahn-Shick Ch., JaeHwan L., 2007. Headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) analysis of oxidized volatiles from free fatty acids (FFA) and application for measuring hydrogen donating antioxidant activity. Food Chemistry, 105:414-420.
- 22. T. Kreis, "Speckle Metrology," in *Holographic Interferometry* (Akademie Verlag Inc., New York, NY, 1996), Chapter 4, pp. 125-149.
- 23. Laria J., Meza E., Peña J.L., 2007. Water and calcium uptake by corn kernel during alkaline treatment with different temperature profiles. Journal of Food Engineering, 78:288-295
- 24. NMX-FF-034/1-SCFI-2002. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano –cereales- parte I: Maíz blanco para proceso alcalino para tortillas de maíz y productos de maíz nixtamalizado –Especificaciones y métodos de prueba.
- 25. Palacios-Fonseca A.J., Vázquez-Ramos C., Rodríguez-García M.E., 2009. Physicochemical characterizing of industrial and traditional nixtamalized corn flours. Journal of Food Engineering, 93:45-51.
- 26. Ramírez-Wong B., y Ortega F., 1994. Evaluación de las propiedades reológicas y texturales de masa y tortilla de maíz comercial. Revista de Ciencias Alimentarias, 2(1):1-8.
- 27. Rodríguez-García M.E., Serna-Saldívar S.O., Sánchez-Sinencio F., 2008. Nixtamalización, del maíz a la tortilla. Aspectos nutrimentales y toxicológicos. Editorial Universidad Autónoma de Querétaro. México.

- 28. Seeran, N. 2008. Comparison of antioxidant potency or commonly consumed polyphenol rich beverages in the United States. Journal of Agricultural and food Chemistry. 56(4):1415- 1422
- 29. Su, M. y Chien, P. 2007. Antioxidant activity, anthocyanins and phenolies of blue corn (Zea Mayz L.). Food Chemistry. 104:181-187
- 30. White, P. 2007. High amylose corn exhibits better antioxidant activity tha typical and waxy genotypes; Journal of Agricultural and food Chemistry. 55:291-298

EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE OMEGA-3 SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL EN CONEJOS

Berenice Sánchez Mendoza, Flores Villalva Susana, Rodríguez Hernández Elba, Contreras Contreras Elsa Angelica.

INIFAP-CENID FyMA, sanchez.berenice@inifap.gob.mx.

RESUMEN

La carne de conejo se clasifica como un alimento bajo en colesterol y con alto contenido de ácidos grasos insaturados, su inclusión en las dietas para personas mayores o con problemas cardiovasculares podría ser benéfico (Lin y Connor, 1990). Las dietas adicionadas con ácidos grasos, pueden reducir la cantidad de grasa en la canal de los conejos, estabilizar el tejido muscular y modificar la actividad enzimática (Corino et al., 2002). Por tal motivo el objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la inclusión de omega-3 (Ω -3) sobre la composición y características fisicoquímicas de la canal en conejos. Se utilizaron 12 conejos con un peso vivo promedio de 1.5 kg distribuidos aleatoriamente en dos tratamientos, de dos bloques cada uno, los animales fueron sacrificados de acuerdo a la NOM-033-ZOO-1995, para medir el rendimiento de la canal, morfometría y pH. Los animales que consumieron Ω -3 presentaron mayores indicadores morfométricos en comparación a los otros tratamientos. El pH muscular fue más alto para los tratamientos que no contenían Ω -3. El rendimiento de la canal de las hembras que consumieron Ω -3 fue mayor en comparación a los demás tratamientos. La importancia de la adición de Ω -3 radica en el interés por mejorar la calidad de la carne y aumentar la utilización de ácidos grasos poliinsaturados.

INTRODUCCIÓN

Los ácidos saturados y los monoinsaturados constituyen la parte principal de la grasa de la carne, una ventaja que presenta el consumo de carne de conejo es su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), los cuales son considerados favorables para la salud.

La inclusión de ácidos grasos poliinsaturados presenta en gran medida efectos sobre las propiedades físico-químicas y la calidad organoléptica de la carne. Por ejemplo Leskanich et al., (1997) reportan que con la inclusión de los ácidos grasos Ω -3 se disminuye el contenido de grasa dorsal, la cual trae consigo mayor suavidad a la canal, Leskanich et al., (1997) observaron que con la inclusión de aceites de pescado a la dieta, se produce un olor anormal en la carne, Ponnampalam et al. (2001) observaron que en la canal de ovino que estos mismos aceites de pescado incluidos en la dieta presentan un incremento de peso en la canal caliente.

Existen diferencias entre el sexo y la composición de la canal en cuanto a madurez, infiltración de grasa, retención de agua y el nivel de proteína (Clawson, et al., 1991; Friesien, et al., 1994). Esto se debe a que las hembras depositan mayor contenido de grasa intramuscular en comparación con los machos (López, et al., 1992).

Las dietas adicionadas con ácidos grasos, pueden reducir la cantidad de grasa en la canal de los conejos, estabilizar el tejido muscular y modificar la actividad enzimática (Corino et al., 2002). Por tal motivo el objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la inclusión de omega-3 sobre la composición y características fisicoquímicas de la canal en conejos.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 12 conejos con un PV promedio de 1.5 kg distribuidos aleatoriamente en dos tratamientos, de dos bloques cada uno, (tres machos y tres hembras, por tratamiento) el tratamiento uno fue adicionado con omega-3 (200 mg/kg PV/d según las recomendaciones de Clubb et al., 1989), todos los animales fueron alojados en jaulas individuales y recibieron un alimento comercial para conejos (PC, 15.50%, Grasa 2%, Fibra 15%, Humedad, 12%, Cenizas 9%, ELN, 46.50%, Calcio 1%, Fósforo 0.55%) y agua ad libitum durante 5 semanas. Los conejos fueron sacrificados por la técnica de desnucamiento de acuerdo a la NOM-033-ZOO-1995. La carne permaneció en un sistema de conservación durante 24 h a una temperatura de 0° C a 4° C (NMX-FF-105-SCFI-2005), para realizar la evaluación de la canal fría (CF). El pH muscular se tomó después del sacrificio, en el *longissimus dorsi* y *bíceps femoris* de los conejos, utilizando un potenciómetro (Becerril, 2004). La morfometría se midió con la ayuda de, una cinta métrica y una báscula, entre las medidas corporales que se pueden determinar destacan por su importancia las siguientes: Longitud de la canal, Profundidad del tórax, Longitud del jamón y Redondez del jamón (Becerril, 2004).

RESULTADOS

Rendimiento de canal

Los machos que no consumieron omega-3 presentaron el mejor rendimiento (67%) y las hembras que consumieron omega-3 presentaron un rendimiento de canal 26% menor, los datos se observan en el cuadro 1.

Cuadro1. Pesos y rendimientos de los consejos con y sin omega-3.

Tratamiento	Peso vivo (Kg)	Peso en canal (Kg)	Rendimiento (%)
Machos con omega-3	2,987	1,932	65
Hembras con omega-3	2,138	1,388	49
Hembras sin omega-3	2,680	1,760	65
Machos sin omega-3	2,603	1,739	67

рH

En el caso de la canal caliente el mayor valor de pH (Cuadro 2) se registró en el *Longissimus dorsi* de los conejos que no consumieron el omega-3 y el de menor valor fue en el *Bíceps femoris* de los conejos que consumieron el omega-3.

El pH de la canal fría respecto a la canal caliente de los conejos que no consumieron el omega-3 tuvo un descenso de 8 y 12% para el *Biceps femoris* y *Longissimus dorsi*, respectivamente. Y en el caso de los animales que consumieron el omega-3, la canal fría respecto a la canal caliente tuvo un descenso de 4 y 7% para el Biceps femoris y Longissimus dorsi, respectivamente, es así que en este caso ambos músculos se acercaron a valores adecuados para la maduración de la carne, los cuales son de 5.5 a 5.8. Hernández et al. (1999) suplementaron a conejos con 3 niveles de inclusión de grasa vegetal (2.6%, 9.9%, 11.7%) y registraron un pH en la canal fría para *Longissimus dorsi* de 5.71 y para el *Biceps femoris* de 5.82. Los resultados de Hernández indican que entre músculos no existe una gran diferencia de pH y además los valores se encuentran dentro del parámetro para la maduración de la carne. Los resultados encontrados en este trabajo son similares, solamente en los conejos suplementados con omega-3, que obtuvieron un pH para *Longissimus dorsi* de 5.88 y para *Biceps femoris* un pH de 5.88 Los conejos sin omega-3 mostraron un pH para el *Biceps femoris* de 6.12 y *Longissimus dorsi* un pH de 5.99, los resultados difieren entre pH muscular y entre los resultados encontrados por Hernández.

Cuadro 2. Valores de pH en la canal.

	pH canal caliente	pH canal fría
Biceps femoris conejos sin omega-3	6.66	6.12
Longissimus dorsi conejos sin omega-3	6.88	5.99
Biceps femoris conejos con omega-3	6.15	5.88
Longissimus dorsi conejos con omega-3	6.38	5.88

Morfometría

La morfometría para los conejos que consumieron omega-3 fue iguales entre machos y hembras, para las variables de; longitud de la canal (33.5 cm), profundidad del tórax (10 cm) y muy similares entre; longitud del jamón (12.6 y 12 cm) y redondez del jamón (17.3 y 16.6 cm). En el caso de los animales que no consumieron omega-3 presentaron resultados menores, al grupo que lo consumió, siendo mayores para machos que para hembras los cuales se pueden observar en el cuadro 3.

Cuadro 3. Morfometría (cm) para machos y hembras.

Sexo	Longitud	Profundidad	Longitud	Redondez

	de la canal	del tórax	del jamón	del jamón
Machos con omega-3	33.5	10.0	12.6	17.3
Machos sin omega-3	31.6	9.1	11.6	15.3
Hembras con omega-3	33.5	10.0	12.0	16.6
Hembras sin omega-3	30.6	9.0	11.3	16.0

CONCLUSIONES

En las mediciones morfométricas los machos alimentados con omega-3 obtuvieron un índice ligeramente mayor en comparación a las hembras alimentadas con omega-3. Sin embargo en cuanto al rendimiento de la canal se notó lo contrario, ya que los machos que no consumieron el omega-3 presentaron el mayor rendimiento en canal, y para el caso del pH de la canal fría, los conejos alimentados con omega-3 presentaron los valores óptimos para maduración.

Aunque los resultados siguen siendo inconsistentes, la importancia de la suplementación con omega-3 radica en el interés por investigar nuevas áreas relacionadas con una mejora en la calidad de la carne y la importancia en la utilización de ácidos grasos poliinsaturados.

- 1. Becerril, H. M. 2004. Crecimiento y Calidad de la Canal de Cerdos Pelón Mexicano y York-Landrace en Confinamiento y Pastoreo. Tesis que para obtener el grado de maestría en biología de la producción agropecuaria. UAN Facultad de MVZ. Pag. 50.
- 2. Corino, C., Mourot, J. Magni, S., Pastorelli, G. y Rosi, F. 2002. Influence of dietary conjugated linoleic acid on growth, meat quality, lipogenesis, plasma leptin and physiological variables of lipid metabolism in rabbits1. J. Anim. Sci. 80:1020–1028.
- 3. Clawson, A.J., Garlich, J.D., Coffefl, M.T. and Pond, W.G. (1991) Nutritional, Physiological, Genetic, Sex, And Age Effects On Fat-Free Dry Malter Composition Of The Body In Avian, Fish, And Mammalian Species: A Review. Journal of Animal Science: 69:3617-3644.
- 4. Clubb, FJ. Schmitz, JM., Butler, MM., Buja, LM., Willerson JT y Campbell WB. 1989Effect of dietary omega-3 fatty acid on serum lipids, platelet function, and atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. 9 (4):529-537.
- 5. Friesen, K.G., Nelssen, J.L., Unruh, J.K., Goodband, R.D. and Tokach, M.D. (1994) Effects of the Interrelationship Between Genotype, Sex, and Dietary Lysine on Growth Performance and Carcass Composition in Finishing Pigs Fed to Either 104 or 127 Kilograms. Journal of Animal Science: 72: 946-954.
- 6. Hernández P., Pla M., Olivier M.A., Blasco A. 1999. Relationship between meat quality measurements in rabbits fed with three diets of different fat type and content. Journal Meat Science.
- 7. Leskanich, C.O., Matthews, K.R., Warkup, C.C., Noble, R.C. y Hazzledine, M. 1997. The effect of dietary oil containing (n-3) fatty acids on the fatty acid, physicochemical, and organoleptic characteristics of pig meat and fat. J. Anim. Sci. 75:673-683.
- 8. Lin, D.S. y Connor, W.E. 1990. Are then n 3 fatty acids from dietary fish oil deposited in the triglyceride stores of adipose tisuue? American Journal of Clinical Nutrition: 51: 535 539.
- 9. López, M.C., Sierra, I. y Lite, M.J. (1992) Carcass quality in Gigante de España purebred and commercial cross-bred 1 rabbits. *Options Méditerranéennes* Série Séminaires 17: 75-80.

- 10. Norma Oficial Mexicana. NOM-033-ZOO-1995. Sacrificio Humanitario de los animales domésticos y silvestres.
- 11. Norma Oficial Mexicana. NMX-FF-105-SCFI-2005. Productos pecuarios-carne de conejo en canal calidad de la carne- clasificación.

EFECTO DE UN HIDROLIZADO DE ALGAS SOBRE LA GERMINACION Y POST GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE Eustoma grandiflorum

Jocelyn Velázquez-Hernández y Nutan Prasad Rout.

Unidad de biotecnología vegetal, CIATEJ, AC. Camino Arenero 1227, El bajío del arenal, C.P. 45019, Zapopan, Guadalajara, Jalisco, México. E-mail Tutor Académico: nutan@ciatej.mx.

RESUMEN

Eustoma grandiflorum (Raf.) (Gentianaceae) conocida comúnmente como lisianthus es una especie ornamental muy importante mundialmente pero poco conocida en México, la cual recientemente está tomando importancia ya que es una flor muy atractiva para el consumidor por su elegancia y delicadeza de sus flores; tiene un mercado mundial de alrededor de 52, 379,270 tallos vendido en Holanda 2009 a precio sobre euro¹. Así mismo² reportan que la germinación de semillas de lisianthus es muy larga. Por otra parte algunos estudios revelan que los efectos de los extractos de algas sobre las semillas aceleran su germinación y mejora el crecimiento y desarrollo de las plantas³. El objetivo de esta investigación es evaluar el efecto de un hidrolizado de algas en la germinación y post germinación de semillas de E. grandiflorum cv mariachi. Los tratamientos fueron en medio Hoagland y en combinación con el hidrolizado; Hongland (T0), Hoagland + koh (T1), Hoagland + 2% (T2), Hoagland + 5% (T3). Se agregaron 10 semillas de E. grandiflorum por maceta, con 10 repeticiones para cada tratamiento. Se colocan a las siguientes condiciones; temperatura de (25 ± 2°C), pH 7, humedad relativa del 100%, expuesta a 3000 Lux. Los tratamientos T0, T2, T3 germinaron en 8 días; el tratamiento T1 tardo 17 días en germinar. Por lo tanto parce que el efecto del hidrolizado de algas no tuvo un efecto sobre la germinación, sin embargo la técnica de germinación mostró que el periodo de germinación se redujera a 7 días. El tratamiento que mostró un mayor tamaño, área foliar, tamaño de raíz fue el T3. Respecto a la clorofila a y b los tratamientos no muestran diferencias significativas, por lo tanto el T3 muestra mayor cantidad de clorofila a, pero en clorofila b es el tratamiento más bajo. Este trabajo da una respuesta positiva sobre la aplicación del hidrolizado de algas en el crecimiento y desarrollo de E. grandiflorum y puede ser utilizado en otras especies de plantas como un biofertilizante.

INTRODUCCIÓN

Eustoma grandiflorum (Raf.) (Gentianaceae) conocida comúnmente como Lisianthus es una flor ornamental, producida en todo el mundo, es de condición silvestre de América del Norte, nativo del centro y el sur de Estados Unidos y principalmente habita en las praderas húmedas de Nebraska a Colorado y Texas^{4,5}. Lisianthus ha sido una flor de corte popular debido a sus colores los cuales son variados, atractivos y de larga vida de anaquel⁶.

En el 2009 Holanda vendió 52, 379,270 millones de tallos a precio sobre el euro¹. El lisianthus es una especie ornamental poco conocida en México, la cual recientemente está tomando importancia ya que es una flor muy atractiva para el consumidor por su elegancia y delicadeza de sus flores⁷. No obstante es una especie de crecimiento lento según⁸; es sensible a temperatura⁹; se desconoce su nutrición, y se conoce poco de su fenología. Actualmente, Lisianthus se propaga principalmente por semilla y mediante cultivo in vitro o por esquejes¹⁰.

En caso particular de la semilla han reportado¹¹ que para una buena germinación no debe de cubrirse la semilla con el fin de proporcionarle luz a una intensidad de 10 µmol•m-2•s-1 así como una humedad relativa (HR) del 100% y una temperatura entre 23°C - 18°C. Así mismo² reportan que la germinación tiene una duración de 10-21 días. Por otra parte algunos estudios revelan que los efectos de los extractos de algas sobre las semillas aceleran su germinación según³.

Sin embargo para acelerar la germinación¹² menciona que las microalgas han demostrado tener fitohormonas (giberelinas, auxinas y citoquininas) macroelementos y microlementos, que se sabe juegan papeles cruciales en el desarrollo sino que también disminuyen la contaminación ambiental; dentro de las especies de microalagas se encuentra las cianobacteria verde azul que puede ser un sustrato apto para la elaboración de un biofertilizante a base de aminoácidos libres ya que posee un alto porcentaje de proteína de entre 60 y 70%, macroelementos y microelementos así como fitohormonas (auxinas, gibelinas y citoquininas) según^{13,14}.

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIALES Y METODOS

Hidrolisis alcalina de algas

El hidrolizado alcalino se realizó con el método de ¹⁵ modificado en el cual se utilizó una concentraciones de hidróxido de potasio de 0.6M, se pesaron 5g de biomasa de algas liofilizado previamente, se mezclaron para permitir que se disocie, se calentó en el horno EC41® a una temperatura de 80°C por 20 min agitando cada 5 min. Posteriormente se centrifugo en Beckman coulter x30R® a 4000 rpm por 5min; se recuperó el sobrenadante y se neutralizo con ácido clorhídrico 5M.

Experimento de germinación

Las semillas de *Eustoma grandiflorum* se lavaron con una solución de hipoclorito de sodio al 25% por 10 min. Se enjuagaron 3 veces con agua destilada estéril.

Previamente las semillas se colocaron en tubos Eppendorf® con su respectivo tratamiento Hoaglan (T_0) , Hoagland + koh (T_1) , Hoagland + 2% Sp (T_2) , Hoagland + 5% (T_3) por 24hrs.

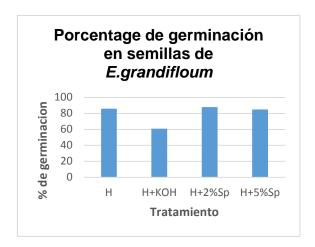
Se fabricaron 40 macetas para hidroponía, se tomaron recipientes de plástico Sigma® para cultivo celular de plantas de 100mL de capacidad; se perforo la parte inferior, se cubrió con malla de plástico y se colocó en otro recipiente de plástico Sigma®, se selló la parte exterior con klimpack, se colocó un papel filtro por dentro, se cerró con su tapadera y se esterilizó a 120°C a una presión de 15lbs/in2 por 25min.

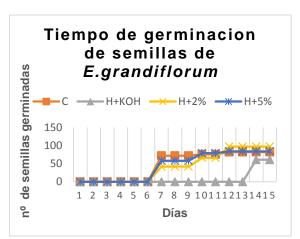
Se colocan 10 semillas previamente desinfectadas de *Esustoma grandiflorum* por maceta con 10 repeticiones para cada tratamiento, se le agrega 50mL de solución nutritiva Hoagland pH 7 como control; para el tratamiento 1 se le agrega 50mL de solución nutritiva Hoagland más 3mL de hidróxido de potasio (koh) 0,6M pH7, para el tratamiento 2 se le agrega 50mL de solución nutritiva Hoagland más 3mL del hidrolizado de algas al 2%; para el tratamiento 3 se le agrega 50mL de solución nutritiva Hoagland más 3mL del hidrolizado de algas al 5%. Se colocan a una temperatura de $(25 \pm 2^{\circ}\text{C})$, a una humedad relativa del 100%, expuesta a 3000 Lux. Se tomaron en cuenta los siguientes parámetros como el porcentaje de germinación (%G), tamaño de planta (T), la longitud de raíces (LR), área foliar (AF) y clorofila total a y b (Ca y Cb).

RESULTADOS

Porcentaje de germinación

Para calcular el porcentaje de germinación se aplicó una formula N° de semillas germinadas/ N° de semillas total; el porcentaje de germinación muestra que el tratamiento con menor número de semillas germinadas fue el T1 como se muestra en la gráfica 1; sin embargo se realizó un análisis estadístico (ANOVA) mostro que estadísticamente no existen diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de rangos múltiples muestra y la prueba de medias (Tukey α =0.05%) muestran que todos los tratamientos son iguales.

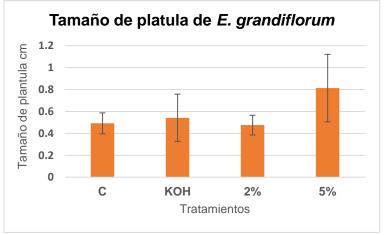




Grafica 1.- Comparación del porcentaje de germinación y tiempo de germinación e semillas de *Eustoma grandiflorum* entre tratamientos.

Tamaño de plántula

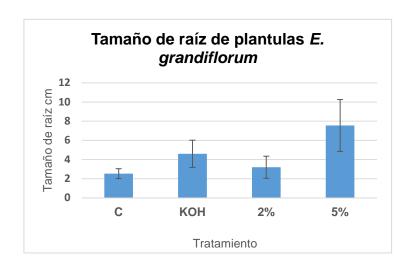
Para medir el tamaño de plántula se tomó un vernier, se medió de la base de la plántula hasta el ápice. El tratamiento en el cual se presentó un mayor tamaño fue el T3, como se muestra en la gráfica 2; sin embargo se realizó un análisis estadístico (ANOVA) mostro que estadísticamente si existen diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de rangos múltiples muestra y la prueba de medias (Tukey α =0.05%) muestran que el T3 es diferente respecto a los demás tratamientos.



Gráfica 2.- Comparación del tamaño de plántula de *E. grandiflorum* entre

Longitud de raíz

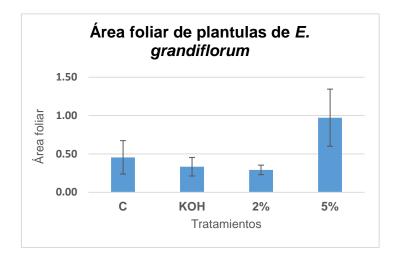
La longitud de raíz se midió desde la base de la plántula hasta el final de la raíz; el tratamiento que presento mayor longitud en raíces fue el T3 seguido del tratamiento T1 como se muestra en la gráfica 3; sin embargo se realizó un análisis estadístico (ANOVA) mostro que estadísticamente si existen diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de rangos múltiples muestra y la prueba de medias (Tukey α =0.05%) muestran que el T3 es diferente respecto a los demás tratamientos.



Gráfica 3.- Comparación de tamaño de raíz de *E. grandiflorum* entre

Área foliar

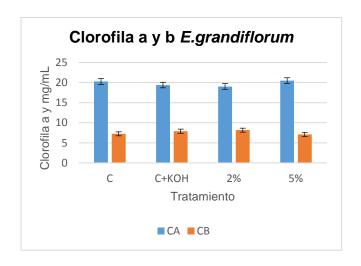
El área foliar se calculó midiendo el largo de la hoja por el ancho de la misma, y se calculó con la siguiente formula; el largo de la hoja x el ancho de la hoja. El tratamiento que presento mayor área foliar fue el T3 en comparación a los demás como se muestra en la gráfica 4; sin embargo se realizó un análisis estadístico (ANOVA) mostro que estadísticamente si existen diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de rangos múltiples muestra y la prueba de medias (Tukey α=0.05%) muestran que el T3 es diferente respecto a los demás tratamientos.



Gráfica 3.- Comparación de área foliar en hojas de *E. grandiflorum* entre tratamientos.

Clorofila a y b

La cantidad de clorofila a y b se analizó por medio del método 16 . Se realizó un análisis estadístico (ANOVA) mostro que estadísticamente que no existen diferencias significativas entre tratamientos en clorofila a; la prueba de rangos múltiples muestra y la prueba de medias (Tukey α =0.05%) muestran que todos tratamientos son iguales como se muestra en la gráfica 5.



Grafica 4.- Comparación de clorofila en hojas de *E. grandiflorum* entre los tratamientos.

CONCLUCIONES

- El T3 fue el tratamiento que mayor tamaño de plántula, longitud de raíz, área foliar obtuvo en comparación a los demás tratamientos.
- Este trabajo da una respuesta positiva sobre la aplicación del hidrolizado de algas en el crecimiento y desarrollo de E. grandiflorum y puede ser utilizado en otras especies de plantas como un biofertilizante.

- 1. J. Plasmeijer, C. Yanai, "Cut Flowers and Ornamental Plants", Market News Service. Boletin técnico 2009.
- 2. Panamerican seed, "Cut Flower Lisianthus", Boletín técnico. PAS06078, 2005. USA.
- 3. A.C. Shulka, A.B. Gupta, "Agriculture: influence of algal growthpromoting substances on growth, yield and protein contents of rice plants". Nature., 1967, 213:744.
- 4. L. Shinners, "Synopsis of genus Eustoma (Gentianaceae)". The Southwestern Naturalist., Vol. 2, 1,1957 pp 38–43.
- 5. C.E. Wood, R.E, Weaver, "The genera of Gentianaceae in the Southern United States". J., Arnold Arbor. Vol. 63, 1982, pp. 441–478.
- 6. T. Takeda. "Studies on rosette formation and bolting of seedlings and lateral buds of Eustoma grandiflorum". J. Japan. Soc. Hort. Sci., Vol. 63, 3, 1994, pp. 653–662.
- 7. Hernández, H. C." Respuesta de lisianthus (Eustoma grandiflorum Raf.)CV. Echo blue a diferentes dosis de nitrógeno, calcio y magnesio". Tesis de doctorado. Universidad de chapingo. 2011 México.
- 8. Sakata ornamentals, "Lisianthus Flor de Corte" Boletín técnico.2013.
- 9. B. Croft, J.Nelson, "Eustoma (lisianthus)" In: Ball, V. Ed. Ball Redbook. 16 th. Edition. Batavia. Ball Publishing. 1998, pp. 509- 512.
- 10. L. Bárbaro, M. Karlanian, D. Morisigue. "El sistema flotante como alternativa para la producción de plantines de Lisianthus (Eustoma grandiflorum)". Agrisciencia., Vol. 26, 2, 2009, pp. 63-69.
- 11. J. Dole, H. Walkins," Floriculture principles and species. Canada". Pearson Prentice Hall. 2005.
- 12. S. J. Kawalekar, "Role of biofertilizers and biopesticides for sustainable agricultura". J Biol Innov Vol. 2, 2013, pp. 73–7.
- 13. R. Albuja, P. Araujo, A. López, "Obtención de un biofertilizante a partir del residuo ultra fino de Spirulina platensis, mediante degradación anaerobia". Departamento de Ciencias de la vida Ing. en Biotecnología. Boletín técnico. 2011. Ecuador.
- 14. M. Mandujano, J. Golubov, M.Rojas, "Efecto del ácido giberélico en la germinación de tres especies del género Opuntia (Cactaceae) del Desierto Chihuahuense". Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. 52, 2, 2007, pp. 47-52.
- 15. S. Dwi, W .Sri, K, Indah, M. Neli. H. Pandit." Acid Hydrolysis Technique and Yeast Adaptation to Increase Red Macroalgae Bioethanol Production" International Journal of Environment and Bioenergy. Vol. 3, 2, 2012, 98-110.
- 16. A.R. Wellburn, "The spectral determination of chlorophylls a and b as well as total carotenoids using various solvents whith spectrophotometers of different resolution" J. plant physiol. Vol. 144,1994, pp 307-313.

PROPIEDADES TERMICAS DE ALMIDONES OBTENIDOS DE CHICHARO Y VAINA DE VARIEDADES COMUN Y JAPONESA

Salazar-Montoya, J. A., Díaz-Cervantes, M. D., Gaspar-Arista, N. P., Ramos-Ramírez. E.G.

Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN Av. IPN 2508. Col. San Pedro Zacatenco. CDMX. C. P. 07360. México. Email: jsalazar@cinvestav.mx

RESUMEN

En la actualidad, la utilización de almidón de fuentes no convencionales, como el caso de los vegetales; es una alternativa viable en la industria alimentaria. El almidón es el material de reserva de los vegetales y sus propiedades fisicoquímicas y funcionales determinan el tipo de uso industrial. El chícharo (Pisum sativum L) es un recurso que representa una buena fuente de almidón, de producción anual y amplia distribución mundial. En el caso de México, se produjeron en el año 2015, 65837 Ton. El objetivo de este estudio fue extraer el almidón de la vaina y chícharo de las variedades común y japonesa; así como, evaluar sus propiedades térmicas por calorimetría diferencial de barrido. Se realizó el acondicionamiento de la materia prima en fresco para el secado a vacío. Posteriormente, se molieron para lograr la extracción del almidón. El análisis térmico se realizó en un calorímetro TA Instruments modelo 2010, utilizando una rampa de 5 °C/min, en un intervalo de 25-200 °C bajo atmósfera de N₂ (50 mL/min). Los resultados indican que es mayor la temperatura de fusión del almidón de chícharo y vaina común en 27.47% y 5.7% con relación al almidón del chícharo y vaina japonés. Las entalpías en orden ascendente fueron para el almidón de chícharo japonés 247.1 J/g, de chícharo común 254.4 J/g, de vaina japonesa 284.5 J/g y de vaina común 288.5 J/g. La capacidad calorífica fue mayor en los almidones de chícharos con relación a los almidones de las vainas: variedad común (3.77-4.81 J/g°C), variedad japonesa (6.26-7.55 J/g°C).

INTRODUCCION

En los últimos 15 años, en la industria se han obtenido productos bajos en grasa/sin grasa, altos en fibra, bajos en carbohidratos, control de índice glucémico y otras tendencias de comercialización. La entrega de productos para satisfacer las necesidades de cada una de estas tendencias se ha sumado a las herramientas tecnológicas utilizadas por los industriales (Skarra, 2006). Por tales motivos, el almidón ha adquirido gran relevancia en aplicaciones comerciales en diversas industrias, con un gran número de beneficios. Hoy en día los almidones tienen una alta demanda para satisfacer las necesidades globales de la industria alimentaria, debido a sus características fisicoquímicas y funcionales (González-Montiel *et al*, 2012), que permiten crear ventaja competitiva en un nuevo producto, mejorar la estética del producto, reducir los costos de producción, aumentar el rendimiento del producto, asegurar la consistencia del producto y prolongar la vida útil. (Taggart, 2004).

Los principales usos que se les da a los almidones son como estabilizadores o formadores de espumas, emulsionantes, gelificantes, mejoradores la textura, espesantes y agentes de viscosidad, para encapsulación de sabores artificiales, fijadores de sabores, estabilizadores en sistemas donde hay ciclos de congelación/descongelación, para controlar la cristalización de azúcares, sales y agua, para formación de películas resistentes, como agentes de suspensión de sólidos en líquidos, agentes adhesivos, espesantes en alimentos dietéticos bajos en calorías, agentes floculantes, para reducir el daño estructural del alimento causado por el congelamiento, entre muchos otros (Luallen, 2004; Taggart, 2004).

El almidón, es el segundo biopolímero más abundante en las plantas después de la celulosa, es un polisacárido de reserva en vegetales y ha sido la fuente primaria de energía en la dieta humana. Se encuentra en hojas, flores, semillas, diferentes tipos de tallos y raíces (Alcázar-Alay y Almeida Meireles, 2015).

Las principales fuentes de almidón son los cereales (40-90%), raíces (30-70%), tubérculos (65-85%), leguminosas (25-50%) y algunas frutas no maduras como el mango y el plátano que contienen aproximadamente 70% de almidón en base seca. El patrón de acumulación de gránulos de almidón en cada tejido vegetal, forma, tamaño, estructura y composición es específico para cada especie botánica (Alcázar-Alay y Almeida Meireles, 2015; González-Montiel, Parra-Huertas y Pimentel-Gonzáles, 2012).

La mayoría de los gránulos de almidón naturales, independientemente de la fuente o tejido de la planta, contienen dos tipos principales de polisacáridos, la amilosa y amilopectina. Ambos son polímeros formados de unidades monoméricas α -D-glucopiranosa. La amilosa consiste de una o varias cadenas largas, por lo que la molécula es lineal o ligeramente ramificada, formada por aproximadamente 250-300 unidades, de peso molecular relativamente bajo de 10^5 - 10^6 y conforma del 15-30% de la mayoría de los almidones. La amilopectina, es el componente principal de la mayoría de los almidones, consiste en un gran número de cadenas cortas unidas en su extremo reductor por un enlace α -1-6, formada por alrededor de 1000 unidades espaciadas regularmente cada 25-30 residuos de glucosa, con un peso molecular mayor a 10^7 - 10^9 , lo que hace que este polisacárido se encuentre extensamente ramificado y constituye el 70-85% del almidón común. (Alcázar-Alay and Almeida-Meireles, 2015; Bertoft and bo Akademi, 2004)

Dentro de las leguminosas, el chícharo (*Pisum sativum*) es uno de los cultivos alimentarios más antiguos; es un recurso de producción anual, que ocupa un área de cultivo de gran extensión, que se desarrolla prácticamente en todo el mundo y cuyo consumo principal es como grano fresco, proporcionando una buena fuente de proteínas y energía para los humanos y ganado. Los contenidos de almidón y proteínas de los granos oscilan entre el 30-50% y el 20-25% en materia seca respectivamente. Esta leguminosa ha ido adquiriendo mayor importancia en la industria, tanto de conservación como de congelación. En los últimos años, en diversas partes de América, se ha incrementado el consumo del chícharo en la alimentación humana, por ser una buena fuente de proteína, carbohidratos, fibra y lípidos (Almeida-Costa, Queiroz-Monici y Pissini-Machado, 2004; Miaomiao Shi a *et al.*, 2014).

Actualmente en México, según datos del SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) del año 2015, el chícharo se cultiva en 19 estados del país, en dos diferentes ciclos, primavera-verano y otoño-invierno. La entidad con mayor producción anual es el Estado de México con el 50% de la producción, siguiendo con el Estado de Puebla con el 22% y el Estado de Baja California con el 10%. La producción total del país para ese año fue de 65837 Toneladas, con un valor de producción de 418,739.98 miles de pesos. El chícharo es una buena fuente de almidón, que puede ser utilizado en la industria alimentaria de diversas maneras como emulsificante, formador de películas comestibles, estabilizante, conservante, gelificante, aglutinante, entre otros; dependiendo de sus características funcionales y fisicoquímicas (McCallum y Newell, 2000).

Las dos especies seleccionadas fueron el chícharo común (*Pisum sativum*) y chícharo tirabeque, también llamado japonés (*Pisum sativum L.*); por ser las dos especies más consumidas en México. La especie *Pisum sativum* tiene la vaina curvada, color verde oscuro, con longitud de 9-10 cm y estrecha, alrededor de 6-8 mm. En este tipo de chícharo solo se consumen las semillas. La especie *Pisum sativum L.* tiene la vaina muy curvada y aplanada, color claro en estado de verdeo y también las semillas frescas, de longitud 14-15 cm y ancha, alrededor de 30 mm, con 6-9 semillas, las cuales son muy pequeñas. Las diferencias entre estas dos especies son significativas a nivel física y fisicoquímica, por ello es necesario realizar la caracterización física, fisicoquímica y además estructural del almidón, presente en el chícharo.

MATERIALES Y METODOS

Materia prima

Se utilizó chícharo común (*Pisum sativum*) y Chícharo japonés (*Pisum sativum L.*) adquiridos en el "Mercado de San Juan" de la Ciudad de México.

Acondicionamiento de la materia prima

Para el acondicionamiento de la materia prima, se realizó manualmente la separación de las semillas y vaina para posteriormente triturarlos en un procesador de alimentos NB-101s (NutriBullet, China). Las muestras trituradas se secaron en una estufa de vacío RTV 220 o RTV 500 (Heraeus, Alemania) a 50 + 5°C por 120-144 hr. El material seco se procesó en un molino A10 S2 (Ika, China) por 10-15 s. Las harinas obtenidas se utilizaron para la extracción de almidón.

Extracción de almidón

La extracción de almidón de grano de chícharo y vainas se realizó por el método modificado descrito por Naguleswaran y Vasanthan (2009). Al material molido y seco se le adicionó agua desionizada en relación 1:5 (p/v), se ajustó a pH 8-8.5 y se mantuvo a 4 °C durante 24 hr. El pH se ajustó a 5-5.5, se adicionó proteasa y se mantuvo en agitación a 700 rpm, 4 hr a 35 °C. La suspensión se tamizó por malla 60 y 120, el filtrado se guardó en refrigeración y el material retenido se procesó nuevamente a las condiciones iniciales y se tamizó; los dos filtrados obtenidos se homogenizaron, se centrifugaron y el precipitado obtenido se lavó 3 veces, finalmente se secó el almidón obtenido.

La caracterización térmica

El análisis térmico se realizó en un calorímetro diferencial de barrido, TA Instruments modelo 2010. Las muestras de almidón deshidratado se colocan en charolas de aluminio herméticamente selladas. Se colocó en el dispositivo de análisis para realizar el barrido de temperatura bajo atmósfera de N_2 (50 mL/min), en un intervalo de 25–200 °C, utilizando una rampa de 5 °C/min. A partir de los termogramas resultantes se obtienen los parámetros térmicos de temperatura de inicio (T_0) , temperatura de pico máximo (T_m) , temperatura de conclusión (T_c) , entalpía (H) y calor específico (Cp).

RESULTADOS

En la Figura 1 se presentan los termogramas de las semillas y vainas del chícharo común y japonés, donde se puede observar que la transición térmica inicia a temperaturas menores a 100 °C tanto en la vaina como la semilla de la variedad japonesa, con respecto a la común. En los cuatro tipos de almidón se presentan procesos endotérmicos.

El proceso de transformación térmica en la semilla y vaina de chícharo común comienza a 123.94 °C y 104.84 °C respectivamente. En el caso de la semilla y vaina variedad japonesa, el proceso inicia a 97.23 °C y 99.24°C, en el mismo orden. La temperatura donde se registra el mayor valor de absorción de calor (Tm) en el chícharo común es 149. 98 °C y en la vaina de 143.10 °C, mientras que en la semilla de chícharo japonés se presenta a 113.58 °C y en la vaina a 121.93 °C. El proceso de transformación finaliza a 176.02 °C y 181.34 °C para el caso de la semilla y vaina de chícharo común, respectivamente. Por otra parte el proceso finalizó a 129.93 °C y 144.62 °C para la semilla y vaina variedad japonesa (Tabla1).

La mayor diferencia de temperatura entre los procesos de transformación térmica de los almidones se presentó entre las semillas de chícharo común y el japonés, observándose en la temperatura de inicio una diferencia de 26.7 °C, en la Tm de 36.4 ° C y en la Tf de 46.09 °C (Tabla 1).

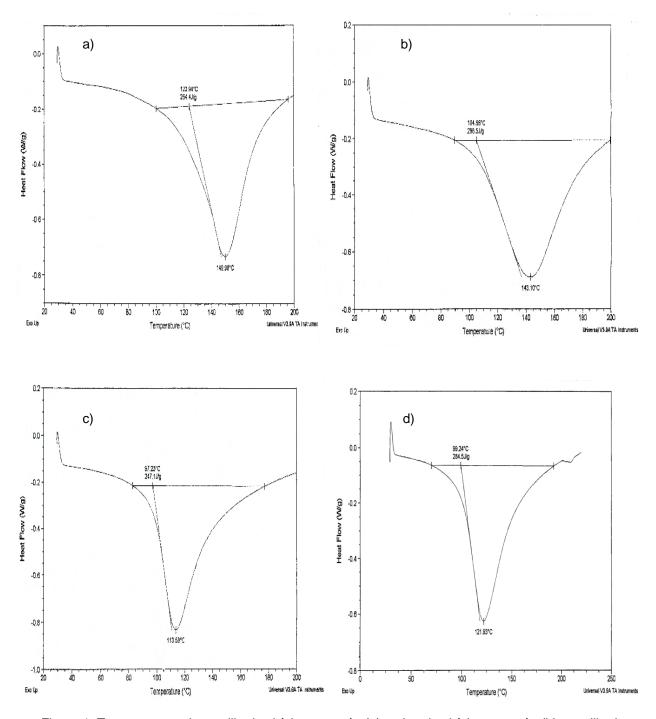


Figura 1. Termogramas de semilla de chícharo común (a), vaina de chícharo común (b), semilla de chícharo japonés (c) y vaina de chícharo japonés (d).

Aunque los procesos de transformación difieren en temperatura, la energía necesaria para completar dicho proceso (entalpía) no presenta gran diferencia entre sí. La entalpía requerida para las semillas de chícharo común y japonés es de 254.4 y 247.1 J/g, respectivamente. Para las vainas de chícharo común y japonés de 288.5 y 284.5 J/g (Tabla1).

284.5

6.26

Con respecto a la capacidad calorífica los componentes del chícharo japonés presentan valores de 7.55 J/g°C (para semilla) y 6.26 J/g°C (para vaina). En la semilla y vaina de chícharo común los valores son de 4.81 y 3.77 J/g°C, respectivamente (Tabla 1).

Τi Tm Τf ΛН Ср Almidón (°C) (°C) (J/g °C) (°C) (J/g)149.98 176.02 254.4 Semilla chícharo común 123.94 4.81 Vaina chícharo común 104.86 143.10 181.34 288.5 3.77 Semilla chícharo Japonés 97.23 113.58 129.93 247.1 7.55

121.93

144.62

Tabla 1. Parámetros calorimétricos de los almidones de semillas y vainas de chícharo común y japonés.

CONCLUSIONES

Vaina chícharo Japonés

Ambas variedades de chícharo por sus altas temperaturas de descomposición pueden ser aptos para utilizarse en la industria de los alimentos. Debido a que las temperaturas de inicio de la descomposición en el almidón de la semilla y vaina del chícharo japonés son menores que en ambos almidones del chícharo común, puede deberse a cadenas menores de amilopectina; por otra parte los valores de ΔH sugieren un grado de cristalinidad similar entre almidones, como ha sido reportado con anterioridad. Es necesario estudiar más a fondo las propiedades fisicoquímicas, estructurales y funcionales de este tipo de almidones para tener mayores posibilidades de aplicaciones en la industria.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo técnico del Ing. Miguel Márquez.

99.24

BIBLIOGRAFIA

- 1. Alcázar-Alay, S. C., Almeida Meireles, M. A. (2015). Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. Food Sci. Technol, Campinas. 35(2): 215-236.
- 2. Almeida-Costa, G. E., Queiroz-Monici, S. K., Pissini-Manchado, S. M., y Costa-Oliveira, A. (2004). Chemical composition, dietary fiber and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. Food Chem, Campinas. 94:327-330.
- 3. Bertoft, E., bo Akademi, A.Ê. (2004). Analyzing starch structure. In: Starch in food Structure, function and applications. Chapter 2, Ed. Ann-Charlotte Eliasson. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. pp 72-111.
- 4. González-Montiel, L., Parra-Huertas, R. A., y Pimentel-Gonzáles, D. J. (2012). Effect of temperature and pH on the rate of precipitation and extraction of starch from native potato (*Solanum phureja*). Ciencia en Desarrollo. 4(1):141- 149.
- 5. Luallen, T. (2004). Utilizing starches in product development. In: Starch in food Structure, function and applications. Chapter 13, Ed. Ann-Charlotte Eliasson. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. pp 404-435.
- 6. Miaomiao Shi, Zhiheng Zhang, Shujuan Yu, Kai Wang, Robert G. Gilbert, Qunyu Gao. (2014). Pea starch (*Pisum sativum L.*) with slow digestion property produced using bamylase and transglucosidase. Food Chem. 164:317–323.

- 7. McCallum, I., Newell, W. (2000). Uso de arvejón (feed pea, chícharo) Pisum sativum en alimentos para camarones (*Litopenaeus stylirostris* y *L. vannamei*), tilapia (*Oreochromis niloticus*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*). Mérida, Yucatán, México: Avances en Nutrición Acuícola V. 149: 193-215.
- 8. Naguleswaran, S. Vasanthan, T. (2009). Dry milling field pea (*Pisum sativum L.*) groats priorto wet fractionation influences the starch yield purity. Canada. Food Chemistry. 118, 627-633.
- 9. Ratnayakea, W. S., Hoovera, R., Warkentinb, T. (2002). Pea Starch: Composition, Structure and Properties—A Review. Starch/Stärke. 54 217–234.
- 10. Skarra, L. (2006). Retro Starches...Back to the Future? In Prepared foods pp. 101-111.
- 11. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2015). Producción Agrícola. Ciclo: Cíclicos y Perennes. Modalidad: Riego y Temporal. Disponible en: http://www.siap.gob.mx/aagricola_siap/ientidad/index.jsp
- 12. Taggart, P. (2004). Starch as an ingredient: manufacture and applications. In: Starch in food Structure, function and applications. Chapter 12, Ed. Ann-Charlotte Eliasson. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. pp 374-404.
- 13. Torres-Rapelo, A., Montero-Castillo, P., Duran-Lengua, M. (2013). Propiedades fisicoquímicas, morfológicas y funcionales del almidón de malanga (*Colocasia esculenta*). Cartagena, Bolívar, Colombia: Revista Lasallista de Investigación. 10 (2): 52-61.

CRECIMIENTO DE LEVADURAS NATIVAS DE TLAXCALA PRODUCTORAS DEL AROMA (+)-NOOTKATONA

Paula Rosa Xicohtencatl Lara, Jorge García Dávila¹, Maribel Quezada Cruz , Porfirio Raúl Galicia García , Daniel Torres Martínez

Universidad Politécnica de Tlaxcala. A. Universidad Politécnica N0.1, San Pedro Xalcaltzinco, 90180 Tepeyanco, Tlaxcala.

Universidad Tecnológica de Tecámac. Km. 37.5 Carretera Federal México – Pachuca. Col. Sierra Hermosa. CP 55740. Tecámac, Edo. de México.*danieltm99@gmail.com

RESUMEN

Saborizantes y aromas son altamente valorados en la industria de alimentos, cosmética y farmacéutica. Recientemente en México y en el mundo se ha dado un interés creciente de los compradores de fragancias en productos como la (+)-nootkatona de origen biológico. En el presente trabajo se determinó el potencial de crecimiento de levaduras aisladas de frutos cítricos para su aplicación como biocatalizadores en la biotransformación de (+)-valenceno a (+)-nootkatona (aroma a toronja). Se probó la capacidad de crecimiento de la levadura MI-Lev 3 sobre agar utilizando cáscara de naranja como fuente de carbono y posteriormente en medio mineral para su posterior utilización en biotransformaciones de (+)-valenceno en (+)-nootkatona. Los resultados mostraron que se alcanzó una concentración de (+)- nootkatona de 450 mg/L (± 14) en una biotransformación de 8 días. El análisis de consumo de glucosa en medio líquido mostró que la glucosa del medio mineral se agotó a las 48 hrs por lo cual se considera la posibilidad de un análisis posterior para reducir los tiempos de la biotransformación.

INTRODUCCIÓN

En su gran mayoría los aromas se pueden obtener por síntesis química pero resultan ser productos que no son bien aceptados por los consumidores cuya demanda, especialmente en Europa, está a favor de los productos naturales. Como una alternativa, la biotecnología propone utilizar enzimas o células microbianas para producir compuestos aromáticos naturales (Aguedo et al., 2004). Recientemente se han reportado biotransformaciones en biorreactores en medios orgánico utilizando levaduras como *Yarrowia lipolytica* 2.2ab con tiempos de bioconversión de 4 a 5 días (Palmerin-Carreño et al., 2016). La industria global de saborizantes y fragancias se espera que crezca a una tasa anual del 3.6% en el periodo del 2015-2020 (Edser, 2016). Entre los sectores de fragancias los detergentes y jabones están liderando en términos del tamaño del mercado por otro lado los artículos de aseo personal, cosméticos, fragancias finas, detergentes y jabones tienen la mayor tasa de crecimiento.

TEORÍA

La (+)- nootkatona es una cetona muy valorada por su agradable aroma característico a toronja, que puede ser perceptible a concentraciones muy bajas ($1\mu L/L$) (Leonhardt R.H. y Berger R.G. 2014), también tiene numerosas aplicaciones en la industria de alimentaria y farmacéutica pues no es tóxica para el ser humano; se han propuesto nuevas alternativas de uso como un insecticida natural que sea amigable con el medio ambiente (Anderson y Coats, 2012). Se puede nombrar la (+)- nootkatona [2(3H)-naphthalenona, 4,4a,5,6,7,8-hexahidro 3,4a-dimethyl-6-(1-,ethylethenyl)-,

(4R,4aS,6R)-eremophila-1(10),11-dien-2-one], con No. CAS 467-50-4. Este valorado aroma tiene un peso molecular de 218 g/mol, y fórmula molecular $C_{15}H_{22}O$, con un punto de fusión de 36°C y punto de ebullición de 170°C. La (+)- nootkatona se obtiene de la biotransformación del (+)-valenceno mediante oxidación alílica, vía nootkatol, el valenceno es tranformado en nootkatol y posteriormente en (+)-nootkatona (Leonhardt R.-H. y Berger R.G. 2014; Girhard et al., 2009).

PARTE EXPERIMENTAL

La propagación de cepas provenientes de cultivos cítricos, se seleccionaron 3 variedades de frutas naranja, mandarina y toronja, los cuales fueron compradas en un mercado local de Zacatelco, Tlaxcala. Se tomaron las cáscaras de estas frutas y se colocaron en cajas Petri sobre algodón saturado con agua destilada a 30 °C Figura 1. Las cascarás fueron cortadas en trozos de 1 cm, no hubo ajuste de pH.

Las cajas Petri fueron monitoreadas por 7 días hasta que en todas se pudo observar crecimiento microbiano sobre las cáscaras de frutos cítricos, posteriormente, se tomó una asada y se hicieron subcultivos en cajas Petri con Agar PDA, pH 5.5 a 30 °C y la siembra se realizó por estría para desarrollar colonias individuales.



Figura 1. Propagación de cepas en cáscara de frutos cítricos a 30 °C

Una vez que las cepas crecieron sobre la cascara de frutos cítricos se transfirieron a Agar PDA, las colonias individuales fueron trasferidas por siembra por estría a cajas Petri con Agar PDA, pH 5.5 a 30 °C hasta la obtención de cultivos axénicos. La resiembra se realizó cada 7 días. De las siembras anteriores se obtuvo el aislado llamado M1-Lev 3.

La determinación por cromatografía de gases requiere la extracción del compuesto de los restos de biomasa por lo cual las muestras a analizar se centrifugaron a 4000 rpm, 10min a 4°C. Posteriormente, se recuperó el sobrenadante, por cada 5 mL de sobrenadante se le adicionaron 5 ml de hexano mezclándolos vigorosamente en el vortex durante 1 min. Las fases se separaron por

centrifugación, la fase orgánica que contiene el valenceno y nootkatona se depositó en un volumen 800 µL en un vial para la inyección en el cromatógrafo.

Se utilizó un equipo (Agilent modelo 7890A, con automuestreador G4513A acoplado a un espectrómetro de masas marca Agilent modelo 5975C VL MSD), las condiciones en el horno fueron con un tiempo de equilibrio de 2 min y una temperatura máxima de 250 °C el programa en el horno fue de 60°C durante 2 min, una rampa de 25 °C/min y una temperatura final de 250 °C durante 3 min, el tiempo de ejecución fue de 12.6 min con una presión de 6.0696 psi, la columna que se utilizó fue la Agilent 133-6632 cyclosilb de 30 m x 320 m x 0,25 m.

Las cinéticas de crecimiento se desarrollaron en medio líquido mineral con una concentración de glucosa inicial de 50g/L, pH 5.5 a 30°C.

RESULTADOS

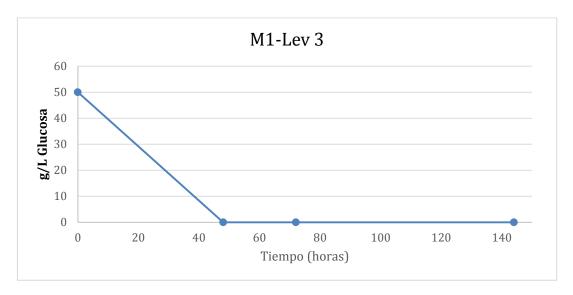


Figura 2. Cinética de consumo de glucosa por la cepa M1 Lev 3 a 30°C, pH 5.5 en medio mineral.

En la Figura 2 se puede observar que la cepa a las 48 hrs ya había consumido por completo la glucosa, lo cual muestra que la cepa no presenta ningún tipo de inhibición por glucosa a 50 g/L por lo cual se propone que en futuros experimentos la concentración de la fuente de carbono puede ser mucho mayor quizá hasta unos 100 g/L con lo cual se podría tener una mayor concentración de biomasa y que la concentración de enzimas para realizar la biotransformación puede ser proporcional a la biomasa.

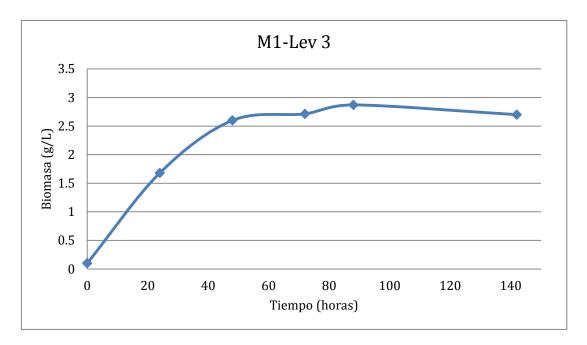


Figura 3. Cinética de crecimiento de la cepa M1 Lev 3 a 30°C, pH 5.5 en medio mineral con glucosa 50 g/L.

El crecimiento de M1 Lev 3 fue de manera sostenido hasta las 48 horas, Figura 3, el balance de los componentes del medio de cultivo fue el adecuado pues el crecimiento se detiene debido al reactivo limitante en este caso es la glucosa, a las 48 horas prácticamente terminó de crecer la cepa.

Para a biotransformación la cepa M1-Lev 3 creció previamente en frascos de geometría cilíndrica con Agar PDA y después de 7 días de crecimiento se añadió el (+)-valenceno (3 g/L). Después de haber añadido el valenceno se dejaron pasar 8 días para después cuantificar mediante cromatografía de gases.

La M1-Lev 3 produjo (+)- nootkatona a una concentración de 450 mg/L (\pm 14). Las biotransformación de (+)-valenceno a nootkatona obtenida es similar a la que se ha desarrollado para otros sistemas mediante cepas recombinantes (*Pichia pastoris* Wriessneger et al., 2014), 208 mg/L. Las cepa M1-Lev 3 probablemente pueda alcanzar concentraciones mayores pues el sistema de producción del biocatalizador y de la biotransformación aún no se han optimizado.

Se desconoce que enzima ó enzimas pudieran estar involucradas, en un futuro se podría trabajar para aislar las enzimas presentes en estos microorganismo aislado y probablemente aplicar una estrategia de ingeniería de proteínas para aumentar la productividad del proceso.

CONCLUSIONES

En conclusión la levadura aislada (M1-Lev 3) presenta un comportamiento adecuado para un bioproceso y puede continuar en el proceso de identificación molecular para su implementación de manera segura en el proceso tecnológico de producción de aromas.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Aguedo M., Ly A.H., Belo I., Teixeira J.A., Belin J.M., Waché Y. 2004. The use of enzymes and microorganisms for the production of aroma compounds from lipids. Food Technol. Biotechnol. 42 (4) pp. 327-336.
- 2. Anderson J.A., Coats J.R. 2012. Acetylcholinesterase inhibition by nootkatone and carvacrol in arthropods. Pestic. Biochem. Physiol. (102) pp.124-128.
- 3. Edser C.2016. Global Flavours and fragances market set to frow. Focus on surfactants. 4: 3
- 4. Leonhardt R.H., Berger R.G. 2014. Nootkatone. Adv. Biochem. Biotechnol (148) pp. 391-404.
- 5. Palmerín-Carreño D.M, Rutiaga-Quiñones O.M., Verde-Calvo J.R., Prado-Barragan A. 2015. Screening of microoganisms for bioconversion of (+)- valencene to (+)-nootkatone. LWT-Food Science and Technology . (64) pp.788-793.
- 6. Wriessnegger T., Augustin P., Engleder M., Leitner E., Müller M., Kaluzna I., Schürmann M., Mink D., Zellnig G., Schwab H., Pichler H. 2014. Production of the sesquiterpenoid (+)-nootkatone by metabolic engineering of Pichia pastoris. (24) pp. 18-29.

EVALUACIÓN DE UN PROCESO DE EXTRACCIÓN ÓPTIMO PARA LA OBTENCIÓN DE ANTOCIANINAS DE CAPULÍN (*Prunus serotina*)

Valencia-Arredondo J. A., Serrano-Aragón M. J., Yáñez-Fernández J.

Instituto Politécnico Nacional, UPIBI, Laboratorio de Biotecnologia Alimentaria, Av. Acueducto de Guadalupe S/N, Gustavo A. Madero, Barrio La Laguna Ticoman, 07340, Ciudad de México. Universidad Tecnológica de Tehuacán, Prolongación de la Isur No. 1101, San Pablo Tepetzingo, 75859, Tehuacán, Puebla

RESUMEN

El capulín (*Prunus serotina*) es una planta periódica anual típica de México y es utilizada como un remedio herbolario o su utilidad en la elaboración de jaleas, mermeladas o productos de carácter alimentario y actualmente es considerado un fruto potencial por sus propiedades antioxidantes y su contenido en flavonoides y taninos entre las cuales las antocianinas. El objetivo del presente trabajo se enfoca en la optimización de un proceso de extracción de antocianinas de capulín, donde fue evaluada la capacidad de extracción con diferentes soluciones de extracción (SE) con ácido clorhídrico (E_{Cl}), ácido fosfórico (E_{Ff}), una mezcla de ácido fosfórico-etanol (E_{Ff/Et}), etanol (E_{Et}) y agua (E_A) de acuerdo a la concentración total de antocianinas monómericas (CA_m) por método de pH diferencial y la actividad antioxidante (%AA) por el método de DPPH. El extracto etanólico presento un CA_m de 6.4 ±0.04 mg de Cyd-3-glu L⁻¹ y una actividad antioxidante de 22.98 % ±1.07 que fue mayor respecto a la solución de E_{Cl} de 3.4 ±0.06 mg de Cyd-3-glu L⁻¹ mientras que para los demás ensayos (E_{Cl}, E_{Ff} y E_A) los valores de CA_m y %AA resultaron en valores bajos.

INTRODUCCIÓN

Las antocianinas son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas o sustancias químicas presentes en los alimentos, el organismo humano no puede producir estas sustancias, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos (Kong *et al.*, 2003). En México el fruto de capulín (*Prunus serotina*) ha sido utilizado para el tratamiento de algunas enfermedades, es una planta ampliamente usada para la elaboración de varios productos tradicionales, tales como té medicinal, el cual posee propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Ibarra-Alvarado *et al.*, 2009; Jiménez *et al.*, 2011).

Los antioxidantes cumplen con diferentes funciones en el organismo y diferentes usos industriales, además han despertado un especial interés debido a sus propiedades funcionales como el de su habilidad de neutralizar radicales libres, y su capacidad para reducir riesgos de padecimientos cardiacos y cáncer. Los extractos contenidos en componentes bioactivos importantes tales como las antocianinas han aumentado recientemente debido a sus propiedades alimentarias , farmacológicas y terapéuticas tal es el caso del capulín (Ordaz-Galindo *et al.*, 1999), pero puesto que la mayoría de los procesos industriales requieren de la purificación inicial de las materias primas o de la separación final de productos y subproductos, frecuentemente son necesarios los procesos adecuadas para llegar a tal fin. Por lo tanto la necesidad de contar con un sistema de extracción de los componentes bioactivos es importante para un escalamiento a nivel industrial.

TEORÍA Capulín

El género *Prunus* pertenece a la familia *Rosaceae* e incluye alrededor de 400 especies en una amplia distribución en las regiones de clima caliente y templado, en México es un fruto poco estudiado sin embargo el uso es de ornamenta tradicional. El fruto posee hueso liso o rugoso y por lo general contiene una sola semilla con endospermo escaso o ausente. Algunos ejemplos de especies del género *Prunus* son *P. persica* (durazno), *P. domestica* (ciruelo), *P. armeniaca* (chabacano) y *P. serotina* (capulín), entre otros. (Ibarra-Alvarado *et al.*, 2009).

Para el Capulín que ha sido utilizado con fines medicinales desde tiempos prehispánicos para el tratamiento de diversas enfermedades, como la diarrea o las molestias respiratorias (Jiménez *et al.*, 2011). Estos hechos son probablemente a que el Capulín contiene una gran variedad de compuestos fenólicos como flavonoides entre los que destacan las antocianinas y compuestos también presentes como los taninos (Ordaz-Galindo *et al.*, 1999)

Antocianinas

Las antocianinas (del griego *anthos* flor y *kyanos* azul), son el grupo más importante de pigmentos solubles al agua visibles para el ojo humano. Las antocianinas forman parte de la familia de los polifenoles y se definen como flavonoides fenólicos.

Se encuentran típicamente en frutas tales como arándanos, fresas, uvas, zarzamoras, ciruelas, jamaica y verduras como col morada y cebolla morada. Investigaciones recientes se han enfocado a los beneficios en la salud de estos pigmentos, especialmente a su actividad antioxidante (Camire *et al.*, 2002). La diferencia de color entre las frutas, flores y verduras depende de la naturaleza y concentración de antocianinas. Existen factores adicionales que afectan el color como el pH de la célula, el efecto de copigmentación determinado por la presencia de otros flavonoides, temperatura, luz, etc.

Estabilidad de las Antocianinas

Las antocianinas son altamente inestable y susceptible a la degradación (Giusti & Wrolstad, 2003). La estabilidad de los pigmentos de antocianina es determinada por varios factores, incluyendo la estructura y la concentración del pigmento, pH, temperatura, intensidad y calidad de la luz, la presencia de co-pigmentos, iones metálicos, enzimas, oxígeno, ascórbico ácido, azúcares y sus productos de degradación y el dióxido de azufre, entre otros.

El color de las antocianinas depende de varios factores específicos, como los sustituyentes químicos que contenga y la posición de los mismos en el grupo flavilio, si se aumentan los hidroxilos del anillo fenólico se intensifica el color azul, mientras que la introducción de metoxilos provoca la formación de los rojos.

Debido a una deficiencia del núcleo del flavilio, estos pigmentos funcionan como verdaderos indicadores de pH; es decir, su color depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema en que se encuentran; a pH ácidos obtienen una estructura estable de catión flavilio rojo, cuando se incrementa el pH, la distribución electrónica se modifica hasta llegar a la forma quinoidea azul.

Procesos de separación y cuantificación de antocianinas

El estudio en el empleo de extractos purificados con fines terapéuticos sigue siendo un campo muy estudiado debido a la necesidad de contar con procesos confiables de extracción y purificación; aunque para elucidar cual es el mecanismo de acción, validación y mejora en la actividad biológica, es necesario purificar y fraccionar los extractos en sus compuestos a fin de evaluar su actividad individual o en combinación. El reto del fraccionamiento implica desarrollar un proceso rentable, del que se obtenga una cantidad útil de la sustancia de interés con el grado de purificación requerido para su posterior aplicación. Las operaciones de purificación y fraccionamiento son la ruta crítica para aislar antocianinas y elucidar las entidades químicas que la conforman. Diversos estudios preliminares pueden emplear extractos crudos o prepurificados, incluso para propósitos alimenticios, sin embargo no son una alternativa cuando se desean emplear en la búsqueda de fármacos

La extracción con solventes es el método más común para la extracción de diversos componentes buscados en frutas, incluyendo flavonoides. Los componentes fenólicos de frutos son extraídos por molienda, secado o liofilización, o solo por estar empapado del fruto fresco con un solvente de extracción (Merken & Beecher, 2000). Las antocianinas son moléculas polares, así que es común

para la extracción la utilización de solventes en mezclas acuosas de etanol, metanol o acetona (Kahkonen et al., 2001).

PARTE EXPERIMENTAL

Los frutos de capulín se obtuvieron de forma fresca de la región de Michoacán. Los frutos seleccionados fueron lavados, seleccionados de acuerdo al estado de madurez, tamaño, color del fruto y de acuerdo al daño físico que pudieran presentar para después ser despulpados y almacenados en bolsas herméticas y almacenados por congelación a -20 °C hasta su uso.

Obtención del extracto

Los frutos seleccionados fueron puestos en contacto en una relación S/L de 10 g de pulpa en 90 mL en una solución de extracción de ácido clorhídrico (ECI), ácido fosfórico (EFf), una mezcla de ácido fosfórico-etanol (EFf/Et), etanol (EEt) y agua (EA), en un matraz de vidrio de 125 mL. Las soluciones de extracción fueron preparadas a una concentración de 0.05 M y colocadas en un baño ultrasónico SB-120DTN durante un lapso de 45 min a 40 KHz.

Contenido de antocianinas monómericas (CT_m)

El extracto obtenido fue cuantificado por concentración de antocianinas monómericas (CT_m) de acuerdo al método de pH diferencial descrito por Guisti & Wrolstad, 2001. El espectro visible de las muestras se registraron mediante el escaneo de la absorbancia entre 525 y 700 nm en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 35 utilizando agua destilada como blanco y celdas de cuarzo de 1 cm. El contenido de antocianinas monómericas fue calculado en cianidina-3-glucósido usando un coeficiente de extracción de 29,600 L cm⁻¹ mg₋₁ y un peso molecular de 488.8 g mol⁻¹.

Determinación de la capacidad antioxidante.

El extracto obtenido de cada ensayo fue cuantificado por actividad antioxidante por el método de DPPH respecto Brand-Williams *et al.*, 1995. Se realizó una curva tipo de trolox y se leyó a una absorbancia de 517 nm en un espectro Perkin Elmer Lambda 35 utilizando metanol como blanco.

RESULTADOS

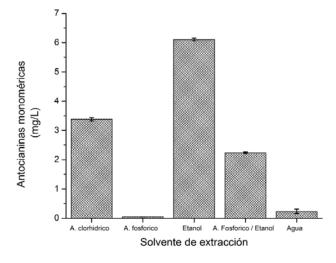


Figura 3. Relación entre la CA_m respecto al solvente de extracción

En la figura 1 se muestra la representación gráfica de los resultados obtenidos en la determinación de CA_m donde el E_{et} fue de 6.4 ± 0.04 mg de Cyd-3-glu L^{-1} , E_{CI} con un valor de 3.4 ± 0.06 mg de Cyd-3-glu L^{-1} y para el E_{Ff}/E_{Et} este fue de 2.2 ± 0.02 mg de Cyd-3-glu L^{-1} que representarían los valores más altos del experimento con respecto al contenido de antocianinas en E_A que fue de 0.2 ± 0.07 mg de Cyd-3-glu L^{-1} y E_{Ff} de 0.1 ± 0.04 mg de Cyd-3-glu L^{-1} donde el contenido es más bajo.

En la tabla 1 se muestra el porcentaje de actividad antioxidante en cada uno de los ensayos por lo que en el extracto etanólico presenta el mayor porcentaje con 22.98 % ± 0.72 en una relación de 0.229 mmol de Trolox por cada mL de extracto (mmol mL⁻¹) comprobando el hecho de que este solvente extrae la mayor cantidad de compuestos fenólicos con actividad antioxidante, sin embargo aunque a pesar de que el E_{Cl} representa uno de los extractos con un contenido elevado de CA_m el resultado respecto al %AA es bajo esto puede entenderse entonces de acuerdo a los ensayos realizados por Jiménez *et al.*, (2011) & Ordaz-Galindo *et al.*, (1999) donde el elevado contenido en azucares y antocianinas poliméricas que se encuentran presentes en el extracto disminuyen la actividad antioxidante por otro lado el ensayo de E_{Ff/Et} muestra un % de AA con 18.30 % ±0.04 pero una CA_m baja por lo que un aumento en la concentración S/L de capulín podría elevar esta CA_m. Es entonces que el extracto etanólico presenta la mayor CA_m y %AA respecto a los demás ensayos del cual es entonces el solvente más adecuado para realizar una extracción, el uso de este solvente es referenciado de acuerdo al ensayo de Jiménez *et al.*, (2011) donde realizaron un ensayo similar con diferentes solventes de extracción siendo el más adecuado el etanol para el fruto de capulín.

Tabla 9. Porcentaje de Solvente	centaje de actividad antioxidante e %AA		
A. clorhídrico	8.24 % ±0.85		
A. fosfórico	11.51 % ±0.12		
A. fosfórico / Etanol	18.30 % ±0.04		
Etanol	22.98 % ±0.72		
Agua	8.43 % ±0.64		

CONCLUSIONES

De los 5 ensayos realizados el extracto etanolico presenta la mayor concentración de antocianinas monomericas (CA_m) y la actividad antioxidante respecto a los demas ensayos, por lo que el extracto etanólico obtenido por la técnica de sonicación representaría una alternativa de optimización para la obtención de antocianinas de capulín en tiempos mas cortos de operación.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto SIP 20170153

BIBLIOGRAFÍA

- 1. A. Ordaz-Galindo, P. Wesche-Ebeling, R. E. Wrolstad, L. Rodriguez-Saona & A. Argaiz-Jamet, "Purification and identification of Capulin (*Prunus serotina Ehrh*) anthocyanins", Food Chemistry, 65, 1999, pp. 201-206.
- 2. B. Moldovan, D. Luminita, C. Chişbora & C. Cimpoiu, "Degradation Kinetics of Anthocyanins from *European Cranberry bush* Fruit Extracts. Effects of Temperature, pH and Storage Solvent". Molecules 17,2012, pp. 11655-11666.
- 3. C. Ibarra-Alvarado, A. Rojas, F. Luna, J.I. Rojas, B. Rivero-Cruz & J.F. Rivero-Cruz, "Vasorelaxant constituents of the leaves of Prunus serotina "capulín". Revista Latinoamericana de Química 37,2009, pp. 164-173.
- 4. E.M. Camire, A. Chaovanalikit, P.M. Dougherty & J. Briggs, "Blueberry and Grape Anthocyanins as Breakfast Cereal Colorants". J. Food Sci. 67(1),2002, pp. 438-441.

- 5. H.M. Merken & G.R. Beecher, "Measurement of flavonoids by high-performance liquid chromatography: A review", J. of Agric. and Food Chem. 48(3),2000, pp. 577-599.
- 6. J. M. Kong, L.S. Chia, N.K. Gho, T.F. Chia & R. Brouillard "Analysis and biological activities of anthocyanins", Phytochemistry. 69 (9), 2008, pp. 1939-40.
- 7. M. Jiménez, I. Castillo, E. Azuara & C.I. Beristaín, "Antioxidant and antimicrobial activity of capulín (*Prunus serótina subsp capulí*) extracts", Revista Mexicana de Ingeniería Química, Vol. 10, No. 1, 2011,pp. 29-37.
- 8. M.M. Guisti & R.E. Wrolstad, "Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems", Biochem. Eng. J. 14(3), 2003, pp. 217–225.
- M.M. Guisti & R.E. Wrolstad, "Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy". C. P. in food analytical chem. John Wiley & Sons. 2001, F1.2.1-F1.2.13.
- 10. M.P. Kahkonen. A.I. Hopia & M. Heinonen, "Berry phenolics and their antioxidant activity". J. of Agric. and Food Chem, 49(8),2001, pp. 4076-4082.
- 11. W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier & C. Berset. "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity", LWT Food Science and Technology, 28(1),1995,pp. 25-30

EL GAS METANO EN LA PRODUCCIÓN GANADERA Y LAS ALTERNATIVAS DE MITIGACION DE LOS GASES DE EFECTO INVERNADERO

Lucio Domínguez, R.; Sesento García L.; Bedolla Cedeño J. L. C.; Cruz Hernández A. R.; Velázquez Ordoñez, V; Sánchez Parra V.M.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Colegio Primitivo y Nacional de San Nicolás de Hidalgo Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. E-mail: <u>dr.rlucio@hotmail.com</u>

RESUMEN

La producción animal es una fuente importante de emisión de gases de efecto invernadero (GEI) en todo el mundo. Diferentes estudios han calculado que la contribución del ganado a las emisiones mundiales de los GEI antropogénico representan entre el 7 y el 18 por ciento de las emisiones totales. Los rumiantes son grandes contribuyentes al calentamiento global y deterioro de la capa de ozono, por la liberación de altas cantidades de gases a la atmósfera, entre ellos, el gas carbónico y el metano. El metano producido se genera principalmente por los procesos fermentativos del alimento que ingresa al rumen. El principal factor biótico del rumen en la producción de metano son las bacterias anaerobias metanógenas. Estas bacterias utilizan diferentes sustratos para la producción de metano, pero los principales son el H2 y el CO2. La eliminación de estos gases, principalmente del H2 implican la remoción de un factor implicado en la estabilidad del pH ruminal siendo este esencial para una óptima fermentación. Para evaluar la mitigación es fundamental el uso de unidades adecuadas. Por ejemplo, se observa que las emisiones de los GEI se deben indicar en base al consumo de energía digestible o por unidad de producto animal. Diversas evidencias muestran que la tasa de emisión de metano por fermentación ruminal, está relacionada con las características físico-químicas de la dieta, las cuales afectan el nivel de consumo y la frecuencia de alimentación. Por esto una subnutrición contribuye a incrementar las emisiones de metano. El objetivo de esta revisión es analizar los diferentes factores que intervienen en la producción de metano, alternativas de medición y opciones para mitigar el gas en los sistemas ganaderos.

Palabras clave: efecto invernadero, metano génesis, rumiante, mitigación, ganadera.

INTRODUCCIÓN

El metano (CH₄) es un producto final de la fermentación que sufren los alimentos en el rumen, que en términos de energía constituye una pérdida y en términos ambientales contribuye al calentamiento y al cambio climático global. La investigación en nutrición animal se ha enfocado en su mayor parte a encontrar métodos para reducir las emisiones de CH₄ debido a la ineficiencia energética que ocurre en el rumen, y no por el rol del CH₄ en el calentamiento global. Sin embargo, recientemente se ha prestado más atención a su contribución potencial al cambio climático.

El CH_4 pertenece al grupo de gases de efecto invernadero (GEI), en el que se encuentran también: bióxido de carbono (CO_2), óxido nitroso (N_2O), hidrofluorocarbonos (HFC), perfluorocarbonos, (PFC) y hexafluoruro de azufre (SF_6). Todos estos gases tienen moléculas con dos o más átomos que se mantienen unidos con suficiente espacio entre sí para poder vibrar cuando absorben calor; eventualmente la molécula que vibra libera radiación y ésta será posiblemente absorbida por otra molécula de 3EI. A este proceso de mantener calor cerca de la superficie de la tierra, se le conoce como efecto invernadero. Los GEI son liberados a la atmósfera tanto por fuentes naturales como

antropogénicas. La cantidad de GEI liberados mediante la actividad humana se ha incrementado de manera significativa en los últimos años, lo cual está propiciando la amplificación del efecto invernadero natural y el cambio cli mático global. La agricultura y la producción pecuaria contribuyen ampliamente a las emisiones antropogénicas de CH₄, CO₂ y N₂O a la atmosfera. Por estos motivos se están encaminando esfuerzos a reducir las emisiones y prevenir el calentamiento global, y proteger así el sistema climático natural del planeta, y se considera que los sistemas de producción animal sostenibles deben propender por una menor producción de CH₄.

La producción de CH₄ en los rumiantes está influenciada por factores como consumo de alimento, composición de la dieta, digestibilidad del alimento, procesamiento previo del alimento y frecuencia de alimentación. Entre las estrategias para mitigar las emisiones de CH₄ se ha propuesto: reducir el número de animales rumiantes, aumentar el número de animales no rumiantes, manipulación genética de los microorganismos ruminales metanogénicos, desarrollo de razas menos metanogénicas y manipulación dietética-nutricional; esta última parece ser la de mayor potencial en términos de simplicidad y factibilidad. La manipulación nutricional para suprimir la metanogénesis incluye uso de forrajes de alta calidad, alta proporción de granos en la dieta, uso de aditivos (compuestos químicos, ácidos orgánicos, ionóforos, probióticos), dietas ricas en ácidos grasos insaturados, adición de acetógenos, de bacteriocinasas, de virus vs Archaea, y de extractos vegetales (aceites esenciales), modificación de las prácticas de alimentación y suplementación a dietas basadas en pajas. Estas prácticas de alimentación reducen las emisiones de CH4 por la modificación de la fermentación ruminal, inhibiendo directamente los metanogénicos y protozoarios, o desviando los iones hidrógeno de los metanogénicos. El objetivo de esta revisión es compilar y difundir información sobre la emisión de CH₄ por los rumiantes, sus posibles efectos en el calentamiento y en el cambio climático global, así como las alternativas existentes para su mitigación.

DESARROLLO

Metodologías empleadas para la medición de metano

A fin de desarrollar estrategias para mitigar las emisiones de CH₄ por el ganado, debe ser posible cuantificarlas en una amplia gama de circunstancias. Las técnicas analíticas para la determinación del CH₄ comprenden: espectroscopia infrarroja, cromatografía de gases, espectroscopia de masa y técnicas de iodo laser. Existen también monitores automatizados para la detección de varios gases, entre estos el CH₄. En experimentos para medir las emisiones gaseosas de los rumiantes se han utilizado algunas de las siguientes metodologías e instalaciones:

Calorimetría (cámaras abiertas, cerradas o cámaras de respiración). La producción de CH₄ ha sido medida en circuitos cerrados desde hace poco más de cuatro décadas. También se han construido cámaras hasta cierto punto rústicas para pequeños rumiantes utilizando materiales e instrumentos de uso común, en las que fue posible identificar diferencias en la producción de CH₄ debidas a la dieta. Actualmente la mayor instalación experimental en el hemisferio Sur para la medición de emisión de gases por rumiantes se encuentra en las instalaciones de calorimetría animal del AG Grasslands Research Center, localizado en Palmerston North, Nueva Zelanda. Otra ventaja de la calorimetría, es que provee información de la variabilidad de las emisiones durante el día por animal y entre animales.

Uso de gases trazadores. Esta técnica se fundamenta en la liberación de una cantidad conocida del gas trazador contenido en un tubo pre calibrado permeable colocado en el rumen, y la medición subsecuente de la relación de este gas en muestras representativas de aire expirado por los animales en prueba. Los gases trazadores más comúnmente empleados son: hexafluoruro de azufre (SF₆, por sus siglas en inglés). Esta técnica se desarrolló como una alternativa al uso de isótopos. Se coloca una cabezada que sostiene un capilar sobre el morro, a través del cual se colecta muestra de aire expirado y éste es almacenado en un tubo al vacío colocado alrededor del cuello del animal. Posterior a la colección de aire expirado, el tubo se presuriza con nitrógeno y se

determinan las concentraciones de SF_6 y CH_4 por cromatografía. Debe conocerse la tasa de liberación del gas antes de su inserción en el rumen. Debido a la posibilidad de que la tasa de liberación del contenedor permeable afectase la proporción de $CH_4:SF_6$ en las muestras de aire expirado, se evaluó dicho factor, encontrando que el radio de las concentraciones molares difirió significativamente (P<0.05), 0.651 vs 1.197, cuando la tasa de liberación es baja ($10~\mu l~h^{-1}$) o alta ($20~\mu l~h^{-1}$), respectivamente. La producción media de CH_4 calculada con la tasa alta de liberación de SF_6 fue 8.5 % mayor que la calculada con la tasa baja de liberación (12.9~vs $11.9~L~h^{-1}$, respectivamente), aunque esta diferencia ya no fue estadísticamente significativa. A pesar de lo anterior, esta técnica tiene la ventaja de que puede usarse en condiciones normales de pastoreo y se puede obtener información individual de los animales, lo cual permite efectuar diversos tipos de comparaciones; es una buena herramienta para países cuyas emisiones de CH_4 deriven principalmente de ganado en pastoreo, ya que se pueden obtener estimados precisos de las emisiones y desarrollar así opciones apropiadas de mitigación. Sin embargo, las técnicas con gases trazadores están asociadas a mayor variación que las técnicas calorimétricas estandarizadas.

Oxido nitroso (N_2O). El N_2O se usa como trazador, el cual es liberado a una tasa conocida (aproximadamente 10 g h⁻¹ de cada contenedor). La tasa de emisión de CH_4 de los animales se determina a partir de la relación de la concentración CH_4 :NO2 y la tasa conocida de liberación del NO_2 . Esta metodología es capaz de cuantificar simultáneamente ambos gases en la corriente de aire. Se han hecho ensayos con vacas Holstein en lactancia monitoreándolas continuamente (excepto a la hora del ordeño) durante cuatro días en pequeñas áreas de pastoreo cercadas, realizando al mismo tiempo el monitoreo con SF_6 , habiendo obtenido excelente concordancia entre ambas técnicas.

Colecta directa. En Argentina se ha ensayado una técnica para colectar el gas producido en el rumen, mediante una fístula de 2 cm de diámetro, a través de la cual fluye el gas a un contenedor de nylon, tipo globo fijado al lomo, en este caso de una vaca Holstein de 550 Kg. Una vez colectado el gas por periodos de 24 h se determina su concentración de CH_4 en intervalos de 6 h. La producción diaria de gas fue en promedio de 911.7 L y la concentración de CH_4 varió de 20 a 32 % y representó en promedio 247 L $d^{-1(40)}$.

Método micrometeorológico. Estas técnicas son costosas, ya que requieren de una mayor cantidad de equipo para medir la difusividad vertical y horizontal de los gases. Se ha descrito una técnica nueva a cielo abierto denominada espectroscopía infrarroja transformada Fourier (FTIR, por sus siglas en ingles), la cual consiste en que cada animal en el hato lleva un pequeño contenedor con N2O, fijado en un collar, lo cual implica el uso de un método trazador.

Independientemente del método empleado, se ha observado que existe variación diaria de la emisión de CH_4 en un mismo animal y entre animales, aun cuando el tipo de alimento y el nivel de consumo son uniformes durante largos periodos. Sin embargo la magnitud de tales variaciones (intra e interanimal), expresado como coeficiente de variación es \pm 8% de la cantidad de CH_4 producido.

Los cambios en el clima de la Tierra a través del tiempo fueron y son producidos por diversos procesos naturales que afectan al sistema climático o a alguno de sus componentes. Para concluir que la tendencia al calentamiento global se debe a la actividad humana. ha debido mensurar el efecto de estos Las emisiones de gases de efecto invernadero resultantes de ciertas actividades humanas han sido la principal causa del inusual calentamiento del planeta durante los últimos 150 años; este proceso que continúa es conocido como Cambio Climático. En realidad, se trata de un calentamiento global del planeta que implica también un importante cambio climático no sólo en temperatura sino en las otras variables climáticas como la precipitación, los vientos y la humedad.

Las actividades ganaderas contribuyen a la emisión de gases de efecto invernadero fundamentalmente a través de dos procesos: la emisión de metano por la fermentación entérica, principalmente en rumiantes, y el tratamiento anaeróbico de las excretas ganaderas. últimas también de Estas son fuente óxido nitroso. Por otra parte, es importante destacar que el calentamiento global tendrá consecuencias directas sobre los sistemas de producción ganadera. El aumento de la temperatura podría afectar la cantidad y calidad de los forrajes destinados a consumo animal. En el caso de los sistemas de producción lechera, el aumento de la temperatura y la declinación en la calidad del forraje podrían disminuir los niveles de producción de leche.

EL EFECTO INVERNADERO

La superficie y la atmósfera de la Tierra se mantienen calientes gracias a la energía del Sol. De esta energía, un poco más de la mitad es energía infrarroja (IR, 750-3000 nm), y la mayor parte del resto es luz visible (400-750 nm). La mayor parte de la luz ultravioleta, que es la de mayor energía (< 400 nm) procedente del sol se filtra en la estratosfera. Del total de la luz que entra y que cubre todas las longitudes de onda incidentes en la Tierra, cerca de un 50% alcanza la superficie terrestre y es absorbida por ella. Un 20% de luz es absorbida por gases y por las gotas de agua en el aire; la luz restante, un 30% se refleja en las nubes, hielo, nieve, arena y otros cuerpos reflejantes, sin ser absorbida y regresa al espacio. Por otra parte, la Tierra emite energía, fundamentalmente radiación en la zona del IR térmico.

Algunos gases en el aire pueden, de forma temporal, absorber luz IR térmica de longitudes de onda específicas, de tal manera que no toda la luz IR emitida por la superficie de la Tierra y la atmósfera escapa directamente al espacio. Después de su absorción por moléculas atmosféricas, como el CO2, esta luz IR es redirigida de regreso hacia la superficie de la Tierra, y es reabsorbida, calentando la superficie y el aire. Este fenómeno, la redirección del IR térmico, se denomina efecto invernadero, el cual es el responsable de que la temperatura media en la superficie de la Tierra sea de +15º en lugar de alrededor de -15º, que es la que correspondería de no existir los gases atmosféricos que absorben IR. La atmósfera opera de la misma manera que una manta: retiene en la región inmediata parte del calor liberado por el cuerpo y, de este modo, aumenta la temperatura local. Los principales constituyentes de la atmósfera, N2, O2, no son capaces de absorber luz infrarroja. Los gases atmosféricos de mayor incidencia en el efecto invernadero son el vapor de agua y el dióxido de carbono. Las emisiones de CO2 a partir de la revolución industrial han tenido un gran crecimiento.

Existen otros gases presentes en la atmósfera, producto de las actividades humanas que pueden absorber radiación infrarroja. Después del CO2 y el agua, el metano (CH4) y el óxido nitroso (N2O) son los siguientes gases invernadero en importancia. La contribución del CO2 al calentamiento global asciende al 49%, mientras que en el caso del CH4 y N2O, contribuyen en el 15-20 y 6 % respectivamente.

Si consideramos que el potencial de calentamiento global del CO2 es 1, el del CH4 es 21, mientras que el N2O es 310. El metano se produce biológicamente por descomposición anaeróbica de materia orgánica. Los animales rumiantes (vacas,ovejas y ciertos animales salvajes) producen en sus estómagos grandes cantidades de metano como subproducto, cuando ingieren celulosa en su comida, que eructan, después, hacia el aire.

El óxido nitroso es un subproducto tanto en los procesos de nitrificación como de desnitrificación biológica. El aumento en la utilización de fertilizantes para aplicaciones agrícolas es la explicación más probable de la mayoría de las emisiones antropogénicas de óxido

nitroso.

Cada molécula de metano que alcanza la atmósfera tiene un promedio de permanencia de

10 años. Anualmente, 400-600 Tg se inyectan en la atmósfera.

La cantidad total de metano en la atmósfera en relación con el CO2 es de 1/200, sin embargo, su mayor tiempo de vida media en la atmósfera y las propiedades de alta captación de radiaciones infrarrojas le adjudican como contribución neta a la sexta parte del total del efecto invernadero (Mosier and Schimel, 1991). En el caso del óxido nitroso, aunque en la atmósfera se encuentra en muy bajas concentraciones, alrededor de 310 ppb (v/v), su tiempo de permanencia es de 150 años y su potencial de calentamiento global es muy superior. La superficie destinada a las actividades agropecuarias juega un importante rol en el intercambio biosferaatmósfera de los gases de efecto invernadero.

Los procesos más relevantes relacionados a este intercambio son de naturaleza biológica y física. Las actividades agropecuarias son responsables de la producción de 1/5 del total de los gases de efecto invernadero, sin embargo sólo producen un 5% del total de CO2 emitido a través de actividades antrópicas, excluyendo aquellas relacionadas con la conservación forestal (Watson et al., 1999).

Emisión de metano por fermentación entérica en rumiantes

El metano es un producto normal de los procesos digestivos de los animales. Durante la digestión, la flora bacteriana residente en el sistema digestivo fermenta el alimento consumido por el animal. Estos procesos de fermentación microbiana, denominados fermentación entérica, producen metano como producto de eliminación, que es exhalado o eructado por el animal. La cantidad de metano producida y excretada por un animal depende principalmente de las características del sistema digestivo del animal y la cantidad y calidad del alimento consumido. Los rumiantes son los mayores emisores de metano debido a las características distintivas de su sistema digestivo. El rumen es una porción sacular del en el cual se degrada el alimento por procesos de fermentación bacteriana a formas químicas más simples que pueden ser absorbidas y metabolizadas por el animal. Estos procesos fermentativos permiten a los rumiantes obtener energía a partir de la fibra vegetal, a diferencia de los animales monogástricos y, a su vez, son responsables de las altas emisiones de metano producidas por los rumiantes. En el caso de los animales monogástricos, el metano se produce también en procesos fermentativos, pero en concentraciones no significativas.

La calidad y cantidad del alimento también afectan la emisión de metano. Los rumiantes en sistemas extensivos de producción son generalmente ineficientes en la conversión de la biomasa vegetal en proteína animal. En general, una alta tasa de consumo o un alimento grosero de baja calidad aumentan la emisión de metano. El consumo de alimento está positivamente relacionado con el tamaño del animal, la tasa de crecimiento y el nivel de producción. El contenido de materia seca y las características del forraje consumido por los rumiantes pueden influir en la producción de metano en los procesos fermentativos.

Las leguminosas, en general, debido a la composición química de los carbohidratos de la pared celular y del contenido de carbohidratos fácilmente fermentables, afectan la emisión del metano y la inclusión de estas especies en la dieta de bovinos es una estrategia práctica de disminución de la emisión de este gas (Hindrichsen et al., 2005). Las mejoras productivas de los sistemas pastoriles se basan en el aumento de la carga animal y las mejoras en la calidad del forraje suministrado. Los gases exhalados por los rumiantes proceden de la respiración y la eructación. La frecuencia de estos eventos es de alrededor de 20 y 0,7 por minuto respectivamente (Ulyatt et al., 1999). Los gases eliminados por procesos de eructación son principalmente CO2 y CH4. En contraste al metano, cuyo origen son los procesos de fermentación que acontecen en el sector gástrico

anterior, la mayoría de las emisiones de CO2 son producto del metabolismo animal (respiración). Los rumiantes producen diariamente 0,25-0,5 m3 de metano por animal (Johnson y Johnson, 1995). En algunos países europeos (Alemania y Holanda), se estimó que alrededor del 45 % del total de metano emitido, es procedente de los sistemas de producción animal, mientras que en el caso de Estados Unidos, el metano producido por los sistemas pecuarios representa un 6-10 % del total anual de emisiones de ese gas.

Las pérdidas energéticas en la producción de metano por los rumiantes significan entre un 2 y un 12 % de la energía bruta incorporada en su alimento. El IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) estima una pérdida de CH4 del 6 % de la energía bruta ingerida para ganado en pastoreo y del 3,5 % para ganado en confinamiento. La energía metabolizable en la dieta de los rumiantes se determina como la diferencia entre la energía bruta ingerida y las pérdidas energéticas en heces, orina y metano. En sistemas extensivos, sin otras fuentes de suplementación alimentaria, la carga animal, por sobre cualquier otro factor, determina la eficiencia de utilización del forraje, la performance animal individual y la producción por hectárea, así como las propiedades de los horizontes superficiales del suelo y la emisión de gases de efecto invernadero.

La carga animal, que contempla el número de animales por unidad de superficie, es una simplificación de la relación de oferta y demanda de forraje, y constituye la herramienta de manejo más simple de los sistemas pastoriles (Animut et al., 2005). Emisión de gases de efecto invernadero por efluentes de sistemas pecuarios.

El manejo de las excretas de los sistemas ganaderos de engorde en confinamiento y de producción lechera puede producir emisiones de CH4 y N2O. El metano se produce en la descomposición anaeróbica de las excretas. El óxido nitroso se produce dentro del ciclo del nitrógeno a través de reacciones de nitrificación y desnitrificación del nitrógeno orgánico contenido en orina y heces del ganado. Cuando las excretas procedentes de sistemas pecuarios son almacenadas o tratadas en sistemas que promueven las condiciones anaeróbicas, la descomposición de la materia orgánica produce metano. Cuando se manejan excretas sólidas para su compostaje o se utilizan como fertilizantes orgánicos se desarrollan procesos de descomposición aeróbica con muy baja producción de metano. Varios factores pueden influir en la producción de metano durante los procesos de manejo de excretas. La temperatura ambiente, la humedad, la forma y tiempo de almacenamiento de las excretas afectan la cantidad de metano producido ya que influyen sobre el crecimiento de bacterias metanogénicas. Por ejemplo, la producción de metano generalmente se incrementa al aumentar la temperatura, la humedad y el tiempo de almacenamiento de las excretas.

Los sistemas intensivos de engorde bovino en confinamiento manejan efluentes sólidos con baja producción de metano en general, en cambio, en el caso de los sistemas de producción lechera y los de engorde porcino en confinamiento, los efluentes producidos son principalmente líquidos debido a las operaciones de lavado de la sala y la máquina de ordeñe y de las pistas de engorde respectivamente. Las características de manejo de estos efluentes líquidos favorecen la proliferación de las bacterias productoras de metano. La composición química del alimento ingerido y consecuentemente de las excretas condicionan la producción de metano. En general, con una dieta rica en granos, altamente energética, se producen excretas con alta capacidad de producir metano a través de procesos de fermentación anaeróbica. En cambio, con una dieta rica en fibra como son los forrajes utilizados en sistemas pastoriles, la capacidad de las excretas de emitir metano puede disminuir hasta en un 50 %. Cabe destacar, que las dietas altamente energéticas tienen una elevada digestibilidad, con un consecuente menor volumen de excretas eliminado por el animal.

Una pequeña porción del nitrógeno total eliminado en excretas es convertido a N2O durante

el tratamiento de los efluentes de los sistemas pecuarios. La cantidad producida depende del contenido de nitrógeno en heces y orina, del tipo de bacteria involucrada en los procesos de descomposición de las excretas, de la concentración de oxígeno del medio y del contenido de humedad.

La situación en nuestro país

En la emisión de gases de efecto invernadero, la ganadería es el sector más comprometido, después del energético, aportando el 35% de las emisiones totales del país (Berra y Finster, 2002). El metano constituye el 60 % de estas emisiones, siendo el 40% restante el N2O. En cuanto al origen, el metano procede en un 98% de fermentación entérica y sólo un 2% de tratamiento del estiércol. En relación con el N2O, el pastoreo contribuye en 99,5%. La deposición de heces y orina de animales en condiciones de pastoreo es una vía de incorporación directa de nitrógeno al suelo.

Si tenemos en cuenta la producción de metano en relación al ganado, es el bovino el que produce el 94%. La emisión de metano y óxido nitroso se ha mantenido constante en los últimos quince años, lo que es consistente con que en el mismo período no ha variado significativamente el número de cabezas de ganado bovino.

De los aproximadamente 50 millones de cabezas de ganado bovino, la región pampeana posee el 76 %; seguida de la región noreste (17,5 %); la región noroeste (3,5%); la Patagonia (1,9 %) y Cuyo (1,1 %).

Dentro del ganado bovino, las vacas para producción de leche son las que producen mayor proporción de metano por fermentación entérica. Los terneros confinados en sistemas intensivos de engorde son los menores productores (aproximadamente un 30% en comparación a las primeras). No obstante, debido a que las vacas lecheras son minoritarias en relación con las vacas no lecheras, son estas últimas las responsables del 89 % de la emisión de metano. Los otros rumiantes (ovejas, cabras) contribuyen con un 4 %. Cabe destacar que en los últimos años, la producción de soja en Argentina ha tenido una evolución sin precedentes con un crecimiento sostenido de la superficie cultivada. Sin embargo, en este período, la ganadería bovina mantuvo su stock de cabezas.

La marginalización de la ganadería hacia tierras con menor aptitud productiva se produjo principalmente en la región noroeste. Los procesos de intensificación con la implementación de sistemas de engorde a corral se desarrollaron principalmente en la región Pampeana, donde se observó una disminución de la superficie implantada con praderas consociadas destinadas al engorde bovino extensivo.

CONCLUSIONES

La utilización de pasturas naturales de baja calidad favorecería una mayor pérdida energética, con un aumento en la producción de metano a través de los procesos de fermentación que se produzcan en el rumen para la degradación de un forraje voluminoso de mala calidad.

La alimentación con concentrados energéticos tiene como objetivo una elevada ganancia de peso diaria, con una alta eficiencia de conversión. La alta digestibilidad del alimento consumido por el animal en este tipo de sistemas disminuye la producción de metano en el rumen.

Las excretas sólidas y líquidas representan un 5 a 6 % del peso vivo/día, de manera que por cada animal se eliminan aproximadamente 27 kg de residuos orgánicos por día. Sólo 3 kg del total serán residuos sólidos depositados por el animal en la superficie del corral. La relación carga animal/superficie, el volumen de excretas eliminadas por animal, el número total de animales en engorde y los días de permanencia de los mismos en engorde producen una elevada acumulación de excretas con capacidad de emitir metano y otros gases de efecto invernadero a través de procesos fermentativos.

La contribución de la ganadería a la emisión de gases de efecto invernadero puede moderarse a través de herramientas simples tales como el mejoramiento de la calidad nutricional y el manejo adecuado de la carga animal. Por otra parte, el cambio climático también afecta la productividad de los sistemas ganaderos. Por lo tanto, la divulgación de estos conocimientos a los productores ganaderos y a la sociedad civil en su conjunto, es una vía segura de atemperar los efectos del cambio climático.

BIBLIOGRAFÍA

- 1-. Animut, G., Goetsch, A.L., Aiken, G.E., Puchala, R., Detweiler, G., Krehbiel, C.R., Merkel, R.C.,
- 2-.Sahlu, T., Dawson, L.J., Johnson, Z.B. y Gipson, T.A. (2005): "Grazing behaviour and energy expenditure by sheep and goats co-grazing grass/forb pastures at three stocking rates". Small Ruminant Res. 59, 191–201.
- 3-.Berra, G. y Finster, L. (2002): "Emisión de gases de efecto invernadero". IDIA XXI-INTA, 2, 212-215.
- 4-.Johnson, K.A.y Johnson D.E.(1995): "Methane emissions from cattle". J. Anim. Sci. 73, 2483–2492.
- 5-.IPCC, Intergovernmental Panel on Climate Change (1996): "Revised IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories", Workbook, vol. 2, Module 4, Agriculture.
- Hindrichsen, I.K.; Wettstein, H.R.; Machmüller, A.; Jörg, B. y Kreuzer, M.(2005): "Effect of the carbohydrate composition of feed concentrates on methane emission from and their slurry". Environ. Monit. Assess. 107, 329–350.
- 6-. Mosier, A., Schimel, D., (1991): "Influence of agricultural nitrogen on atmospheric methane and nitrous oxide". Chem. Ind. 2, 874–877.
- 7-.Ulyatt, M.J.; Baker, S.K.; McCrabb, G.J., y Lassey, K.R. (1999): "Accuracy of SF6 tracer technology and alternatives for field measurements". Aust. J.Agric. Res. 50, 1329–1334.
- Watson, R.T.; Zinyowera, M.C. y Moss, R.H. (1996): "Agriculture sector". In: Technologies, Polices and Measures for Mitigating Climate Change. IPCC, pp. 49–53 (Chapter 6).

EFECTO DE THINNER SOBRE LA LOMBRIZ DE TIERRA ROJA CALIFORNIANA

Marina Olivia Franco Hernandéz, Carlos Andrés Rengifo Guerrero, María Soledad Vásquez Murrieta

Instituto Politécnico Nacional – Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (UPIBI) Instuto Politécnico Nacional – Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB)

RESUMEN

El thinner es una sustancia utilizada comúnmente como disolvente y adelgazante de pinturas, y dentro de su composición se encuentran sustancias tales como Benceno y Tolueno que son cancerígenos. La disposición final es inadecuada. Por esta razón, se ha trabajado en la búsqueda de alternativas que permitan la descontaminación de ambientes afectados por este tipo de sustancias y entre ellas se ha propuesto la biorremediación a través del vermicomposteo. En este trabajo se evaluó el efecto que tiene el thinner sobre la lombriz de tierra roja californiana (Eisenia foetida) y se determinó cuál es su concentración letal media (CL50), con el fin de establecer el potencial de uso de esta técnica para la descontaminación de suelos contaminados con thinner. Los resultados mostraron que el thinner provocó adelgazamiento, decoloración y fraccionamiento en los tejidos de algunas de las lombrices de tierra. Así mismo, la concentración letal media de thinner en suelo correspondió a 12.46 ml de thinner por kg de suelo (bs), lo que equivale a una concentración de 3273 mg Tolueno/kg suelo (bs) y 17 mg Benceno/kg suelo (bs). Estas concentraciones se encuentran incluso hasta 100 veces por encima de los valores permitidos de estas sustancias en suelo, determinados por la legislación mexicana y otros países como Holanda y Brasil, lo cual indica que la técnica de vermicomposteo representa un potencial como alternativa para la descontaminación de suelos contaminados con thinner u otro tipo de sustancias que contengan este tipo de compuestos.

INTRODUCCIÓN

El diluyente de pintura conocido como thinner es un derivado del petróleo que comúnmente se emplea en la fabricación de pinturas y textiles. Se ha reportado que dentro de sus componentes principales se pueden encontrar sustancias como tolueno y benceno, además de otros compuestos como hexano y algunos alcoholes (Baydas et al. 2005). En la literatura científica se han reportado casos de intoxicación y muerte de personas por la ingestión y exposición en ambientes contaminados por estas sustancias, lo que se relaciona con una inapropiada utilización y una inadecuada disposición final.

Teniendo en consideración las implicaciones que trae consigo la contaminación y exposición a estos componentes tanto para la salud humana y el medio ambiente, los esfuerzos en investigación se han centrado en encontrar alternativas y desarrollar técnicas que permitan un adecuado tratamiento de los residuos que causan estos problemas.

El vermicomposteo es una técnica de biorremediación que emplea lombrices de tierra las cuales descomponen la materia orgánica del suelo, ayudando a estimular e incrementar la actividad de la flora microbiana presente (Chen et al. 2016). Esta técnica ha sido estudiada como alternativa para el tratamiento de residuos y ambientes contaminados con residuos orgánicos. Se han reportado investigaciones para el tratamiento de suelos contaminados con herbicidas (Tejada et al. 2016) y petróleo crudo (Ekperusi & Aigbodion, 2015). Osman (2014), indica que las lombrices de tierra tienen la capacidad de bioacumular componentes orgánicos en sus tejidos, favoreciendo la descontaminación de los suelos.

Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto que tiene el thinner sobre la lombriz de tierra roja californiana (*Eisenia foetida*) y determinar su concentración letal media (CL50), con el fin de establecer el potencial de uso de esta técnica para la descontaminación de suelos contaminados con thinner.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizó thinner bajo la marca comercial COMEX ® y se caracterizó a través de cromatografía de gases (Perkin elmer, USA) empleando un detector de ionización de llama (FID). Asi mismo, se

utilizó lombriz de tierra roja californiana (Eisenia foetida), obtenida de un lombricultivo ubicado en el invernadero de la Unidad Interdisciplinaria de Biotecnología - UPIBI. Se utilizaron lombrices en estado adulto, sexualmente maduras y con el clitelio desarrollado (Espinoza-Navarro et al. 2013). Para determinar la concentración letal media (CL50), se llevó a cabo un experimento de acuerdo a lo establecido por An & Lee (2008). Se tomaron 200g de vermicomposta previamente tamizada proveniente de la pila de compostaje del invernadero y se depositaron en un recipiente plástico de 1000 ml. Así mismo, se adicionaron 5g de residuo de zanahoria como fuente de alimento para la lombriz, y 5g de pasto seco para facilitar el proceso de aireación. Posteriormente se agregó agua para ajustar el porcentaje de humedad al 60%. En cada recipiente, se pesaron y agregaron 11 lombrices adultas (300 ± 50 mg; 3 ± 0.5 cm) obtenidas de la misma pila de compostaje. Cada recipiente se cubrió con un trozo de malla mosquitera (<2mm) y se dejó en reposo por un periodo de 24 horas con el fin de que las lombrices se adaptarán a las nuevas condiciones. Pasado este tiempo, a cada recipiente se agregaron entre 0 y 2 ml de thinner (incremento de 0.2 ml respectivamente), se cubrieron nuevamente y se dejaron en el invernadero. El muestreo se llevó a cabo a las 24 horas, en el cual se monitoreo el estado de las lombrices (respuesta al estímulo, color, individuos muertos).

Con los datos obtenidos, se elaboró la curva dosis – respuesta de las diferentes concentraciones y se calculó el valor de la concentración letal (CL 50) a las 24 y 48 horas, a través del método de unidades probabilísticas Probit (Fernández Linares et al. 2006).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en los cromatogramas mostraron que el thinner tiene en su composición sustancias tales como Tolueno, Benceno, Metanol, mezcla de hexanos, y 2- Butoxietanol, siendo el Metanol y el Tolueno los componentes que se encuentran en mayor concentración. Sustancias como el 2 – Butoxietanol han sido previamente estudiadas Starek et al. (2008) y se ha reportado como causante de efectos hematológicos en ratas de laboratorio.

Compuesto	Concentración (mg/ml)	CL 50 24h (mg/kg suelo b.s.)	
Metanol	305	3790	
Tolueno	263	3273	
2 – Butoxietanol	48	599	
Hexanos	70	872	
Benceno	1.40	17	
	I		

Se encontró que la exposición de la lombriz de tierra *Eisenia foetida* al thinner provocó efectos tóxicos y nocivos y resultó letal para estos organismos. Se observaron cambios y anormalidades morfológicas en las lombrices, los cuales se pueden apreciar en la figura 1. Entre los individuos muertos, se encontraron efectos morfológicos tales como adelgazamiento, fraccionamiento, desintegración y generación de una película mucosa sobre la superficie de las lombrices. Efectos similares fueron reportados por An & Lee (2008) utilizando Tolueno y MTBE. Así mismo, se encontró que los niveles de daño no dependen de la concentración de thinner utilizado, ya que los cambios morfológicos se observaron por igual en todos los volúmenes utilizados.

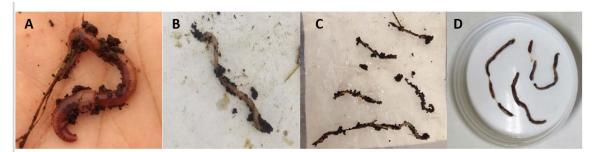


Figura 1. Efectos de la exposición al thinner sobre la morfología de lombriz de tierra *Eisenia foetida* (A: Normal; B: Decoloración; C: Adelgazamiento; D: Fraccionamiento).

Los resultados para el cálculo de CL50 a las 24 horas mostraron que un volumen de 12.46 ml de thinner por kilogramo de suelo seco provocó la mortalidad del 50% de la población de individuos estudiados. Según la composición del thinner utilizado, se encontraron sustancias tales como tolueno, benceno, metanol, hexanos y 2-butoxietanol, siendo el tolueno uno de los componentes mayoritarios, por lo cual es muy probable que los resultados encontrados se deban al efecto tóxico de esta sustancia. Los valores de CL50 encontrados para Tolueno y Benceno son superiores a la concentración máxima permitida por leyes mexicanas (40 y 6 mg/kg suelo (b.s)) y en otros países tales como Holanda (13.0 y 0.11 mg/kg suelo (b.s)) y Brasil (0.14 y 0.03 mg/kg suelo (b.s)) respectivamente.

CONCLUSIONES

El thinner provocó efectos morfológicos tales como decoloración, fraccionamiento y adelgazamiento sobre la lombriz de tierra *Eisenia foetida*, sin embargo estos resultados mostraron que la utilización de una técnica de vermicomposteo representa un potencial como alternativa para la descontaminación de suelos contaminados con thinner u otro tipo de sustancias que contengan este tipo de compuestos, ya que puede ser utilizada en ambientes contaminados con concentraciones hasta 100 veces más altas con respecto a lo estipulado por normas ambientales.

BIBLIOGRAFÍA

- G. Baydas, F. Ozveren, M. Tuzcu, A. Yazar. "Effects of thinner exposure on the expression pattern of neural cell adhesion molecules, level of lipid peroxidation in the brain and cognitive function in rats". European Journal of Pharmacology, Vol. 512, 2-3, 2005, pp.181– 187.
- 2. Z. Chen, S. Hu, C, Hu, L. Huang, H. Liu, J. Vymazal. "Preliminary investigation on the effect of earthworm and vegetation for sludge treatment in sludge treatment reed beds system". Environ Sci Pollut Res., Vol. 23, 12, 2016, pp. 11957 11963.
- 3. M. Tejada, I. Gomez, L. Franco Andreu, C. Benitez. "Role of different earthworms in a soil polluted with oxyfluorfen herbicide. Short-time response on soil biochemical properties". Ecological Engineering, Vol. 86, 2016, pp.39–44.
- 4. O.A. Ekperusi, F.I. Aigbodion. "Bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons in diesel contaminated soil with earthworm: Eudrilus eugeniae". Biotech, Vol. 4, 1, 2015, pp.540 553.
- 5. K.T. Osman. "Soil degradation, conservation and remediation. In Soil Degradation, Conservation and Remediation". Springer Science, 2014. pp. 149 226.
- 6. Y.J. An, W.M. Lee. "Comparative and combined toxicities of toluene and methyl tert-butyl ether to an Asian earthworm Perionyx excavates". Chemosphere, Vol. 71, 3, 2008 pp. 407–411.
- 7. O. Espinoza Navarro, C. Ferreira, E. Bustos-Obregón. "Effect of Methamidophos on the Morphology and Male Reproductive Parameters of the Earthworm *Eisenia foetida*". Int. J. Morphol., Vol, 31, 3, 2013, pp.1097–1103.
- 8. L.C. Fernández, N. G. Rojas, T. G. Roldán, M. E. Ramirez, H. G. Zegarra, R. U. Hernández, R. J. Reyes, D. Flores, J. M. Arce. "Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados" Instituto Mexicano del Pétroleo, Ciudad de México, 2006.

9. A. Starek, W. Szymczak, L. Zapor. "Hematological effects of four ethylene glycol monoalkyl ethers in short-term repeated exposure in rats". Archives of Toxicology, Vol. 82, 2, 2008, pp.125–136.

EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A TRAVÉS DE LA CODIGESTIÓN ANAEROBIA DE ESTIÉRCOL Y AGUAS RESIDUALES LÁCTEAS PROVENIENTES DE UNA INDUSTRIA

Arodí Bernal Martínez, Gabriela Morales Salinas, Sofía Ilene Martínez Taylor, Germán Cuevas Rodríguez, Sergio Antonio Silva Muñoz³

Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato, División de Ingenierías. Departamento de Ingeniería Civil.

RESUMEN

El tratamiento biológico de aguas residuales lácteas es una opción económica y viable, sin embargo este tipo de aguas tiende a volverse ácida rápidamente a causa de la fermentación del azúcar de la leche produciendo ácido láctico, descendiendo el pH a 4.5-5¹ lo cual puede ser un problema para el desarrollo óptimo en un digestor. La codigestión es el tratamiento anaerobio, donde un conjunto de residuos orgánicos de diferente origen y composición, mejora el balance de nutrientes y características fisicoquímicas del sustrato, y por lo tanto, ayuda a una mejor estabilización del digestor y así mismo a una mayor producción de biogás². El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de producción de biogás a través de la codigestión anaerobia de aguas residuales lácteas y lodos residuales provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales. Para dicho trabajo se obtuvieron porcentajes de eliminación del 85% para DQO y 93% para AGVs, con una producción de biogás del 3.6 L/día y con una índices de germinación del 64.8%, concluyendo que la codigestión empleada es una alternativa para la recuperación y reutilización de aguas residuales, así como la generación de biogás y biosólidos.

INTRODUCCIÓN

La agroindustria quesera (AIQ) mexicana se enfoca a la producción de quesos frescos, siendo las empresas queseras más importantes en México, aquellas que se ubican en el norte y en los estados de Jalisco y Guanajuato, alrededor del 40% de estas empresas cuentan con procesos artesanales³.

El suero lácteo por sí solo, es el efluente resultante de la fabricación de queso que se origina después de separar la leche, la caseína y las grasas mediante coagulación. El suero constituye aproximadamente el 90% del volumen de la leche y contiene la mayor parte de sus componentes solubles en agua (retiene aproximadamente el 55% de los nutrientes de la leche), por lo que, este líquido es producido en grandes cantidades por las industrias que se dedican a la fabricación de dicho alimento. El suero lácteo en conjunto con otras sustancias como ácidos, álcalis, detergentes, desinfectantes y otros productos de limpieza para aparatos y maquinas conforma las Aguas Residuales Lácteas (ARL), y debido a las características que posee, ocasionan un serio problema ambiental, ya que en ocasiones este efluente es dispuesto de manera inadecuada¹ a cuerpos de agua y drenajes municipales sin tratamiento previo, lo que conlleva a la alteración de las propiedades fisicoquímicas de los ecosistemas con los que entra en contacto. Actualmente, el suero lácteo se puede utilizar para fabricar alimentos para el ganado, deshidratarlo y convertirlo en leche en polvo para consumo humano e incluso en la fabricación de algunos fertilizantes.

Debido a la gran cantidad de materia orgánica que contiene, otra opción para su disposición es la implementación de un bioproceso anaerobio, para la generación de biogás, sin embargo las ARL tienden a volverse ácidas muy rápidamente a causa de la fermentación del azúcar de la leche

produciendo ácido láctico, sobre todo en ausencia de oxígeno y la formación simultánea de ácido butírico, descendiendo el pH a $4.5 - 5.0^{1}$.

La digestión anaerobia de ARL es una opción económica y viable para el tratamiento de las mismas, sin embargo este tipo de sustrato puede ser un problema para el desarrollo óptimo en un digestor. Es por ello, que la codigestión es el tratamiento anaerobio, donde una mezcla de dos o más residuos orgánicos de diferente origen y composición, mejora el balance de nutrientes y las características fisicoquímicas del sustrato, y por lo tanto ayuda a una mejor estabilización del digestor y asimismo a una mayor producción de biogás y a la generación de biosólidos de una mejor calidad.

PARTE EXPERIMENTAL

Para el cumplimiento del objetivo planteado, esta investigación se dividió en tres etapas: la primera fue el muestreo y la caracterización fisicoquímica de los sustratos ARL y Lodos Primarios (LP) y el pretratamiento, la segunda etapa fue el desarrollo de la codigestión anaerobia en un codigestor a escala de laboratorio y la tercera etapa fue el bioensayo de toxicidad de los lodos digeridos.

Etapa 1. Muestreo, caracterización fisicoquímica y pretratamiento de los sustratos

El ARL fue muestreada de la empresa ubicada en Silao, Gto., (Figura 1), y los LP provienen de la planta de tratamiento de aguas residuales de JAPAMI (Figura 1), en la ciudad de Irapuato, Gto. Los sustratos fueron caracterizados fisicoquímicamente de acuerdo a los métodos estándar (APHA, AWWA, WPCF, 1998), y los parámetros determinados para cada uno de los sustratos fueron: DQO total y soluble, Sólidos Totales, Disueltos y Suspendidos (ST, SD, SS), Conductividad, pH, alcalinidad, Ácidos grasos volátiles (AGV), Proteínas, Azúcares y Sulfatos.



Figura 1. Muestreo de las ARL de la industria láctea (Izq) y muestreo de los LP de la Planta de Tratamiento JAPAMI (Der).

Una vez que los sustratos fueron caracterizados, recibieron un pretratamiento previo a su mezclado, el cual consistió en el tamizado de los LP, a fin de eliminar los sólidos gruesos que podrían ocasionar daños en el sistema hidráulico. Seguido de este pretratamiento se realizó la mezcla de sustratos y se ajustó el pH dentro de un rango de 6.75-7 con NaOH•1N.

Etapa 2. Implementación del bioproceso anaerobio

La codigestión anaerobia se operó a nivel laboratorio (Figura 2), mediante un reactor discontinuo de vidrio de borosilicato de 3 L, enchaquetado manteniendo una temperatura de 35 C, previsto de un agitador magnético para brindar al sistema una mezcla completa y un termómetro de vidrio para el registro de la temperatura. Este reactor fue alimentado con una mezcla 1:1 de los sustratos (ARL:LP) y sin ajuste de pH. Tanto la alimentación como la purga del reactor, fueron realizadas con ayuda de bombas peristálticas y sus respectivos controladores automáticos.

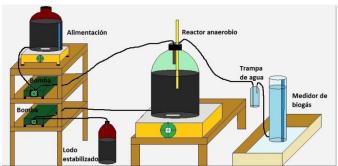


Figura 2. Codigestor anaerobio.

En el sistema se evaluaron dos Cargas Orgánicas (CO): 1.3 y 2.0 gDQO/L•d, con sus respectivas variaciones de caudal y Tiempo de Retención Hidráulico (TRH). En la tabla 1 se muestran las condiciones a las cuales se operó el sistema.

Tabla 1. Condiciones de operación en el digestor anaerobio.

CO (gDQOt/L•d)	DQOt (g/L)	Caudal (L/d)	THR (d)	VUR (L)
2 ± 0.2	50.66 ± 4.5	0.12	25	3
1.3 ± 0.2	50.60 ± 6.7	0.08	37.5	3

Semanalmente se determinaron parámetros tales como: DQOt, DQOs, SS, conductividad, pH, alcalinidad parcial y total, AGVs y sulfatos para el influente y efluente del reactor. Diariamente se registró el volumen de biogás producido, a través del desplazamiento de líquido en una columna de agua. Para cada CO se llevó a cabo un estudio microbiológico (Coliformes Totales, Fecales y Salmonella). La evaluación del reactor se llevó a cabo durante 6 semanas consecutivas para cada CO.

Etapa 3. Bioensayo de toxicidad

Se realizaron bioensayos de toxicidad para evaluar el potencial de germinación de semillas de lechuga con los lodos generados por la mejor CO. Estos lodos fueron secados y evaluados en tres relaciones de Suelo:Lodo Digerido del reactor (Tabla 2). Para cada una de las mezclas se realizó su caracterización fisicoquímica, donde se midieron parámetros tales como pH, conductividad potencial redox, materia orgánica, nitrógeno total y fosforo total.

Tabla 2. Proporciones de LD:S en prueba de bioensayo.

%LD:%S
100 LD
75:25
50:50
25:75
100 S

El bioensayo se realizó en cajas petri de 5.5 cm, en cada caja se depositaron 16 g de muestra en peso seco y se colocaron 10 semillas de lechuga (*Lactuca Sativa L.*). Se monitoreo la germinación de semillas y el crecimiento de la radícula durante un periodo de 15 días con la finalidad de estimar el índice de germinación (Fórmula 1).

$$IG = \frac{G \times L}{G_c \times L_c} \times 100$$
Fórmula 1. Índice de germinación

Donde IG es el índice de germinación, G el promedio de semillas germinadas, Gc es el promedio de semillas germinadas en el control positivo, L el promedio de longitud de la radícula en la muestra y Lc es el promedio de longitud de la radícula en el control positivo.

RESULTADOS

Etapa 1. Muestreo, caracterización fisicoquímica y pretratamiento de los sustratos

En la tabla 2, se observa que ambos sustratos (ARL y LP) presentaron una DQOt elevada, 50.54 y 48.01 g/L respectivamente, sin embargo en el valor de la DQOs se observa una diferencia muy marcada, siendo el ARL el sustrato que aporta la mayor cantidad de material soluble. En cuanto a pH, 3.7 para ARL y 6.96 para el LP por lo que, la alcalinidad para amortiguar los cambios de pH dentro del sistema es aportada por este sustrato. En cuanto a la contribución de nutrientes, son las ARL las que aportan la mayar cantidad. Asimismo en la tabla 3, el valor de DQOt en el cosustrato se mantuvo en un valor de 51.31 g/L en promedio. Por otro lado, la DQOs presentó un valor promedio de 8.09 g/L. Los valores de sulfatos después de mezclar los sustratos fueron de 41.32 mg/L. El pH de la mezcla fue de 5, por lo cual fue necesario ajustarlo a valores dentro del rango para una codigestión anaerobia (6.75 a 7), resultando en un valor de 6.86. En cuanto a la alcalinidad, la mezcla de los sustratos logró proporcionar a la alimentación del reactor un valor de 4870.15 mgCaCO₃/L, suficiente para mantener la estabilidad de reactor.

Tabla 2. Caracterización fisicoquímica de los sustratos y el cosustrato.

Parámetro	ARL	Cosustrato	
DQOt (g/L)	50.54 ± 1.47	51.31 ± 0.29	
DQOs (g/L)	32.49 ± 0.94	8.09 ± 0.02	
SST (g/L)	3.74 ± 0.05	61.04 ± 10.38	
SSV (g/L)	3.45 ± 0.05	23.96 ± 2.89	
AGVs (mg/L)	556.25 ± 12.50	1823.28 ± 487.65	
SO₄ (mg/L)	266.11 ± 13.35	41.32 ± 2.29	
Conductividad (mS/cm)	4.41 ± 0.02	9.19 ± 0.71	
рН	3.70 ± 0.21	6.86 ± 0.01	
Proteínas (mg/L)	148.79 ± 1.97	20.47 ± 0.70	
Alcalinidad (mgCaCO ₃ /L)	NA	2835.17 ± 230.46	

Etapa 2. Implementación del bioproceso anaerobio

A continuación se presentan los resultados obtenidos en el proceso después de 6 semanas de operación para las dos CO evaluadas.

DQO total y soluble

Al evaluar una CO de 1.3 gDQO/L•d con un TRH de 37.5 d, se observó un porcentaje de eliminación de DQOt promedio de 58.04%, teniendo una concentración en la entrada de 51.08 g/L y en la salida 21.43 g/L, mientras que para la CO de 2.0 gDQO/L•d con un TRH de 25 d, el porcentaje de eliminación obtenido fue de 85.19%, con 51.55 y 7.54 g/L de DQO en el influente y efluente respectivamente. En los procesos de digestión anaerobia, se reportan porcentajes de eliminación del 50 al 70%⁴.

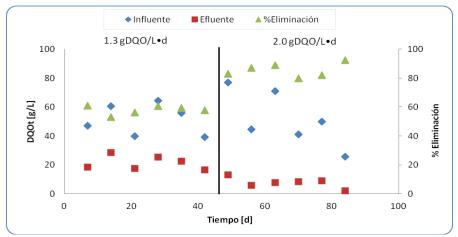


Figura 4. Comportamiento de la DQOt.

En lo que respecta a la DQOs en la figura 5 se observa que los valores del influente estuvieron en 7.62 y 8.23g/L para cada una de las CO. En el efluente los valores disminuyeron hasta 1.02 y 1.6 g/L, lo que representó un 86.5 y 80.5% de eliminación, respectivamente. Lo que indica que la digestión anaerobia estuvo funcionando correctamente en la toma de material soluble.

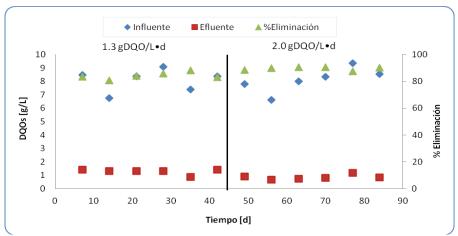


Figura 5. Comportamiento de la DQOs en el codigestor.

Como se puede observar los mayores porcentajes de eliminación se obtuvieron para la carga orgánica de 2 gDQO/L•d, debido a que con esta carga orgánica, el caudal y el TRH correspondiente, se da tiempo a que los microorganismos involucrados en la codigestión anaerobia puedan digerir de manera adecuada la materia orgánica que es alimentada al reactor, al contrario de la carga orgánica de 1.3 gDQO/L•d donde el caudal es menor pero el TRH es mayor, ocasiona

que los microorganismos no tengan las condiciones optimas para tener un buen rendimiento, dentro de estas condiciones, se encuentra la falta de nutrientes.

Sólidos suspendidos volátiles

En cuanto a los SSV, estos estuvieron valores de 21.60 y 26.32 g/L en el influente para la CO de 1.3 y 2.0, respectivamente, por otro lado, en el efluente se encontraron valores de 12.63 y 4.57 g/L respectivamente. Los porcentajes de eliminación para cada una de las CO probadas se representan en la tabla 3.

CO (gDQOt/L•d)	Influente	Efluente	% Eliminación	
1.3	21.60 ± 4.28	12.63 ± 2.13	41.53	
2.0	26.32 ± 5.71	4.57 ± 3.88	82.63	

Tabla 3. Porcentajes de eliminación para los SSV.

Los porcentajes de eliminación de SSV en los procesos de digestión anaerobia se encuentran entre 67-81% y 40-60% es importante resaltar que la CO más propicia para el correcto funcionamiento del codigestor fue la de 2 gDQOt/L•d.

AGVs, pH y alcalinidad

La tabla 4 muestra como el pH y la alcalinidad dentro del proceso aumentan, favoreciendo así la etapa en la que principalmente se produce el metano (CH₄). Los AGVs fueron consumidos en un 75.4% para la CO de 1.3 y 93.9% para la CO de 2.0. La alcalinidad incrementó para ambas CO. En el proceso de digestión anaerobia durante la fase acidogénica, la producción de AGVs puede llevar a caídas de pH, a valores en los cuales la actividad metanogénica es inhibida⁷.

Parámetro	2gDQOt/L•d	1.3gDQOt/L•d
AGVs (mg/L)	135.83 ± 35.81	350.83 ± 70.50
pН	8.25 ±0.22	8.28 ± 0.23
Alcalinidad (mgCaCO₃/L)	5096.67 ± 350.17	7276.67 ± 941.19

Tabla 4. AGVs, pH y alcalinidad del efluente.

Coliformes totales, fecales y Salmonella

En el bioproceso antes descrito no sólo se lleva a cabo la eliminación de parámetros fisicoquímicos, sino que también se reducen de manera considerable algunos patógenos, por ejemplo para Coliformes Totales (CT) se encontraron % de eliminación del 78.18 y 67.40%, en cuanto a Coliformes Fecales (CF) 54.35 y 97% y para Salmonella 98 y 90%, respectivamente.

Producción de biogás

En un digestor anaerobio la producción de biogás teórica es de 0.6 L de biogás/g DQO eliminada⁶, con un 50-70% de CH₄. El biogás tiene un poder calorífico de 5500 Kcal/Nm³ cuando tiene un 60% de metano⁸, lo que equivale a 6.4 KWh/Nm³. En la tabla 5 se muestra la relación de producción de biogás para ambas cargas orgánicas.

Tabla 5. Producción de biogás para las dos CO probadas.

CO (gDQO/L•d)	mL de Biogás/g DQOelim (Teórico)	mL de biogás/g DQOelim (Experimental)
2	600	396.66
1.3	600	322.66

Por último, en la figura 6, se presenta la producción diaria de biogás en el codigestor anaerobio a lo largo de 84 días de operación. En los primeros días de operación, el sistema generó aproximadamente 1 L por día, conforme transcurrió el tiempo la producción aumentó registrando valores de 3600 mL por día para la CO de 2 gDQO/L•d y 1600 mL por día para 1.3 DQO/L•d. La generación de biogás fue mayor con la CO de 2 gDQO/L•d.

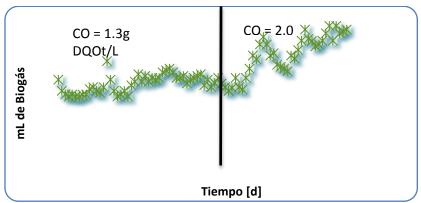


Figura 6. Producción diaria de biogás en el codigestor anerobio

Etapa 3. Bioensayo de toxicidad

Los porcentajes de germinación se muestran en la figura 7, y como se puede observar todos los resultados se encuentran por encima del 50%, por lo que se puede considerar que el lodo digerido generado no produce efectos negativos sobre las plántulas ⁹.

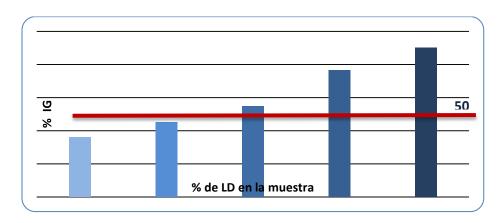


Figura 7. IG obtenido en el Bioensayo.

En la tabla 6 se muestra el resultado de la caracterización fisicoquímica que se le realizó a cada una de las proporciones del bioensayo, donde se observa que a medida que aumenta la cantidad

de LD, aumenta el pH, conductividad y la concentración de fosforo total, caso contrario a donde disminuye la porción de LD y disminuye el potencial Redox, %MO y nitrógeno total.

Parámetro/ LD:S	100 LD	75:25	50:50	25:75	100 S
	100 =2		55.55	20110	
рН	8.09 ± 0.13	7.25 ± 0.07	6.61 ± 0.21	5.64 ± 0.14	3.83 ± 0.21
Conductividad (dS/m)	1.96 ± 0.03	2.28 ± 0.09	1.65 ± 0.11	0.48 ± 0.03	0.46 ± 0.002
Potencial Redox (mV)	+286.9 ± 5.5	+295 ± 3.5	+307.8 ± 4	+322.9 ± 6.1	+346.5 ± 2.8
% MO	3.63 ± 0.3	7.79 ± 0.5	10.27 ± 1.2	8.45 ± 0.91	10.02 ± 1.2
Nitrógeno total (mg/L)	146	268	301	304	349
Fosforo total (mg/L)	53.30	25.80	22.10	20.60	36.30

Tabla 6. Caracterización fisicoquímica de las proporciones del bioensayo LD:S.

De acuerdo a los índices de germinación, los parámetros que jugaron un papel importante en el desarrollo de las plántulas fueron %MO y potencial redox, sin embargo no se debe perder de vista que la porción 50:50, fue donde se obtuvo un mayor %MO pero el IG es relativamente bajo, esto puede deberse a la relación de nutrientes que aporta cada sustrato.

CONCLUSIONES

Una vez analizados los resultados obtenidos en el desarrollo de este trabajo de investigación, se llegaron a las siguientes conclusiones:

- 1. Las características fisicoquímicas de los sustratos demostraron que ambos se complementaron, donde cada uno de ellos aportó una característica adecuada, como lo fue el pH, alcalinidad y MO y nutrientes, por lo que se vio beneficiado el desarrollo de este bioproceso (Co-DA).
- 2. Con la CO de 2.0 gDQO/L•d, se obtuvieron porcentajes de remoción por encima del 80% de MO, expresada como DQOT, DQOS y SSV, por lo que esta CO fue la más eficiente; en cuanto a la generación de biogás, la CO de 2.0 gDQO/L•d con un TRH de 25 d resultó ser más eficiente, teniendo una producción de 396.7mL biogás/g DQO eliminada.
- 3. En cuanto a la presencia de patógenos, se lograron porcentajes de remoción de hasta el 78% para CT en la CO de 1.3 gDQO/L•d, del 97 para CF en la CO de 2.0 gDQO/L•d y del 90% para Salmonella para ambas CO.
- 4. El biosólido generado no se considera tóxico puesto que, los IG de semillas de lechuga se encuentran por encima del 50%, por lo que no se presentaron efectos negativos sobre las plántulas.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Álvarez, J., y Rodríguez E. "Eficiencia de remoción de los parámetros de control para un biofiltro anaerobio utilizado en el tratamiento de agua residual doméstica", Kuxulkab, Vol. XV, No. 28, p. 21-27, 2009.
- 2. Jasko, E., Skripsts, V., Dubrovskis, E., Zabarovskis, E. Kotelenecs, V. "Biogas production from cheese whey in two phase anaerobic digestion". 10th International Scientific Conference Engineering for Rural Development, p. 373-376, 2011.
- 3. Pomeón, T. y Cervantes F., "El sector lechero y quesero en México de 1900 a 2009: entre lo global y local", Universidad Autónoma Chapingo (CIESTAAM), 2010.
- 4. Kavacik, B. & Topaloglu, B. "Biogas production from codigestión of a mixture of cheese whey and dairy manure", Art. Biomass and bioenergy, No. 34, p 1321-1329, 2010.

- 5. Ruíz, I., Álvarez, J. & Soto M. "El potencial de la digestión anaerobia en el tratamiento de aguas residuals urbanas y efluentes de baja carga orgánica. https://www.researchate.net/publication/242251233.
- 6. Metcalf & Eddy, "Tratamiento, vertido y reutilización", Ingeniería de aguas residuales, 1998
- 7. Rojas, Olga, "Relación alcalinidad.-ácidos grasos volátiles", Art. De la Unversidad del Valle, Colombia, 1989.
- 8. BESEL, S.A. "Biomasa: Digestores anaerobios", Int. Para la diversificación y ahorro de la energía, 2007.
- 9. Sobrero M., Ronco A. "Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (Lactuca sativa)" Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de Aguas, Ottawa, Canadá, Ed. Castillo, p 71-79, 2004.

ANÁLISIS DEL CONTROL QUÍMICO EN JUGOS DE CAÑA DE AZÚCAR PARA DISMINUIR LAS PÉRDIDAS DE SACAROSA

Villa-Ramírez M.S., Rivera-Hernández K.N., Ramírez-López C.

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada Instituto Politécnico Nacional, Tepetitla, Tlaxcala, C.P. 90700, México. sugeyrol@hotmail.com.

RESUMEN

La sacarosa es un disácarido que se forma por la combinación de moléculas de glucosa más fructosa unidas químicamente por enlace α1-2. La sacarosa es usada en la alimentación y se utiliza como edulcorante natural. En México, es producida a partir del procesamiento de la caña de azúcar.

A nivel industrial, durante la producción de la sacarosa, se encuentran presentes de forma inicial en la caña, diversos microorganismos deteriorativos que generan pérdidas durante el proceso de obtención de azúcar, debido a que estos microorganismos generan diversos ácidos orgánicos como el succinico, láctico y propionico, su metabolismo se encuentra asociado a factores tales como fermentación, formación de invertasas microbianas, formación de polisacáridos y acidez.

Industrialmente es difícil reconocer las pérdidas de sacarosa generadas por la presencia de microorganismos. Y factores tales como largas demoras entre la cosecha, el corte y la molienda, permiten la formación de dextrana. La presencia de dextranas es el principal problema de deterioro de la sacarosa generado por presencia del microorganismo *Leuconostoc mesenteroides*.

Para evaluar factores que determinan las pérdidas indeterminadas de sacarosa durante el proceso industrial, se desarrollaron técnicas para la evaluación de indicadores del deterioro de caña de azúcar basadas en la medición de diversos parámetros físicos y químicos. Las evaluaciones en jugos de caña fueron: contenido de microorganismos, aislamiento, y selección de 73 diferentes microorganismos deteriorativos. De los aislamientos de microorganismos presentes en los jugos de caña, se seleccionaron 3 diferentes microorganismos que fueron sometidos a pruebas in Vitro con 15 productos químicos biocidas, se determinó in Vitro a partir de concentraciones máximas permitidas (CMP) de cada biocida, la concentración fraccional mínima inhibitoria a la cual los microorganismos fueron susceptibles y los experimentos se realizaron por selección con 3 diferentes microorganismos predominantes deteriorativos del jugo de caña, y se seleccionaron 4 productos biocidas de mayor efecto inhibitorio in Vitro, los cuales fueron usados para pruebas de aspersión en campo y se evaluó su efecto en el proceso de obtención de sacarosa, siendo el Cloruro de Benzalconio, Péróxido de hidrógeno e isotiazolinona los biocidas que permitieron obtener mejores resultados en los análisis in Vitro y en campo. Este trabajo tuvo como finalidad, disminuir las pérdidas de sacarosa asociadas por presencia de microorganismos usando productos biocidas en concentraciones fraccionales inhibitorias, de tal manera que se busca que la aplicación de estos productos no generen mayor impacto ambiental, debido a que no se producirán proceso acumulativos en suelos, aire y aqua y problemas para la salud de quien lo aplica, ya que sólo se busca inhibir el crecimiento de microorganismos y obtener productos alimentarios de mayor calidad, así también, se busca que los productos biocidas que se apliquen tengan un bajo costo para los industriales.

INTRODUCCIÓN

Los mayores problemas que se generan en la industria azucarera son la pérdida de sacarosa. Durante el procesamiento de la caña de azúcar, existen diversos factores físicos y químicos que son los responsables de pérdidas de sacarosa durante el proceso (Britz et al, 1990, Cuervo y col., 2010; Eggleston y col., 2011., K Hari y col. 2013).

En el proceso industrial, las largas demoras entre el corte y molienda, efectos pluviales, quema de caña, variaciones medioambientales, afectan de manera adversa la recuperación la caña de azúcar, provocando la inactivacion de la enzima fenil oxidasa de acción protectora o bactericida en la planta, y el principal problema que se ocasiona es por presencia de microorganismos deteriorativos de caña de azúcar que ocasionan la formación de dextranas y ácidos orgánicos. Debido a que en la mayoría de los molinos es difícil aceptar la caña deteriorada, esta es procesada en el menor tiempo posible, mezclándola con caña fresca. De esta forma se disminuye la calidad total del producto y se aceptan las pérdidas de sacarosa (Eggleston, 2002).

En la etapa de fabricación del azúcar que transcurre desde la molienda de la caña hasta la clarificación del jugo una causa importante de la destrucción de sacarosa es la acción de microorganismos que acompañan a la caña, más los que pueden proliferar en equipamientos fabriles como recipientes, canales, cañerías y otros equipos que por sus características resultan apropiados para el crecimiento microbiano. Bevan y Bond en 1925 aislaron alrededor de 50 microorganismos diferentes en caña verde, y 17 de la superficie de la caña quemada, encontraron especies de bacterias predominantes parecidas a *Bacillus herbicolaureum* y levaduras que corresponden a la especie *Saccharomyces cerevisiae*, torula y *Pichia* así como también bacterias lácticas particularmente *Bacillus cereus* y la especie productora de polisácaridos del tipo dextranos *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc dextrinicum*. (James y Chen, 1991; Eugene, 2002).

Las dextranas son polisacaridos de elevado peso molecular formados por glucosas unidas por enlaces α -1.6 al menos en el 50%, con ramificaciones enlazadas α -1.3 aunque también puede presentar otras unidas α -1.2 o α -1.4. La acción directa del metabolismo de microorganismos sobre sacarosa, produce que estos microorganismos excreten de forma extracelular la enzima dextransacarasa. La enzima excretada, ocasiona que durante el proceso de fabricación de la sacarosa se forme una masa gelatinosa que puede bloquear la filtración y retardar la cristalización del azúcar. (Trejo-Estrada, 1998., T Igarashi, 2004).

El principal microorganismo responsable de pérdidas de sacarosa y productor de dextranas durante el proceso a nivel industrial, es *Leuconostoc mesenteroides*. Las pérdidas de sacarosa a nivel industrial oscilan entre 0.5 y 4% y en promedio se encuentran entre 1 y 2% durante la corrida semanal, lo que representa anualmente pérdidas millonarias debido a pérdidas indeterminadas asociadas a la presencia de microorganismos (Beta San Miguel, 2002). Por lo que es necesario realizar estudios que permitan disminuir estos problemas a nivel industrial.

METODOLOGIA

Muestreos estacionales y cuenta microbiana

Para el desarrollo del trabajo, se tomaron a nivel industrial muestras de jugo mezclado del proceso de extracción de caña de azúcar en el ingenio de San Miguel del Naranjo San Luis Potosí, para determinar monosacáridos libres (ARD) por espectrofotometría por método de Miller, pH, acidez titulable, ^oBrix y por HPLC, se determinaron ácidos orgánicos (resultados de HPLC y ácidos orgánicos no se muestran), se determinó también carga microbiana, donde se aislaron 73 cepas diferentes de microorganismos deteriorativos. Los cuales fueron conservados en glicerol al 30% a -70 °C y se identificaron 3 grupos de microorganismos deteriorativos clasificados como Levaduras, bacterias lácticas y bacterias productoras de dextranos correspondientes al género *Leuconostoc sp.* Posteriormente se seleccionaron 3 cepas de cada grupo microbiano, y estos microorganismos se usaron para evaluaciones de actividad antimicrobiana con 15 compuestos químicos o biocidas usados a nivel industrial para desinfección de jugos de caña.

Pruebas de aplicación con enzimas dextranasas comerciales

Se evaluaron cinco enzimas comerciales en jugos simulados con dextrana, la enzimas fueron L Amano K,Enmex, L6500, Globalzyme y Novozyme las cuales fueron sometidas a diferentes condiciones de reacción. Se tomaron muestras a los 0, 5, 10 y 20 minutos para determinar la actividad de la dextranasa a través de la liberación de azucares reductores (ARD).

Comparación de la actividad enzimática de las cinco enzimas comerciales Se realizaron cinéticas de reacción a pH de 4.0, 5.0 y 6.0, a una temperatura de 40°, 60° y 80° C, con una concentración de la enzima de 1X, 0.5X y 0.1X; a partir de estos datos se construyeron las cinéticas de reacción.

Evaluación y selección de compuestos para control químico

Se evaluó la capacidad de desinfección de 15 compuestos químicos que son usados a nivel industrial para la desinfección de jugos de caña, los cuales fueron: dimetilditiocarbamato de sodio, peróxido de hidrógeno, isotiazolinona, cloruro de benzalconio, sulfito de amonio, ácido perácetico, glutaraldehido, formaldehido, tiourea, clorhexidina, fralsini, dowicil, formalina, hidracina, bifenil, las pruebas con los biocidas se realizaron *in vitro* de forma unitaria a concentraciones tomando como base la CMI a partir de la cual se generaron concentraciones fraccionales inhibitorias. De los biocidas probados y se descartaron los que no presentaron halos de inhibición contra los 3 diferentes tipos de microorganismos deteriorativos, los biocidas descartados fueron: dowicil, formalina hidracina y bifenil, el método de análisis *in Vitro* para este estudio fue el método de Kirby Bauer usando discos de papel de fibra de vidrio (GFB por sus siglas en inglés) y método de cultivo de microorganismos de estriado en placa con una hora previa de cultivo y posteriormente se aplicó sobre la superficie los GFB impregnados con las diferentes concentraciones biocida. Se usó un biocida y sus diferentes CFI por placa.

Selección de biocidas para aplicación en campo

Para la selección de los biocidas de pruebas en campo, se seleccionaron de los 11 restantes los que mostraron mayor tamaño en sus halos de inhibición a concentraciones menores y se hizo la selección de 4 biocidas. Los biocidas que mostraron ser afectivos e inhibir microorganismos son Dimetilditiocarbamato de sodio 80 ppm (DDC), cloruro de benzalconio 450 ppm (CB), e Isotiazolinona 60 ppm (ISO) y Peróxido de Hidrógeno 2500 ppm (P).

La aplicación de biocidas por aspersión en campo permitió cuantificación de los microorganismos presentes en jugo mezclado, y se pudo determinar el biocida puede ser efectivo para inhibir el crecimiento microbiano para posteriores aplicaciones, o de forma conjunta generar, una formulación desinfectante sinérgica.

Aplicación en campo de los biocidas eficientes

A partir de los resultados obtenidos de las pruebas *in vitro* realizadas con los 11 compuestos químicos de mayor efecto de inhibición contra los 3 microorganismos, se determinó por el tamaño de los halos mostrados para cada biocida, aquellos que inhibieron a concentraciones bajas, esas concentraciones, se usaron para pruebas de aspersión en campo. Únicamente se seleccionaron 3 compuestos químicos para aspersión, considerando criterios de toxicidad baja, y alta inhibición en los 3 microorganismos a baja concentración asociado al bajo costo de los compuestos biocidas.

Para la aplicación en campo se seleccionaron parcelas sembradas con la misma variedad de caña, y quema de caña realizado el mismo día. La aplicación de biocidas a caña se realizó de forma unitaria aplicándose 1 biocida por día obteniendo una cantidad aproximada de 600-800 toneladas aproximadamente (10 camiones) para cada tratamiento de biocida. De caña control o caña sin tratamiento se obtuvieron 400 toneladas aproximadamente (5-6 camiones), la caña fue trasladada al ingenio en el menor tiempo posible, en donde se molió y en el primer molino se tomaron por camión muestras de jugo mezclado de un volumen de 500 mL (control y muestras tratadas). Las muestras debidamente marcadas fueron llevadas al laboratorio para su análisis o en tal caso fueron congeladas inmediatamente para su posterior análisis descongelando a temperatura ambiente.

RESULTADOS

Prueba in Vitro con los diferentes biocidas y 3 grupos de microorganismos representativos

Las concentraciones de los biocidas usados fueron establecidas de acuerdo a concentraciones máximas permitidas en partes por millón (CMP en ppm) previas pruebas en laboratorio y de fichas técnicas de aplicación para cada uno de los 15 compuestos guímicos.

Se procedió ha realizar evaluaciones de las (CMP) de compuestos químicos generando concentraciones menores de forma fraccional para reconocer la concentración mínima fraccional

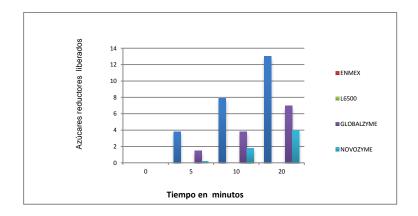
inhibitoria(CMF) con pruebas en los 3 diferentes tipos de microorganismos aislados de jugo de caña. Cada microorganismo fue sembrado en medio de cultivo selectivo para realizar las pruebas de selección con los 11 compuestos biocidas que mostraron efecto de inhibición ya que 4 de ellos su efecto fue nulo y no mostraron halos de inhibición. Posteriormente de los 11 biocidas que mostraron halos de inhibición se seleccionaron 4 biocidas que mostraron halos de mayor tamaño usando menor concentración y se probó su inhibición con 3 grupos microbianos, y a continuación se mencionan en orden de eficiencia, fueron: Dimetilditiocarbamato de sodio, Cloruro de Benzalconio, Isotiazolinona y Peróxido de Hidrógeno, Una vez que fueron seleccionados 4 biocidas mediante las pruebas por método de Kirby Bauer se realizó una prueba en campo con los 3 mejores desinfectantes para conocer su eficiencia a nivel industrial (Ver fig.1).



Fig.1 pruebas de inhibición por método de Kirby Bauer en la levadura (LEVA5) sembrada en medio de cultivo para levaduras usando 9 diferentes concentraciones del biocida Dimetilditiocarbamato de sodio, de izquierda a derecha se muestran las concentraciones de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, y al centro 100 pmm del biocida, el microorganismo con siembra de 48 horas de anterioridad y posteriormente se colocó sobre la superficie discos de fibra de vidrio (GFB) impregnados con las diferentes concentraciones del biocida.

Actividad enzimática

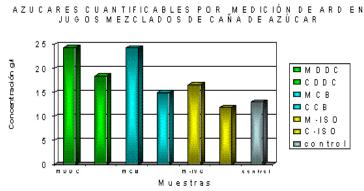
Se realizaron a su vez en las muestras de jugos mezclados tratamientos de aplicación de enzimas comerciales para conocer la eficiencia de eliminación de dextranos durante el proceso de obtención de sacarosa. Los resultados que se observaron para evaluar la actividad enzimática con 5 enzimas comerciales permitieron conocer, que las enzimas a condiciones de reacción de 80°C sin importar el pH y unidades de enzima aplicadas totalmente equivalentes, presentan actividad enzimática nula, por lo que no se muestran las gráficas de las mismas y sólo se muestra la que presentó mayor actividad de reacción, las 3 enzimas que presentan los mayores valores de actividad fueron L Amano-K y Dextranfree Globalzyme, así mismo, la mejor actividad enzimática se presenta a pH 6.0 y 5.0 a una temperatura de 60°C con la dilución de la enzima 0.5X por 20 minutos de L Amano-K. Los resultados se muestran en la Gráfica 1.



Gráfica 1. Actividad enzimática a pH 6.0 y 60 °C, dilución 05X.

⁰Brix y ARD

La gráfica 3, muestra los azúcares reductores directos cuantificados por espectrofotometría a 540 nanometros en muestras de jugo mezclado tratado con 3 diferentes biocidas aplicados por aspersión en campo. La muestra que presenta mayor liberación de ARD fue la tratada con Dimetilditiocarbato de sodio y Cloruro de benzalconio mostraron eficiencia para pruebas in vitro y pruebas en campo, Sin embargo, Dimetilditiocarbamato de sodio no fue seleccionado para pruebas posteriores de aplicación en campo debido a su alta toxicidad, y Cloruro de benzalconio, mostró un porcentaje similar de ARD, este biocida, tiene baja toxicidad y fue elegido para realizar pruebas en validación en campo.



Grafica 3.- ARD presentes con los diferentes tratamientos aplicados por aspersión

Acidez titulable

Las pruebas de acidez titulable, fueron realizadas en laboratorio a jugos mezclados de caña tratados en campo y 3 diferentes biocidas inmediato al corte, las muestras fueron molidas industrialmente, las muestras de jugos mezclados muestran una variación entre muestras tratadas con biocida y muestras sin tratar. Las muestras con aplicación de biocida requieren menor cantidad de NaOH para poder llegar a un pH estable. los datos muestran que el grado de acidez es un indicador del grado de deterioro en los jugos por presencia de actividad metabólica de microorganismos que muchos de ellos consideramos que no precisamente se encuentran presentes en la superficie de la caña, sino que se han generado durante el traslado de la caña, y el proceso de extracción del jugo, debe considerarse que en el proceso de extracción del jugo no existió previamente una sanitización de los molinos y tuberías ya que resulta un proceso complicado por la capacidad de estos y tiene que generarse un protocolo de desinfección previa de molinos y tuberías. Los resultados muestran que el tratamiento con Ditiocarbamato de sodio 80

ppm, permite disminuir el grado de acidez en los jugos durante el proceso, sin embargo por ser considerado un compuesto químico altamente tóxico y su alto costo, no resultaría un adecuado candidato para procesos futuros de desinfección, por lo cual podría considerarse a la Isotiazolinona 60 ppm para proceso de desinfección durante el proceso de producción de azúcar (ver resultados Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de pruebas de acidez titulable

TRATAMIENTO DEL JUGO DE CAÑA	Consu mo de NaOH en 10 mL	Consum o de NaOH en 100 mL	Muestra pH inicial 10 ml	Muestra pH inicial 100mL	Valor de la acidez (NaOH 1/10) expresado en g de ácido cítrico anhidro
S/ Isotiazolinona	0.2	2.5	5.52	8.68	0.160g/100m L
c/ Isotiazolinoa	0.1	2.10	5.49	8.60	0.013g/100m I
S/ Cloruro de benzalconio	0.26	2.00	5.38	8.69	0.012g/100m L
C/ Cloruro de benzalconio	0.22	1.98	5.5	8.67	0.012 100g/mL
S/ Dimetilditiocarba mato	0.26	2.7	5.58	8.7	0.017 100g/mL
C/Dimetilditiocarb amato	0.30	2.0	5.55	8.68	0.012 100g//mL

Resultados de pH

Los biocidas de aplicación en campo, se seleccionaron previamente por pruebas en laboratorio y fueron: Cloruro de benzalconio 450 ppm (CB), Peroxido de Hidrógeno 2500 ppm (P) e Isotiazolinona 60ppm (ISO) las pruebas se realizaron en campo con caña quemada (Cq). Dimetilditiocarbamato a pesar de mostrar alta eficiencia de desinfección se descartó para realizar estas pruebas debido a su toxicidad.

Las muestras tratadas en campo fueron congeladas y posteriormente se descongelaron en laboratorio a temperatura ambiente, inmediatamente fue medido el pH con potenciómetro. Los resultados se muestran en la tabla 2, los valores más altos de pH se observan en muestras tratadas con los tratamientos en forma de mezcla, por lo que se muestra un efecto sinérgico de la aplicación con los biocidas, el valor más alto es el de mezcla con 3 diferentes biocidas.

Tabla 2. Valor obtenido de pH en caña quemada y tratamientos con 3 diferentes biocidas

Muestra	Valor de pH
Caña verde	3.95
Caña quemada	3.59
Cq Control	3.78
Cq +CB	4.76
Cq+ISO	3.81
Cq+P	3.91
Cq+CB+ISO	4.94

Cq+P+CB	4.69
Cq+P+ISO	3.83
Cq+P+CB+ISO	5.01

CONCLUSIONES

Las unidades formadoras de colonias (UFC) generadas *in Vitro*, mostraron que la aplicación de biocidas disminuye la carga microbiana, y la acidez, en los análisis realizados de los ARD, pH y ^oBrix, en muestras tratadas con biocidas se identifican diferencias entre muestras tratadas respecto a muestras no tratadas. Los resultados de la prueba indican que puede esperarse una menor pérdida de azúcares y un menor deterioro poscosecha de caña si esta es tratada con el biocida adecuado. Es posible considerar realizar un tratamiento de desinfección en campo, para un mayor control del deterioro de forma inicial, así como también se debe considerar monitoreos constantes de la carga microbiana ya que esta tiende a variar estacionalmente.

En relación a estudios previos realizados por Eggleston y Monge (2004) de aplicación de enzimas nos menciona que utilizando dextranasas se puede "eliminar" la dextrana, en donde la enzima utilizada presenta una mayor actividad si se encuentra a una temperatura de 50°C; por otro lado, Bashiri y col (2012), utilizan una dextrana en diferentes condiciones de reacción y reportan que el pH óptimo para la enzima es de 5.5; estos resultados se asemejan a lo obtenido en éste estudio, ya que la enzima utilizada presenta una mayor actividad a pH entre 5.0 y 6.0 a una temperatura de 60°C, dichas diferencias pueden deberse a la enzima utilizada y resulta funcional, La utilización de la enzima no muestra efecto sobre la hidrólisis de dextrana si se encuentra presente el peróxido de hidrógeno ya que el peróxido actúa como oxidante inhibiendo a la enzima, por lo cual se recomienda la utilización de la enzima en los jugos de caña hasta que el peróxido haya perdido su capacidad oxidante.

Debido a que ciertos productos químicos que se aplican pueden generar efectos indeseables posteriores al proceso de obtención de azúcar, la finalidad de este trabajo está dirigido a realizar la aplicación de biocidas a Concentración mínima inhibitoria (CMI) aplicando concentraciones fraccionales inhibitorias (CFI), de tal forma que, únicamente matan a los microorganismos Indeseables, se disminuyen así, costos por aplicación de por uso de grandes cantidades de biocidas, no hay riesgo de toxicidad por aplicación de químicos en grandes cantidades, y existe un mínimo riesgo de acumulación del compuesto en la superficie del suelo que a largo plazo pudiera generar lixiviados, dispersión por aire o contaminación de aguas, y problemáticas mayores que impacten ambientalmente en los nichos ecológicos que se encuentren a los alrededores de las plantaciones ya que estos productos biocidas seleccionados bajo estas pruebas como son el Peróxido de Hidrógeno y Cloruro de Benzalconio, son considerados de baja toxicidad por la FDA y por la International Agency for Research on Cancer y son considerados seguros para su uso, la isotiazolinona es un compuesto que es a pesar de no afectar las caracteristicas del producto final, y ser considerado de baja toxicidad es monitoreado por la FDA y la EPA (FDA registration and U.S, agent, 2016).

En relación a control biológico se usan microorganismos de afecto antagónico, y pueden considerarse como alternativa, las pruebas de capacidad biocontroladora con actinomicetos, con respecto a especies de microorganismos deteriorativas puede permitir alternativas agrícolas que tengan a largo plazo un mayor impacto ambiental aunque este trabajo no muestra estas pruebas de biocontrol con actinomicetos las pruebas fueron realizadas con 2 microorganismos

deteriorativos LEVA5 Y LAC3 y permiten conocer el efecto de biocontrol como alternativa al control químico.

En conclusión, La aplicación de biocidas en concentraciones conocidas permite una mayor desinfección para el proceso de producción de sacarosa, las concentraciones mínimas inhibitorias que se definieron, tiene amplios rangos de desinfección si los biocidas que mostraron mejor eficiencia de desinfección son mezclados, el efecto se potencializa y resultas ser sinérgico y sin efectos de residualidad, así también se disminuyen los efectos nocivos para la salud humana, en combinación con un adecuado manejo de prácticas sanitarias a nivel industrial, que a futuro permitirán detectar las posibles causas de deterioro de la caña de azúcar y obtener un producto de mayor calidad.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Antier, P, 1996, Microbiological control in a cane sugar mill: applications on sugar quality and on losses, African Sugar Technologic Association 70. Pp. 185-188.
- 2. Barker, P. E., Ajongwen, N. J., 1990, The productions of the enzyme dextransucrase using nonaerated fermentation techniques. En: Biotechnol. Bioeng. 1990, 37:703-707
- 3. Bauer AW, Kirby WM, Sherrisj C. y col. (1996) Antibiotic susceptibility testing by standardized single disck method. American Journal Clinical Pathology. 45: 493-496.
- 4. Beta San Miguel S.A. de C.V., 2002, Ingenio San Miguel del Naranjo, Proceso de producción de azúcar, Cámara Nacional de la industria azucarera y alcoholera.
- 5. Clarke M.A, L.A.Edy F. Cole and L. Kitchar. (1997) sugarcane factory trialwith dextranase enzyme (from Chaetamium gracile) sugar. J. 59:20-22.
- 6. Chen, J. C. P. y Chou, C. C. 1993. Microbiological control in sugar manufacturing and refining. In Cane Sugar Handbook 12th edition. 641-658 pp.
- 7. Eggleston, G., Dilks, A., Blowers, M. y Winter, K., 2011, Successful application of dextranase in sugar beet factories, American Society of Sugar Beet Technologists.
- 8. K Hari, S Reginold Jebitta, K Sivaraman. (2013). Production and Characterization of sugar cane juice powder. Journal of sugarcane research. (3):20-34.
- 9. Miller, G.L., 1959, Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar, Analytical Chemistry, 31, 426-428.
- 10. Novo Nordisk A/S. 1973. Dextranase Novo 25L. A dextran decomposing enzyme for the sugar industry. Product data information 112-GB, Novo Enzyme Division, Dagsvaerd, Dinamarca.
- 11. Obreshkova D, Pancheva I. 2005. Quality control of organochlorine biocide residues in fructus from sylubam marianum L. Department of chemical pharmaceutics. Bulgaria Priyanka J. v Santosh K. 2010. Indian Sugar. LX: 8, 11-18.
- 12. Thorpe, A. 2000. Effects of habitat fragmentation on salinity and moisture tolerances and the genetic structure of a rare salt marsh plant. San Diego State University, San Diego, CA,
- 13. Trejo-Estrada, S. R., Sepulveda, I. R. y Crawford, D. L., 1998, In vitro and in vivo antagonism of Streptomyces violaceusniger YCED9 against fungal pathogens of turf grass, World J Microbiol Biotechnology 14, 865–872.
- 14. Xu, C., Jameel, H. y Chang, H., 1994, New High Efficiency Peroxide Bleaching Process and its use for ECF sequences, TAPPI Proceedings. Pulping Conference, pp 1331-1343.

OBTENCIÓN DE SALES SABORIZADAS CON CHILE MANZANO Y MASTUERZO DE LA REGIÓN DE TENANCINGO COMO UNA ALTERNATIVA PARA SU PRESERVACIÓN Y DIVERSIFICACIÓN.

Cejudo Cejudo I., Juárez Ortega A J A., Vázquez Fontes C.

Egresada de la licenciatura en gastronomía del Centro Universitario Tenancingo UAEMex. Profesores de la licenciatura en gastronomía del Centro Universitario Tenancingo UAEMex.

RESUMEN

La sal de tierra es una sal poco conocida, consta de un proceso de elaboración complicado y está en peligro de extinción según Édgar Anaya y su investigación "Sal de tierra, riqueza en el lago de Texcoco" (año) ya que es poco usada, pues hay pocos productores de la misma. Entre sus cualidades está el ser libre de yodo, lo que la hace una buena alternativa para personas con hipertensión. El fin de esta investigación fue crear dos sales saborizadas con dos ingredientes de la región de Tenancingo como es el chile manzano y el mastuerzo, con lo cual se pretende reactivar y revalorizar el consumo de la sal de tierra. Ésta investigación pretende colaborar a su divulgación y darle el justo valor que merece este producto. Estas sales son una alternativa para aportar sabor a platos sencillos, logrando conjuntar estos ingredientes de la región.

INTRODUCCIÓN

La sal ha sido protagonista en la cocina durante muchos años y cumple dos funciones principales: resaltar el sabor y aroma de los alimentos y actuar como conservador. La producción de sal en Mesoamérica estuvo influida por la gran diversidad de condiciones geológicas y de técnicas salineras. De esta manera al ser la sal un producto de gran consumo y con diferentes usos, es un ingrediente que permite aprovechar sus propiedades con algunos ingredientes de la región para obtener un producto distinto que pueda ser utilizado dentro de la gastronomía.

El chile manzano es uno de los ingredientes que se producen en el Estado de México, principalmente en las zonas de Coatepec Harinas, Valle de Bravo, Tenancingo, Villa Guerrero y el Oriente del Estado. Es un chile originario de Perú, pero dese hace ya muchos años se cultiva en la región por lo cual se ha vuelto representativo de la gastronomía de Tenancingo y es consumido principalmente en fresco.

Por su parte la planta de mastuerzo se define como una hierba que dura un año, puede ser trepadora o rastrera según las condiciones del entorno. Las hojas son redondeadas y miden alrededor de los 8cm de diámetro. Las flores son vistosas, amarillas, anaranjadas o rojas. (UNAM, 2009)

Esta planta se puede cultivar en casa, en maceta en un balcón o ventana soleada, es resistente a los fríos inviernos, pero se debe cuidar que tenga suficiente humedad ya que de ello depende su supervivencia. De esta se comen sus hojas, semillas y flores, su sabor es un poco picante y con notas a mostaza, muy poca gente sabe que se puede consumir, por lo cual principalmente se cultiva como planta de ornato.

TEORÍA

Sal de tierra

La sal ha jugado un papel importante en la historia de las civilizaciones desde la época antigua, el uso de la sal en la alimentación humana aparentemente se originó en la transición de la vida nómada a la agricultura sedentaria (Williams, 2003 citando a Kaufmann, 1960)

El agua oceánica ha sido y sigue siendo la principal fuente de sal (NaCl) del mundo y se extrae por medio de la evaporación solar, un método antiguo que se pudo originar en el viejo mundo hace unos 3500 años o según las evidencias tal vez tan antiguo como la civilización minoica hace unos 5000 años (Williams, 2003 citando a Bloch, 1963)

La producción de sal en Mesoamérica se vio influenciada por la gran diversidad de condiciones geológicas, geográficas y de técnicas salineras. Las fuentes existentes en la región pueden

dividirse en tres tipos: lagos salineros de tierra adentro, manantiales salitrosos de tierras altas y las orillas de los estuarios costeros. De estas tres zonas se obtenían dos tipos básicos de sal, el tequesquite (mezclas impuras de cloruro de sodio, carbonato de sodio, sulfato de sodio y barro) y el cloruro de sodio "puro".

Los métodos salineros han cambiado hasta cierto punto. Las técnicas de producción se basan en tres principios básicos, cocción de la salmuera, lixiviación de la salmuera a través de tierras salitrosas y evaporación solar. Williams (2003, citando a Kepecs 2002)

Hay evidencias arqueológicas que permiten ubicar los sitios de producción durante el mencionado periodo. La elaboración fue más intensiva en el margen occidental del lago de Texcoco, en los límites norte y sur del centro urbano de Tenochtitlan. La extracción de cloruro de sodio también se llevó a cabo, aunque en menor escala, en el resto de las riberas del lago de Texcoco, y alrededor del lago de Xaltocan. Puede haber alguna base natural para la distribución de esta producción, como la variabilidad en las concentraciones de las sales más apropiadas para el consumo humano, aunque la demanda de la enorme masa urbana de Tenochtitlan fue sin duda un factor importante en el volumen de producción salinera en la periferia de la ciudad, para lograr la máxima proximidad a la mayor concentración de consumidores. Williams (2003)

Alrededor de los lagos de Texcoco, Xaltocan y Zumpango existe una franja de tierra salina de aproximadamente 500-1000 m de ancho, que en la antigüedad fue la principal zona de producción salinera. Aquí se encuentran grandes montículos amorfos de tierra, cubiertos con fragmentos de la abundante cerámica conocida como *Texcoco Fabric Marked* (TFM), un tipo tardío relacionado con la producción salinera de los aztecas. Estos elementos son evidencia de la intensidad de manufactura en la época prehispánica (Williams, 2003 citando a Sanders et al., 1979).

La sal de tierra es una mezcla de tierras, esta se hace salmuera y de esta surgen los diferentes tipos de tequesquite que se conocen, la "sal negra" donde su principal uso es en la preparación de carnes y la sal blanca, esta sal puede ser consumida por pacientes a quienes se les ha prohibido el consumo de la sal de mesa. Esta sal no contiene yodo. (Salinas, Alvarado, Pérez; 2001)

Es decir, ésta sal se obtiene de los lagos, se recolecta la tierra y para separar la tierra de la sal, se usan "pilas", las pilas son montículos de tierra endurecida con una perforación circular y a la vez cónica en la parte superior como un lavabo, ésta cavidad se llena de tierra salada y luego con agua, la cual disuelve la sal y escurre al exterior de la pila a través de un desagüe para después colectarse en una cubeta. El siguiente paso es hervir esta salmuera en una gran bandeja de metal dentro de un horno de adobe calentado con leña, la sal cristalizada y secada toma un color "crema", es menos fuerte (menos poder para salar) que la marina y queda lista para usarse (Anaya s.f).La mejor temperatura para secar la sal era de 60 a 70° C. Williams (2003, citando a Riehm, 1961)

Chile manzano

Se le conoce con diversos nombres -ají, uchu, chile, pimiento-, pero todos pertenecen al género Capsicum (grupo de plantas al que pertenece este fruto y sus variedades) se tienen evidencias de que se originó en el Alto Perú, en la zona que incluye la cuenca del lago Titicaca y lo que hoy es Bolivia. En ello coinciden diversos paleobotánicos. Desde esta zona, y gracias a las corrientes de los ríos y a las aves migratorias, el cápsicum se dispersó por el resto de América del Sur y Central, y posteriormente el mundo entero. En el Perú, los restos arqueológicos más antiguos que comprueban su presencia se hallaron en la cueva Guitarrero, en la provincia de Yungay (Áncash). Estos se remontan a unos 8.000 años antes de nuestra era. Pero no son los únicos. En la dieta del litoral Hay más pruebas arqueológicas que demuestran su uso en el antiguo Perú. Por ejemplo, las tumbas estudiadas en el complejo arqueológico Huaca Prieta (2500 a. C.), en el valle de Chicama (La Libertad). Allí, luego de realizar investigaciones y análisis de restos del aparato digestivo de un agricultor, se encontró que un componente muy importante de su dieta era el Capsicum, además de los productos del mar. También están los hallazgos de chacras hundidas en Guañape, litoral del valle de Virú, pertenecientes a la cultura salinar (400 a. C.-100 a. C.). En estos campos se encontraron cultivos de la variedad de Capsicum conocida como ají mochero, entre otros alimentos (Acurio, s.f)

El chile manzano (Capsicum Pubescens) proviene de la zona andina y llegó a México a principios del siglo XX, donde fue acogido en las regiones del Altiplano Central (Estado de México y Michoacán) y Altiplano Sur (Chiapas). La mayor producción y consumo las encontramos en estas regiones, donde es preparado de manera similar al chile habanero. (México en tu mesa, 2016)

Crece como arbusto grande y puede llegar hasta los 3 metros, su fruto puede ser esférico, cuadrado o cónico, es verde en estado tierno y va adquiriendo tonos de rojo, amarillo y naranja al madurar. Es el ají más picante de este grupo, y el único con semillas negras (Acurio, s.f). No se tienen detectadas variedades y existe una variedad considerable de fenotipos. Se considera una planta perenne ya que existen huertas de hasta 10 años de antigüedad., el periodo de producción estimado es entre 5 y 7 años aproximadamente (Muciño, López, Flores, Chávez, Aquino y Ruiz, 2010)

En el Estado de México, el chile manzano se cultiva principalmente en las zonas de Coatepec Harinas, Valle de Bravo, Tenancingo, Villa Guerrero y el Oriente del Estado. Los principales mercados mayoristas son la Central de Abasto de Iztapalapa, Toluca y Ecatepec. (Espinosa, Ramírez y Figueroa 2014)

Mastuerzo

El mastuerzo (*lepidium sativum*) pertenece a la familia de las Brassicaceae, que incluye vegetales como el berro, el brócoli, la coliflor, la mostaza y el rábano. Estos vegetales son muy apreciados en nutrición gracias a sus reconocidas propiedades antioxidantes (Alcalde y Del Pozo, 2008). El mastuerzo es una planta nativa de los andes peruanos, presente en climas semiseco y templado entre los 2050 y los 3900 msnm. Es cultivada en huertos familiares. Asociada a matorral xerófilo, bosques de encino, pino y juníperus. (UNAM, 2009). El mastuerzo es una planta nativa de los andes peruanos, presente en climas semiseco y templado entre los 2050 y los 3900 msnm. Es cultivada en huertos familiares. Asociada a matorral xerófilo, bosques de encino, pino y juníperus. (UNAM, 2009) también es conocida como capuchina, taco de reina, cardamina o berro de jardín. En el estado de México se le conoce también como martuenzo o mastranso.

El mastuerzo se reproduce fácilmente con semillas, las cuales, una vez establecidas las plantas, se siembran solas en el terreno. Para comenzar se consigue una planta joven de almácigo o en maceta, o se siembran las semillas en una tierra floja y húmeda. Crece mejor cuando tiene por donde trepar. Le gusta tener sol y riego para prosperar, aunque se puede mantener bastante tiempo en condiciones secas. Es sensible a las heladas. Se cultiva en invernaderos principalmente en el Estado de México, Veracruz y Chiapas (INEGI, 1998)

PARTE EXPERIMENTAL

Se aplicaron distintas técnicas de deshidratación a nuestra materia vegetal para que éstos lograran su cometido: saborizar la sal, en el caso del chile manzano, también se quería que éste no agregara picor, sólo el sabor del mismo. Por lo tanto se realizaron diferentes procesos a cada uno que se explican a continuación:

Chile manzano.

- -Selección: Se seleccionaron los chiles que se encontraban en buen estado, que tuvieran una piel lisa, olieran bien, su piel fuera brillosa y estubieran firmes al tacto.
- -Limpieza: se lavaron con agua y jabón para quitar suciedad e impurezas que estos podían traer.
- -Desflemar: su objetivo era quitar el picor del chile, se usaron los cinco métodos para desflemar más conocidos para saber cuál funcionaba mejor. Las cantidades para cada uno de los métodos tomando de referencia ½ kilo de chiles, se muestran en la siguiente tabla:

Método 1	Método 2	Método 3	Método 4	Método 5
----------	----------	----------	----------	----------

Agua 180 MI	Leche 500 MI	Piloncillo 125 Gr	Agua 500 MI	Jugo de limón 120 MI
Vinagre 120 MI		Agua 1 L	Sal 45 Gr	Sal 45 Gr

Método 1: Se cortaron los chiles, se le retiraron las semillas y venas, una vez listos se agregaron a la solución conformada de agua y vinagre, se dejaron por 3 horas y luego se enjuagaron.

Método 2: Se cortaron los chiles, se retiraron las semillas y venas, una vez listos se pusieron hasta que comenzarán a hervir junto con la leche, se dejaron enfriar.

Método 3: Se cortaron los chiles, se retiraron las venas y semillas y se pusieron hasta que empezara a hervir con el agua y el piloncillo, se dejaron enfriar.

Método 4: Se cortaron los chiles, se retiraron las venas y semillas, se realizaron una salmuera con el agua y sal, se agregaron los chiles y se dejaron reposar 8 horas.

Método 5: Se cortaron los chiles, se retiraron las venas y semillas, se mezclaron los chiles con el jugo de limón y sal se dejaron 3 horas.

Una vez que se seleccionó el método más efectivo para desflemar el chile se continuó con la siguiente fase que fue el deshidratado.

Método 1: El chile fue cortado en cuadros de 0.5 Mm y se extendieron a lo largo de la charola y se metieron a hornear a 65°C por 6 horas.

Método 2: El chile fue cortado en cuartos, se les retiró la piel y se metieron a hornear a la misma temperatura durante el mismo curso de tiempo.

Método 3: El chile fue cortado en cuartos y se colocó dentro de la sal de tierra durante dos semanas y se dejó secar al sol.

Mastuerzo

En éste caso solo se necesitó el proceso de deshidratación y molienda, en el caso de deshidratación, la interrogante aquí era qué parte de la planta era la que nos iba a aportar mayor sabor. Por lo tanto se hizo prueba con el tallo, hojas y flores.

Prueba 1: En esta prueba se utilizó solamente el tallo. Se lavó y se retiraron las hojas dejando solamente el tallo, se metió al horno a 65 grados centígrados, durante una hora cincuenta minutos.

Prueba 2: En esta prueba se utilizan las hojas y flores de la planta, se colocan dentro del horno a 65 grados centígrados por dos horas cuarenta y cinco minutos.

RESULTADOS

Chile manzano

Desflemado.

Método 1: Agua y vinagre. Al desflemar nuestros chiles con éste método el vinagre añadió sabor a nuestro chile, haciendo que no fuera un método ideal, ya que se buscaba solo extraer el picor del mismo, pero conservando el sabor.

Método 2: Leche. Este método fue el elegido, ya que la leche al tener un sabor neutral no le añadió nada al chile y logró el cometido que fue extraer el picor del mismo.

Método 3: Piloncillo y agua. No logró su cometido ya que agregaba dulzor al chile y opacaba el sabor del mismo.

Método 4: Agua y sal. En este método el sabor del chile se quedó en la salmuera pues la sal extrajo el agua del mismo, no logrando su cometido

Método 5: Jugo de limón y sal. Al igual que el piloncillo el limón se impregnó en el chile e hizo que no se percibiera el sabor del chile manzano.

Deshidratado

Prueba 1: Durante esta prueba nuestros chiles no lograron deshidratarse por completo

Prueba 2: En ésta prueba sí se logró el cometido, deshidratando por completo los chiles.

Prueba 3: aquí al paso del tiempo la sal tomó un tono amarillo el chile logró deshidratarse sin embargo no se logró el resultado puesto que el chile aún conservaba cierto grado de humedad y la transferencia del sabor fue casi nula.

Mastuerzo

Prueba 1: Los tallos resultaron ser muy fibrosos, por lo tanto no se obtuvo una deshidratación por completo y hacía dificultosa la molienda

Prueba 2: En la prueba con hojas y flores si se logró el cometido y se deshidrataron por completo, haciendo la molienda muy fácil, además de aportar el sabor deseado.

Así pues se obtuvieron las dos sales saborizadas con los ingredientes seleccionados.

CONCLUSIONES

Después de hacer las pruebas de desflemado, se llegó a saber que el mejor método fue el de la leche, al ser un líquido con sabor neutral y rica en grasas favorece la disolución de la capsaicina, no añadió sabor y solo quitó el picor que era lo que se quería. En cuanto al deshidratado después de tres pruebas se encontró el tiempo y corte para lograr la deshidratación óptima y se lograra moler el chile y saborizar la sal.

El mastuerzo fue más fácil de deshidratar, ya que no contenía tanta actividad acuosa (aw) como en el caso del chile, se deshidrató el tallo y las hojas, siendo las hojas los ideales para aportar el sabor ideal a la sal de tierra.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. UNAM. (2009). "Biblioteca Digital de la medicina tradicional". Obtenido de Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana: http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=mastuerzo&id=7622
- 2. Williams, E. (2015). "Sal de tierra de tierra: etnoarqueología de la producción salinera en el occidente de México". Colegio de Michoacán, Secretaría de Cultura del estado de Jalisco.
- 3. Anaya, E. (s.f.). *UAM.* Obtenido de http://www.izt.uam.mx/newpage/contactos/anterior/n67ne/sal-tierra.pdf
- 4. Salinas, J., Alvarado, R. R., & Pérez, M. (2001). "El último salinero de México". *Jornada*, obtenido de. http://www.jornada.unam.mx/2001/11/08/052n1con.html.
- Acurio, G. (s.f). "Ajíes peruanos, sazón para el mundo". Ed Sociedad peruana de Gastronomía.
- 6. México en tu mesa. (2016). Obtenido de http://mexicoentumesa.mx/productos/chile-habanero.html
- 7. Mociño, S., López, M., Flores, F., Chávez, J., Aquino, J., Ruiz, M. (2010). "Obtención de variedades de chile manzano para el Estado de México I fase". SEDAGRO.
- 8. Espinosa. T. L. E, Ramírez. A. O y Figueroa. H, E. (2014). "*Tipología del mercado de chile manzano en el Estado de México*". Obtenido de https://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/58900/DEBATE%20ECONOMICO, %20TIPOLOGIA%20DE%20MERCADO.pdf?sequence=1
- 9. INEGI. (1998). "La horticultura Ornamental de México". Aguascalientes: Colegio de postgraduados.

INOCULACIÓN DE TRICHODERMA HARZIANUM EN ZEA MAYS A DOSIS 50% DE FERTILIZANTE NITROGENADO

Dulce Daniela Tavera-Zavala, Juan Manuel Sánchez-Yáñez, Liliana Márquez Benavides.

Microbiologia Ambiental, Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México

Instituto de Investigaciones Agrícolas Pecuarias y Forestales

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México

Correspondencia: syanez@umich.mx).

RESUMEN

La producción de *Zea mays* requiere de fertilizante nitrogenado (FN), que en exceso provoca pérdida de fertilidad del suelo. Una solución para reducción y optimización de la dosis del FN en *Z. mays* es *Trichoderma harzianum* que convierte exudados de semilla y raíz en sustancias promotoras de crecimiento vegetal (SUPOCEVE), que optimizan la absorción del FN. El objetivo de esta investigación fue analizar el efecto de 3 dosis de inoculo de *T. harzianum* en *Z. mays* al 50% del FN. El experimento se realizó bajo un diseño experimental de bloques al azar, 5 tratamientos y 4 repeticiones. Las variables-respuesta empleadas en esto ensayo fueron: altura de planta (AP) y longitud radical (LR), peso fresco y seco aéreo/radical (PFA/PFR)/(PSA/PSR), los datos se validaron por ANOVA/Tukey. Los resultados mostraron que *Z. mays* con *T. harzianum* dosis 40 g tuvo un 92% de germinación valor estadísticamente diferente al 81% de *Z. mays* con el 100% de FN o control relativo. En plántula *Z. mays* con *T. harzianum* a dosis 40 g causo: 0.32 g de PSA, y 0.25 g de PSR; ambos valores con diferencia estadística a 0.21 g de PSA y 0.19 g de PSR presentado por *Z. mays* alimentado solo con FN 100%. Lo anterior apoya que *T. harzianum* en *Z. mays* favoreció la absorción del FN al 50% sin afectar su crecimiento.

Palabras clave: Z. mays, fertilizante nitrogenado, T. harzianum, fitohormonas, suelo.

INTRODUCCIÓN

La gramínea Zea mays (maíz) es un grano base para la alimentación en México y en el mundo, que necesita fertilizante nitrogenado (FN) como NH₄NO₃ para su producción, sin embargo la aplicación no regulada del FN, ocasiona perdida de la productividad del suelo. En la búsqueda de alternativas de solución y reducción del consumo excesivo de FN, se emplean hongos promotores de crecimiento vegetal (HOPOCEVE), como *Trichoderma harzianum*, que tiene una acción inductora de la germinación de las semillas, que a partir de exudados de semilla y raíz, cuya composición son compuestos de bajo peso molecular: aminoácidos, azucares simples y ácidos orgánicos, sintetiza sustancias promotoras del crecimiento vegetal (SUPOCEVE) como las auxinas, que regulan el crecimiento vegetal del patrón radical, incrementan su longitud e inducen a un

mayor número de raíces laterales y pelos de raíces, consecuentemente se aumenta la absorción radical del FN cuando este se reduce (Harman *et al.*, 2004).

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en el invernadero del laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH.

2.1 Preparación del sistema semihidropónico de Jarras de Leonard

El suelo se solarizó a 70° C/48 h y se tamizó con una malla del No. 20, un 1.0 kg suelo se colocó en el contenedor superior de cada jarra de Leonard, mientras que el FN o agua en el reservorio de la parte inferior (Romero-García *et al.*, 2016). La solución mineral con NH₄NO₃ fue preparado a partir de fertilizante comercial ULTRASOL® en concentración 1.0 y 0.5 g/L con un pH ajustado 6.8–7.0.

2.2 Inoculación de diferentes dosis de *Trichoderma harzianum* en semillas de *Zea mays*Las semillas de *Z. mays*, se desinfectaron con NaCIO (hipoclorito de Sodio) (Clorox 0 0.6% (p/v) durante 2.5 min, se enjuagaron 6 veces con agua estéril luego se sumergieron en alcohol 70%/5 min, se enjuagaron 5 veces más con agua estéril, entonces por cada 100 gramos de semillas de *Z. mays* se trataron con 20, 30 y 40 g de *T. harzianum* respectivamente, la tabla 1 describe el diseño experimental factorial, que muestra que se sembraron semillas de *Z. mays* irrigadas solo con agua o control absoluto (CA), semillas alimentadas con FN a dosis del 100% o control relativo (CR) y semillas de *Z. mays* inoculadas con tres dosis de *T. harzianum* y FN al 50%, entonces *Z. mays* se dejó crecer, a los 30 y 60 días se medió su fenotipia: AP y LR ambas medidas tomadas con una regla calibrada, para la AP se consideró desde la base del cuello de la planta hasta el ápice máximo de crecimiento, para la LR se tomó desde el cuello de la planta a la longitud máxima de la raíz principal. También fueron registrados los valores de biomasa: PFA y PFR donde la parte aérea y radical de la planta recién cortada se pesó en una balanza electrónica y para PSA y PSR la planta se secó en un horno a 70° por 48 horas y se pesó (Romero-García *et al.*, 2016). Los datos

Tabla 10. Diseño experimental para evaluar el efecto de tres dosis de *Trichoderma harzianum* en $Zea\ mays\ a\ 50\%\ de\ NH_4NO_3.$

experimentales se validaron por Tukey HSD P<0.05% con el programa estadístico Statgraphics

N° de tratamiento	Semillas tratadas con	Zea mays	NH ₄ NO ₃ (nitrato de amonio) (g)
1	Agua (Control Absoluto)	+	-
2	Fertilizante mineral (Control Relativo)	+	1
3	Trichoderma harzianum 20g/100g semilla	+	0.5
4	Trichoderma harzianum 30g/100g semilla	+	0.5
5	Trichoderma harzianum 40g/100g semilla	+	0.5

^{(+) =} agregado, (-) = no agregado

Centurion.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la inoculación de tres dosis de *Trichoderma harzianum* en el porcentaje de semillas de *Zea mays.*

La tabla 2 muestra la germinación de las semillas de *Z. mays* inoculadas con *T. harzianum*, el mayor porcentaje se registró con la dosis 40 g de inoculo/100 g de *Z. mays* con un 92% de germinación, este valor sugiere que los exudados de semilla de *Z.mays* fueron convertidos en giberelinas por *T. harzianum*, las que inducen la germinación de las semillas al terminar con su latencia (Sadsk *et al.*, 2016). La síntesis de la giberelina es resultado del efecto espermósfera, ya que al ser cultivada la semilla, excretó exudados como la fructosa (Schiltz *et al.*, 2015) lo que ayudó a activar la cepa de *T. harzianum* inoculada en la semilla antes de la siembra. La aparición de un mayor número de primordios de tallo y raíz sugiere que la dosis 40 g de *T. harzianum*/100 g

Z. mays fue capaz de convertir exudados de semilla en fitohormonas a una concentración suficiente como para producir cambios en los tejidos de esta, aumentando el porcentaje de germinación al 92% valor estadísticamente diferente comparado con el 81% de germinación de las semillas de Z. mays sin inocular.

Tabla 2. Efecto de la inoculación de tres dosis de *Trichoderma harzianum* en el porcentaje de germinación de semillas de *Zea mays* al 50% de NH₄NO₃.

Zea mays 100 g	Días a emergencia
Agua (Control absoluto)	10.23 ^{a*} ±0
Fertilizante nitrogenado 100% (Control relativo)	10.55 ^b ±0
Trichoderma harzianum 20 g	10.90°±0
Trichoderma harzianum 30 g	11.15 ^e ±0
Trichoderma harzianum 40 g	11.05 ^d ±0

^{*}Letras distintas indican diferencia estadística al 0,05% según Tukey.

Efecto de la inoculación de tres dosis de *Trichoderma harzianum* en *Zea mays* a plántula al 50% de fertilizante nitrogenado.

La tabla 3 muestra un efecto positivo de la inoculación de T. harzianum en Z. mays a 50% de FN, siendo la dosis 40 g de inoculo/100 g de semilla, la cual el hongo indujo el mayor aumento en la fenología con una AP de 37.59 cm, LR de 25.59 cm, el aumento en la longitud aérea y radical de la plántula sugiere que T. harzianum convirtió los exudados de raíz de Z. mays en auxinas, que estimulan la elongación del tallo e inducir la formación de raíces, lo que permite una mayor exploración en el suelo para la absorción de FN (Forde y Lorenzo, 2001, Gravel et al., 2007). Los valores de 100 g de Z. mays con T. harzianum 40 g fueron estadísticamente diferentes en comparación a 34.34 cm de AP y 19.94 cm de LR observados en Z. mays sin inocular y alimentado con FN al 100%. En tanto que en la tabla 4 se observa el efecto de 40 g de T. harzianum/100 g Z. mays en función de la biomasa fresca con un PFA de 4.09 g, PFR de 3.84g; la figura 4 muestra también el resultado de la inoculación de 40 g del hongo/ 100 de semilla en el PSA de 0.32 g y PSR de 0.2 g, el aumento en la biomasa radical apoya la presencia de fitohormonas como auxinas sintetizadas por T. harzianum a partir de las sustancias provenientes de la fotosíntesis de Z. mays como azucares y aminoácidos; estas fitohormonas regularon positivamente la morfología del sistema radical, con lo que se mejora la absorción del FN por la planta (Forde y Lorenzo, 2001, Gravel et al., 2007) pesar de su reducción al 50% de la dosis recomendada para la gramínea. El efecto benéfico de la inoculación de T. harzianum 40 g en Z. mays se apoya al obtener diferencia estadística comparado con el PFA de 2.59 g, PFR de 1.98 g, PSA de 0.21 g y PSR de 0.19 g registrados en su homologo Z. mays sin inocular y alimentado con la dosis recomendada de FN.

Tabla 3. Efecto de la inoculación de tres dosis de *Trichoderma harzianum* en la fenología de *Zea mays* a plántula al 50% de NH₄NO_{3.}

Zea mays 100 g	Altura plántula (cm)	Longitud radical (cm)
Agua (Control absoluto)	34.44 ^{b*} ±2.37	20.63 ^b ±1.16
Fertilizante nitrogenado 100% (Control relativo)	34.34 ^b ±2.23	19.94 ^b ±2.64
Trichoderma harzianum 20 g	34.19 ^b ±4.44	20.38 ^b ±3.20
Trichoderma harzianum 30 g	31.95 ^b ±2.89	23.26 ^a ±2.18
Trichoderma harzianum 40 g	37.59 ^a ±3.02	25.59 ^a ±3.19

^{*}Letras distintas indican diferencia estadística al 0,05% según Tukey.

Tabla 4. Efecto de la inoculación de tres dosis de *Trichoderma harzianum* en la biomasa de *Zea mays* a plántula al 50% de NH₄NO₃

Zea mays 100 g	Peso fresco aéreo (g)	Peso fresco radical (g)	Peso seco aéreo (g)	Peso seco radical (g)
Agua (Control absoluto)	2.45 ^{c*} ±0.52	1.63°±0.42	0.20 ^b ±0.03	0.15 ^c ±0.01
Fertilizante nitrogenado 100% (Control relativo)	2.59 ^b ±2.59	1.98 ^c ±1.98	0.21 ^b ±0.03	0.19 ^{bc} ±0.03
Trichoderma harzianum 20 g	3.15 ^b ±0.45	2.23°±0.55	0.24 ^b ±0.05	0.22 ^{ab} ±0.0
Trichoderma harzianum 30 g	3.11 ^a ±0.55	2.89 ^b ±0.62	0.24 ^b ±0.04	0.25 ^a ±0.06
<i>Trichoderma harzianum</i> 40 g	4.09 ^a ±0.74	3.84°±0.74	0.32 ^a ±0.05	0.25 ^a ±0.05

^{*}Letras distintas indican diferencia estadística al 0,05% según Tukey.

Efecto de la inoculación de tres dosis de *Trichoderma harzianum* en *Zea mays* a floración al 50% de fertilizante nitrogenado.

La tabla 5 muestra la respuesta positiva de Z. mays en su fenotipia a nivel de floración de la inoculación de 30 g de T. harzianum/100 g de semilla; donde la LR fue de 31.38 cm y la AP de 70.50 cm, también se reporta un efecto positivo de la dosis 40 g T. harzianum/100 g semilla con una LR de 27.38 cm y AP de 67.13 cm, estos valores sugieren que T. harzianum convirtió los exudados de raíz en SUPOCEVE, lo que permitió un mejor desarrollo de los tejidos meristematicos de Z. mays, que se refleja en su aumento de AP y LR comparados con los valores 34.34 cm de AP y 19.94 cm de LR de la gramínea sin inocular y alimentada con FN al 100%. La tabla 6 señala el efecto benéfico de T. harzianum en Z. mays sobre la biomasa fresca donde se registró para la dosis 40 g T. harzianum/100 g semilla un PFA de 18.69 g y PFR de 11.59 g, en tanto que la dosis de 30 g de *T. harzianum*/100 g, de semilla reportó un PFA de 18.39 g y PFR de 11.71. La tabla 6 señala también el efecto de la inoculación respecto la biomasa seca, la dosis 40 g hongo/ 100 g Z. mays obtuvo un PSA de 1.98 g y PSR de 1.29 g mientras que la dosis de 30 g/100 g Z. mays tuvo un PSA de 1.93 g y PSR de 1.41 g estos resultados señalan que T. harzianum transformó los compuestos orgánicos derivados de la fotosíntesis de Z. mays en SUPOCEVE como auxinas y giberelinas, que favorecen la floración e induciendo a un mayor crecimiento del desarrollo radical, el cual incremento su capacidad de absorción radical del FN causando un mejor crecimiento durante el ciclo vegetal de la planta. El efecto positivo de la inoculación se demuestra al tener una diferencia estadística comparado los valores con los 21.38 cm de LR y 62.63 cm de AP, 13.34 g de PFA, 6.99 g de PFR, 1.65 g de PSA y 1.00 g de PSR, reportados para Z.mays alimentado al 100% con FN y sin inocular. Los resultados apoyan un efecto benéfico de las tres dosis propuestas de T. harzianum aunque a mayor dosis de inoculo se indujo mejor crecimiento vegetal (Gupta et al., 2013), en esta investigación la dosis 40 g de inoculo, causo el máximo efecto benéfico a lo largo del ciclo vegetativo de Z. mays sugiriendo que la planta no solo no vio afectado su crecimiento por la reducción del FN, si no que se logró un mejor crecimiento que la planta alimentada con el FN al 100%.

Tabla 5. Efecto de la inoculación de tres dosis de *Trichoderma harzianum* en la fenología de *Zea mays* a floración al 50% de NH₄NO₃

Agua (Control absoluto)	56.00 ^{c*} ±6.80	18.50 ^d ±3.33
Fertilizante nitrogenado 100% (Control relativo)	62.63 ^{bc} ±9.36	21.38 ^{cd} ±2.66
Trichoderma harzianum 20 g	57.88°±8.21	40.63 ^a ±5.11
Trichoderma harzianum 30 g	70.50 ^a ±4.89	31.38 ^b ±8.56
Trichoderma harzianum 40 g	67.13 ^{ab} ±6.59	27.38 ^{bc} ±7.20

^{*}Letras distintas indican diferencia estadística al 0,05% según Tukey.

Tabla 6. Efecto de la inoculación de tres dosis de *Trichoderma harzianum* en la biomasa de *Zea mays* a floración al 50% de NH₄NO₃

Zea mays 100 g	Peso fresco aéreo (g)	Peso fresco radical (g)	Peso seco aéreo (g)	Peso seco radical (g)
Agua (Control absoluto)	9.39 ^{c*} ±2.54	4.38 ^c ±1.45	1.14 ^b ±0.39	0.58 ^b ±0.15
Fertilizante nitrogenado 100% (Control relativo)	13.34 ^b ±4.06	6.99 ^{bc} ±3.18	1.65 ^{ab} ±0.47	1.00 ^{ab} ±0.43
Trichoderma harzianum 20 g	12.1 ^{bc} ±3.22	9.21 ^{ab} ±3.65	1.81 ^a ±0.77	1.00 ^{ab} ±0.49
<i>Trichoderma harzianum</i> 30 g	18.39 ^a ±3.73	11.71 ^a ±2.30	1.93 ^a ±0.49	1.41 ^a ±0.62
Trichoderma harzianum 40 g	18.69 ^a ±4.31	11.59 ^a ±2.15	1.98 ^a ±0.42	1.29 ^a ±0.42

^{*}Letras distintas indican diferencia estadística al 0,05% según Tukey.

CONCLUSIONES

El uso *de Trichoderma harzianum* se ha limitado como agente de control biológico sobre hongos fitopatógenos, sin embargo también tiene un papel como MOPOCEVE de *Z. mays.* Los resultados sugieren de manera indirecta que la dosis 40 g de *T. harzianum/* 100 g *Z. mays* fue suficiente para convertir los exudados de semilla y raíz en SUPOVECE que regulan positivamente el crecimiento del sistema radical y mejoran la absorción del FN, para reducir el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados químicos en el cultivo de la gramínea que causa la perdida de fertilidad del suelo y contaminación ambiental.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto 2.7 (2017) de la Coordinación de Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y a BIONUTRA S.A. de C.V., Maravatio, Michoacán, México.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Forde B., Lorenzo H. 2001. The nutritional control of root development. Plant and Soil 232: 51–68.
- Gravel V., Antoun H., Tweddel R. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). Soil Biology & Biochemistry 39: 1968–1977.
- 3. Gupta V., Schmoll M., Herrera-Estrella A., Upadhyay R., Druzhinina I., Tuohy M., 2014. Biotechnology and biology of *Trichoderma*. Ed. Elsevier. Polonia. Capitulo 32, Pág. 415-425. ISBN 978-0-444-59576-8.
- 4. Harman G., Howell C., Viterbo A., Chet I., Lorito M., 2004. *Trichoderma* Species-Opportunistic, Avirulent Plant Symbionts. Nature Review Microbiology 2: 43-56.

- 5. Romero-García V.E., García-Ortiz V. R., Hernández-Escareño J.J., Sánchez-Yáñez J.M. 2016. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a microorganismos promotores de crecimiento vegetal. Scientia Agropecuaria 7:313-319.
- 6. Sadsk S., Flah I., Ekhlas A. 2016. Effect of gibberellic acid and *Trichoderma spp* efficiency on seeds germination, speed percentage, the activity of peroxidase and amylase enzyme of two eggplant (Solanum melongena) Hybrids. International Journal of Multidisciplinary and Current Research 4: 1112-1114.
- 7. Schiltz S., Gaillard I., Pawlicki-Jullian N., Thiombiano B., Mesnard F., Gontier E. 2015. A review: what is the spermosphere and how can it be studied? Journal of Applied Microbiology 119: 1467-1481.

ROL DE LA GANADERÍA EN EL CAMBIO CLIMÁTICO: EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO

Paulina Elizabeth Pedraza Beltrán y Gloria Stefanny Hernández Pineda

Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal CENIDF y MA-INIFAP, 2 Universidad Autónoma del Estado de México. pedraza.paulina@inifap.gob.mx

RESUMEN

Recientemente ha crecido la preocupación a nivel global acerca del cambio climático y calidad del aire por lo que se han realizado diversas evaluaciones de la contribución de gases de efecto invernadero (GEI) al medio ambiente. La agricultura contribuye significativamente a la emisión de: dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄), óxido nitroso (N₂O) y amonio (NH₃). Se considera que el CO₂ es el más importante, no obstante, el potencial de calentamiento del CH₄ es 25 veces mayor, puesto que, permanece por más tiempo en la atmosfera. Este hecho hace que sea de mayor importancia. Las principales fuentes de emisión de CH4 en la agricultura son: la fermentación entérica, excretas de animales, cultivos de arroz y quema de cultivos. En el 2012 se estimó que el ganado produce cerca del 53% de los gases de efecto invernadero dentro de la categoría Agricultura, representando aproximadamente 87.5 millones de tonelada de CO₂ eg. Los rumiantes, principalmente el ganado bovino, búfalos, ovinos y caprinos, producen cantidades significativas de CH₄ por medio de su digestión anaerobia, también conocido como fermentación entérica. Por otra parte, se han desarrollado técnicas para la cuantificación de estos gases, las más importantes son: cámaras de respiración y SF6. Además, se han realizado esfuerzos para disminuir su emisión, como la adición de metabolitos secundarios en la dieta, uso de inhibidores y manejo de los animales. Esta revisión da cuenta de la importancia de la emisión de CH₄ por la fermentación entérica, su contribución al medio ambiente y los esfuerzos que se han realizado para desarrollar técnicas para su cuantificación y mitigación

INTRODUCCIÓN

El crecimiento demográfico, el aumento de la riqueza y la urbanización son factores trascendentales para el incremento de la demanda de productos de origen animal (FAO, 2017), lo que ha provocado un efecto negativo al medio ambiente, este efecto ha generado preocupación a nivel global, por lo que se han sumado esfuerzos por disminuirlo y se ha vislumbrado una producción más sustentable. Lo anterior, se ha impulsado a crear nuevas líneas de investigación acerca de los mecanismos de producción de ciertos gases de efecto invernadero (GEI) derivados de los sistemas de producción, además, al desarrollo de nuevas técnicas de medición de GEI y a desarrollar estrategias de mitigación que aminoren el impacto sobre el medio ambiente. El sector agropecuario, proporciona alimentos de alto valor nutrimental, pese a que juega un papel importante en el cambio climático y en el uso de los recursos naturales. Se estima que la producción mundial de GEI debido a la agricultura es de aproximadamente 18% de las emisiones antropogénicas anuales (Knapp et al 2013). La ganadería contribuye con aproximadamente 53% de emisiones de metano (CH₄) y del óxido nitroso (N₂O) dentro de la categoría de agricultura a nivel global debido a la fermentación entérica del animal y a las emisiones derivadas de las excretas, el resto es asociado a cultivos forrajeros destinados a la producción ganadera y deforestación debido al cambio de uso de suelo (EPA, 2011). La ganadería, principalmente los rumiantes, juegan un papel importante, ya que convierten forrajes que el ser humano no puede aprovechar, en carne o leche de alta calidad, gracias a sus enzimas y microorganismos ruminales (Gill et al., 2010). Por tal motivo, se han generado diversas estrategias de mitigación y se han desarrollado nuevas técnicas de medición de GEI, las cuales se han calibrado de manera tal, que aseguren la precisión y exactitud de las mediciones y permitan realizar un inventario nacional para cada país. Entre las metodologías más usadas están el uso de cámaras de respiración completas o de cabeza (pueden ser de circuito abierto o de circuito cerrado), túnel de polietileno, con el uso de trazadores de gas (SF₆), Balance de masa micrometeorológico, así como sensores infrarrojos

(Johnson y Jonhson, 1995; Kebreab et al., 2006; Storm et al 2012; Utsumi et al., 2011). Estos métodos se han adaptado según las necesidades de cada país y cada sistema de producción, no obstante, se considera que las cámaras de respiración son el método más preciso y ha sido usado para validar otros métodos. Actualmente, se han desarrollados algunas estrategias de mitigación de GEI producido por el ganado, las cuales se han clasificado en tres grupos 1. Modificaciones en la dieta, 2. Uso de inhibidores y 3. Modificaciones genéticas para seleccionar ganado más eficiente en su metabolismo. Así, esta revisión dará cuenta de la importancia de la contribución de GEI debido a la ganadería, su contribución al medio ambiente y los esfuerzos que se han realizado para desarrollar técnicas para su cuantificación y mitigación.

TEORÍA

Contribución de gases de efecto invernadero al medio por la ganadería

La población mundial de rumiantes produce cerca de 77,000,000 toneladas de CH₄ anualmente, las cuales representan cerca del 14% de las emisiones atmosféricas totales de este gas (Patra, 2012). Recientemente, se ha reconocido la importancia del CH₄ como uno de los GEI y se han conducido estudios para precisar su contribución en el fenómeno de calentamiento global. Las mediciones en la concentración atmosférica de este gas en diferentes épocas, ha permitido mostrar un incremento de 1% por año en las últimas décadas (Minami y Takata, 1997; Battle et al 1996). El CH₄ atmosférico es producido por una amplia variedad de procesos naturales y antropogénicos. Cerca del 70% de la producción de CH₄ es a partir de las fuentes antropogénicas y el 30% de las fuentes naturales. Se estima que la agricultura es responsable de las dos terceras partes de las fuentes antropogénicas. La actividad ganadera, está íntimamente relacionada con factores naturales y con la economía de cada país, Además, es responsable del 53% (Charmley et al., 2016) del total de CH₄ emitido por la agricultura. Dichas emisiones se derivan de los procesos respiratorios en forma de CO2. Del mismo modo, los rumiantes, y en menor medida los monogástricos emiten CH₄ como parte del proceso digestivo donde ocurre la fermentación microbiana de los alimentos fibrosos. El estiércol animal también es fuente de emisiones de CH₄, CO₂ y N₂O, dependiendo el grado de emisión de la modalidad de producción y de su manejo (Cassandro et al., 2013). Los rumiantes poseen un sistema digestivo que les permite aprovechar materias primas que otras especies no pueden consumir, ya que tienen la capacidad de convertir el material fibroso en alimentos de alta calidad nutritiva como la carne y/o leche. El alimento que el animal ingiere entra al rumen y allí se fermentan parcialmente, produciendo piruvato, AGV, CH₄, células microbianas y CO2. Los AGV son absorbidos en su mayoría a través de la pared ruminal y los gases son expulsados mediante el eructo (Blas et al., 2008). La producción de CH₄ en la naturaleza se da principalmente por dos vías:

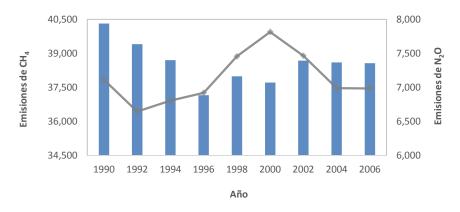
 $4H2 + CO2 \rightarrow CH4 + 2H20$ Ecuación 1 $CH3CO0^- + H \rightarrow CH4 + CO2$ Ecuación 2

Se estima que, en los sistemas de producción tecnificados, la producción anual de CH4 se encuentra entre 83,799 a 175,978 L/vaca lechera (Cassandro et al., 2013), lo que representa una emisión de 230 a 482 L/vaca/d, no obstante, se ha reportado producción mayor a 1000 L/vaca/d (Arndt et al., 2015). La producción anual de CH₄ producido por ovinos es de 20,111 L/d que representa una producción diaria de 55 L/ovino/d (Ribeiro-Pereira et al., 2015). India y Brasil son los países con mayor contribución de CH₄ entérico producido por vacas con 20,250 y 14,385.5 X 10¹² L/año. Brasil, India y Estados Unidos son los principales contribuidores de CH₄ entérico producido por ganado de carne con una producción anual de 13,408, 12,011 y 7,123 X10¹² L respectivamente (Thorpe, 2009). La liberación de CH₄ vía eructo en el ganado empieza aproximadamente a las cuatro semanas de vida, cuando el alimento sólido comienza a ser retenido en el retículo-rumen, incrementándose la fermentación de gases a medida que este se va desarrollando (Carmona et al., 2005). El CH4 es producido en el rumen como resultado de la actividad de un grupo de bacterias metanogénicas (Archaea), que forman parte, junto con bacterias, protozoos y hongos de un diverso ecosistema microbiano hallado en el rumen, la generación de este gas no es realmente el objetivo de las archaeas, en realidad la función de este proceso metabólico es la obtención de energía en forma de Adenosín Trifosfato (ATP), o de moléculas destinadas para la biosíntesis. Esta reacción se logra a partir de CO2 y de hidrógeno (H₂), donde el CO₂ es un aceptor de electrones que es reducido gracias a los electrones suministrados por H₂ (Shimada, 2009). Cabe destacar que la metanogénesis es un proceso importante en el rumen debido a que ayuda a mantener la presión del ambiente ruminal lo cual favorece la degradación de carbohidratos de las paredes celulares, por lo que no se puede eliminar este proceso, pero si se puede lograr un uso más eficiente de la energía y redireccionarla a la producción de carne y/o leche.

Primeras aproximaciones en México para medir gases de efecto invernadero debido al ganado bovino

En México existe poca información acerca de las emisiones de GEI al medio por la fermentación entérica del ganado respecto a otros países. Aunado a un lento desarrollo de nuevas metodologías para estimar las emisiones de GEI producidos por la ganadería, aún existe incertidumbre en el inventario de GEI producidos por las actividades ganaderas puesto que se han encontrado diferencias significativas entre los factores propuestos por González y Ruíz-Suárez (1995), los valores reportados por el IPCC 1997, 2000 y 2009, los resultados de Rendón-Huerta et al., 2014 y de Castelán-Ortega et al., 2014, lo que sugiere desarrollar más estudios en diferentes condiciones climáticas, utilizando diferentes dietas y nuevas metodologías. El primer reporte de la contribución de CH₄ debido a la ganadería en México, fue en 1990 en el Inventario Nacional de Gases de efecto Invernadero (INE, 1995), en donde se reportan emisiones de 1.89 teragramos (Tg) de CH₄, de los cuales 1.85 Tg derivan de la ganadería. La fermentación entérica aportó 1.62 Tg y las excretas 0.025 Tg de CH₄. Para calcular el inventario nacional de emisiones de GEI en 1996, el INE utilizó la metodología propuesta por el Panel Intergubernamental Sobre el Cambio Climático (IPCC, 1994) usando el nivel 1, el cual usa un factor de emisión que se calculó a partir del promedio de CH₄ producido por ganado en otros países, principalmente países desarrollados. Posteriormente, González y Ruiz-Suárez (1995) realizaron una modificación a la metodología usada para estimar el Inventario Nacional de CH₄, estos autores, utilizaron datos de agricultura, censos de población de ganado, crecimiento poblacional y datos macroeconómicos. Las emisiones fueron calculadas a partir del tamaño del animal, la cantidad de comida y de la producción de leche en el caso de las vacas, estos autores estimaron que el ganado emitió cerca de 1.52 Tg de CH₄ debido a la fermentación entérica en 1990, no obstante, estos autores no consideraron la calidad de la dieta del ganado principalmente en la región del trópico mexicano en donde la dieta tiene alto contenido de carbohidratos estructurales, lo cuál ha sido relacionado con altas producciones de CH₄ debido a la fermentación entérica de rumiantes (Moe y Tirrell, 1979). En 1997, Ruíz-Suárez y Gonzales-Ávalos realizan una modificación a la metodología propuesta por el IPCC (1994) y se estima el inventario de CH₄ debido a la ganadería, estos autores, clasificaron al ganado por edad y peso en cuatro regiones de México y estimaron el consumo de energía con base en el peso de los animales, además realizaron una simulación de la tendencia de emisiones de CH₄ de 1990 a 2010, considerando el crecimiento de la población del ganado. Estas estimaciones distan de lo que reportaron Rendón-Huerta et al. (2014) para ese mismo año. Por ejemplo, Ruíz-Suárez y Gonzales-Ávalos (1995) estimaron una producción de CH₄ debido al ganado lechero de 288 giga gramos (Gg), el cuál es 17.5%, 32.7% y 69.4% mayor de los resultados encontrados por Rendó-Huerta (2014) cuando hizo la estimación usando la metodología IPCC Nivel II, Moe y Tirell (1979) y el modelo de simulación COWPOLL respectivamente. Así mismo, distan de los resultados obtenidos por Castelán-Ortega et al. (2014), quienes realizaron un modelo de simulación que considera los requerimientos de energía para mantenimiento, crecimiento y producción en vacas y no vacas (categoría OTROS), la estimación de la producción de CH₄ entérico en este estudio se realizó utilizando los modelos estadísticos propuestos por Moe y Tirell (1979) para simular región de clima templado y el de Kurihara () para simular las emisiones de la región tropical, estos autores reportan un inventario de 2.028 Tg para un inventario de 23.3 millones de cabezas de ganado, muy diferente a los 2.62 Tg propuestos por Ruíz-Suárez y Gonzales-Ávalos (1997) quienes predijeron un crecimiento de la población similar al de la población humana, sin embargo, el crecimiento de población no fue así, el Censo de Agricultura (1997) demostró que el inventario no sólo no creció, sino que disminuyó el número de cabezas de ganado de 31.1 millones de cabezas en el 2005 a 23.2 millones de cabezas en el 2010 (INEGI, 2007), muy diferente a los 70 millones de cabezas de ganado estimados para el 2010 por Ruíz-Suárez y Gonzales-Ávalos (1995). En 2006, las emisiones de CH₄ reportadas en la cuarta comunicación nacional ante la Convención Marco de las Naciones Unidas para el periodo 1990-2006 representan un 86% de la categoría y las de N₂O el 15% restante (Cuadro, 1). Así mismo, se aprecia una disminución a una tasa anual de 0.3% en las emisiones de la categoría, de 47,427.5 a 45, 552.1 Gg. La subcategoría que más contribuyó a las emisiones en CO_2 eq. fue la de fermentación entérica, a pesar de que disminuyó de 38,802.6 Gg en 1990 a 37,180.9 Gg en 2006.

Figura1. Reporte de las emisiones de CH₄ (Gg de CO₂ eq.) de la categoría Agricultura en México por la Comisión Intersecretarial de Cambio Climático. Barras indican emisiones de CH₄ y línea indica emisiones de N₂O



Elaborado con datos de la cuarta Comunicación ante la Convención Marco de las Naciones Unidas

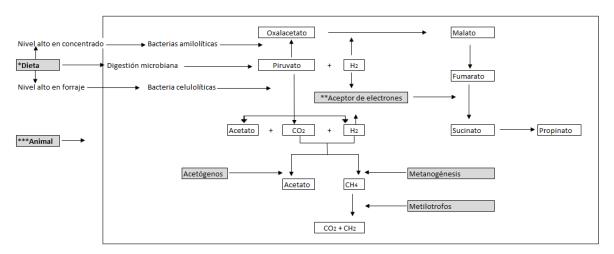
Canúl et al. (2017) mencionan que existen pocas instalaciones para medir la emisión de CH₄ *in vivo*. Actualmente, existen siete cámaras de respiración en México, las dos primeras fueron construidas en 2013 utilizando materiales disponibles a nivel local, estas cámaras están localizados en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de Yucatán, el funcionamiento de las cámaras se evaluó utilizando ganado Bos indicus, de la raza Nelore, alimentado con pasto de Taiwán (*Pennisetum purpureum*) y un concentrado con 18 % de proteína cruda, estos autores encontraron que la producción de CH₄ medido *in vivo*, fue de 173.2 L/cabeza/d, mientras que el factor de emisión fue de 17.48 L de CH₄/kg de materia seca consumida.

Posteriormente, se construyeron tres cámaras en el Estado de México, una de ellas de tipo head box, las cuales se encuentran en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, ahí se determinaron los factores de emisión del ganado de la raza Holstein (Pedraza-Beltrán et al., 2016). Estos autores, utilizaron vacas adultas de 643 kg peso vivo y una producción de leche de 30 kg/d, las vacas fueron alimentadas con ensilado de maíz: alfalfa a una proporción 50:50 y concentrado con 18% de proteína cruda, la emisión de CH₄ fue de 399 L/cabeza/d. Estos resultados distan con lo reportado anteriormente por Ruíz-Suárez y Gonzales-Ávalos (1997) y con los factores de emisión utilizados por el INECC (2013) para realizar el Inventario Nacional de Emisión de GEI, Por ejemplo, Ruíz-Suárez y Gonzales-Ávalos (1997), reportan una emisión de 130, 197 y 270 L/cabeza/d en vacas lecheras y de 121, 180 265 L/cabeza/d en ganado que no es vaca en estabulación, semi-estabulación y pastoreo respectivamente. Por otra parte, Castelán-Ortega et al. (2014), encontraron una emisión de CH₄ de 270 L/cabeza/d producido por las vacas en la región de clima templado y de 316 L/cabeza/d para otro tipo de ganado en clima tropical. Lo que indica que se necesita realizar más estudios sobre las emisiones de CH₄ in vivo en diferentes condiciones que representen al ganado en México en sus diferentes etapas fisiológicas además sugiere que el Inventario Nacional debería realizarse con datos obtenidos de estudios in vivo, para asegurar una estimación más precisa. Actualmente, en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal del Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria, se han construido dos cámaras de respiración calorimétricas para realizar estudios de las emisiones de CH₄ y energía neta en monogástricos y pequeños rumiantes, lo que permitirá generar información no sólo de la producción de GEI sino también de la eficiencia de utilización de energía consumida.

Estrategias de mitigación

Las estrategias de mitigación deben desarrollarse pensando en el tipo de sistema de producción a implementarse. Thornton y Herrero (2010) mencionan que, para mitigar el problema, más que intentar disminuir la producción de CH₄ asociado a la explotación ganadera, lo que hay que hacer es en primer lugar, identificar las emisiones de GEI procedentes de la explotación, que en la mayoría de los casos se asocia a una práctica incorrecta de la alimentación y el pastoreo de los animales. A nivel global, se han desarrollado diferentes estrategias, que se pueden resumir en tres tipos: 1. Modificaciones en la dieta, 2. Uso de inhibidores y 3. Modificaciones genéticas para seleccionar ganado más eficiente en su metabolismo (Ver Figura 2).

Figura 2. Presentación esquemática estrategias para reducir la producción de CH₄ por rumiantes en función de la *dieta, **inhibidores y ***mejoramiento animal



Fuente: Patra et al., 2012

Modificaciones en la dieta.

Es el método de mitigación más usado y el menos costoso, generalmente en países en desarrollo es importante mejorar la productividad a través del mejoramiento de la calidad de ingredientes en la dieta y nutrición animal y así mejorar la eficiencia de utilización de la energía en el rumen. Leng (1993) propuso como estrategia de mitigación de CH₄ suplementar con diferentes ingredientes tales como melaza, urea y bloques nutricionales al ganado que se alimenta con una dieta de baja calidad. Otros autores, mencionan que altos niveles de concentrado en la dieta incrementa la producción de propionato, lo que disminuye la disponibilidad de H₂ en rumen y a su vez disminuye la producción de CH₄ como proporción de la energía consumida expresada como unidad de producto animal (leche y/o carne) (Ribeira-Pereira et al., 2015; Patra et al., 2012). En este caso, la reducción de la emisión de CH₄ pueden explicarse por la reducción de pH y la disminución de ciliados y protozoos, además, el pH bajo puede inhibir el crecimiento y/o actividad de bacterias metanógenas y celulolíticas.

La adición de altas tasas de concentrado en la dieta puede tener posibles consecuencias metabólicas en el animal como acidosis, reducción de grasa en la leche y disminución de la vida productiva del animal. Otro factor determinante en la producción de CH₄ entérico es la proporción de forraje y tipo de forraje en la dieta, altas concentraciones de fibra, incrementan a proporción de GEI como CH₄ (NASEM, 2016), sin embargo, diferentes forrajes producen diferencias en la producción de CH₄ en estados de madurez similares. Por ejemplo, los cereales son más metanogénicos que las leguminosas, además, una planta madura se caracteriza por tener mayor cantidad de lignina y menor cantidad de azúcares solubles comparadas con una planta joven, lo que ayuda a que sea más metanogénica (Beachemin et al., 2009). La tasa de pasaje de la digesta también es un factor importante en la producción de CH₄ entérico, la pérdida de CH₄ por unidad de dieta puede reducirse de 20 a 40% con forraje molido o peletizado (Johnson y Johnson, 1995) a aun mayor consumo o nivel de alimentación debido al incremento de la tasa de pasaje.

Uso de inhibidores

El principal sustrato para la metanogénesis es el H₂, CO₂ y formato, la disminución de CH₄ puede ser debido a la inhibición del crecimiento de bacterias metanogénicas y protozoos, reducción de la fermentación de la materia orgánica (MO) en el rumen y la hidrogenación de ácidos grasos insaturados (Shibata et al., 2010). En la literatura se ha encontrado amplia variación en el nivel de inclusión de aceite en la dieta para lograr la disminución de CH₄, el aceite de coco se ha adicionó en la dieta en un nivel de inclusión de 7 a 64%, el aceite mirístico de 5% a 58%. Algunos microorganismos del rumen usan H2 en el proceso de biohidrogenación de ácidos grasos insaturados. Sin embargo, el adicionar aceites en la dieta puede reducir la producción de leche, el porcentaje de grasa en la leche y la ganancia diaria de peso. Otros inhibidores utilizados comúnmente son los metabolitos secundarios de las plantas, así como taninos condensados, saponinas, aceites esenciales entre otros (Kamra et al., 2008), estos metabolitos disminuyen la producción de CH₄ a través de un efecto directo sobre los metanógenos y/o la eliminación de protozoos, reducción de la digestión de la MO y la modificación de la fermentación en el rumen. Se ha reportado una disminución de 13 a 45% de CH₄ usando niveles de 5 a 25% de taninos de quebracho en la dieta (Bhatta et al., 2009). A pesar de que estos compuestos han mostrado una disminución importante en la producción de CH₄ los resultados, en algunos casos, han sido inconsistentes (Hook et al., 2010). Los aceptores de electrones, así como nitratos y sulfatos han reportado reducciones en la producción de CH₄, no obstante, la adición de nitratos en la dieta requiere de un periodo de adaptación o aclimatación para prevenir toxicidad.

Modificaciones genéticas para seleccionar ganado más eficiente en su metabolismo Patra et al., 2012, señalan que en los resultados de estudios realizados en los últimos años se ha encontrado una amplia variación entre el consumo de materia seca y producción de CH₄, además, se han identificado algunos animales con emisiones de CH₄ altas y emisiones bajas por unidad de materia seca consumida. Estas diferencias persisten durante un largo periodo de tiempo, usando el mismo tipo de dieta, aunque aún no es clara la razón por la que ocurre este fenómeno, Zhou et al (2009), señalan que esto puede ser resultado de las variaciones en el número de bacterias metanógenicas entre animales. Wallace et al., 2015, observaron diferencias altamente significativas en la abundancia de algunas tasas de bacterias mediante extracciones de secuencias de 16 rRNA del metagenoma, las proteobacterias fueron 4 veces más abundantes en animales de baja emisión de CH₄, estas bacterias producen sucinato como producto principal de la fermentación, así atrapa el hidrógeno metabólico en lugar de liberarlo como H2. Además, se ha encontrado que la población de especies de Succinivibrionaceae son mucho más abundantes y mucho más numerosas en animales con bajas emisiones (Pope et al., 2011). Lo que demuestra que la abundancia de archaeas y sus genes está ampliamente correlacionado con emisiones de CH_{4.} El metabolismo de piruvato y acetato y el número de especies de Succinivibrionaceae son diferentes entre animales con emisiones bajas y emisiones altas de CH4. Recientemente se ha demostrado que los rumiantes con bajo consumo residual (emiten menor cantidad de CH4 en comparación de animales con alto consumo residual (Hegarty et al., 2007). Lo que sugiere que existe posibilidad de reducir las emisiones de CH₄ entérico y huella de carbono debido a la fermentación entérica, si se selecciona genéticamente al ganado con bajo consumo residual y/o manipulando la población de microorganismos en el rumen.

CONCLUSIONES

La importancia de la producción ganadera radica en la capacidad de convertir alimentos de baja calidad en proteína de alta calidad, por lo que es esencial llevar a cabo estudios para establecer procesos más económicos y sustentables para reducir la emisión e GEI al ambiente y mejorar la productividad. En México, es importante realizar un mayor número de estudios asociados con el tipo de dieta, nivel de alimentación, diferentes tipos de ganado y evaluar diferentes estrategias de mitigación *in vivo*, con el fin de obtener un inventario más preciso y que a su vez, permita generar políticas de producción más sustentables. Esta revisión da cuenta de la importancia de la emisión de CH₄ por la fermentación entérica, su contribución al medio ambiente y los esfuerzos que se han realizado para desarrollar técnicas para su cuantificación y mitigación, no obstante, a pesar de los esfuerzos que se han realizado por tener un Inventario más preciso y acercado a la realidad, aún falta realizar más estudios en este tema.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. M. Battle, M. Bender, T. Sowers, P. P. Tans, J. H. Butler, J. W. Elkins, J. T. Ellis, T. Conway, N. Zhang, P. Lang, A. D. Clarke, "Atmospheric gas concentration over the past century in air from firn at the south Pole", Letter to Nature, Vol 383, 1996, pp. 231-235.
- 2. J. A. Bonilla-Cárdenas, C. Lemus-Flores, "Enteric methane emission by ruminants and its contribution to global climate change", Rev. Mex de Cienc. Pecuarias, Vol. 3, 2, 2012, pp. 6524-6533.
- 3. O. A. Castelán-Ortega, J. C. Ku-Vera, J. G. Estrada-Flores, "Modeling methane emissions and methane inventories for cattle production systems in Mexico", Atmósfera, Vol. 27, 2, 2014, pp. 185-191
- 4. Environmental Protection Agency (EPA). 2011. >DRAFT: Global Antropogenic Non-CO2 Green house Gas Emissions: 1990-2030. Publication 430-D-11-003. EPA, Washington, D.C.
- 5. FAO, 2017. La ganadería y el medio ambiente. http://www.fao.org/livestock-environment/es consulta 06/abril/2017
- 6. M. Gill, P. Smith, J. M. Wilkinson, "Mitigating climate change: the role of domestic livestock", Animal Vol. 4, 2010, pp. 323–333.
- R.S. Hegarty, J. P. Goopy, R. M. Herd, B. McCorkell, "Cattle selected for lower residual feed intake have reduced daily methane production" J. Anim Sci, Vol. 85, 2007, pp. 1479– 1486
- 8. S. e: Hook, A. D. G. Wright, B. W. McBride, "Methanogens: Methane Producers of the Rumen and Mitigation Strategies", Archaea, Vol. 2, 2010, pp. 1–11.
- 9. K. A. Johnson, D. E. Johnson, "Methane emissions from cattle", J. Anim. Sci, Vol. 73, 1995, pp. 2483–2492.
- 10. E. Kebreab, K. Clark, C. Wagner-Riddle, J. France, "Methane and nitrous oxide emissions from Canadian animal agriculture: A review, Can. J. Anim. Sci., Vol. 86, 2006, pp. 135–158.
- 11. J. R. Knapp, G. L. Laur, P. A. Vadas, W. P. Weiss, J. M. Tricarico, "Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact to reducing emissions. Invited review". J. Dairy Sci., Vol. 97, 2014, pp. 3231-3261
- 12. R. A. Leng, RA. "Quantitative ruminant nutrition a Green Science" Aust. J. Agr. Res. Vol. 44, 1993, pp. 363-380.
- T. A. McAllister, E. K. Okine, G. W. Mathison, K. J. Cheng, "Dietary, envieronmental and microbiological aspects of methane production in rumiants", Can. J. Anim. Sci., Vol. 76, 1996, pp. 231-43
- 14. K. Minami, K. Takata, "Atmospheric methane: sources, sink, and strategies for reducing agricultural emissions". Water Sci. Technol., Vol. 36, 1997, pp. 509-516
- 15. S. M. K. Naqvi, V. Sejian, "Global climate: Role of livestock", Asian. J. Agric. Sci. Vol. 3, 1, 2011, pp. 19-25.
- 16. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (NASEM). 2016. Nutrient Requirements of Beef Cattle, Eight Revised Edition, The National Academy Press, Washington, DC. 494p.
 - A. K. Patra, "Enteric methane mitigation technologies for ruminant livestock: a synthesis of current research and future directions", Environ. Monit. Assess., Vol. 184, 2012, pp.1929–1952
- 17. P. E. Pedraza- Beltrán, T. L. Molina, S. H. Pineada, M. Benaouda, M. G.-Ronquillo, R.Z.Guerrero, M. V. Mora, J. C. Ku-Vera, O. A. Castelán-Ortega, "Construction and operation of the first low cost ventilated-hood system for methane measurements in cattle in Mexico, GGAA, 2017.
- 18. P. B. Pope, W. Smith, W., Denman, S.E., Tringe, S.G., Barry, K., Hugenholtz, P. 2011. Isolation of Succinivibrionaceae implicated in low methane emissions from Tammar wallabies. Science.;333:646–8.
- 19. L. G. Ruiz-Suárez, E. González-Avalos, "Modeling methane emissions from cattle in Mexico", The Sci. Total Environ, Vol. 206, 1997, pp. 177-186
- 20. M. L. D., Storm, A. L. F. Hellwing, N. I. Nielsen, J. Madsen, "Methods for measuring and estimating methane emissions from ruminants", Animals, Vol. 2, 2012, pp. 160–183.
- 21. S. Utsumi, D. Beede, S. Zimmerman, P. Zimmerman, "Whole herd enteric methane emission estimates in three contrasting dairy systems". J. Dairy Sci., Vol. 94, 2011, pp. 607

22. M. Zhou,E. Hernández-Sanabria, L. L. Guan, "Assessment of the microbial ecology of ruminal methanogens in cattle with different feed efficiencies". Appl. Environ Microb., Vol. 75, 20, 2009, pp. 6524-6533

EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO DE ANTIOXIDANTES DE CÁSCARA DE TUNA PÚRPURA (Opuntia ficus-indica) Y PROPIEDAD FUNCIONAL DE SU FIBRA

Salvador Manzur-Valdespino, Nelly del Socorro Cruz-Cansino,

Esther Ramírez-Moreno, Ernesto Alanís-García, Zuli Guadalupe Calderón-Ramos

Centro de Investigación Multidisciplinario, Área Académica de Nutrición, Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.

RESUMEN

México es el principal productor de tuna a nivel mundial, sin embargo, sólo se aprovecha la porción comestible, lo que genera gran cantidad de remanentes como la cáscara y las semillas, los cuales son desechados o utilizados como forraje. Al utilizar la cáscara es posible aprovechar el contenido de fibra y de antioxidantes, que pueden mejorarse aplicando extracción por ultrasonido.

El objetivo de este estudio es llevar a cabo la extracción de antioxidantes y evaluar las propiedades funcionales de la fibra de la cáscara de tuna púrpura (*opuntia ficus-indica*) optimizada por ultrasonido, aplicando metodología de superficie de respuesta.

Las cáscaras fueron congeladas, liofilizadas, molidas y tamizadas; se añadieron 16g de polvo en 400ml de agua desionizada, para sonicar aplicando metodología de superficie de respuesta, controlando amplitud, tiempo y temperatura; posteriormente se centrifugó, para evaluar en el sedimento la capacidad de retención de agua y grasa, y en el sobrenadante, la actividad antioxidante.

Para realizar el análisis de regresión, se contemplaron únicamente las variables que se ajustaron al modelo matemático y así obtener la condición óptima del proceso de ultrasonido, llevando a cabo traslapes de figuras de contorno de los valores obtenidos de CRG, betaninas, betaxantinas, ácido ascórbico, fenoles totales, ABTS y DPPH, buscando el punto que coincida con los valores más altos de estas determinaciones (69±1% de amplitud por 13 minutos).

Se pudo concluir que, al realizar extracción por ultrasonido en cáscara de tuna púrpura, se potencializan las propiedades funcionales de la fibra y aumenta su capacidad antioxidante, lo cual representa potenciales beneficios a la salud humana.

INTRODUCCIÓN

Actualmente existe gran interés por incluir en la dieta alimentos con compuestos bioactivos, como las frutas y hortalizas, que mejoren la salud. Un fruto consumo tradicional es la tuna (*opuntia ficus-indica*), proveniente del nopal (*opuntia spp*), el cual ha despertado gran interés científico debido a su valor nutricional, además se ha demostrado que ayuda a disminuir el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, oculares, neurológicas, ciertos tipos de cáncer, artritis, gastritis, hiperglucemia y estrés oxidativo.

Nuestro país es el productor más importante de este fruto a nivel mundial, cuya porción comestible es tan solo del 35% al 55%, lo cual no permite aprovechar al máximo sus propiedades,

como el contenido de compuestos antioxidantes y la fibra, que posee una buena capacidad de retención de grasa, que favorece la eliminación de moléculas lipídicas a través de las heces, lo cual ayuda a evitar enfermedades relacionadas con la acumulación de grasas, como la hipercolesterolemia, sobrepeso y obesidad. Por lo anterior, la industria de alimentos se ve en la necesidad de aprovechar de la mayor manera posible los residuos. Para obtener un mejor rendimiento se utiliza ultrasonido, que produce ondas de choque generadas por la transferencia de energía acústica, que colisionan entre sí, penetrando y rompiendo las membranas celulares.

Es por ello que en este estudio se pretende obtener una fibra con buena capacidad de retención de grasa y con actividad antioxidante, a partir de la cáscara de tuna púrpura, mediante ultrasonido, apoyándose de la metodología de superficie de respuesta, lo cual permite obtener la condición óptima del proceso.

TEORÍA

La tuna (*Opuntia ficus –indica*), es una especie de cactus, perteneciente a la familia *Cactaceae*¹, nativa de las regiones áridas y semiáridas de México², fruto caracterizado por poseer una pulpa carnosa y jugosa entremezclada con un gran número de pequeñas semillas, y rodeados por una cáscara gruesa con pequeñas espinas. Los cuales poseen diferentes colores, debido a la combinación de pigmentos³. En su producción participan en México alrededor de 20 mil productores, en una superficie aproximada de 65,000 hectáreas, concentrándose en las regiones de Puebla, Valle de México y el Altiplano Potosino-Zacatecano⁴.

Este fruto ha sido estudiado por su importante contenido de elementos bioactivos⁵, que generan beneficios a la salud como hipoglucemiantes, hipolipemiantes, antioxidantes, neuroprotectores hepatoprotectores¹ y anticancerígenos⁶.

En la cáscara de tuna se ha evaluado la actividad antioxidante, utilizándolo como conservador, debido a su alto contenido de fenoles, y demás compuestos que actúan como antirradicales⁷, los cuales defienden al organismo del envejecimiento celular, inhibiendo la propagación de especies reactivas de oxígeno⁸.

Además de los antioxidantes, otro compuesto de interés nutricional que provee la cáscara de tuna, es la fibra dietética⁹, que consiste en polímeros de carbohidratos, que pasan a través del intestino delgado sin cambios, pero se fermentan hasta llegar al intestino grueso¹⁰ y juega un papel importante en la salud humana, ayudando a prevenir y tratar padecimientos como hiperlipidemia, enfermedades cardiovasculares, hipertensión, obesidad, algunos tipos de cáncer, trastornos gastrointestinales, y diabetes⁹.

El epicarpio de la tuna posee un 40.8% de fibra dietética total, de la que el 20.8% es hemicelulosa, el 71.4% celulosa, 7.71% es pectina y el 0.06% lignina¹¹.

Para poder extraer los compuestos de interés nutricional, muchos investigadores han utilizado tecnologías emergentes⁵; una de ellas es el ultrasonido, que permite liberar componentes que se encuentran dentro de las células vegetales, para su máximo aprovechamiento¹². Esta tecnología, se caracteriza por ondas sonoras que chocan violentamente ocasionando la ruptura membranal y cuyas ventajas de incluyen: reducción de la pérdida de sabor, mayor homogeneidad, estabilidad, inactivación microbiana y la liberación de compuestos antioxidantes¹³.

Para mejorar el rendimiento del tratamiento por ultrasonido, se emplea la metodología de superficie de respuesta (RSM por sus siglas en inglés), que permite descubrir las condiciones óptimas en las se aplica un procedimiento, para producir la mejor respuesta posible¹⁴. Para poner al alcance de la población las propiedades de los residuos de frutos, se han desarrollado gelatinas de grado alimenticio creadas a partir de cáscaras, como una manera de minimizar los desechos producidos por la industria alimentaria¹⁵.

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de la muestra

Los frutos fueron lavados y pelados manualmente, la cáscara fue congelada a -30°C, posteriormente fue liofilizada (Labconco VWR26671-581 USA), molida (Molino analítico A11 BASIC IKA Germany), y tamizada a un tamaño de partícula <500 µm.

Aplicación de ultrasonido

Posteriormente 16 gramos del polvo obtenido fueron aforados a 400mL con agua desionizada, para introducirlo en el procesador de ultrasonido (SONIC VCX-1500, USA) y aplicar los tratamientos de superficie de respuesta según los datos proporcionados por el software estadístico JMP, siendo las variables independientes: amplitud de onda (70-80%) y tiempo de ultrasonido (3-13 min) obteniendo 13 tratamientos, con una temperatura de salida <25°C.

Propiedades funcionales de la fibra

Posterior al sonicado, se sometió a centrifugación (Beckman Couler Allerga 25r Centrifuge), para separar las fases. El sedimento se liofilizó y se le evaluó la propiedad de CRA y CRG, de acuerdo a la técnica de Valencia, Román¹⁶.

Determinaciones de antioxidantes

En el sobrenadante se realizaron determinaciones de pigmentos (betaninas y betaxantinas) por la metodología de Abou-Mohamed¹⁸, se cuantificó el contenido de ácido ascórbico conforme Durust et al¹⁹, fenoles totales según Stintzing et al²⁰, se determinó la actividad antioxidante por inhibición de los radicales ABTS y DPPH, de acuerdo con lo descrito por Kuskosky et al²¹ y Morales, Jiménez²², todo lo anterior determinado por medio de espectrofotometría (Lector Power Wave XS UV-Biotek, USA).

Obtención de las condiciones óptimas de extracción

Los promedios de los datos obtenidos fueron procesados con el software Sigma Plot, para realizar figuras de contorno de las determinaciones que se ajustaron al modelo matemático y posteriormente hacer un traslape de éstas, para así obtener la condición óptima del proceso de ultrasonido, tal como lo reporta Cervantes et al¹³.

Reproducibilidad del estudio

Todos los valores fueron obtenidos por triplicado. Se realizará un análisis de diferencia de medias para una muestra (±desviación estándar, abreviado como: DE) serán comparadas con una confiabilidad del 95%, utilizando el paquete estadístico SPSS versión 23, Sistema SPSS® para WindowsTM (SPSS Inc, Chicago Illinois).

RESULTADOS

Promedios de las determinaciones realizadas

Los promedios de los valores obtenidos de las determinaciones realizadas se presentan en la Tabla 1. Puede observarse que en la determinación de la capacidad de retención de agua (CRA)

se presentaron valores de entre 10.40 y 14.26 ml/g; los valores obtenidos de capacidad de retención de grasa (CRG) fueron de entre 7.46 y 9.06 ml/g.

Para la determinación de pigmentos (betaninas y betaxantinas) se observaron valores de 15.50 a 19.30 mg/L y 7.54 a 11.81 mgEB/100g respectivamente. En cuanto al contenido de antioxidantes, los valores de ácido ascórbico fueron de 221.59 a 335.23 mgEAA/100g y de 639.13 a 811.23 mgEAG/100g para el contenido de fenoles totales.

En la evaluación de la capacidad antioxidante por inhibición de los radicales ABTS y DPPH, se obtuvieron valores de entre 9563 a 11505 μ molET/100g y de 661.00 a 788.00 μ molET/100g de respectivamente.

Tabla 1. Promedios de las determinaciones de propiedades de fibra y antioxidantes a diferentes amplitudes de onda y tiempos de ultrasonido de acuerdo al diseño de superficie de respuesta.

			CRA	CRG	Betaninas	Betaxan-	Ácido	Fenoles	ABTS	DPPH
Trat	Min	Amp(%)				tinas	Ascórbico			
Ė	Σ	Amk	ml/g	ml/g	mgEB/100g	mgEB/100g	mgEAA/100g	mgEAG/100g	μmolET/100g	μmolET/100g
1	8	82	14.2 ± 0.23	8,2 ± 0.92	18.00 ± 1.35	9.77 ± 1.33	250.00 ± 11.02	667.66 ± 18.03	9663 ± 56	788.00 ± 2.79
2	1	75	13.6 ± 0.80	7,4 ± 0.92	15.50 ± 0.24	7.54 ± 0.50	272.00 ± 14.30	735.30 ± 104.81	10380 ± 54	703.00 ± 45.1
3	13	80	12.5 ± 0.46	8,5 ± 0.12	17.40 ± 1.34	11,81 ± 1.64	255.68 ± 9.93	639.13 ± 15.63	9563 ± 43	739.80 ± 45.5
4	8	75	12.8 ± 0.80	8,8 ± 0.46	17.40 ± 1.03	10.61 ± 0.74	232.00 ± 12.01	760.66 ± 18.77	10000 ± 10	767.00 ± 6.21
5	3	70	14.1 ± 0.46	7,7 ± 1.67	16.96 ± 1.07	8.58 ± 1.20	250.00 ± 13.58	684.65 ± 25.43	10655 ± 45	754.70 ± 67.1
6	8	75	13.2 ± 0.56	9,0 ± 0.46	17.00 ± 0.41	10.59 ± 0.56	261.00 ± 18.55	811.23 ± 279.8	9600 ±77	730.00 ± 49.6
7	8	75	13.6 ± 0.80	9,0 ± 0.46	17.70 ± 1.35	10.32 ± 1.47	244.32 ± 14.89	787.59 ± 6.84	10133 ± 97	731.00 ± 6.90
8	8	75	13.3 ± 0.46	9,0 ± 0.92	18.20 ± 0.54	10.41 ± 1.31	244.32 ± 15.03	751.90 ± 5.43	10205 ± 10	745.00 ± 12.7
9	3	80	12.0 ± 0.80	8,5 ± 0.92	17.24 ± 1.02	8.13 ± 1.45	316.00 ± 6.69	768.75 ± 51.64	10173 ± 15	725.35 ± 32.5
10	8	75	10.4 ± 0.00	9,0 ± 0.92	17.40 ± 3.15	10.80 ± 0.91	221.59 ± 15.02	772.37 ± 7.84	10205 ± 10	770.00 ± 13.8
11	15	75	12.6 ± 0.52	9,0 ± 0.46	17.50 ± 2.10	11.37 ± 3.15	306.00 ± 29.48	659.06 ± 16.43	10136 ± 16	661.00 ± 14.6
12	8	68	13.0 ± 0.46	8,2 ± 0.46	19.30 ± 1.85	9.37 ± 1.94	278.41 ± 3.31	656.11 ± 7.48	11505 ± 16	768.00 ± 46.7
13	13	70	13.8 ± 0.92	9,0 ± 0.46	18.69 ± 2.58	9.98 ± 2.15	335.23 ± 4.72	731.07 ± 5.66	11100 ± 21	690.00 ± 61.3
	R²		0.50	0.93	0.90	0.98	0.90	0.90	0.91	0.90

mL/g (mililitros por gramo); mgEB/100g (miligramos equivalentes de betalainas por 100 gramos); mgEAA/100g (miligramos equivalentes de ácido ascórbico por 100 gramos); mg EAG/L (miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 gramos); µMol ET/100g (micromoles equivalentes de Trolox por 100 gramos); µmolEFe⁺²/100g (micromoles equivalentes de ion fierro por 100 gramos)

Análisis del coeficiente de regresión del modelo matemático

La mayoría de las variables de respuesta se ajustaron al modelo matemático de superficie de respuesta, presentando una $R^2 \ge 0.90$, excepto CRA, que mostró una R^2 de 0.50 (Tabla 1). Para realizar el análisis de regresión, se contemplaron únicamente las variables de respuesta que se ajustaron al modelo matemático, las cuales se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Coeficientes de regresión del modelo y significancia para las variables de respuesta de							
retención de grasa y actividad antioxidante.							

	CRG	Betaninas	Betaxantinas	Ácido Ascórbico	Fenoles Totales	DPPH	ABTS
b _o (intercepto)	9.02 ^a	17.54 ^a	10.54ª	240.64 ^a	776.75 ^a	748.6 ^a	10028.6 ^a
b ₁ (tiempo)	0.4528 ^b	0.589°	1.312 ª	9.12	-23.877 ^d	-13.705 ^d	-63.71
b ₂ (amplitud)	0.0193	-0.356 ^d	0.243 ^c	-6.71	1.061	6.091	-577.89 ^a
b ₁₂ (tiempo*amplitud)	-0.325 ^c	-0.392	0.57 ^b	-36.38 °	-44.01 ^c	19.787 ^d	-263.66 ^d
b ₁₁ (tiempo*tiempo)	-0.3275 °	-0.520 ^c	-0.517 ^b	27.33 °	-33.193 ^c	-33.93 b	102.63
b ₂₂ (amplitud*amplitud)	-0.3425 ^c	0.554 ^c	-0.459 b	14.93 ^d	-50.840 b	14.065 ^d	265.72°

Superindices indican diferencias significativas : a, p < 0.0001; b, p < 0.001; c, p < 0.01 y d p < 0.5

Capacidad de retención de grasa: Los resultados del coeficiente de regresión demuestran que la CRG fue influenciada significativamente (*p*<0.001) por el tiempo en su término lineal (b₁), (Tabla 1), por lo que al incrementar el tiempo se obtuvo una mayor CRG (Figura 1).

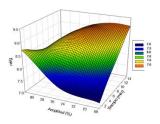


Figura 1. Gráfica de superficie de respuesta para los efectos de retención de grasa de la fibra (ml/g)

Betalaínas: En el coeficiente de regresión en cuanto al contenido de betaninas, se vio influenciado por la interacción del tiempo, en su término lineal (b_1) y cuadrático (b_{11}) (p<0.01) (Tabla 1), esto indica que, al aumentar el tiempo de aplicación de tratamiento de ultrasonido, hubo mayor concentración del compuesto, pero un aumento prolongado del tiempo de sonicado propicia la pérdida del mismo (Figura 2).

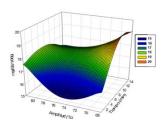


Figura 2. Gráfica de superficie de respuesta para la determinación de betaninas (mgEB/100g)

Del mismo modo en el contenido de betaxantinas, se pudo apreciar una influencia significativa (p<0.0001) del tiempo (b_1) (Tabla 1) y de la interacción tiempo-amplitud (b_{12}) (p<0.001) de modo que, como lo expresa la figura 3, a mayor tiempo de aplicación de ultrasonido y mayor amplitud de onda, se apreció mayor contenido de betaxantinas.

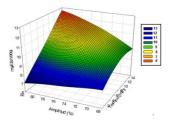


Figura 2. Gráfica de superficie de respuesta para la determinación de betaxantinas (mgEB/100g)

Ácido ascórbico: El coeficiente de regresión en cuanto al contenido de ácido ascórbico, indica que la interacción del tiempo con la amplitud (b_{12}) y el tiempo en su término cuadrático (b_{11}), presentaron influencia significativa (p<0.01) (Tabla 1), esto quiere decir que a menor amplitud y mayor tiempo, y a mayor tiempo respectivamente, hubo mayor contenido de ácido ascórbico, (Figura 4).

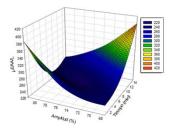


Figura 4. Gráfica de superficie de respuesta para la determinación de ácido ascórbico (mgEAA/100g)

Fenoles totales: En el coeficiente de regresión, para el contenido de fenoles totales, se observa que la amplitud en su término cuadrático (b_{22}) afectó significativamente (p<0.001). La interacción del tiempo con la amplitud (b_{12}) y el tiempo en su término cuadrático (b_{11}) tuvieron el mismo nivel de significancia (p<0.01) (Tabla 1), de modo que se obtiene una menor concentración al incrementar la amplitud y el tiempo, como se aprecia en la figura 5.

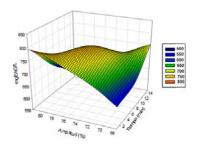


Figura 5. Gráfica de superficie de respuesta para la determinación de fenoles totales (mgEAG/100g)

Actividad antioxidante por ABTS: La actividad antioxidante por ABTS se vio influenciada por la amplitud en su término lineal (b_2) (p<0.0001), y por la misma en su término cuadrático (b_{22}) (p<0.05), dado que a mayor amplitud se presentó una menor capacidad antioxidante, sin embargo, la interacción tiempo-amplitud (b_{12}) favoreció (p<0.05) la inhibición del radical como se observa en la figura 6.

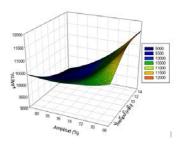


Figura 6. Gráfica de superficie de respuesta para la determinación de actividad antioxidante por inhibición del radical ABTS (µmolET/100g)

Actividad antioxidante por DPPH: Al analizar el coeficiente de regresión de DPPH, se observó una influencia significativa (p<0.0001), del tiempo en términos cuadráticos (b_{11}) (Tabla 1). Esto indica que, al incrementar el tiempo de aplicación de ultrasonido, se favorece la inhibición del radical, aunque un aumento prolongado, propiciaría la disminución de la actividad. (Figura 7).

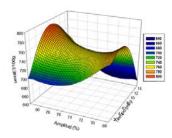


Figura 7. Gráfica de superficie de respuesta para la determinación de actividad antioxidante por inhibición del radical DPPH (μΜΕΤ/L)

Obtención de las condiciones óptimas de extracción por ultrasonido: Se llevó a cabo el traslape de figuras de contorno, utilizando los resultados obtenidos de CRG, betaninas, betaxantinas, ácido ascórbico, fenoles totales, ABTS, y DPPH; ubicando el punto óptimo en 69 ± 1% de amplitud y 13 minutos de aplicación, punto donde se alcanzaron valores de 9.1ml/g, 18.9mgEB/100g, 10.06mgEB/100g, 335mgEAA/100g, 711.787 mgEAG/100g, 1174.86µmoET/100g, y 689.146µmoIET/100g, respectivamente (Figura 8).

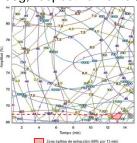


Figura 9. Optimización de superficies de respuesta, condiciones óptimas del proceso (CRG, betaninas, betaxantinas ácido ascórbico, fenoles, ABTS y DPPH)

Reproducibilidad del estudio: No se obtuvieron diferencias significativas entre los valores predichos y experimentales de la mayoría de las determinaciones, salvo por la CRG, que presentó valores mayores a aquellos predichos.

CONCLUSIONES

Al realizar extracción por ultrasonido en cáscara de tuna púrpura, es posible obtener una mayor concentración de antioxidantes y fibra con mayor capacidad de retención de grasa, lo que podría aportar beneficios a la salud humana, como preventivo de enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. El-Mostafa K, Kharrassi Y, Badreddine A, Andreoletti P, Vamecq J, Saïd MH, y cols. Nopal Cactus (Opuntia ficus-indica) as a Source of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease. Molecules 2014, 19: 14879-14901.
- 2. Chong P, Lau K, Gruenwald J, Uebelhack R. A Review of the Efficacy and Safety of Litramine IQP-G-002AS, an Opuntia ficus-indica Derived Fiber for Weight Management. Hindawi Publishing Corporation. 2014 (1): 1-7.
- 3. Ongiorno A, Llegra M, Intaudi A, Ohen R, Ivrea M. Antioxidant Activities of Sicilian Prickly Pear (Opuntia ficus indica) Fruit Extracts and Reducing Properties of Its Betalains: Betanin and Indicaxanthin. Agricultural and Food Chemistry 2002; 50: 6895-6901.
- 4. Méndez Gallegos, S.J., y J. García Herrera. La tuna: Producción y diversidad. CONABIO. Biodiversitas. 2006; (68):1-5.
- 5. Alba-Jiménez J, Chávez-Servia J, y cols. Betalains, polyphenols and antioxidant activity in minimally processed red prickly pear. 2014; 71(2):222–6.
- 6. Abou-Elella M, Farouk-Mohammed A. Antioxidant and Anticancer Activities of Different Constituents Extracted from Egyptian Prickly Pear Cactus (Opuntia Ficus-Indica) Peel. Biochemistry & Analytical Biochemistry. 2014; 3 (2): 1-9.
- 7. Chougui N, Djerroud N, Naraoui F, Hadjal S, Aliane K, Zeroual B, y cols. Physicochemical properties and storage stability of margarine containing Opuntia ficusindica peel extract as antioxidant. Food Chem. 2015; 173: 382–90.
- 8. Cuerda C, Luengo LM, Valero MA, Vidal A, Burgos R, Martínez F. Antioxidantes y diabetes mellitus: revisión de la evidencia. Nutrición Hospitalaria. 2011; 26(1):68–78.

- 9. Gustafson J, Anderson W. Health benefits practical of high-fiber. American Journal of Clinical Nutrition. 1994; (59):1242-7.
- 10. Grey J. Fibra dietética. Definición, análisis, fisiología y salud. ILSI europe monograph series.2006; (1) 10-12.
- 11. El Kossori, R. L., Villaume, C., El Boustani, E., Sauvaire, Y., & Méjean, L. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (Opuntia ficus indica sp.). Plant Foods for Human Nutrition, 1998; 52(3), 263-270.
- 12. Cansino NC, Carrera GP, Rojas QZ, Olivares LD, García EA, et al. Ultrasound Processing on Green Cactus Pear (Opuntia ficus Indica) Juice. Ultrason. Sonochemistry 2013; 4(9).
- Cervantes-Elizarrarás, A., Piloni-Martini, J., Ramírez-Moreno, E., Alanís-García, E., Güemes-Vera, N., Gómez-Aldapa, C. A., ... & del Socorro Cruz-Cansino, N.. Enzymatic inactivation and antioxidant properties of blackberry juice after thermoultrasound: Optimization using response surface methodology. Ultrasonics Sonochemistry, 2017; 34, 371-379.
- Tabaraki, R., Heidarizadi, E., & Benvidi, A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (Punica granatum L.) peel antioxidants by response surface methodology. Separation and Purification Technology. 2012; 98, 16-23.
- Lee, E. H., Yeom, H. J., Ha, M. S., & Bae, D. H. Development of banana peel jelly and its antioxidant and textural properties. Food Science and Biotechnology, 2010; 19 (2), 449-455.
- 4. 16 Prosky, L., Asp, N. G., Schweizer, T. F., De Vries, J. W., & Furda, I. Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: collaborative study. Journal of AOAC International, 1992 75(2), 360-367.
- 5. 17 Valencia F, Román M. Caracterización fisicoquímica y funcional de tres concentrados comerciales de fibra dietaría. Rev. de la facultad de química farmacéutica. 2006; 13 254-60
- Abou-Elella M, Farouk-Mohammed A. Antioxidant and Anticancer Activities of Different Constituents Extracted from Egyptian Prickly Pear Cactus (Opuntia Ficus-Indica) Peel.. Biochemistry & Analytical Biochemistry. 2014 3 (2): 1-9.
- Dürüst, N., Sümengen, D., & Dürüst, Y. (). Ascorbic acid and element contents of foods of Trabzon (Turkey). Journal of agricultural and food chemistry, 1997; 45(6), 2085-2087.
- 8. 20 Stintzing F. Herbach K. Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (Opuntia spp.) Clones J. Agric. Food Chem. 2005, 53, 442-451
- Kuskoski M. Roseane. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 2005 25 (4): 726-732.
- Morales, F. J., & Jiménez-Pérez, S. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. Food chemistry, 2001;72(1), 119-125

APROVECHAMIENTO DE GUAYABA DE TERCERA CALIDAD PARA LA OBTENCIÓN DE PRODUCTOS CON VALOR AGREGADO

Mayra Gabriela Hernández Cruz, Lizette Marín González, Jesús Alejandro Toxqui Toxqui, Gabriela Irais Pérez Espinosa, Mayra Nonoal Quisehuatl, María Leticia Ramírez Castillo

Departamento de Biotecnología, Universidad Politécnica de Puebla, 3er Carril del Ejido Serrano S/N, San Mateo Cuanalá, Juan C. Bonilla, Puebla, CP 72640

RESUMEN

La guayaba (*Psidium guajava*) es una de las frutas más conocidas y cultivadas alrededor del mundo, 60 países la cultivan y México ocupa el 5to. lugar, produciendo en 2014 alrededor de 303,000 toneladas de guayaba [1]. Sin embargo, es uno de los alimentos que más se desperdician en el país, representando el desecho el 57.7% de su totalidad [2]. A pesar de que Puebla no es uno de los principales productores del país, sí ocupa los primeros lugares de adquisición de esta fruta proveniente de estados como Michoacán y Zacatecas [3]. No obstante se desperdicia enormemente al no pasar ni una segunda selección en fresco, de acuerdo a lo indicado por comerciantes de distintas zonas del estado de Puebla, como son Zacatlán, Cholula, Huatlatlahuca, Puebla y Santa María Coronango. El objetivo de este trabajo, es determinar las propiedades fisicoquímicas de guayaba de tercera calidad mediante análisis proximal para proponer la elaboración de productos tales como harina, licor y pectina, otorgándole así un valor agregado a la guayaba que se desperdicia.

INTRODUCCIÓN

La guayaba (*Psidium guajava*) es una de las frutas más conocidas cultivadas en alrededor de sesenta países de las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Los frutos además de deliciosos son ricos en vitamina C, pectina y minerales como el calcio, el fósforo y el hierro [4]. En México la producción de guayaba se concentra principalmente en 18 estados, de los cuales cuatro aportan el 97 % de la producción: Zacatecas, Aguascalientes, estado de México y Michoacán. Este último estado es el principal productor de guayaba en nuestro país [5]. De la cantidad producida se estima que el 57.7 % se desecha [6]. Con el propósito de emplear guayaba de tercera calidad para disminuir la cantidad que se desperdicia, así como para aprovechar su alto valor nutricional y aumentar la comercialización de productos derivados de este fruto, se realizó el presente estudio, en el cual en primer lugar se caracterizó la materia prima para determinar los productos que serían elaborados, de esta manera se obtuvo harina de las semillas, licor por fermentación y pectina a partir de la pulpa y cáscara de la fruta.

TEORÍA

Composición de la guayaba.

La guayaba está compuesta de diversos nutrientes en concentraciones variadas. Por ejemplo el potasio se presenta en una alta cantidad, mientras que el contenido de hierro es bajo [7]; contiene carbohidratos en una concentración de 15%. Con respecto a los azúcares se ha encontrado que posee una mayor concentración de fructuosa, en contraste a la concentración de glucosa y sacarosa, los cuales son menos abundantes dentro del fruto [8], la guayaba contiene vitamina C en un alto porcentaje y también contiene vitamina A, B_a, G₄. Se trata de una fruta que es consumida principalmente en fresco, ya sea en su totalidad o solamente la pulpa [9].

Productos obtenidos de la guayaba.

Este fruto comercialmente se procesa para obtener una amplia gama de productos tales como: pulpas, conservas, jalea, jugo, bebidas, néctares, concentrados, geles, vino, productos

deshidratados y enlatados, mermeladas, pastas, purés, jarabes y demás [10]. Se ha elaborado también harina de guayaba que es utilizada en la elaboración de embutidos donde se emplea para ligar las carnes frías [7], también se utiliza como saborizante en productos como el yogurt [11]. En el caso de los embutidos se ha observado que la harina procedente de guayaba tiene mejores rendimientos que la harina de papa, maíz y de yuca; también se puede utilizar como sustituto de la harina común para la preparación de galletas y barras energéticas.

Otro producto derivado de la guayaba es el licor, según la NOM-142-SSA1-1995 se confiere la definición de licor o crema al producto elaborado a base de bebidas alcohólicas destiladas, espíritu neutro, alcohol de calidad, alcohol común o mezcla de ellos. Existen dos métodos principales para su producción. El primero consiste en destilar todos los ingredientes al mismo tiempo, para luego endulzarla y algunas veces darle color. El segundo, consiste en agregar las hierbas o frutas a la destilación base, lo que permite conservar el brillo y frescura de los ingredientes [12].

De la quayaba también se ha obtenido pectina. Las formas de pectina que son generalmente reconocidas como seguras (Generally Recognized as Safe, GRAS) por la U.S. Food and Drug Administration (FDA) son las pectinas de alto-éster, las pectinas de bajo-éster, las pectinas amidadas, los ácidos pectínicos y los pectinatos [13]. En el caso de las pectinas de baja esterificación se requiere la presencia de iones calcio y de un pH de 2.8 a 6.5, ya que en estas condiciones los carboxilos se encuentran ionizados y pueden establecer uniones iónicas con otras moléculas de pectina mediante el Ca2; de esta manera se crea la estructura básica del gel, en la cual, a su vez, los hidroxilos de los residuos del ácido galacturónico retienen agua por medio de puentes de hidrógeno. Las pectinas de alto metoxilo gelifican dentro de un intervalo de pH de 2.0 a 3.5 y con 60 a 65% de sacarosa. Los carboxilos se encuentran protonados y crean puentes de hidrógeno entre sí o con los hidroxilos de una molécula vecina de pectina o del disacárido. La adición del azúcar ejerce un efecto "deshidratante" sobre los polímeros, lo que ocasiona que se favorezcan las interacciones polisacárido-polisacárido de manera hidrófoba [14]. La pectina extraída de algunas variedades de guayabas presenta contenido de metoxilo v de ácido galacturónico de 9.40% y 51.00%, respectivamente, indicando con ello propiedades gelificantes deseables en la industria alimentaria [15].

PARTE EXPERIMENTAL

Caracterización de la materia prima

A cada una de las fracciones de guayaba se le realizó un análisis proximal y también se determinaron pectina y DNS para azúcares reductores solubles. Las Normas Oficiales Mexicanas de alimentos utilizadas para el análisis proximal fueron: NMX-F-083-1986-Determinación de humedad, NMX-F-066-S-1978-determinación de cenizas, NMX-F-089-S-1978-Determinación de extracto etéreo, NMX-F-090-S-1978-Determinación de fibra cruda, NMX-F-068-S-1980-Determinación de proteína, NMX-F-347-S-1980-Determinación de pectina en frutas y derivados y NMX-F-495-SCFI-2012-Determinación de azúcares reductores.

Proceso de transformación de la materia prima

3.2.1 Harina

Para realizar la harina, las semillas de guayaba se separaron y se lavaron con agua. Posteriormente fueron colocadas en un secador solar durante dos días, después se molieron con un equipo de marca comercial (nutribullet) y almacenándose.

3.2.2 Licor

Para la elaboración del licor se ocuparon 500 g de una mezcla de cáscara, pulpa jugosa y pulpa tangencial. Se utilizó un recipiente de vidrio para macerarlos con 600 ml de alcohol potable, alcohol y 300 ml de una solución acuosa de piloncillo de 0.67 g/L. Se dejó fermentar durante 1 mes. En reposo y finalmente se filtró con ayuda de tela de lino para su envasado.

3.2.3 Pectina

Proceso de obtención del producto. Una vez hecha la determinación de pectina con la norma mexicana, se procedió a la obtención de la pectina para lo cual se pesaron 50 g de guayaba húmeda utilizando cáscara, pulpa tangente y pulpa jugosa en pesos iguales; estas fracciones se agregaron a un matraz Erlenmeyer con agua acidificada con ácido clorhídrico al 0.5%. El matraz se colocó en una parrilla de calentamiento y agitación y se dejó en ebullición durante 60 minutos.

Posteriormente se filtró y prensó; finalmente se precipito la solución de pectina con la adición de etanol al 95% en una proporción en volumen 3:1. Después del lavado, filtrado y prensado de la pectina obtenida, se secó a 70 °C.

Análisis IR. A la pectina producida se le realizo un espectro Infrarrojo, con el equipo IR Afinnity-1. 3.2.4 Fermentación sólida.

Debido a los residuos generados en cada subproceso de obtención de los productos, se realizó una fermentación sólida juntando todos residuos. Se secaron y se determinó el porcentaje de absorción de agua para calcular la cantidad de medio de cultivo adicionado. Se realizó una solución acuosa de esporas de *Aspergillus oryzae* (Cepario de la Facultad de Química de la UNAM), crecido en agar papa dextrosa, se contó en cámara de Neubauer. De acuerdo al número de esporas, se adicionó el volumen necesario para obtener 1x10⁵ esporas sembradas por gramo de residuo seco. En condiciones asépticas, se mezclaron el residuo y el medio de cultivo estériles con la solución de esporas, hasta homogeneizar lo más posible. Este material fue empacado en una columna de vidrio previamente acondicionada y esterilizada y se dejó incubar durante una semana hasta observar el crecimiento del hongo.

RESULTADOS

Caracterización de la materia prima

La materia prima se obtuvo en el "Mercado 5 de Mayo" de la ciudad de Puebla. Los valores de la Tabla 1 son los datos promedio y desviaciones estándares, de la medición y pesado de 10 frutos seleccionados aleatoriamente de 1 kilo de guayabas de tercera calidad. En la Tabla 2 se presenta el porcentaje en base humedad (BH) y base seca (BS) de las partes que conforman a la guayaba. Destaca el porcentaje de semilla en base seca con el 20 %, componente que se desperdicia.

Tabla 1 Caracterización física de la guayaba.

Guayaba	Altura (cm)	Diámetro (cm)	Circunferencia(cm)	Peso (g)
Ecotipo amarillo	4.46	4.79	14.90	50.77
Σ	0.43	0.39	1.07	2.11

Tabla 2 Porcentaje en base húmeda (BH) y base seca (BS) de las partes que conforman la guayaba.

Partes de la cáscara	Fracción en base húmeda, BH (%)	Fracción en base seca, BS (%)
Cáscara	14.10	12.99
Pulpa tangencial	61.51	53.99
Pulpa jugosa	19.04	12.49
Semilla	5.35	20.53

Análisis Proximal de cada una de las partes de la guayaba

En el análisis proximal, mostrado en la Tabla 3, se observan los resultados por separado de los componentes de la guayaba: cáscara, pulpa tangencial, pulpa jugosa y semilla. La pulpa tangente, utilizada para pectina y licor, tiene como componentes principales proteínas, seguidas de cenizas, grasas y por último fibra. En el caso de la pulpa jugosa los resultados son similares; podemos observar que en esta se tiene como mayor componente a las proteínas, seguidas de cenizas, grasas y fibras. La cáscara de guayaba con la que se realizó pectina y licor presenta como componente principal fibra, seguido de grasas, proteína y cenizas. No existe bibliografía de los componentes de la cáscara o de las pulpas por separado de la guayaba, por lo que solamente se compararon los resultados con Brito y Rodríguez [16] quienes caracterizaron las pulpas juntas. Sus resultados solo muestran el porcentaje de materia seca 19.67 % y cenizas 0.80%, y se observa que la materia seca concuerda con los resultados en este trabajo, mientras que las cenizas obtenidas son más elevadas. En el caso de las semillas tenemos como componente principal fibra, seguida de grasas, nitrógeno y cenizas; estas, comparando con el trabajo de Cerón y col. [17], sobre rendimientos y composición de aceite de semillas de guayaba, son similares los valores de porcentajes de fibra y grasas, mostrando diferencias significativas en humedad, base seca, cenizas

y proteína. En relación al porcentaje de azúcares reductores, fue de 4.81%, el cual es parecido al reportado por Brito y Rodríguez [16], de 3.88%. Las diferencias existentes pueden deberse a la variedad de guayaba utilizada, así como a la madurez y calidad de la materia prima.

Fracción	Humedad (%)	Materia seca (%)	Cenizas (%)	Grasas (%)	Nitrógeno (%)	Fibra (%)
Cáscara	80.29	19.71	4.93	6.70	5.68	21.18
Pulpa tangencial	81.84	18.16	2.71	2.62	4.81	2.12
Pulpa jugosa	86.43	13.57	2.91	1.10	7.43	0.97
Semilla	20.45	79.55	0.40	16.5	6.12	71.81

Tabla 3 Análisis proximal de guayaba.

En relación al contenido de pectina determinado con la norma NMX-F-347-S-1980, en la Tabla 5 se presentan los porcentajes obtenidos en BS y BH de pectina. Con respecto a la cáscara, se presenta un 0.25% en BH y un 1.31% en BS, y en las pulpas tangencial y jugosa juntas un 0.17% en BS y 1.09% en BH. Al comparar estos porcentajes con los reportados de 4% y 5% de pectina en BS por Brito y Rodríguez [16] nos percatamos de que los porcentajes obtenidos en la determinación son muy bajos, por lo que se decidió utilizar la cáscara y las pulpas en conjunto para el proceso de producción, con la ventaja de que no se tiene que fraccionar la materia prima, ahorrando así algunos procedimientos y optimizando los rendimientos de pectina.

Tabla 4 Determinación de pectina de cáscara y pulpas de guayaba.

Fracción	Pectina BH (%)	Pectina BS (%)
Cáscara	0.25	1.31
Pulpa jugosa + pulpa tangencial	0.17	1.09

Proceso de transformación de la materia prima

La Figura 1 presenta el diagrama de flujo del proceso de transformación propuesto para el aprovechamiento de la guayaba hasta la obtención de productos de valor agregado. Se obtuvieron harina de guayaba, licor y pectina, además a partir de los residuos de estos 3 productos se realizó una fermentación sólida para aprovecharlos. En la Tabla 5 se pueden observar los rendimientos obtenidos de los diferentes productos que se elaboraron a partir de guayaba de tercera calidad. Debido a que el valor de entrada en base húmeda fue menor a la cantidad de salida, en harina se cree que existió una hidratación de esta al contacto con el ambiente, por lo que no se pudo determinar su rendimiento en base seca.

Tabla 5 Rendimiento de producto sobre kilogramo de materia prima

Producto	Unidad	Rendimiento BS	Rendimiento BH
Licor ¹	l/kg	8.75	1.50
Harina ²	kg/kg	-	0.82
Pectina ¹	kg/kg	0.19	0.03

¹Cáscara, pulpa tangencial, pulpa jugosa; ²Semillas

Con estos resultados se realizaron los balances de masa del proceso general, los residuos que se generaron en la obtención de un producto, se juntaron y con ellos se llevó a cabo una fermentación sólida con *Aspergillius oryzae*. En la Figura 2 se observan los productos obtenidos. La harina

obtenida presentó color café y consistencia granulosa, como se aprecia en la Figura 2. En comparación a harinas comerciales, es necesario implementar un tamiz para obtener un tamaño de partícula más pequeño. El licor se dejó reposar durante 1 mes, obteniendo un porcentaje de rendimiento del 26.25% de la materia prima de entrada, por lo que si se deja más tiempo en reposo, el porcentaje de aprovechamiento puede aumentar significativamente, ya que el tiempo necesario para la producción de un licor comercial es mínimo de 6 meses, para que este cuente con mejores características organolépticas. La pectina presenta una coloración café claro, semitransparante granular. En lo que respecta a la fermentación sólida, el hongo *Aspergillus oryzae* creció abundantemente con mucha esporulación verde y micelio de micelio de color blanco, estos resultados son promisorios ya sea para fines de alimentación animal o para la producción de enzimas.

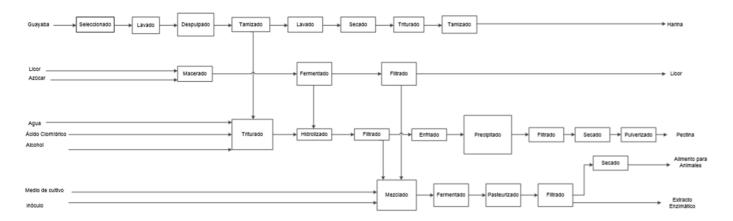


Figura 1 Procesos para la obtención de productos de valor agregado.



Análisis de la pectina obtenida

La Tabla 6 muestra los porcentajes de rendimiento de la pectina de guayaba obtenida con respecto al grado de maduración del fruto. Los valores de rendimiento de la pectina extraída que reporta Chacín [18] de 1.65% con un grado de madurez pintón es mucho menor al que se reporta en el presente trabajo de 3.38% maduro, pero de menor porcentaje si se compara con los que se obtuvo

Paredes y Col [19] 5.49% verde, 5.24% pintón y 4.77% madura, siendo este último porcentaje más cercano al obtenido en este trabajo con el mismo grado de madurez.

Se sabe que tanto la pectina comercial "Rapid Set" Figura 3 como la "Slow Set" Figura 4 poseen un espectro infrarrojo característico. Dicho espectro fue tomado como estándar para analizar la pectina obtenida a partir de guayaba de tercera calidad. El espectro infrarrojo fue empleado para caracterizar la pectina obtenida en el proceso para de esta manera observar y analizar picos característicos en ciertas longitudes de onda de la pectina.

	Este trabajo	Chacín [18]	Paredes y col. [19]
Rendimientos de Pectina %	3.38 ⁵	1.65 ⁴	5.49 ³ 5.24 ⁴ 4.77 ⁵

³Verde, ⁴Pintón, ⁵Madura

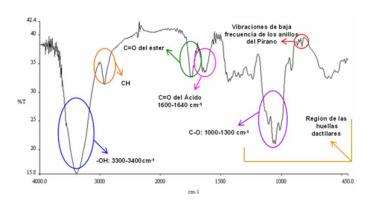


Figura 3 Espectro infrarrojo de la pectina Rapid Set [20].

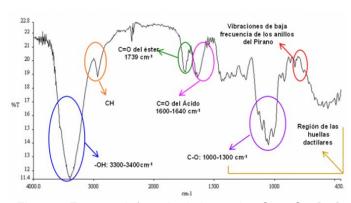


Figura 4 Espectro infrarrojo de la pectina Slow Set [20].

Al comparar el espectro IR de la pectina de guayaba de tercera calidad, Figura 5, con las referencias, se observa una banda aproximadamente en 1739 cm⁻¹, que corresponde al grupo éster de una pectina, lo que indica que la pulpa posee una pequeña cantidad de pectina, aún sin hidrolizar. Se evidencia la presencia de los grupos funcionales característicos de una pectina, entre los 3300 – 3400 cm⁻¹ se encuentra la banda correspondiente a los grupos –OH, entre los 2900 – 3000 cm⁻¹ el grupo CH, entre los 1700–1800 cm⁻¹ el grupo C=O de los ésteres, entre los 1500-1700 cm⁻¹ el grupo C=O de los ácido, entre los 1000-1200 cm⁻¹ el grupo C-O y entre los 700 y 900 cm⁻¹ los anillos benzoicos [20].

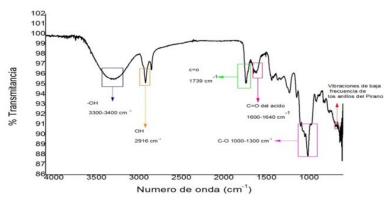


Figura 5 Espectro infrarrojo de la pectina de guayaba de tercera calidad.

CONCLUSIONES

La cáscara de la materia prima presenta un alto contenido en fibra, seguido de grasas, proteínas y semillas. En cuanto a la pulpa tangencial y jugosa, esta contiene principalmente proteínas, seguidas de cenizas, grasas y fibra. En lo que respecta a las semillas, presentan una alta concentración de fibra, seguida de grasas, proteínas y cenizas. La producción de harina a partir de las semillas de la fruta resulta ser adecuada, puesto que la guayaba presenta un alto contenido de estas en base seca 20 %. El licor producido solo se dejó fermentar un mes, y licores comerciales requieren una fermentación de al menos 6 meses. La obtención de pectina es mejor si se utilizan las pulpas y la cáscara juntas, el rendimiento de pectina resulta ser similar a la encontrada en bibliografía. Además los picos que presento la pectina de este trabajo son similares a los que presentan las pectinas comerciales, se deberá hacer un análisis estructural y reológico para determinar la calidad de la pectina que nos indique sus posibles aplicaciones. Se tuvo una pérdida del 13 % de la materia prima en el proceso propuesto, pero es necesario optimizar las condiciones de operación de cada subprocesos para la obtención de un producto en específico.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. FAO. (2015). Pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y El Caribe. Accesado: enero 2017 [En línea]. Disponible en: http://www.fao.org/3/l4655S.pdf.
- SEDESOL. (2013). Se desperdician más de diez mil toneladas de alimentos cada año en México. Accesado: enero 2017 [En línea]. Disponible en: http://www.sedesol.gob.mx/work/models/SEDESOL/Sala_Prensa/Comunicados/pdf/141 113-Desperdicio_alimentos.pdf.
- 3. Padilla, S., Perales, M., González, E., Reyes, H., Mena, J. (2007). Programa de transferencia de tecnología en guayaba. Accesado: enero 2017 [En línea]. Disponible en http://www.inifap-nortecentro.gob.mx/files/nodos/TGuayaba.pdf.
- 4. Patel, RK., Maiti, CS., Deka, Bidyut C., Deshmukh, NA., Verma, VK., Nath, A. (2015). Physical and biochemical changes in guava ('Psidium Guajava' L.) during various stages of fruit growth and development. *International Journal of Agriculture, Environment & Biotechnology* 8(1), 75-82.
- SEDESOL. (2013). Se desperdician más de diez mil toneladas de alimentos cada año en México. Accesado: enero 2017 [En línea]. Disponible en: http://www.sedesol.gob.mx/work/models/SEDESOL/Sala_Prensa/Comunicados/pdf/141113-Desperdicio_alimentos.pdf.
- 6. SAGARPA. (2017). Aumenta 8.2 por ciento producción de guayaba en México en el último trienio. Accesado: enero 2017 [En línea]. Disponible en: http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/nayarit/boletines/Paginas/BNSAGENE072017.
- 7. Pineda, R. D. (2014). El poder de la guayaba. Revista Universitas Científica 2: 25-29.

- 8. Cañizares, A., Laverde, D., Puesme, R. (2003). Crecimiento y desarrollo del fruto de guayaba ('Psidium guayaba' L.). UDO Agrícola 3: 34-38
- 9. Torres, V. I. (2010). Determinación del potencial nutritivo y funcional de guayaba ('*Psidium guajava*' L.), cocona ('Solanum sessiliflorum' Dunal) y camu camu ('Myrciaria dubia' Vaugh). Tesis de Ingeniera Agroindustral, Escuela Politécnica Nacional, Ecuador.
- 10. Rodríguez, M.G. (2002). Desarrollo de una alternativa tecnológica para la obtención de cremogenados de chirimoya ('Annona cherimola' Mill), guayaba (Psidium guajava L) y mango ('Mangífera indica'). Tesis de Ingeniero Químico, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador.
- 11. Ramírez, A., Pacheco, E. (2009). Propiedades funcionales de harinas altas en fibra dietética obtenidas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia 34(4):* 293-298.
- 12. FISAC. (2010). Los licores: origen, definición y tipos. Accesado: enero 2017 [En línea]. Disponible en: www.alcoholinformate.org.mx/saberdelmundo.cfm?catlD=4&id=355.
- 13. FDA. (2001). Guidance for industry: food labeling serving sizes reference amount for baking powder, baking soda, pectin; small entity compliance guide. Accesado: marzo 2017 [En linea]. Disponible en: https://www.fda.gov/food/guidanceregulation/guidancedocumentsregulatoryinformation/labelingnutrition/ucm063136.htm.
- 14. Badui, S. (2006). Química de los alimentos. Editorial PEARSON, México.
- 15. Chacín, J., Marín, M., D'Addosio, R. (2010). Evaluación del contenido de pectina en diferentes genotipos de guayaba de la zona sur del Lago de Maracaibo. *Multiciencias* 10(1): 7-12
- 16. Brito, B., Rodríguez, M. (2004). *Aplicación de tecnologías agroindustriales para el tratamiento de la guayaba con fines de exportación*. Editorial INIAP, Ecuador.
- 17. Cerón, L., Hurtado, A., Ayala, A. (2016). Efecto de la presión y la temperatura de extracción con CO2 supercrítico sobre el rendimiento y composición de aceite de semillas de guayaba (*'Psidium guajava'*). *Información Tecnológica* 27(6): 249-258.
- 18. Chacín, J., Marín, M., D'Addosio, R. (2010). Evaluación del contenido de pectina en diferentes genotipos de guayaba de la zona sur del Lago de Maracaibo. *Multiciencias* 10(1): 7-12.
- Paredes, J., Hernández, R., Cañizares, A. (2015). Efecto del grado de madurez sobre las propiedades fisicoquímicas de pectinas extraídas de cascos de guayaba (*'Psidium guajava'* L.). *Idesia* 33(3): 35-41.
- Kamnev, A., Colina, M., Rodríguez, J., Ptitchkina, N., Ignatov, V. (1998). Comparative spectroscopic characterization of different pectins and their sources. Food Hydrocolloids 12(2): 263-271.

ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO DE UNA GLOBULINA 11S DE AMARANTO EXPRESADA EN E. COLI.

Espinosa-Hernández Edgar, Rosas-Cárdenas Flor de Fátima y Luna-Suárez Silvia

Centro de investigación en Biotecnología Aplicada. Instituto Politécnico Nacional, CIBA-Tlaxcala.

RESUMEN

Investigaciones recientes han mostrado que la amarantina es una proteína que contiene un balance de aminoácidos esenciales, mejor que las proteínas provenientes de cereales lo cual ha cobrado interés desde el punto de vista nutricional. Por otra parte, esta proteína ha sido objeto de modificaciones de estructura primaria con la inserción de péptidos antihipertensivos en las regiones variables, por lo que esta proteína ha cobrado importancia desde el punto de vista nutraceutico. En este trabajo se expresó la amarantina utilizando la cepa E. coli Codon Plus RIL; debido a la naturaleza de la proteína se obtuvo en cuerpos de inclusión los cuales fueron disueltos en urea 6M y se purificó por cromatografía de afinidad con una concentración de imidazol de 125 mM. De la proteína purificada se eliminó la urea por diálisis y se observó su espectro de fluorescencia a una longitud de excitación de 195 nm obteniendo un espectro con una lambda máxima de 330nm, lo cual indica que esta proteína está adoptando una estructura ordena. También se realizó espectroscopía de Dicroismo Circular en la cual se estimó su estructura secundaria de 19% alfa hélice, 24% de beta-plegada y 14% de giros. Lo que nos indica que la proteína replegada obtenida se enriqueció en estructura alfa y disminuyó en estructura beta, comparada con la misma proteína cristalizada anteriormente reportada, ésto pudo deberse a la inclusión de seis histidinas en el extremo carboxilo terminal, utilizado para la purificación por medio de cromatografía de afinidad a niquel.

INTRODUCCIÓN

Las proteínas de origen vegetal son apreciadas para la alimentación humana por su bajo costo, libre de grasas saturadas, su fácil almacenamiento y distribución. Entre éstas proteínas de reserva se encuentran las globulinas 11S, que han sido objeto de múltiples estudios, encaminados a la modificación de su valor nutrimental y funcional; por ejemplo, se modificaron la glicinina de soya en sus regiones variables, con la inserción de codones de metionina para incrementar el valor nutrimental (Katsube et al., 1994). A la subunidad alfa-conglicinina de soya se le insertó en una de sus regiones variables el péptido bioactivo potente hipotensor RPLKPW, con la intención de adicionarle a esta proteína una propiedad funcional (Matoba et al., 2001).

La globulina 11S de amaranto es la proteína más abundante en su semilla y su estudio ha sido de gran interés debido a que es rica en aminoácidos esenciales principalmente en lisina, metionina, serina y cisteína, en comparación con otros granos comunes en la alimentación humana, se conoce la secuenciada su cadena de aminoácidos (Barba de la Rosa *et al.*, 1996), de su estructura secundaría y terciaria se han reportado cinco regiones variables (Luna-Suárez *et al.*, 2010), las cuales son regiones con la posibilidad de ser modificadas sin alterar la estructura fundamental de esta proteína y evitar sean degradadas o se formen conglomerados. Se ha expresado en *E. coli* y

se ha reportado su estructura cristalizada (Tandang-Silvas *et al.*, 2012), por lo que es importante elucidar la estabilidad estructural que adopta esta proteína en su forma soluble.

En este trabajo se pretende estudiar la estabilidad estructural de la globulina 11S de amaranto por medio de espectroscopía de fluorescencia y dicroísmo circular.

PARTE EXPERIMENTAL

La cepa de *E. coli* BL21-condon plus (DE3)-RIL fue transformada por choque térmico con el plásmido pET-AMAR-6HIS el cual contiene la secuencia de la amarantina una globulina 11S de amaranto; este plásmido contiene un gen que aporta resistencia a ampicilina; las células se seleccionaron en placas con medio LB suplementadas con 34 μg/ml de cloranfenicol y 100 mg/ml de ampicilina. Se preparó un preinóculo en un matraz con 10 ml de medio LB con 100 μg/ml de ampicilina y 34 μg/ml de cloranfenicol, se incubó por 12 horas a 37°C en un agitador orbital a 200 rpm. Posteriormente se inoculó un minireactor de 2LT marca NALGENE matraz erlenmeyer con 400ml de medio de cultivo (infusión de papa, extracto de levadura (10g/L) y buffer de fosfatos) suplementado con cloranfenicol (34 μg/ml) y ampicilina (100 μg/ml) con agitación de 200 rpm a 30°C, se indujo a una D.O. de 0.3 con lactosa al 0.5%, se tomaron muestras cada hora después de la inducción con lactosa. Se tomarón muestras para ser analizadas por SDS-PAGE.

La purificación de la proteína recombinante se realizó a partir de la fracción insoluble disuelta en 6M de urea, por medio de cromatografía de afinidad al niquel utilizando la resina Ni-TED, utilizando diferentes concentraciones de imidazol para eluir la proteína. Una vez obtenida la proteína purificada se eliminó la urea con una membrana de celulosa provocando un diferencial osmótico con agua destilada.

Con la proteína soluble sin urea se determinó su espectro de fluorescencia intrínseca en un espectrofluorómetro PC1 (ISS) acoplado a un sistema Peltier (PolyScience) para mantener la temperatura de 22 °C. Se utilizó una longitud de onda de excitación de 295 nm, se midió la emisión en el intervalo de 310 a 410 nm.

Para los ensayos de dicroísmo circular (DC) se realizaron en un espectropolarímetro ChirascanTM (Applied Photophysics) acoplado a un sistema Peltier (PolyScience) para el control de temperatura. El espectro se registró de 195 a 260 nm de longitud de onda. La celda que se utilizó para las mediciones fue de 0.1 cm de paso de luz. La predicción de estructura secundaria se obtuvo mediante el servidor DICHROWEB y el algoritmo CDSSTR (Whiitmore y Wallace, 2004).

RESULTADOS

Para la expresión de la amarantina se utilizó la cepa BL21 codon plus (DE3) RIL transformada con el vector pET-AMAR-6His el cual contiene la secuencia que codifica para la amarantina, una proteína de reserva 11S que se encuentra en la semilla de amaranto. Esta se expresó en un minireactor NALGENE de 400ml utilizando como medio de cultivo infusión de papa, extracto de levadura (10g/L) y buffer de fosfatos, al cual se le agregó con cloranfenicol (34 μg/ml) y ampicilina (100 μg/ml) a 200 rpm, a una temperatura 30°C, la inducción se realizó a una D.O. de 0.35 con lactosa al 0.5%.

Como se puede observar en la figura 1, la proteína se acumuló paulatinamente hasta un máximo a las seis horas después de la inducción, en el carril 1 se puede observar que no se observa expresión antes de la inducción con lactosa. El cultivo de células obtenido de la fermentación se resuspendió en un buffer de fosfatos pH 7.6 y 0.2M de NaCl para su posterior sonicación en la cual se obtuvieron dos fracciones: la soluble e insoluble. Estas fracciones se resolvieron por SDS-PAGE en el que se determinó que la amarantina no se encuentra en la fracción soluble, permaneciendo en la fracción insoluble como cuerpos de inclusión. Para disolver estos cuerpos de inclusión se utilizó la urea como agente caotrópico a una concentración 6M en un buffer de fostatos a pH 7.6 y 0.2M NaCl.

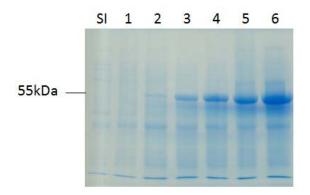


Figura 1 Perfil electroforético SDS-PAGE de la expresión de la amarantina en la cepa de expresión BL21 codon plus (DE3) RIL de *E. coli* a en un minireactor 400 ml a 30°C. M: Marcador de peso. SI: sin inducción. 1-6: horas después de la inducción.

Una vez separada la proteína disuelta en urea, se pasó por una columna con Ni inmovilizado en la cual la amarantina fue eluída en 125 mM de imidazol obteniendo con una pureza de 90% y una concentración de 0.6 mg/ml. Después de purificada la proteína se disolvieron en buffer de fosfatos para ajustar la concentración a 0.5 mg/ml utilizando el buffer de fosfatos pH 7.6 con 0.2 M de NaCl y 6M de urea y se colocó la muestra en una membrana de celulosa para dializar con un diferencial de concentración de 4.5M, 3 M, 1.5 M, 0.5 M y 0.0 M de urea durante 1.5 horas cada una, a una temperatura de 5°C. Una vez eliminada la urea se centrifugó la muestra obteniendo una concentración de proteína soluble de 0.28 mg/ml, lo cual corresponde al 56% de la proteína inicial.

Con la muestra obtenida se realizaron pruebas de espectroscopía de fluorescencia, para esta prueba es importante considerar que nuestra proteína tiene cuatro triptófanos que son los aminoácidos que en un ambiente hidrofóbico contribuyen en mayor medida en la señal de emisión de fluorescencia. La muestra dializada presentó mayor señal que desnaturalizada en 6M de urea, además la muestra dializada reportó una lamda máxima de 333 nm y la muestra desnaturalizada una lamda máxima de 336. Lo anterior nos indica que la proteína a 0M de urea está adoptando una estructura ordenada y que algunos de sus triptófanos se encuentran en un ambiente hidrofóbico que les permite aumentar la señal de emisión en comparación con la proteína a 6M que de acuerdo a una señal más débil y un recorrimiento hacia el rojo nos indica que los triptófanos se encuentran en un estado hidrofílico.

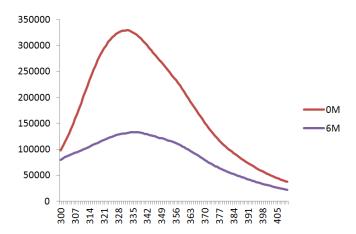


Figura 2. Perfil de espectroscopia de fluorescencia de la amarantina recombinante con 0M y 6M de urea.

Al mismo tiempo se realizaron pruebas de espectroscopia de dicroísmo circular en un equipo Quirascan. En la figura 3 se puede observar que el espectrograma muestra una curva típica de una proteína Beta 1 en forma soluble, con una señal máxima positiva a 198 nm, una señal máxima negativa a 208 nm y un hombro alrededor de 220 nm. Por medio del servidor dicroweb y el algoritmo DCSSTR se realizó una predicción de estructura secundaria con 19% de alfa-helice, 24% de beta-plegada, 14% giros y 41% de estructura desordenada. Tandang-Silvas *et al.* (2012) reportó a partir de la amarantina cristalizada una estructura secundaria de 11% de alfa-hélice y 30% beta-plegada, en lo cual se puede apreciar que la amarantina recombinante en estado soluble presenta un aumento de estructura alfa-hélice y una reducción de su estructura beta-plegada. La modificación en la estructura secundaria posiblemente pueda deberse a la cola de seis histidinas que se encuentra en el extremo carboxilo-terminal ya que durante el replegamiento in-vitro estas podrían estar bloqueando la ruta hacia el replegamiento nativo de la proteína, produciendo otra conformación que direcciona hacia una conformación distinta que promueve conformación de estructura alfa-hélice y la disminución de estructura beta-plegada.

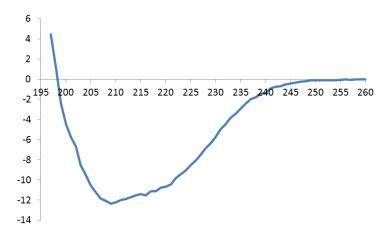


Figura 3. Perfil de espectroscopía de dicroísmo circular en amarantina recombinante con 0M de urea.

CONCLUSIONES

La proteína recombinante dializada adopta una estructura ordena, que podría presentar sus triptófanos en un estado hidrofóbico.

La proteína replegada modificó su patrón de replegamiento presentando un aumento en su estructura alfa-hélice y una disminución de estructura beta-plegada.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Katsube T., Gidamis A. B., Kanamori J., Kang I. J., Utsumi S. y Kito M. "Modification tolerability of the hypervariable region of soybean proglycinin". J. Agricultural Food Chem. Vol. 42, 1994, pp.2639:2645.
- 2. Matoba N., Doyama N., Yamada Y., Maruyama N., Utsumi S. y Yoshikawa M. "Design and production of genetically modified soybean protein with antihipertensive activity by incorporating potent analogue of ovokinin (2-7)". FEBS Letters Vol. 497, 2001, pp. 50-54.
- 3. Luna-Suárez S., Medina-Godoy S., Cruz-Hernández A. y Paredes-López O. "Modification of the amaranth 11S globulin storage protein to produce an inhibitory peptide of the angiotensin I converting enzyme, and its expression in *Escherichia coli*" J. Biotech. Vol. 148, 2010, pp.240-247.
- 4. Barba de la Rosa A. Herrera Estrella A., Utsumi S. and Paredes López O. "Molecular Characterization, Cloning and structural Analysis of a cDNA Encoding an Amaranth Globulin", J. Plant Physiol. Vol. 149, 1996, pp. 527-532.
- 5. Tandang-Silvas M. R., Cabanos C. C., Carrazco-Peña L., Barba de la Rosa A. P. "Crystal structure of a major seed storage protein, 11S proglobulin, from Amaranthus hypochondriacus: insight into its physico-chemical properties". Food Chem. Vol.135, 2012, pp. 819-826.
- 6. Whitmore L. y Wallace B. A. "DICHROWEB, an online server for protein secondary structure analyses from circular dichroism spectroscopic data". Nucleic Acids Res. Vol. 32, 2004, pp.668-673.

BIORRECUPERACIÓN DE SUELO IMPACTADO POR 85,000 PPM DE ACEITE RESIDUAL AUTOMOTRIZ

Alejandra Higareda-Rodríguez, Blanca Celeste Saucedo-Martínez, Lillian Bribiesca-Rodríguez, Juan Manuel Sánchez-Yáñez

Microbiología Ambiental, (autor correspondiente*syanez@umich.mx), Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Ed B-3

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE MEDICAMENTOS. Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Francisco. J. Mujica S/N, Felicitas del Rio, CP 58,000, Morelia, Michoacán, México.

RESUMEN

El suelo contaminado con 85,000 ppm de aceite residual automotriz (ARA) derivado del uso de automotores, es una mezcla de hidrocarburos (HICO) alifáticos, aromáticos, policíclicos y trazas de metales pesados, se clasifica como un residuo peligroso de acuerdo a la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección Ambiental (LGEEPA, 2014); la saturación en suelo por 85,000 ppm de ARA es una concentración alta para la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003 (NOM-138), cuyo límite máximo permisible es 4,400 ppm. El ARA por su inadecuada disposición final, causa un impacto negativo cuando es vertido en ese ambiente, debido a su propiedad química de insolubilidad que provoca pérdida de fertilidad, inhibe la actividad microbiana aerobia y disminuye la producción vegetal.

La hipótesis de la investigación es que la bioestimulación (BIS) de un suelo contaminado por 85,000 ppm de ARA con detergente (DEGE) al 0.5%, solución mineral (SOMI), H₂O₂, extracto fúngico crudo (EXFUC) con la posterior fitorremediación (FITO) mediante Phaseolus vulgaris inoculada con Micromonospora echinospora y/o Streptomyces griseus, minimizará el ARA a una concentración inferior a la máxima aceptada por la NOM-138. Los objetivos del trabajo fueron: a) La BIS de suelo impactado por 85,000 ppm de ARA con DEGE al 0.5%, SOMI, H₂O₂ y EXFUC y b) FITO mediante P. vulgaris potenciado con M. echinospora y/o S. griseus, reducir el ARA remanente a una concentración inferior a la máxima aceptada por la NOM-138. La variablerespuesta de la BIS fue la concentración inicial y final de ARA por Soxhlet; en la FITO la fenología: altura de planta y longitud radical (AP)/(LR), la biomasa; peso fresco y seco, aéreo/radical (PFA/PFR)/(PSA/PSR) a plántula y floración. El diseño experimental fue aleatorio con 6 tratamientos, 3 controles y 6 repeticiones. Los datos experimentales se analizaron por ANOVA/Tukey HSDP<0.05% con el programa estadístico Statgraphics Centurion. Los resultados indican que la BIS del suelo impactado por ARA con DEGE al 0.5%, SOMI, H₂O₂ y EXFUC redujo la concentración del ARA de 85,000 ppm a 3,413 ppm en 156 días, esto indica que la integración de BIS y FITO en suelo con relativa alta concentración de ARA fue efectiva para eliminarlo eficazmente y alcanzar un valor inferior al máximo aceptado por la NOM-138, de acuerdo a la norma el suelo se encuentra remediado.

Palabras clave: ARA, solución mineral, extracto fúngico crudo, *Phaseolus vulgaris, M. echinospora/S. griseus*.

INTRODUCCIÓN

La contaminación en suelo por hidrocarburos (HICO) derivados del petróleo, como el aceite residual automotriz (ARA), que es una mezcla de moléculas insolubles alifáticas, aromáticos, policíclicos y trazas de elementos metálicos generada por la lubricación de automotores y maquinaria industrial (Sharifi *et al.*, 2007), no obstante con frecuencia por su inadecuada disposición final se derrama en suelo (Pons-Jiménez *et al.*, 2011). Actualmente en México el ARA es un residuo peligroso de acuerdo a la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección Ambiental (LGEEPA, 2014). Una concentración de 85,000 ppm es demasiado elevada para la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003 (NOM-138) que establece los límites máximos permisibles de los HICO como del ARA de acuerdo a la fracción ligera de 200 ppm; de la mediana 1,200 ppm y de la pesada de 3,000 ppm; en total 4,400 ppm. En suelo una concentración relativamente alta de ARA superior a 30,000 ppm, causa un efecto negativo en la fertilidad, al impedir el intercambio gaseoso con la atmósfera, inhibe la mineralización de materia orgánica, en consecuencia afecta la producción agrícola (Saucedo-Martínez *et al.*, 2016).

Una alternativa de solución en el suelo con ARA es la bioestimulación (BIS), que induce el potencial microbiano heterótrofo aerobio autóctono para oxidar el ARA, mediante un detergente (DEGE) que facilite la emulsificación de sus HICO (Riojas-Gonzáles *et al.*, 2010); al mismo tiempo enriquecido con una solución mineral (SOMI) con sales inorgánicas de N (nitrógeno) como el NH₄ o el NO₃, que restituye el equilibrio C:N (Pinto *et al.*, 2007); así el P (fósforo) principalmente requerido como PO₄ durante la oxidación del ARA es útil para la síntesis de ácidos nucleicos y formación de ATP. Mientras el K (potasio) activa enzimas e interviene en la síntesis de proteínas y en la transferencia de ATP, en la mineralización del ARA (Sánchez-Yáñez, 2011). La SOMI es crucial para brindar una adecuada disponibilidad de nutrientes esenciales y reducir en suelo los HICO e inducir la acción oxidante de la microbiota aerobia heterotrófica a mineralizar fracciones de HICO (Meza-Ramírez *et al.*, 2016). La biodegradación de HICO en suelo con la adición de EXFUC con lacasa de *Aspergillus fumigatus*, posee la capacidad de hidrolizar HICO aromáticos del ARA (Saucedo-Martínez, 2017).

Para la FITO *Phaseolus vulgaris* por su sistema radical tolerante a la fitotoxicidad del ARA, potenciada con actinomicetos promotores de crecimiento vegetal (ACPOVECE) como *Micromonospora echinospora* y *Streptomyces griseus*, estimulan su crecimiento mediante fitohormonas a partir de los exudados radiculares (Solans & Vobis, 2003); así la FITO mejora la degradación y mineralización del ARA y en suma se minimizará la concentración de ARA a un valor al máximo aceptado por la NOM-138.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el invernadero del laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH. En ese invernadero las condiciones microclimáticas promedio son: temperatura de 23.2°C, luminosidad de 450 µmol·m⁻²·s⁻¹ y humedad relativa de 67%. El suelo se solarizó a 70°C/48 h para minimizar el problema de plagas y enfermedades, posteriormente se tamizó con una malla del No. 20 y se contaminó con 85,000 ppm

de ARA proveniente de un taller mecánico automotriz diluido en agua con el detergente comercial (La Corona®) al 0.5% (v/v) para solubilizarlo.

Luego un 1.0 kg de suelo se colocó en el contenedor superior de un sistema semihidropónico jarra de Leonard, mientras que la SOMI (o agua) se depositó en el reservorio de la parte inferior, ambas partes se conectaron por una tira de algodón de aproximadamente 20 cm de largo para permitir el movimiento de la SOMI o agua por capilaridad al suelo, según el tratamiento especificado en la con 4 tratamientos de los cuales son 3 controles y 6 repeticiones: el suelo sin contaminar con ARA irrigado solo con agua considerado como el control absoluto (CA), ese suelo sin ARA y alimentado con SOMI referido a control relativo (CR), suelo contaminado con ARA sin bioestimular o fitorremediar como control negativo (CN) y el mismo suelo donde se aplicará la BIS/FITO.

Tabla 1 diseño experimental para la BIS de un suelo contaminado por 85,000 ppm de aceite residual automotriz con detergente al 0.5%, solución mineral, H₂O₂, extracto fúngico crudo y la fitorremediación mediante Phaseolus vulgaris potenciado con Micromonospora echinospora y Streptomyces griseus.

oominoopora y on op	<u> </u>			
Suelo	Aceite residual automotriz	Solución mineral (SOMI)	Detergente al 0.5% + SOMI + H2O2 al 0.5% + extracto fúngico crudo	Fitorremediación con <i>Phaseolus vulgaris</i>
Agua (control absoluto)				+
Solución mineral (control relativo)	-	100%	-	+
Aceite residual automotriz (control negativo)	+	-	-	+
Suelo bioestimulado	+	+	+	+
P. vulgaris inoculado con: a) Micromonospora echinospora	+	50%	+	+
b) Streptomyces griseus	+	50%	+	+
c) M. echinospora / S. griseus	+	50%	+	+
d) P. vulgaris sin inocular	+	50%	+	+

(+) = Agregado; (-) = No agregado; n = 6

La primer BIS, se aplicó DEGE al 0.5% con 5ml/kg de suelo de acuerdo a la Tabla 1, del diseño experimental y posteriormente se trató con SOMI 20 ml/kg de suelo cada 3 días / 1 mes. La segunda BIS con H₂O₂ al 0.5% se añadió 20 ml/kg de suelo. Para la BIS con EXFUC, se realizó el siguiente procedimiento, de la colección de hongos del Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la UMSNH, *Aspergillus fumigatus* se cultivó en caldo lignina residual de paja de trigo. Se incubó por 7 días a 30°C en agitación y se filtró para obtener el EXFUC el cual se agregó 10.0 ml/kg de suelo cada 15 días durante 1 mes. Para la FITO del suelo se inoculó *P. vulgaris* con *M. echinospora* y/o *S. griseus*, de la colección del Laboratorio de Microbiología ambiental.

La variable-respuesta de la BIS fue la concentración inicial y final de ARA por Soxhlet y en la FITO, la fenotipia; altura de planta y longitud radical y la biomasa; peso fresco y seco, aéreo/radical a plántula, los datos experimentales se analizaron por ANOVA/Tukey HSDP <0.05% (programa estadístico Statgraphics Centurion).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la BIS con el DEGE se afirmó que es eficaz su aplicación ya que contribuye a solubilizar los HICO alifáticos del ARA, mientras que el enriquecimiento con la SOMI aportó macronutrientes como N, P y K para la producción de biomasa así también el H₂O₂ aportó O₂ que facilita la

oxidación de los HICO del ARA y por su parte el EXFUC con la lacasa producida por *Aspergillus fumigatus* degradó la parte aromática, en conjunto indujeron a la microbiota heterotrófica aerobia del suelo a mineralizar el ARA, por lo que hubo una disminución de 85,000 ppm a 3,413 ppm en 156 días, comparado con el suelo control negativo sin BIS donde los valores tienen diferencia estadística que refleja un decremento de ARA por atenuación natural.

Tabla 2 Concentración remanente de aceite residual automotriz en suelo por bioestimulación con detergente, solución mineral, H_2O_2 al 0.5% y extracto fúngico crudo en 156 días.

Suelo + 85,000 ppm de aceite residual automotriz	Concentración de aceite residual automotriz en suelo después de 156 días de bioestimulación (ppm)	
Sin bioestimular (control negativo)	61,300 ^{b*}	
Suelo bioestimulado con detergente al 0.5% + solución mineral + H ₂ O ₂ al 0.5% + extracto fúngico crudo	3,413 ^{a*}	

Simbología: *Letras distintas son estadísticamente diferentes (ANOVA/Tukey HSDP<0.05%) n=6

CONCLUSIÓN

La BIS secuencial y acumulativa con el DEGE, la SOMI, el H₂O₂ y el EXFUC fue eficaz para favorer la eliminación del ARA a un valor inferior a la NOM-138.

Agradecimientos al Proyecto 2.7 (2017) CIC-UMSNH, y BIONUTRA, S.A. de CV Maravatío, Mich. México, por el apoyo.

BIBLIOGRAFÍA

- Balderas-León, I. 2016. Biorremediación mejorada de un suelo contaminado con 80,000 ppm de aceite residual automotriz por bioestimulación son solución mineral, Vicia sativa (abono verde) y fitorremediación con Sorghum vulgare potenciado con Bacillus cereus y/o Burkholderia cepacia. Laboratorio de Microbiología Ambiental. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia. Mich. México (Inédita).
- 2. Ley General de Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (LGEEPA) 2014. Diario Oficial de la Federación.
- 3. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación". Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Diario Oficial de la Federación.

- 4. Meza-Ramírez, J., Y., Rico-Cerda, J., Ruiz-Nájera, R. E., & Sánchez-Yáñez, J. M. 2016. Bioestimulación de suelo contaminado con 40000 ppm de aceite residual automotriz y fitorremediación con *Cicer arietinum* y *Burkholderia cepacia*. Journal of the Selva Andina Research Society 7(2):76-85.
- 5. Pinto M. A., Geraldes K. A., De Franceschi D. D., Marcos B. D. 2007. Laboratory study on the bioremediation of diesel oil contaminated soil from a petrol station. Brazilian Journal of Microbiology 38(2):346-353.
- 6. Pons-Jiménez, M, Guerrero-Peña, A, Zavala-Cruz, J, & Alarcón, A. 2011. Extracción de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo en suelos con características físicas y químicas diferentes. Universidad y Ciencia 27(1):1-15.
- Riojas-González, H. H., Torres-Bustillos, L. G., Mondaca-Fernández, I., Balderas, Cortés & J. J., Gortarés-Moroyoqui, P. 2010. Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Revista Química Viva 3:120-145.
- 8. Sánchez-Yáñez, J. M. 2007. Breve Tratado de Microbiología Agrícola, Teoría y Práctica. Ed. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, CIDEM, Secretaria de Desarrollo Agropecuario del Gobierno del Estado de Michoacán. CONSUTENTA, S.A. de C.V. Morelia, Mich, México. ISBN: 978-970-95424-1-7
- 9. Sánchez-Yáñez, J. M. 2011. Biorremediación. Estrategias para la contaminación ambiental. ISBN Amertown International S.A. USA. Primera edición www.librosenred.com
- Saucedo-Martínez, B. C., Montaño-Arias, N. M., Márquez-Benavides, L., & Sánchez-Yáñez, J. M. 2016. Bioestimulación de suelo impactado con 45000 ppm de aceite residual automotriz y Fitorremediación con Zea mays y Burkholderia cepacia y/o Rhizobium etli. Journal of the Selva Andina 7(2):86-94.
- 11. Sharifi M, Sadeghi Y, Akbarpour M. 2007. Germination and growth of six plant species on contaminated soil with spent oil. Internacional Journal Environmental Science Technology 4(4):463-70.
- 12. Solans, M., & Vobis, G. 2003. Actinomycetes saprofíticos asociados a la rizósfera y rizoplano de *Discaria trinervis*. Ecología austral 13(1): 97-107.
- Vallejo V., Salgado L., Roldan F., 2005. Evaluación de la bioestimulación en la biodegradación de TPHs en suelos contaminados con petróleo. Revista Colombiana Biotecnológica 7:67-78

DETERMINACIÓN FÍSICO QUÍMICAS DEL AGUA DE LA PRESA EN SANTA CLARA Y SAN JOSÉ ATLANGATEPEC

Araceli Cortes García, Alicia Montiel Borbolla, Anayeli Guzmán Enríquez, Juan Raúl Castillo Colín, Jesús Dámaso Bustamante González y Martha Rodríguez Gutiérrez.

Laboratorio de Reproducción Genética y Sanidad Acuícola. Estudiantes de la Licenciatura en Biología Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso N°1100, Col. Villa Quietud, C. P. 04960, Coyoacán, Ciudad de México. Email. acortes@correo.xoc.uam.mx.com.

RESUMEN

En Tlaxcala, los embalses sirven para dosificar el suministro de agua a los agrocultivos, sin embargo, en ella albergan especies de interés comercial como son acociles (Cambarellus montezumae) y carpas (Cyprinus carpio), su abundancia ha disminuido debido a las modificaciones antropocéntricas, principalmente descargas de aguas negras por las poblaciones hacendadas alrededor de ella. La presente investigación realizó monitoreos de calidad del agua durante todo el día considerando: profundidad, trasparencia, temperatura, oxígeno disuelto, pH, nitrato, fosfatos v amonio, para dos puntos de la presa Santa Clara y San José. Se georreferencio con un GPS los puntos de muestreo, la profundidad y trasparencia se midió con el disco Secchi; la temperatura y el oxigeno disuelto con un oxímetro modelo YSI 8 y pH con un potenciómetro HANNA HI900, mientras que los factores químicos con un multiparamétrico marca HANNA 83099. Los resultados fueron que las profundidades del aqua fueron mayores en SJ con 202.17 cm y presentó un espectro de trasparencia de 28.3 cm; el pH fue de 7.58±0.23 mientras que para SC fue de 6.60±0.49; la temperatura en ambos puntos fue de 19±1.2 °C y 4.20 mg/L de oxigeno; el amonio y fosfatos estuvieron por debajo de lo permisible no habiendo diferencias entre los puntos, sin embargo las concentraciones de nitratos fueron diferentes para ambos puntos por el medio día en SC fue de 20,20±6,97 mg/L y SJ 13,23±4,74 mg/L y por la tarde fue inverso SC 5,43±6,62 mg/L y SJ14,98±6,95 mg/L valores límites para las especies siendo de >20. Los resultados demuestran que el valor máximo de los nitratos se determinó a medio día, cuando hay mas aportes de aguas negras a la presa, aunque esta en lo máximo tolerante por las especies acuáticas se debe continuar monitoreando la químicas del agua, ya que esto puede afectar la presencia de las especies de interés comercial en la presa de Atlangatepec.

Palabras clave: oxigeno disuelto, temperatura, nitratos, amonio.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas acuáticos temporales en México, representan un recurso hídrico importante, utilizados normalmente como una reserva de agua, para la época de seca, cuando en ellos se practican actividades productivas brindan una opción alimenticia humana como lo es la acuicultura (Elías *et al.*, 1998).

En Tlaxcala, los embalses sirven para dosificar el suministro de agua a los agrocultivos, actividades agrícolas, pecuarias y pesqueras que ahí se desarrollan, quienes han trasformado la calidad del agua que se revierte en ella, así como su contaminación. En la presa de Atlangatepec se albergan diversas especies acuáticas que son consumidas por el hombre como los acociles *Cambarellus montezumae* que es un recurso natural renovable sub-explotado y amenazado en la actualidad por modificaciones antropocéntricas, la carpa *Cyprinus carpio* que se ha constituido como un recurso de consumo popular.

Realizar estudios sobre la calidad del agua implica determinar la condición o estado en la que se encuentra para la coexistencia de los organismos principalmente los de interés comercial para las

comunidades aledañas a los cuerpos de agua; los principales indicadores son la temperatura que en promedio requieren los peces y crustáceos para su optimo crecimiento de 10 a 25 °C, el oxígeno disuelto para los peces de 5 -7.5 mg/L; los valores de pH entre 7.6 y 9 según Arana et al. (1998). La presencia de los aniones nitratos, amonio, fosfatos y sólidos en suspensión, además de los factores indirectos, como las descargas de aguas al cuerpo de agua, quienes determinan su calidad, por la importancia de lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue determinar la parámetros físico-químicos en dos puntos de la presa en donde se capturan especies comerciales y que es la entrada económica de los pescadores de las comunidades cercanas a la Presa de Atlangatepec.

METODOLOGÍA

Zona de estudio

La presa de San José Atlanga, está localizada en el Municipio de Atlangatepec, Estado de Tlaxcala. Tiene una capacidad volumétrica de almacenamiento de 54000000 m³ y ocupa una superficie equivalente a 1200 hectáreas, extendiendo su cuenca de captación hasta 25.5 kilómetros cuadrados, a una altitud de 2458 msnm y está sobre suelos blandos y finos de tipo arcilloso (Pérez, 1995). La vegetación natural acuática que por su abundancia y distribución, destaca corresponde a tule *Scirpus lacustris*. En cuanto a la fauna acuática está formada por una serie de especies de invertebrados pertenecientes a los grupos de platelmintos, crustáceos, moluscos, larvas de insectos, ácaros acuáticos; y especies de carpa, así como el charal, acocil y ajolote (Bermúdez *et al.*, 2002).

Puntos de muestreo

Santa Clara (SC) 19° 34′44.1′′ latitud Norte, 98°11′05.2′′ longitud Oeste a 2497 msnm y San José (SJ) 19°33′17.1′′ latitud Norte, 98° 12′05.7′′ longitud Oeste a 2487 msnm.

Obtención de muestra de agua

Se realizó en junio por cinco días, se registró parámetros físico-químico con un intervalo de dos horas, *in situ* transparencia y profundidad se midió con un disco de Secchi, el pH con un potenciómetro Hanna HI900; temperatura y oxígeno disuelto con un oxímetro YSI 85, mientras que para los parámetros químicos se obtuvieron muestras de agua colectadas en cada punto de muestreo con un matraz Erlenmeyer de 125 mL, a una profundidad aproximada de 20 cm y fueron procesadas inmediatamente, obteniendo los niveles de nitrato, amonio y fosfatos con un multiparamétrico marca HANNA modelo HI 83099 con intervalos de cuatro horas.

Procesamiento y análisis de la muestra

Nitrato: Se vertió en una celda un sobre del reactivo en polvo HI 93728-0, se agitó de forma vigorosa durante 10 s, invirtiendo la celda suavemente durante 50 s, teniendo cuidado de no provocar burbujas. Se dejó reposar 4 min, al finalizar ese tiempo el instrumento realizó la lectura mostrando los resultados en mg/L de nitrato nitrógeno.

Amonio: en una celda se colocaron 10 mL de muestra con 4 gotas del reactivo HI 93715A-0, se mezclo la solución, también se añadieron 4 gotas del reactivo HI 93715B-0, se agito la solución, se reposo 3 min, al finalizar ese tiempo, realizó la lectura mostrando los resultados en mg/L de nitrógeno amoniacal (NH3-N). Fosfato: a la muestra de agua se añadieron 10 gotas de Molibdato HI 93717A-0 seguido de un paquete del

Fosfato: a la muestra de agua se añadieron 10 gotas de Molibdato HI 93717A-0 seguido de un paquete del reactivo B de Fosfato HR (R. Alto) 93717B-0, se agito suavemente hasta su completa disolución. Se activo el cronometro dando un tiempo de espera de 5 min, al finalizar ese tiempo se registró la lectura mostrando los resultados en mg/L de fosfato (PO43-).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se vaciaron en una hoja de cálculo en Excel 2007, y utilizando el programa Sigma plot v.11 se realizaron análisis estadísticos.

RESULTADOS

La temperatura del agua promedio en SC fue de 19.30 ± 1.28 y SJ de 19.67 ± 1.43 (Tabla 1). Las variaciones de oxígeno disuelto entre los puntos SC fue de 4.58 ± 0.34 , para SJ 4.21 ± 0.5 mg / L.

Tabla 1. Registro de la temperatura y oxígeno SC y SJ de la presa Atlangatepec, Tlaxcala

	Temperatura (°C)		Oxígeno	mg/L
Hora	Santa Clara	San José	Santa Clara	San José
7 – 8	17.4	18	4.4	3.6
9 – 10	18	18.1	4.7	4
11 – 12	20.2	19.6	4.7	3.7
13 – 14	20.5	21.3	5	4.6
15 – 16	19.9	19.8	4.7	4.8
17 – 18	19.8	21.2	4	4.6
PROMEDIO	19.30	19.67	4.58	4.22
DS ±	1.28	1.43	0.34	0.52

La profundidad para SC en promedio fue de 140.53±6.42, SJ presentó una mayor profundidad con un promedio de 202.17± de 18.18 al igual que una mayor transparencia (Tabla 2).

Tabla 2. Registro de los parámetros profundidad, turbidez, transparencia en: SC y SJ de la presa Atlangatepec, Tlaxcala.

	Profund	lidad	Transpa	rencia
Hora	Santa Clara	San José	Santa Clara	San José
7 – 8	146	222.5	29	30
9 – 10	133.6	203.5	29.6	27.7
11 – 12	136	209.7	26	31.4
13 – 14	144	205.3	26	23.6
15 – 16	148.6	168	24	32.2
17 – 18	135	204	20	25
PROMEDIO	140.5	202.1	25.7	28.3
DS ±	6.4	18.1	3.5	3.4

El pH presento valores mayores SJ con un promedio de 7.58± 0.23 a comparación de SC que registro un promedio de 6.60±0.49 (Tabla 3).

Santa Clara San José Hora 7 - 87.4 6.4 9 - 106.3 7.5 11 - 126.6 7.5 13 – 14 6.69 7.7 15 - 167.5 7.4 17 – 18 6.1 8 PROM ± DE 6.60±0.49 7.58±0.23

Tabla 3. Registro del pH SC y SJ de la presa Atlangatepec, Tlaxcala

Las concentraciones de nitratos oscilaron 6.40 mg/L en la mañana y por la tarde de 5.43 mg/L con un promedio de 10.68 mg/L en SC y para SJ fue de 5.87 mg/L en la mañana y por la tarde de 14.98 mg/L siendo en promedio de 11.36 mg/L (Tabla 4) el valor más alto registrado fue de 30 mg/L que aun así no representa un riesgo para la carpa tomando en cuenta que niveles de nitrato entre 0 y 40 ppm son generalmente seguros para los peces.

El amonio para el punto SC fue en promedio de 0.10 ± 0.05 mg/L en tanto que en SJ ligeramente mayor con un promedio de 0.11 ± 0.08 mg/L, las fluctuaciones a lo largo del día no fueron marcadas (Tabla 4)

Con respecto al valor de fosfatos para SC fue de 0.44 ± 0.50 mg/L siendo ligeramente mayor en SJ de 0.70 ± 0.79 mg/L.

Tabla 4. Concentraciones de nitrato, amonio y fosfatos en SC y SJ de la presa Atlangatepec, Tlaxcala.

	Nitrato mg/L			Amonio mg/L		Fosfatos mg/L	
	Santa Clara	San José	Santa Clara	San José	Santa Clara	San José	
Mañana	6.40±2.76	5.87±5.02	0.07±0.09	0.09±0.03	0.47±0.47	0.30±0.52	
Medio día	20,20±16,97	13,23±4,74	0,11±0,06	0,10±0,12	0,40±0,35	0.58±0.51	
Tarde	5.43±6.62	14.98±16.95	0.12±0.04	0.13±0.08	0.47±0.81	1.13±1.12	
PROM±DE	10.68±8.26	11.36±4.83	0.10±0.03	0.11±0.02	0.45±0.04	0.67±0.42	

DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos por Arana *et al.* (1998) la temperatura del agua en la presa de Atlangatepec presenta una mínima de 10 °C y una máxima de 24 °C con un promedio de 17.5 °C, siendo esta última inferior a la reportada por Bermúdez *et al.*, (2002) 19.8±2.6 °C y similar a la reportada en la presente investigación cuyo valor promedio fue de 19.48±1.35 °C, temperaturas que se encuentran en el rango permisible para las especies acuáticas el cual oscila entre 23-30°C Rodríguez *et al.* (2016).

Aunado a lo anterior, para la sobrevivencia de *Cyprinus carpio* es el oxígeno disuelto, Arana *et al.* (1988) reportaron 4 mg/L en la presa de Atlangatepec similar al reportado en la presente investigación 4.4 ± 0.43 , pero inferiores al reportado por Bermúdez *et al.* (2002) 6.0 ± 0.8 mg/L, lo cual se atribuye al mes de muestreo.

Esta reportado que la turbidez del agua está relacionado con la suspensión de partículas como arcillas y limos entre otros, Pérez., (1995) reportó en esta misma presa una turbidez de 12 a 16 cm. valor inferior al reportado en la presente investigación 32.36±3.48 cm, lo cual indica que actualmente existe una menor producción primaria.

El pH del agua es un factor importante para el desarrollo de especies como *C. carpio*, siendo niveles idóneos entre 7.0 y 8.5 Horvath *et al.* (1992).

Arana *et al.*, (1998) y Bermúdez *et al.*, (2002) obtuvieron valores que oscilaron entre 7.6 y 9 mientras que los datos obtenidos en la actual investigación fueron 7.09±0.60, los cuales permiten un desarrollo óptimo para *C. carpio*.

Los nitratos a lo largo del día tienen una aumento y se puede explicar por los procesos naturales que incluyen la precipitación, el constante movimiento de los minerales y descomposición de la materia orgánica Bautista y Ruiz, (2007). Por otro lado Laverde y López (2012) registro un promedio de nitrato de 4.64 mg/L considerando al sistema con un grado de contaminación moderada, sin embargo para la presente investigación el promedio es mayor pues se obtuvo 11.02±6.54 mg/L es decir, superior en comparación por lo que podría decirse que se presenta un grado de contaminación mayor.

Otro factor importante es el amonio pues se considera un constituyente normal de las aguas superficiales y esta íntimamente relacionado con descargas recientes de desagües. Por otra parte Bautista y Ruiz (2007) refieren que cuando la concentración de amonio es mayor de 0,1 mg/L, podría constituirse como un indicador de contaminación por aguas residuales domésticas o industriales, en la presente investigación los valores no rebasaron ese límite pues se obtuvo un valor de 0.10±0.02.

Los fosfatos pueden estar solubles como partículas de detritus o en los cuerpos de los organismos acuáticos. Es común encontrar fosfatos en el agua.Laverde y López (2012) obtuvieron un valor de 3.00 mg/L y se catalogó al sistema con un grado de contaminación moderada, comparado con los datos obtenidos en la reciente investigación se obtuvo un promedio de 0.56±0.23, lo cual se interpreta como un grado de contaminación bajo.

CONCLUSIÓN

La presa de Atlangatepec sigue teniendo las condiciones necesarias para que se sigan desarrollando en ella los organismos de importancia económica para la localidad como lo es *Cyprinus carpio* y *Cambarellus montezumae*, siendo que los parámetros que se consideraron, no son un factor limitante para la densidad poblacional de ambas especies. Los parámetros medidos en la presa indican que existe un nulo o bajo grado de contaminación.

BIBLIOGRAFIA

1. Arana, M. Pérez, R. Malpica, S.1998. Cambáridos de tres embalses del Estado de Tlaxcala, México (Crustacea: Decápoda). En *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat*, (48):23-35.

- Bautista, C. Ruiz, A. 2007. Calidad del agua para el cultivo de Tilapia en estanques de geomembrana. Dirección de Fortalecimiento a la Investigación, Universidad Autónoma de Nayarit, México. Pág. 10.
- 3. Bermúdez, R. Cabrera, M. Pérez, V. Gutiérrez, Z. 2002. Pesquerías en tres cuerpos de aguas continentales de México (Panorámica de la presa San José Atlangatepec, Tlaxcala). Instituto Nacional de la Pesca. pp: 98-101.
- 4. Elías, F. Navarrete, S. 1998. Crecimiento y producción de carpa común (*Cyprinus carpio linnaeus*, 1758) durante la época de sequía y lluvias en un bordo del estado de México, México. Hidrobiológica 8 (2): pp:117 123.
- 5. Horvath Lazlo, Tamás G. y Seagrave Chris, 1992; Carp and Pond fish Culture, John Wiley & Sons, Inc., N.York-Toronto.
- 6. Laverde, B. López, P. 2012. Crecimiento de carpa común (*Cryprinus carpio*) Linnaeus, 1798) en jaulas flotantes en un reservorio de Cajicá (Cundinamarca) Colombia.
- 7. Pérez, R. 1995. Moluscos dulceacuícolas de la Presa de Atlangatepec, Tlaxcala México. Cuadernos C.B.S. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México.
- 8. Rodríguez, G. M., Cortes, G.A. y Guardiola, A.K.A. 2016. Carpa común (*Cyprinus carpio*) bases de la reproducción inducida. Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco 125 p.

EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN Y TEMPERATURA SOBRE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DE UNA BEBIDA DE PULQUE

Ramírez-López C., Soto-Reyes N., y Vélez-Ruiz J.F.

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional. E-mail: caramirezl@ipn.mx

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas, Puebla (UDLAP). Ex hacienda Sta. Catarina Mártir, Cholula 72820 Puebla, México. E-mail: jorgef.velez@udlap.mx; nohemi.sotor@udlap.mx

RESUMEN

El objetivo de este trabajo consistió en caracterizar el comportamiento reológico de una bebida de pulque, como función de la temperatura (4 y 19°C) y la concentración de néctar de mango (0, 33.3 y 50%). Los resultados mostraron que el pulque se comportó como fluido dilatante a ambas temperaturas, mientras que la adición de 50% de néctar resultó en un comportamiento pseudoplástico. En el caso del pulque con 33.3% de néctar, la temperatura determinó el comportamiento del fluido, ya que a 4°C fue pseudoplástico, mientras que a 19°C fue dilatante. Se observó una relación positiva entre la concentración de néctar y los valores de η_a , K y τ_0 , la temperatura tuvo un efecto contrario. Las ecuaciones de predicción son útiles para obtener las propiedades y aplicarlas en el diseño de equipos y procesos que manejen fluidos semejantes.

Palabras clave: pulque, viscosidad, propiedades reológicas o de flujo

INTRODUCCIÓN

En muchas operaciones de la industria alimentaria es esencial conocer las propiedades reológicas del fluido, ya que influyen de manera directa en el diseño de equipo (Chávez-Pérez *et al.*, 1998; Vélez-Ruiz, 2009), también son utilizadas en el control de calidad, sobre todo en productos que deben tener cierta consistencia (Bhattacharya y Bhattacharya, 1994).

El pulque es una bebida fermentada que se consume desde la época prehispánica (Godoy *et al.*, 2003), de ella se han descrito alrededor de 30 cepas microbianas. Los principales géneros bacterianos asociados a esta bebida son: *Zymomonas mobilis* responsable del contenido de alcohol, *Leuconostoc mesenteroides* genera la viscosidad por producción de exopolisacáridos, *Lactobacillus acidophilus* favorece el nivel de acidez, y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* responsabl de la producción de alcohol (Escalante *et al.*, 2004). El tiempo de fermentación del pulque puede durar de 12 a 48 horas a 25°C, se presentan cambios importantes como el incremento de etanol y la formación de exopolisacáridos (β-glucanos y dextranos), responsables del cambio reológico (Escalante *et al.*, 2008).

Experimentalmente la predicción del comportamiento reológico de un fluido involucra la obtención de valores de esfuerzo cortante (τ) y velocidad de deformación (γ); para ajustarlos a modelos matemáticos, entre los más comunes están los siguientes:

Donde: τ es el esfuerzo cortante (Pa), K es el coeficiente de consistencia (Pa sⁿ), γ es la velocidad de deformación (1/s), n es el índice de flujo (adimensional), τ_0 es el esfuerzo de cedencia (Pa) y C es una constante definida por Casson (Pa^{0.5} s^{0.5}).

Debido a que la información sobre las propiedades de flujo del pulque es escasa, surge el interés por caracterizar el comportamiento reológico de algunas bebidas a base de pulque, así el objetivo principal de este trabajo fue evaluar el efecto de la concentración de néctar adicionado y de la temperatura sobre las propiedades reológicas de ésta bebida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó pulque natural obtenido de la localidad de Nanacamilpa (Tlaxcala, México), el néctar de mango envasado se adquirió de un supermercado local (Puebla, México), éstos fueron mezclados para obtener las bebidas analizadas en este trabajo. Se emplearon 3 diferentes concentraciones de sólidos: 0, 33.3 y 50%, y dos temperaturas: 4°C (refrigeración) y 19°C (temperatura ambiente).

Análisis fisicoquímico: Se determinó el pH, la acidez y los sólidos solubles. Estas determinaciones se realizaron en las muestras a temperatura ambiente por triplicado. Los sólidos solubles (ºBrix), se determinaron con un refractómetro digital (0-32ºBx; Atago modelo Master-1, Tokio, Japón). Para el pH se usó un potenciómetro digital (Orión 420-A, MA, Estados Unidos), previamente calibrado. La acidez titulable se determinó por el método 939.05 de la A.O.A.C. (2000) y se expresó como % de ácido cítrico (néctar) o láctico (pulque).

Mediciones reológicas: Se utilizó un viscosímetro Brookfield (modelo DV-III, Stoughton, MA, Estados Unidos), con un volumen de 300mL en un vaso de vidrio (radio = 3cm). Las mediciones fueron realizadas a 4° y 19°C para cada nivel de sólidos solubles. La aguja utilizada fue la LV#1, con velocidades de 10, 30, 50, 70, 90, 110 y 120 rpm, se midió el torque necesario para rotar el cilindro dentro de la muestra. Con estos valores se procedió a obtener la velocidad de deformación (γ) y el esfuerzo cortante (τ), utilizando las siguientes ecuaciones:

$$\gamma = (2\omega Rc^2 Rb^2)/(X^2(Rc^2 - Rb^2))$$
 (Ec. 4)

Donde: Rc es el radio del contenedor (3 cm), Rb es el radio de la aguja (0.9421cm), X es el radio donde se aplica la razón de corte (igual a Rb), ω es la velocidad angular (rad/s) = 2π N/60 y N es la velocidad de giro (rev/min).

$$\tau = (M \times (lectura/100))/(2\pi Rb^2 L)$$
 (Ec. 5)

Donde: M es el torque máximo (673.7 dina-cm o 6.737 x 10^{-5} N-m), L es la longitud efectiva de la aguja (7.493 cm). La viscosidad aparente fue calculada mediante la razón τ/γ . Para obtener n, K y τ_0 , se emplearon las Ecs. 1, 2 y 3.

Análisis estadístico: Las mediciones en el viscosímetro fueron por triplicado y los resultados se analizaron utilizando el paquete estadístico Minitab versión 16 (State College, PA, Estados Unidos).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra la caracterización fisicoquímica de los materiales y mezclas resultantes. Se observó que los sólidos solubles, pH y acidez aumentaron con la adición de néctar, debido a los sólidos del néctar agregado. Las bebidas se referirán como pulque (0% de néctar) y como curado al pulque adicionado con néctar.

				J
Muestra	рН	⁰Bx	Acidez g/100 cm ³	

			Ácido cítrico	Ácido láctico
Néctar de mango	3.7	12.0 ± 0.058	0.384 ± 0.050	-
Pulque	3.2	2.5 ± 0.000	-	0.633 ± 0.015
Pulque curado (33.3%)*	3.6	4.9 ± 0.058	0.568 ± 0.010	0.783 ± 0.001
Pulque curado (50%)*	3.5	6.1 ± 0.100	0.567 ± 0.080	0.798 ± 0.011

Tabla 1. Resultados del análisis fisicoquímico de las bebidas a base de pulque.

Los valores mostrados en la Tabla 1 son similares a los reportados por Sánchez-Marroquín (1979) y están dentro del rango establecido por las Normas Mexicanas (NMX-V-042-1972, NMX-V-037-1972 y NMX-F-057-S-1980).

En la Figura 1 se presentan los valores de la viscosidad aparente de las bebidas analizadas, observándose que tuvieron un comportamiento no newtoniano, ya que la viscosidad no es constante (Tabla 2). También se observa que a mayor concentración de néctar se incrementa la viscosidad aparente, misma que disminuye al incrementar la temperatura.

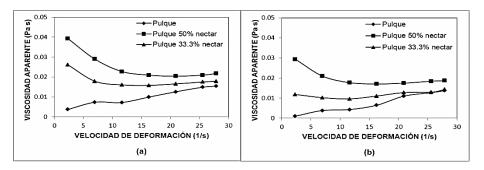
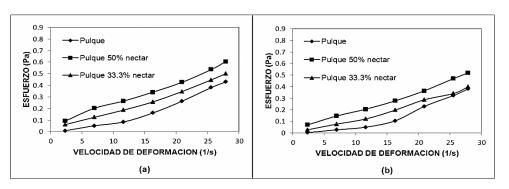


Figura 1. Cambios de la viscosidad aparente de bebidas a base de pulque en función de la concentración y de la temperatura (a) 4°C y (b) 19°C.

Los reogramas experimentales se muestran en la Figura 2, de donde las propiedades de flujo fueron obtenidas por la ecuación de Ley de Potencia (Tabla 3) y por la ecuación de Herschel-Bulkley (Tabla 4); con las cuales se procedió a identificar el modelo de mejor ajuste, mediante la evaluación de la raíz cuadrada del error medio (Root Square Mean Error: RMSE), considerando que el mejor modelo es el que arroja un RMSE menor.



^{*}Porcentaje de néctar en la bebida de pulque

Figura 2. Reogramas de bebidas a base de pulque y nectar de mango a diferente temperatura (a) 4°C y (b) 19°C.

Para realizar el análisis estadístico se tomaron los valores de η_a a 11.62 s⁻¹ (Tabla 2) y de n y K obtenidos por la Ley de Potencia (Tabla 3).

Tanto la temperatura como la concentración tuvieron un efecto significativo (p<0.05) sobre éstos parámetros de flujo. Al incrementar los sólidos, η_a , K y τ_0 aumentaron, lo que generó una disminución de n. Respecto a la temperatura, cuando ésta aumenta los valores para η_a , K y τ_0 disminuyeron (p<0.05). Lo cual coincide con lo reportado por Dak *et al.* (2006) que evaluaron estos parámetros en jugo de mango y por Chávez-Pérez *et al.* (1998) que evaluaron la viscosidad en aguamiel concentrada por evaporación.

Tabla 2. Viscosidad aparente de bebidas a base de pulque (11.62 s⁻¹).

Temperatura (°C)	Néctar de mango en el pulque	Viscosidad * (mPas)
	0%	7.22 ±0.14 ^{aa}
4	33.33%	16.05 ±0.45 ^{ab}
	50%	22.76 ±0.14 ^{ac}
	0%	4.26 ±3.62 ^{ba}
19	33.33%	10.36 ±1.02 ^{bb}
	50%	17.67 ±1.72 ^{bc}

^{*}Primer literal identifica diferencias significativas (p<0.05) respecto a la temperatura, segunda literal respecto a la concentración de néctar

Tabla 3. Propiedades reológicas del pulque aplicando ambos modelos (LP y HB).

Nectar (%)	Temperatura (°C)	n _{LP} *		K _{LP} (Pas	s ⁿ)	R ²	RSME LP	RSME HB
0	4	1.6222	±0.1024	0.0019	±0.0006	0.9950	0.0141	0.1206
33.33	4	0.8474	±0.0401	0.0265	±0.0026	0.9901	0.0284	0.0004
50	4	0.7368	±0.0321	0.0473	±0.0044	0.9944	0.0276	0.0029
0	19	2.0806	±0.1279	0.0004	±0.0002	0.9991	0.0141	0.0399
33.33	19	1.0965	±0.0217	0.0096	±0.0008	0.9958	0.0153	0.0024
50	19	0.8096	±0.1149	0.0324	±0.0096	0.9924	0.0254	0.0057

^{*} Adimensional; LP= Ley de Potencia; HB= Herschel-Burkley

Como se puede observar en la tabla 3, el modelo que mejor ajusta para el pulque sin curar es la LP (RSME menor), mientras que para los pulques curados es el modelo de HB. Obteniéndose las ecuaciones correpondientes para cada tratamiento evaluado (Tabla 4).

Tabla 4. Ecuaciones de predicción para los diferentes tratamientos*

Tratamiento	Temperatura	Ecuación de predicción	Clasificación
Pulque	4°C	$\tau_{LP} = 1.86 \gamma^{1.62}$	Dilatante
	19°C	$\tau_{LP} = 0.36 \gamma^{2.08}$	Dilatante
Pulque con 50% de	4°C	$\tau_{HB} = 12.66 + 39.59 \gamma^{0.786}$	Pseudoplástico
néctar	19°C	$\tau_{HB} = 5.58 + 28.96 \gamma^{0.835}$	Pseudoplástico

Pulque con 33.3% de	4°C	$\tau_{HB} = 1.36 + 25.79 \gamma^{0.855}$	Pseudoplástico
néctar	19°C	$\tau_{HB} = 2.67 + 8.43 \gamma^{1.136}$	Dilatante

^{*} T: mPa; LP: modelo de Ley de Potencia; HB: modelo de Hershel-Burkley

CONCLUSIONES

Los modelos aplicados LP y HB permitieron evaluar los parámetros reológicos de las bebidas a base de pulque, tanto la concentración de néctar, como la temperatura afectaron dichas propiedades. Al aumentar la concentración de sólidos n disminuye, η_a , K y τ_0 aumentan, la temperatura también tuvo un efecto significativo contrario. El pulque sin curar se comporta como un fluido dilatante, sin embargo al cambiarle el contenido de sólidos y la temperatura puede modificarse a pseudoplástico.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. A.O.A.C. (2000) 939.05. Official Methods of Analysis Association of Official Chemist. EUA.
- 2. Bhattacharya S. y Bhattacharya S. 1994. Flow behavior of cooked maize flour suspensions and applicability of mathematical models. J. Food Proc. Eng. 17, 263-278.
- Chávez-Pérez E., Montoya-Ayón L.G., Morales-Castro J. 1998. Determinación de propiedades reológicas de miel de maguey (*Agave compluviata*). Memorias del "Il Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos", Bahía Blanca. Argentina. Trabajo II-44
- 4. Dak M., Verma R.C., Sharma G.P. 2006. Flow characteristics of juice of "Totapuri" mangoes. Journal of Food Engineering, 76, 557-561.
- 5. Escalante A, Rodríguez ME, Martínez A, López A, Bolívar F, Gosset G. 2004. Characterization of bacterial diversity in pulque, a traditional Mexican alcoholic fermented beverage, as determined by 16S rDNA analysis. FEMS Microbiology Letters, 235, 273–279.
- 6. Escalante A, Giles M, Hernández G, Córdova M, López A, Gosset G, Bolívar F. 2008. Analysis of bacterial community during the fermentation of pulque, a traditional Mexican alcoholic beverage, using a polyphasic approach. International Journal of Food Microbiology, 124(2): 126-134.
- Godoy A, Herrera T, Ulloa, M. 2003. Mas allá del pulque y del tepache. Las bebidas alcohólicas no destiladas indígenas de México. 1era. Edición. Editorial UNAM. México. pp. 68-72
- 8. NMX-V-037-1972. Pulque manejado a granel. Pulque handled in bulk. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-V-042-1972. Método de prueba para la determinación de acidez total en pulque. Total acidity determination in pulque. Test method. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- 10. NMX-F-057-S-1980. Néctar de mango. Norma Mexicana. Dirección General de Normas. (esta Norma cancela la NMX-F-057-1970).
- 11. Sánchez-Marroquín. 1979. Los agaves de México en la industria alimentaria, México, Centro de Estudios Económicos y Sociales del Tercer Mundo. pp. 256.
- 12. Vélez-Ruiz J.F. 2009. Rheological Properties of Vegetal Fluids. En Food Processing and Engineering Topics. Ed. Nova Science Publishers, Inc., 3 34.

DIÁMETROS APICAL, MEDIO Y BASAL EN ESPATAS DE ALCATRAZ EN LA VARIEDAD GOLD FEVER EN RESPUESTA AL SUMINISTRO DE LANTANO

Nadia Issaí Torres-Flores, Libia I. Trejo-Téllez, Gabriel Alcántar-González, Fernando C. Gómez-Merino², Brenda I. Trejo-Téllez, Prometeo Sánchez-García

Colegio de Postgraduados

Campus

Montecillo, nadia.torres@colpos.mx, tlibia@colpos.mx, alcantar@colpos.mx, promet@colpos.mx

Campus Córdoba, fernandg@colpos.mx

Campus San Luis Potosí, brendat@colpos.mx

RESUMEN

En esta investigación se evaluó el diámetro de tallos de alcatraz variedad Gold Fever medido en tres posiciones (diámetro apical, diámetro medio y diámetro basal), en respuesta al tratamiento con dos fuentes de La [La(NO₃)₃ 6H₂O y LaCl₃] y cuatro concentraciones de La (0, 10, 20 y 30 μ M). Se condujo un experimento en arreglo factorial 2x4, donde la unidad experimental fue una planta en una bolsa de polietileno negro con tezontle como sustrato con una planta de alcatraz. El La fue adicionado a través de la solución nutritiva de Steiner al 50%, aplicado durante el ciclo de cultivo mediante tres riegos semanales de 200 mL por unidad experimental. La evaluación del diámetro de tallo se realizó cuando las espatas se encontraban en plena floración (87 a 112 días después de establecido el experimento). El diámetro apical incrementó significativamente con el tratamiento con 10 μ M La; los diámetros medio y basal fueron mayor con la dosis de La 20 μ M; en los tres casos, en comparación con el testigo. Entre fuentes de La no se observaron diferencias estadísticas significativas. De manera consistente, las concentraciones que incrementaron el diámetro de tallo en las tres posiciones evaluadas oscilaron entre 10 μ M y 20 μ M, de manera general cuando éstas son suministradas a partir de LaCl₃. Se concluye que el La tiene efectos positivos en el diámetro de tallos de alcatraz a concentraciones bajas.

INTRODUCCIÓN

En México desde hace años la producción de flores paso de ser una tradición a una actividad rentable, con potencial tanto en el crecimiento en el mercado interno como en el externo (Cárdenas, 2008). A pesar de la gran variedad de flores que se pueden producir en México, el comercio está centrado en pocas especies como son: rosa, gladiola, margarita, estatice y clavel; asimismo, existen especies que por sus características y condiciones climáticas de México pueden introducirse como nuevas alternativas (Cárdenas, 2009). Tal es el caso del alcatraz de color mejor conocido como cala; la disponibilidad de varios híbridos de calas con flores de distintos colores ha hecho que se conviertan en una flor de corte muy popular (Schenettler *et al.*, 2006). Además, el

alcatraz puede ser utilizado para el decorado de los espacios físicos, sea de estancias, casa habitación, jardines, hoteles entre otros (Escalante *et al.*, 2007).

El lantano pertenece al grupo de los elementos de tierras raras. Los reportes el uso del La en la agricultura en publicaciones de científicos rusos, rumanos y búlgaros, indican que este elemento tiene en su mayoría efectos positivos en el crecimiento de las plantas (Hu *et al.*, 2002). Su efecto benéfico en el crecimiento de plantas superiores, particularmente cuando es suministrado a bajas concentraciones condujo al inicio del uso comercial no solo del La sino también de otros elementos del grupo de las tierras raras en la agricultura (Diatloff, 2008).

Durante la producción de los cultivos es deseable que las plantas presenten tallos de mayor diámetro, dado que la resistencia mecánica es una característica importante de éstos, no solo en la conformación de la estructura de la planta, sino también tienen una papel importante en la flexión del vástago (Zhao et al., 2012); ya que en casos donde el pedúnculo es flexible o tallo de la inflorescencia debido a la fuerza del vástago débil, impide la producción comercial de flores cortadas (Li et al., 2012).

En particular el La ha mostrado fomentar la calidad en cultivos agrícolas. En tulipán (Tulipa gesneriana) cv. lle de France, el diámetro y longitud de la flor fueron incrementados de manera significativa con el tratamiento con 10 μ M La, abastecido a partir de La(NO₃)₃ (Ramírez-Martínez et al., 2012). Recientemente García-Jiménez et al. (2017), reportan que la adición de 10 μ M La durante 15 días en la solución nutritiva, incrementa la calidad de plántulas de pimiento morrón, incluyéndose entre las variables evaluadas el diámetro del tallo, con incrementos atribuibles al La de 9.8%.

En el contexto anterior, este trabajo plantea como objetivo la evaluación de los diámetros en tres posiciones (apical, medio y basal) de los tallos florales de la variedad de alcatraz Gold Fever, al momento en que la espata estaba en plena floración, en respuesta a diferentes fuentes y concentraciones de La aplicadas en la solución nutritiva.

MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo de esta investigación fue en condiciones de invernadero, en la cual se utilizaron rizomas de alcatraz de color de la variedad Gold Fever con espata de color amarillo (**Figura 1**) adquiridos en la empresa Floraplant, S. A. de C. V.

Se utilizó como sustrato una mezcla de tezontle de 5-8 mm + Agrolita[®] (70/30, v/v), en bolsas de polietileno negro de 30 x 30 cm, donde se plantó un rizoma por bolsa. Cada bolsa fue considerada como una unidad experimental. Previo a la plantación se realizó una desinfección de los rizomas con una solución de Cupravit[®] + Promyl[®] a razón de 2 y 1 g L⁻¹ de agua, respectivamente, durante 15 min para prever enfermedades fungosas, inmediatamente después se introdujeron los rizomas en una solución de 100 mg L⁻¹ de ácido giberélico por 15 min para impulsar la floración.

El diseño de tratamientos utilizado fue factorial 4 X 2 con un arreglo completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento. Por tanto, se evaluaron ocho tratamientos, resultado de la combinación de las cuatro concentraciones de La (0, 10, 20 y 30 μ M) y de las dos fuentes de La [La(NO₃)₃ 6H₂O y LaCl₃].

Los tratamientos de La evaluados fueron suministradas en la solución nutritiva de Steiner al 50% (Steiner, 1984). La aplicación de los tratamientos se inició 15 días después de la plantación (ddp), aplicando 200 mL por bolsa tres veces por semana.

De los 87 a los 112 días en que se registró la plena floración, se evaluó con un vernier digital el grosor de los tallos en tres posiciones: apical, medio y basal (**Figura 1**). Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias (LSD, $P \le 0.05$ %) empleando el software Statistical Analysis System (SAS, 2002).



Figura 1. Diámetros en tres posiciones en la variedad Gold Fever, registrado en plena floración.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los diámetros de los tallos florales son un parámetro importante en la calidad de las flores, dado que tiene una función importante en la comercialización de éstas, que se asocia con costo de los mismos en el mercado (Ansari *et al.*, 2011).

Los resultados de la evaluación de los diámetros de tallo en tres posiciones en función de la concentración de La muestran la misma tendencia; siendo ésta, incrementos en concentraciones intermedias de La y decrementos en la concentración alta de La y en su ausencia, como se advierte en el **Cuadro 1.** El diámetro apical incrementó significativamente con la concentración de 10 μ M La; por otro lado, los diámetros medio y superior fueron mayor con 20 μ M La; en los tres casos en comparación con el testigo. Los incrementos antes descritos son del orden del 11.7, 10.9 y 21.5%, respectivamente, destacando la magnitud de este último (**Cuadro 1**). Estos incrementos en diámetro son superiores a los reportados con la adición de La a una concentración de 10 μ M a plántulas de pimiento morrón, los cuales fueron del orden de 9.8% (García-Jiménez *et al.*, 2017).

Cuadro 1. Efectos principales de los factores de estudio (concentración y fuente de La) en el diámetro de los tallos florales del alcatraz var. Gold Fever medido en tres posiciones.

Factor de estudio	Diámetro apical,	Diámetro medio	Diámetro basal
	cm	cm	cm
La, μM			
0	0.411 b	0.466 b	0.521 b
10	0.459 a	0.500 ab	0.555 b
20	0.444 ab	0.517 a	0.633 a
30	0.413 b	0.478 ab	0.570 ab
Fuente de La			
LaCl ₃	0.436 a	0.496 a	0.575 a

La(NO₃)₃ 6 H₂O 0.427 a 0.484 a 0.564 a

Medias con letras distintas en cada columna por factor de estudio, son diferentes estadísticamente (LSD, $P \le 0.05$).

Entre fuentes de La no se observaron diferencias estadísticas significativas, en las tres posiciones en las que se evaluó el diámetro de tallo; sin embargo en todos los casos es ligeramente superior la fuente LaCl₃ (**Cuadro 1**).

En la **Figura 2**, se observa que la aplicación 10 μ M LaCl₃ incrementa de manera significativa los diámetros apical y medio, en comparación con el testigo. Por otra parte, el diámetro basal fue estadísticamente superior al testigo, en plantas tratadas con 20 μ M La, independientemente de la fuente empleada; sin embargo, la magnitud del incremento es mayor cuando se empleó LaCl₃.

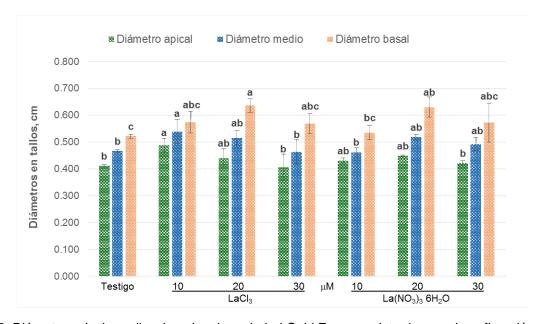


Figura 2. Diámetro apical, medio y basal en la variedad Gold Fever, registrados en plena floración. Medias \pm DE con letras distintas en cada variable, son diferentes estadísticamente (LSD, $P \le 0.05$).

CONCLUSIÓN

Se concluye que el La tiene efectos positivos en el diámetro apical en los tallos de alcatraz de la variedad Gold Fever a concentraciones bajas; en particular 10 μ M cuando es suministrado a partir de LaCl₃; mientras que el diámetro medio y apical se incrementa con el suministro de 20 μ M La a partir de LaCl₃.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. García-Jiménez, F.C. Gómez-Merino, O. Tejeda-Sartorius, L.I. Trejo-Téllez, "Lanthanum affects bell pepper seedling quality depending on the genotype and time of exposure by

- differentially modifying plant height, stem diameter and concentrations of chlorophylls, sugars, amino acids, and proteins", Frontiers in Plant Science, Vol. 8, 2017, Article 380, doi:10.3389/fpls.2017.00308
- 2. A. Steiner, "The universal nutrient solution", in: ISOSC Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture. The Netherlands. 1984. pp. 633-649.
- 3. B. Schenettler M., A. Mera S., R. Pihán S., "Evaluación técnico económica de la producción de calas de color en la región de la Araucanía, Chile", IDESA (Chile), Vol. 24, 1, 2006, pp. 17-24.
- 4. C. Li, J. Tao, D. Zhao, C. You, J. Ge, "Effect of Calcium Sprays on Mechanical Strength and Cell Wall Fractions of Herbaceous Peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) Inflorescence Stems", Int. J. Mol. Sci., Vol. 13, 2012, pp. 4704-4713.
- 5. E. Diatloff, F. Smith W., J. Asher C., "Effects of Lanthanum and Cerium on the Growth and Mineral Nutrition of Corn and Mungbean", Annals of Botany, Vol. 101, 2008, pp. 971-982.
- 6. M. Ramírez-Martínez, L.I. Trejo-Téllez, F.C. Gómez-Merino, A.M. Castillo-González, I. Hernández-Ríos, E. Hernández-Acosta, "Bioaccumulation of potassium, calcium and lanthanum in tulip treated with lanthanum", Terra Latinoamericana, Vol. 30, 2012, pp. 229-238.
- 7. S. Ansari, E. Hadavi, M. Salehi, P. Moradi, "Application of microorganisms with nanoparticles of silver, humic acid and gibberellic acid on vase life of cut gerbera goodtimming", Journal of Ornamental and Horticultural Plants, Vol. 1, 1, 2011, pp. 27-33.
- 8. S. A. Cárdenas, "Floricultura, viverismo, arboricultura y jardineria. La Industria de flores en México", Guía verde, México, D. F., 2008, pp. 54-57.
- 9. S. A. Cárdenas, "Floricultura, viverismo, arboricultura y jardineria. La Industria de flores en México", Guía verde, México, D. F., 2009, pp. 48-50.
- S. E. Escalante P., G. L. Chel D., S. J. Luna M., "Caracterización de la Comercialización de los Productos Ornamentales en la Península de Yucatán", Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria Dirección Regional Peninsular (ASERCA), 2007, 122 p.
- 11. SAS, "SAS High-Performance Forescasting 2.2: User's Guide. (Vol. 1 & 2)", Cary, NC: SAS Institute Inc. Ver. 9), 2002, 652 p.
- 12. X. Hu., Z. H. Ding, X. R. Wang, L. M. Dai, "Bioaccumulation of lanthanum and cerium and their effects on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings", Chemosphere, Vol. 48, 2002, pp. 621-629.

DETERMINACIÓN DE BRUCELOSIS EN BOVINOS POR MEDIO DE LA PRUEBA DE LA TARJETA

Martha Alicia Castañeda Vazquez, Erika Patricia Salas Castañeda, Hugo Castañeda Vazquez, Leticia Ávila Figueroa, Carlos Bedolla Cedeño.

Laboratorio de Mastitis y Diagnóstico Molecular, CUCBA, Universidad de Guadalajara Laboratorio de Bacteriología, CUCBA, Universidad de Guadalajara Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Dentro de las enfermedades transmitidas por alimentos la Brucelosis tiene una especial importancia epidemiológica, siendo los productos lácteos y cárnicos los que con mayor frecuencia transmiten el agente causal. Brucella abortus afecta mayormente al ganado bovino; para su diagnóstico es de utilidad la Prueba de Rosa de Bengala o Prueba de Tarjeta, que permite detectar anticuerpos formados por contagio de Brucella. El objetivo del estudio fue determinar la incidencia de Brucelosis en ganado bovino por medio de la Prueba de Tarjeta. Se muestrearon 81 bovinos (de producción de carne y leche) de 5 ranchos en el Estado de Jalisco, obteniendo la sangre por punción coccígea y separando el suero por formación de coagulo y centrifugación. Se depositaron 30µl de suero sanguíneo y 30µl del reactivo de Rosa de Bengala (B. abortus cepa 1119-3 al 8%) en un portaobjetos, mezclándolos en una zona circular y movimientos rotatorios manuales por 4 minutos, procediendo a la lectura sobre fondo blanco mediante la observación directa de presencia de grumos de aglutinación (positiva) o la ausencia de los mismos (negativa). Se obtuvieron 29 muestras positivas, lo que corresponde al 23.49% del total de las muestras. Esta prueba es un procedimiento cualitativo de ejecución rápida de macroaglutinación, lo cual permite su aplicación como prueba diagnóstica y de vigilancia epidemiológica ya que se reporta con sensibilidad del 94% y especificidad del 100%, muy cercano a los valores de la prueba confirmatoria ELISA Indirecta del 99.7% de sensibilidad y 100% de especificidad.

INTRODUCCIÓN

La Brucelosis representa un gran problema de salud pública, es una zoonosis considerada dentro de las más importantes por ser una enfermedad altamente infecto-contagiosa. Es de distribución mundial y producida por bacterias del género *Brucella* (Mandell et al., 1995; Sauret y Vilissova, 2002; Sbriglio et al., 2007; Mejía y Lemus, 2012).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) elaboró un manual de bioseguridad para los laboratorios en donde clasifica a los microorganismos del género *Brucella* en el Grupo de Riesgo III. La brucelosis se transmite fácilmente al hombre, se puede adquirir por vía oral, respiratoria o conjuntival, frecuentemente se debe a una exposición profesional, pero el mayor riesgo para la población en general es la ingestión de productos lácteos contaminados sin pasteurizar. Causa una enfermedad febril aguda llamada fiebre ondulante o fiebre de Malta entre otros sinónimos, que puede convertirse en crónica llegando a originar graves complicaciones afectando a los músculos esqueléticos, sistema cardiovascular y sistema nervioso central. Por lo que es enfermedad de reporte obligatorio en los animales de producción y de compañía (OIE, 2004; Herrera-López et al., 2007).

La mayor incidencia de Brucelosis en México se encuentra en el suroeste del país, seguida en frecuencia en el centro y en menor proporción en el norte del país (López M. et al., 1992).

En el ganado bovino el agente causal de la Brucelosis es principalmente *Brucella abortus* y con cierta frecuencia *Brucella melitensis*, ésta última considerada la de mayor contagiosidad para el humano, afecta también a cabras, ovejas, alpacas y ocasionalmente a los cerdos (Rodríguez T. et al., 2001).

En animales infectados por Brucella abortus o por Brucella melitensis, las hembras gestantes desarrollan una inflamación en la placenta que llega a ocasionarles aborto entre el quinto y el

noveno mes de gestación, excretándose una gran cantidad de microorganismos a través de la placenta, los líquidos fetales y exudados vaginales, en éstos últimos aún sin darse el aborto. Llega a producirse diseminación bacteriana a los ganglios linfáticos regionales y glándula mamaria pudiendo los microorganismos excretarse en la leche (Wolter y Castañeda, 2004).

Causa grandes pérdidas económicas por disminución en la producción de leche o de carne del rebaño, aumento del lapso interparto, menor producción de terneros por los abortos, infertilidad en hembras y machos y por gran cantidad de reemplazos (Rodríguez et al., 2001).

Brucella abortus, B. melitensis y B. suis son altamente patógenos para el humano por lo que todos los tejidos infectados, cultivos y el material potencialmente contaminado deben manejarse bajo condiciones apropiadas de contención.

El diagnóstico de los animales infectados por *Brucella* se realiza mediante el aislamiento e identificación de la bacteria, así como por métodos serológicos o moleculares cuando no es posible el análisis bacteriológico. Habitualmente se recomienda una combinación de los métodos serológicos, bacteriológicos y/o moleculares (Manual OIE, 2008).

Pruebas serológicas

Ninguna prueba serológica aislada es adecuada, se deben considerar todos los factores que influyen en el método de prueba y de sus resultados para una aplicación o interpretación diagnóstica específica (Manual OIE, 2008).

Actualmente, el esquema de diagnóstico de la brucelosis en México, se basa en pruebas serológicas que determinan la presencia de anticuerpos mediante pruebas de aglutinación (Norma Oficial Mexicana 2003). Las más utilizadas en suero sanguíneo son: Prueba de tarjeta o Rosa de Bengala (RB), que detecta anticuerpos IgG1 e IgM contra cepas lisas de *Brucella*; puede ser realizada como prueba tamiz en bovinos, caprinos y porcinos además de ser un procedimiento cualitativo y rápido. Prueba de precipitación con Rivanol (RIV), que detecta anticuerpos específicos IgM y otras macroglobulinas contra cepas lisas de *Brucella*, su realización se sugiere para efectos de campaña en sueros de bovinos que previamente resultaron positivos a la prueba de tarjeta; por lo que se considera una prueba complementaria cuantitativa (Norma Oficial Mexicana 2003; Bouza et al., 2005; Mejía y Lemus, 2012). Dichas pruebas detectan anticuerpos formados por la exposición al patógeno desde la segunda o tercera semana posterior a la exposición.

La prueba de fijación de complemento (FC) que es una prueba confirmatoria y de referencia internacional, determina títulos de anticuerpos fijadores del complemento contra cepas lisas de *Brucella spp.* en sueros de bovinos, caprinos, ovinos u otras especies, al igual que la prueba de ELISA Indirecta (Enzime Linked Immunoabsorbent Assay). La OIE sugiere su uso por considerarlas pruebas sensibles y específicas que logran diferenciar anticuerpos vacunales y anticuerpos infecciosos (Norma Oficial Mexicana 2003; OIE, 2004; Bouza et al., 2005; Mejía y Lemus, 2012).

Prueba de Rosa de Bengala (RB) o Prueba de Tarjeta.

Esta es una prueba sencilla y rápida de aglutinación que utiliza antígeno coloreado con rosa de bengala y tamponado a pH bajo, normalmente $3,65 \pm 0,05$ (Mejía y Lemus, 2012). Los antígenos para diagnóstico en esta prueba utiliza la cepa 99 de *B. abortus* (Weybridge) (S99) o la cepa 1119-3 (USDA) (S-1119-3).

Ésta prueba es ampliamente utilizada en campañas de control y erradicación de la Brucelosis en varios países. Aunque hay que tomar en consideración los falsos positivos en relación a algunos animales vacunados con la cepa 19, por lo que se recomiendan las pruebas confirmatorias FC o ELISA Indirecta (Acosta y Ortiz, 2005).

PARTE EXPERIENTAL

El objetivo del estudio fue determinar la incidencia de Brucelosis en ganado bovino por medio de la Prueba de Tarjeta o Rosa de Bengala.

Se muestrearon 81 bovinos de producción de carne y leche de 5 ranchos en el Estado de Jalisco, se obtuvo la sangre por punción coccígea en tubos de ensayo sin anticoagulante, separando el suero por formación de coagulo y centrifugación a 2000 rpm/5-10min y colocados en tubos eppendorf.







Previa verificación de la prueba con un suero control, en portaobjetos individuales se depositaron 30µl de los sueros sanguíneos y 30µl del reactivo de Rosa de Bengala (B. abortus cepa 1119-3 al 8%) ambos a temperatura ambiente, mezclándolos en una zona circular de aproximadamente 2cm de diámetro con aplicadores de madera estéril y posterior agitación de las laminillas con movimientos rotatorios manuales por 4 minutos (NOM-2003).



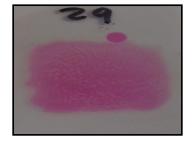
Se procedió inmediatamente después de los 4 minutos de agitación a la lectura de las laminillas sobre fondo blanco mediante la observación directa de presencia de grumos de aglutinación pequeños o grandes (positiva) o la ausencia de los mismos (negativa).

3. RESULTADOS

De los 81 sueros procesados se obtuvieron 29 muestras positivas con aglutinación visible, lo que corresponde al 23.49% del total de las muestras.







CONCLUSION

Esta prueba es un procedimiento cualitativo de ejecución rápida de macro aglutinación, lo cual permite su aplicación como prueba diagnóstica y de vigilancia epidemiológica de rebaños infectados o para garantizar la ausencia de infección en rebaños libres de brucelosis ya que se reporta con sensibilidad del 94% y especificidad del 100%, muy cercano a los valores de la prueba confirmatoria ELISA Indirecta del 99.7% de sensibilidad y 100% de especificidad.

Sin embargo, como toda prueba serológica, a veces origina una reacción positiva debido a títulos altos de residuos vacunales, incrementándose en bovinos revacunados (Aparicio-Bahena et al., 2003) o a reacciones serológicas positivas falsas.

Por lo cual se sugiere que las reacciones positivas deban confirmarse con otros métodos serológicos como Fijación de Complemento, ELISA indirecta y la prueba de la polarización de fluorescencia cuando el aislamiento y la identificación bacteriológica de *Brucella* no sea posible. Las reacciones negativas falsas se producen muy raramente.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Acosta A. Miguel, Ortiz Martín, Brucelosis Caprina. Laboratorio de Bacteriología, Unidad del Centro de Diagnóstico de Sanidad Animal-Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Revista de Ciencias Veterinarias. Vol. 21, 2, 2005. Lima Perú.
- 2. Aparicio Bahena A., Díaz Aparicio E., Hernández Andrade L., Pérez González R., Alfonseca Silva E., Suárez Güemes F., Evaluación serológica y bacteriológica de un hato bovino con brucelosis y revacunado con dosis reducida de Brucella abortus cepa 19. Téc Pecu Méx, Vol. 41, 2, 2003, pp 129 -140.
- 3. Bouza E., Sánchez Carrillo C., Hernán Gómez S., González M.J., Laboratory-acquired brucelosis: A Spanish national survey. J.Hosp Infect 2005; 61, pp 80 83.
- 4. Herrera Lopez E., Hernández Andrade L., Palomares Reséndiz G., Díaz Aparicio E., Study of brucelosis incidence in a bovine dairy farm infected with Brucella abortus, where cattle was revaccinated with RB51. International Journal of Dairy Science, Vol.2,1,2007, pp 50-57
- 5. López Merino A., Migranas Ortiz R., et al., Sero epidemiología de la Brucelosis en México. Salud Pública Mex., Vol.34, 2, 1992, pp 230 240.
- 6. Mandell G.J., Bennet R. D., Principles and practice of infectious diseases. (4th ed. Churchill Livingstone. Philadelphia, USA. Meador V, B Deyoe. 1995) Chapter 2, pp 2053-2057.
- 7. Manual OIE sobre animales terrestres, Cap.2.4.3, 2008, pp 268-719.
- 8. Mejía Martínez K., Lemus Flores C., Comparación de las pruebas rosa de bengala y rivanol con ELISA para el diagnóstico de brucelosis bovina. REDVET, Vol.13, 2, 2012.
- 9. Moreno Rosales, et al., Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a la brucelosis bovina en hatos lecheros de Tijuana, Baja California, Tec Pecu Mex, Vol. 40, 3, 2002, pp 243 249.
- Norma Oficial Mexicana, Nom-056-Zoo-1995, Especificaciones técnicas para las pruebas diagnósticas que realicen los laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria SAGARPA. 2003.
- 11. OIE. World Organization for Animal Health. Manual of diagnostic tests and vaccines. Bovine brucellosis. Paris, 2004.
- 12. Rodríguez A., Orduña A., Ariza X., Moriyon I., Díaz R., Blasco J., Manual de Brucelosis. Ed. Junta de Castilla y León. Copyright. Zamora, España. 2001.
- 13. Samartino L., Schust M., Piazza E., Salustio E., Conde S., Diagnóstico de la brucelosis animal: implementación de nuevas tecnologías, XX Reunión ALPA, XXX Reunión APPA-Cusco, Perú, Arch. Latinoam. Prod. Anim., Vol. 15, 1, 2007, pp19 22.
- 14. Sauret J., Vilissova N., Human Brucellosis, J. Am Board Fam Pract., Vol. 15, 2002, pp 401-406.
- Wolter W., Castañeda V. H., Kloppert B. y Zschöck M., Mastitis Bovina, Prevención, Diagnóstico y Tratamiento. Editorial Universitaria. Primera Edición. Guadalajara, Jalisco, México, 2004.

ESTUDIO SOBRE LA PULPA DE TUNA PURPURA (*Opuntia ficus-indica*) TERMOULTRASONICADA Y LIOFILIZADA: PROPIEDADES FUNCIONALES Y MICROBIOLÓGICAS.

García-Ortiz Angélica Berenice, Lugo-Zarate Liliana, Cruz-Cansino Nelly del Socorro, Calderón-Ramos Zuli.

Grado académico: 1 Estudiante de la Licenciatura en Nutrición, UAEH; 2 Dr (a). de la Licenciatura en Nutrición UAEH; 3 M en NH. de la Licenciatura en Nutrición UAEH

Tecnología alimentaria Centro de Investigación Multidisciplinario, Área Académica de Nutrición, Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.

INTRODUCCIÓN

La tuna es una fruta carnosa (67 a 216 g de peso total) que varía en forma, tamaño y color dependiendo de la variedad; tiene la característica de poseer una gran cantidad de semillas, un alto contenido de carbohidratos y una baja acidez, lo que le proporciona un sabor dulce y agradable (1). La tuna está compuesta de una parte denominada pulpa, en la que se encuentran insertas un gran número de semillas pequeñas y lenticulares (de 100 a más de 400 por fruta) con un diámetro de 3 a 4 mm (2); protegidas por una corteza de mayor dureza (epicarpio o cáscara) y una capa externa y delgada que cubre la cáscara, denominada piel, en la que se encuentran las espinas.

México es el principal productor mundial y cuenta con la mayor variabilidad genética y disponibilidad; también ocupa el primer lugar en superficie cultivada y consumo (3). En los últimos años la comunidad científica ha mostrado mayor interés con respecto a los beneficios que proporciona a la salud.

Este fruto es reconocido por sus virtudes nutritivas, químicas, industriales, medicinales, etc. resaltando sus propiedades nutricionales y funcionales. Diferentes investigaciones han mostrado la mejora de la función plaquetaria, reducción de triglicéridos, colesterol total en sangre y un menor daño oxidativo. También ha sido utilizada en tratamientos contra la gastritis, hiperglucemia, aterosclerosis y diabetes (1).

El termoultrasonido es una técnica emergente que ha demostrado promover propiedades como homogeneización, emulsificación e inactivación de enzimas y microorganismos responsables del deterioro físico-químico (4).

En la industria alimentaria se ha empleado como una técnica de preservación por destrucción de paredes y orgánulos celulares por cavitación, es decir, permite alargar la vida del producto por la reducción de la población microbiana alterante o patógena de un alimento (5).

Esta tecnología es inocua y no afecta las características sensoriales de los alimentos, presentando gran versatilidad, por lo que se considera una buena alternativa para su uso en la industria de alimentos.

El objetivo de este trabajo es evaluar las propiedades funcionales y microbiológicas de la pulpa de tuna púrpura termoultrasonicada y liofilizada.

TEORÍA

Termoultrasonido: Se define como el uso simultáneo de ultrasonido y temperaturas entre los 40 y 50°C, al reducir la temperatura de esterilización se evitan daños en el alimento (6). Este contribuye a la inactivación enzimática y mejora las propiedades funcionales del producto.

Fibra dietética: Consiste en polímeros de hidratos de carbono no digeribles, provenientes de las paredes de células vegetales, que pasan a través del intestino delgado sin cambios, pero que se fermentan en el intestino grueso (7).

Escudero (2006) añade a la definición de la fibra dietética el concepto de fibra funcional, que incluye otros hidratos de carbono resistentes a la digestión de las enzimas del tracto intestinal humano, como el almidón resistente, la inulina, diversos oligosacáridos (fructooligosacáridos, galactooligosacáridos y xilooligosacáridos) y disacáridos como la lactulosa, definiendo como fibra total a la suma de fibra dietética más fibra funcional. Es decir, que contenga componentes o elementos fisiológicamente activos (9).

Propiedades funcionales de la fibra dietética: Es toda propiedad, nutricional o no, que interviene en su utilización, este comportamiento depende de las propiedades físicas y químicas que se afectan durante el procesamiento, almacenamiento, preparación y consumo del alimento. Las propiedades funcionales permiten su uso como ingrediente en alimentos, aunque generalmente se incorporan en mezclas complejas.

La fibra aumenta el volumen de las heces hasta 20 veces su peso, debido a su capacidad de retención de agua, y se relaciona con la protección y alivio de algunos trastornos digestivos como estreñimiento y constipación (10).

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIALES Y MÉTODOS

En el diagrama 1 se muestra el diseño metodológico que se realizó para el estudio, donde se resume que la pulpa de tuna se obtuvo mediante triturado en una licuadora convencional durante 1 minuto, se termoultrasonicó (SONIC VCX/1500) a 80% amplitud en 3 condiciones (1:23′/40°C, 2:18.5′/45°C, 3:12′/46°C) y una muestra control. Posteriormente se sometió a un secado por liofilización (LABCONCO VW 26671-581.USA). De la muestra obtenida se evaluó capacidad de retención de agua (CRA) y la capacidad de hinchamiento (CH) de acuerdo a Symons y Brenhan (11), la capacidad de retención de aceite (CRAc) por el método de Dench (12) y capacidad de emulsificación (CE) por Temelli (13). Se realizó el análisis microbiológico por recuento total (RT) y enterobacterias (EB). El análisis de datos se realizó con el programa estadístico SPSS para Windows mediante un ANOVA y las diferencias significativas fueron realizadas mediante una prueba Duncan (*p≤0.05*).

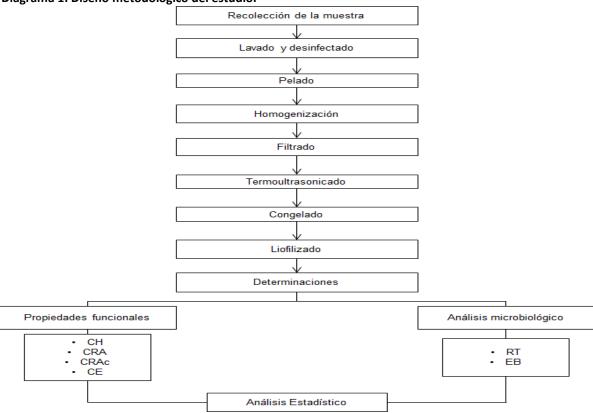


Diagrama 1. Diseño metodológico del estudio.

RESULTADOS

En la tabla 1 están representados los valores obtenidos de CRA y CRAc, en donde se aprecia que la capacidad de retención de agua en el tratamiento a 23 min/40°C fue mayor ($p \le 0.05$) con 2.76 g/g comparado con el control (2.46 g/g). Esta propiedad es característica de la fibra dietética, y de acuerdo a Abarca et~al. (14), la pulpa de tuna contiene 7.32% de fibra cruda, esta facilita el tránsito del bolo alimenticio; incrementando el volumen de residuo de la digestión y disminuyendo la presión del tracto gastrointestinal. En la CRAc no hubo diferencia significativa con respecto al control (1.11—1.34 ml/g); sin embargo, el tratamiento a 18.5 min/45°C fue mayor.

Tabla 1. Capacidad de retención de agua y aceite del jugo de tuna termoultrasonicada y liofilizada

Tratamientos	CRA g/g	CRAc ml/g
Control	2.46±0.07 ^b	1.22±0.10 ab
23 min/40°C	2.76±0.15 ^a	1.19±0.08 ^{ab}

18.5 min/45°C	1.99±0.04 ^c	1.34±0.01 ^a
12 min/46°C	2.00±0.10 ^c	1.11±0.02 ab

^{a-c} Los superíndices indican diferencia significativa (p≤0.05) entre las muestras.

La capacidad emulsificante es de gran importancia en la industria alimentaria para la utilización de embutidos, sopas y aderezos para ensaladas (15). La emulsión se vio beneficiada por el termoultrasonido como se muestra en la figura 1 en donde el tratamiento a 18.5 min/45°C presentó 26.7% mayor capacidad de emulsión ($p \le 0.05$) con respecto al control.

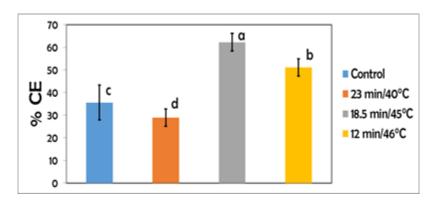


Figura 1. Capacidad de emulsión del jugo de tuna termoultrasonicada y liofilizada. a^{-d} Letras diferentes indican diferencia significativa ($p \le 0.05$) entre las muestras.

En la figura 2 se observa que los tratamientos por termoultrasonido a 23 min/40°C y 18.5 min/45°C tuvieron mayor CH (9.73±0.11, 9.72±0.11 respectivamente) con respecto al control (8.93±0.04 mg/g). Este incremento se atribuye a que durante el termoultrasonido se rompen los enlaces de hidrógeno intermoleculares en la región amorfa lo que conduce a la absorción de agua (16). Amini *et al.* (17) reportaron que la temperatura alcanzada de sonicación provoca mayor efecto sobre la propiedad mencionada en almidones del plátano.

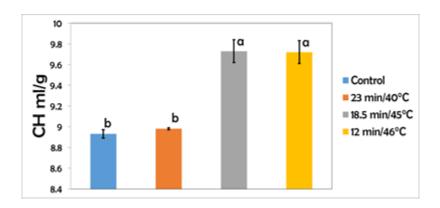


Figura 2. Capacidad de hinchamiento de jugo de tuna termoultrasonicada y liofilizada. $^{a-b}$ Letras diferentes indican diferencia significativa ($p \le 0.05$) entre las muestras.

Los resultados del análisis microbiológico se muestra en la figura 3, donde en RT el tratamiento a 12 min/46°C se redujo ($p \le 0.05$) a 2.67 UFC/ml respecto al control (3.68 UFC/ml) debido a que el ultrasonido provoca una disminución del grosor de las paredes celulares generando lisis y/o muerte celular (18).

La muestra control no tuvo presencia de EB al igual que los tratamientos de termoultrasonido, lo que demuestra las condiciones asépticas del proceso.

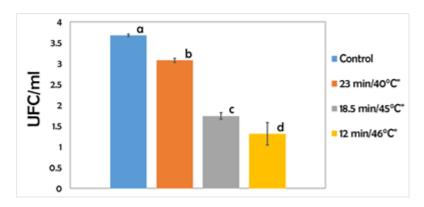


Figura 3. Análisis microbiológico, recuento total del jugo de tuna termoultrasonicada y liofilizada. a^{-d} Letras diferentes indican diferencia significativa ($p \le 0.05$) entre las muestras.

CONCLUSIONES

El termoultrasonido en pulpa de tuna mejoró la capacidad de hinchamiento y la capacidad de emulsificación, disminuyendo además la carga microbiana, principalmente en los tratamientos de 23 min/40°C y 18.5 min/45°C. Por lo que la aplicación de éste podría beneficiar el aumento del volumen fecal, mejorar la saciedad y obtener un producto inocuo. Por lo anterior, la pulpa de tuna termoultrasonicada podría ser utilizada en la industria alimentaria, como aditivo en un producto que aporte beneficios a la salud humana.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Ochoa-Velasco C.E. y Guerrero-Beltrán J.A. (2010) La tuna: una perspectiva de su producción, propiedades y métodos de conservación. Temas selectos de Ingeniería en Alimentos. 4(1) pp 49-63.
- 2. Anón. (1997) Opuntia ficus-indica. Publicado en el marco conjunto FAO/PNUMA de control de la desertificación en América latina y el caribe. Argentina.
- 3. SAGARPA. (2006) Retos y perspectivas para los pequeños productores mexicanos ante la apertura comercial. www.sagarpa.gob.mx accesada 22/04/2017.
- 4. Cerezal P. y Duarte G. (2005) Some Characteristics of cactus Pear (Opuntia ficus-indica (L.) Miller) Harvested in the Andean Altiplane of Region 2 of Chile. Journal of the profesional Association fot Cactus Development. 7 pp 34-60.

- 5. Morata, B. A. (2008) Nuevas tecnologías de conservación de alimentos. Madrid. Vicente Ediciones. Pp 156-159.
- 6. Cruz-Cansino N. S., Ramirez- Moreno E., Leon-Rivera J. E. Delgado –Oivares L., Alanis-Garcia E., Ariza-Ortega J. y Manrriquez-Torres J. J. (2015) Shelf life, physicochemical, microbiological and antioxidant properties of purple cactus pear (Opuntia ficus indica) juice after thermoultrasound treatment. Ultrasonics Sonochemistry. 27 pp: 277-286.
- 7. Gray, J. (2006) Fibra dietética, definición análisis, fisiología y salud. ILSI europe monograph series. (1) pp: 10-12.
- Escudero A, Gonzales P. (2006) La fibra dietética. [Articulo cientifico en linea]. Nutricion Hopitalaria. (Sup. 2) 61-72 pp. [Consultado el 14 de abril del 2009]. Formato pdf. Disnponibilidad libre en: . ISSN 0212-1611.
- 9. García E, Benito R, Rivera C. (2008) Definición de la fibra alimentaria. Escuela de Nutrición. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Vol. 21 (1) pp 25-30.
- Zambrano Z, de la Luz M, Hernández A, Gallardo Y. (1998) Caracterización fisicoquímica del Nopal. En temas de Tecnología de alimentos. Vol. 2. Fibra dietética. Editado por Lajolo M. y Wenzel E. CYTED. Instituto Politécnico Nacional, México. pp 29-41.
- 11. Symons L.J. y Brenhan C.S. (2004) The effect of barley glucan fiber fractions on starch gelatinisation and pasting characteristics. Journal Food Science. 69 pp 257-261.
- 12. Dench J.E., Rivas R y Caygill J. C. (1981) Selected funtional properties of sesame (sesamun indicu L.) flow and two protein isolates. Journal of this science of food and agriculture. 32 (6) pp 557–564.
- 13. Temelli, F. (1997) Extraction and funcional properties of barley b-glucan as affected by temperature and pH. Journal of food science. 62 (6) pp 1194-12001.
- Abarca, D., Martínez, R., Muñoz, J., Torres, M., Vargas, G. (2010) Residuos de café, cacao y cladodio de tuna: Fuentes promisorias de fibra dietaria. Revista tecnológica. ESPOL 23 (2) pp 63-69.
- 15. Díaz-Vela, J., Totosaus, A., Pérez-Chabela, M.L. (2016) Efecto de harina de cáscaras de tuna y piña sobre las características físicoquímicas y texturales de salchichas cocidas inoculadas con bacterias ácido lácticas. 1 (1) pp 851-856.
- Bello-Pérez, L.A.., Contreras, R.S.N., Romero, R.N., Solorza-Feria, J. y Jímenez-Aparicio,
 A. (2002) Propiedades químicas y funcionales del almidón modificado de plátano *Musa Paradisiaca L (var. Macho)*. Agrociencia 36 pp 703-709.
- 17. Amini, A., Razavi, S. y Mortazavi, S. (2015) Mophological, phycochemical, and viscoelastic propierties of sonicated corn starch. Carbohydrate Polymers, 122 pp 282-292.
- 18. Delgado, J.O. (2011) Aplicación del ultrasonido en la industria de los alimentos. Revista especializada en ingeniería de procesos en alimentos y biomateriales. 6 pp 141-152.

ALTERNATIVAS PARA EL APROVECHAMIENTO DE ESTIÉRCOLES

Marilyn Checa, Myrna Solís, Rigoberto Castro, Erik Ocaranza, Karim Montalvo, Aida Solís.

Instituto Tecnológico Superior de Tlaxco,

Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

RESUMEN

En las comunidades rurales ocurren problemas de contaminación por la inadecuada disposición de los estiércoles; en este trabajo se evaluó el proceso de compostaje y la digestión anaeróbica para darle un uso al estiércol de vaca. Se elaboró composta y se prepararon digestores ajustando y no el pH inicial a 7, con 8% de solidos totales, el estiércol se mantuvo en los digestores anaeróbicos durante 6 semanas, después se separó la parte líquida del efluente (biol) para evaluar su uso como fertilizante. El experimento se montó por duplicado y en dos épocas del año, con estiércoles de cuatro comunidades rurales de Puebla y Tlaxcala. Se encontró que a los 4 meses la composta cumplió con la normatividad para aplicarse como mejorador de suelo. Por otro lado, si se desea usar el estiércol como fuente alterna de energía, el pH inicial del estiércol debe ser mínimo de 7, para favorecer a las bacterias metanogénicas, caso contrario habrá mayor producción de CO2 y el biogás no será combustible. Si el uso del estiércol es para obtener biol y aplicarlo como fertilizante, no es necesario el ajuste del pH, ya que con y sin ajuste de éste, después de tres semanas de iniciada la digestión anaeróbica, el índice de germinación del biol fue mayor al 80%, por lo tanto recomendable para aplicarse en los cultivos. Tanto con la composta como con el biol reportaron buenos rendimientos en el cultivo de acelga, comparado con el control donde únicamente se utilizó suelo agrícola; sin embargo con la adición de los bioles se incrementó más el desarrollo del cultivo, las plantas tuvieron la mayor altura y peso de parte aérea.

INTRODUCCIÓN

A través de los años, y como resultado de las actividades realizadas por diversos investigadores a nivel mundial, se han generado innumerables evidencias respecto a los beneficios, ventajas y propuestas relacionadas con el empleo de los abonos orgánicos en sistemas de producción orgánica. Donde un abono orgánico es todo aquel material que resulta de la transformación de residuos orgánicos de origen vegetal y animal, descompuesto por fermentación aerobia y anaeróbica (Trinidad, 2006).

Uno de los abonos orgánicos más utilizados es la composta, ésta permite mejorar los suelos agrícolas, incluyendo los suelos de zonas áridas y semiáridas, que en general presentan pobreza de fertilidad, materia orgánica, nutrimentos, capacidad de retención de agua y pH alto. Desde el punto de vista económico es atractivo su uso, ya que el costo a granel de composta representa aproximadamente el 10% menos que el uso de fertilizantes químicos (Trápaga y Torres, 1994). Otro de los abonos orgánicos importantes está el digestato, excelente abono orgánico foliar utilizado especialmente para hortalizas y frutales. También llamado fertilizante orgánico líquido, se obtiene como resultado de un proceso de fermentación en ausencia de aire (anaeróbica), proceso relativamente simple y de bajo costo, aunque su elaboración tiene un periodo de entre 2 a 3

meses. El digestato tiene dos componentes una parte sólida y una líquida, la primera es conocida como biosol y el líquido llamado biol (Alvares, 2010).

El compostaje es una tecnología de bajo costo que permite transformar residuos y subproductos orgánicos en materiales biológicamente estables, y proporciona la posibilidad de reutilizar y transformar de una manera segura los residuos orgánicos vegetales, residuos agrícolas y estiércoles en insumos para la producción agrícola. Este se define como un proceso biológico oxidativo aerobio controlado, que se desarrolla sobre sustratos orgánicos heterogéneos en estado sólido, se lleva a cabo por la actividad secuencial de una gran diversidad de microorganismos. Implica el desarrollo de una fase termofílica que genera temporalmente fitotoxinas, siendo productos de la biodegradación el dióxido de carbono, agua, minerales y una materia orgánica estabilizada denominada Composta, con ciertas sustancias húmicas y libre de compuestos fitotóxicos y agentes patógenos (Zucconi et al, 1987). La composta es el producto estabilizado e higienizado del compostaje que ha sufrido una fase inicial y rápida de descomposición y se encuentra en proceso de humificación. Este compost, que es aprovechable agrícolamente, mejora la estructura del suelo, ayuda a reducir la erosión y ayuda también a la absorción de agua y nutrientes por parte de las plantas, es decir, incrementa el contenido de materia orgánica en los suelos.

Durante este proceso se suceden una serie de etapas caracterizadas por la actividad de distintos organismos, existiendo una estrecha relación entre la temperatura, el pH y el tipo de microorganismos que actúa en cada fase. Dichas etapas son: mesofílica, termofílica, de enfriamiento y de maduración.

Los efectos de la composta permiten mejorar los suelos agrícolas, incluyendo los suelos de zonas áridas y semiáridas, que en general presentan pobreza de fertilidad, materia orgánica, nutrimentos, capacidad de retención de agua y pH alto. Desde el punto de vista económico es atractivo su uso, ya que el costo a granel de composta representa aproximadamente el 10% menos que el uso de fertilizantes químicos. La agricultura orgánica demanda el uso de abonos orgánicos para mantener sano el suelo y los productos cosechados libres de sustancias toxicas, así como fuente de nutrientes. Las características químicas y microbiológicas de las compostas y vermicompostas son muy semejantes, sin embargo la respuesta de los cultivos a la aplicación de la vermicomposta suele ser superior a la de la composta convencional (Aparcana, 2008).

El tratamiento anaerobio es un proceso microbiológico en ausencia de oxígeno, en el que la materia orgánica se transforma por acción de microorganismos en biogás y bioabono. Implica la realización de una serie de reacciones bioquímicas donde participan microorganismos, de los cuales una parte son oxidados completamente por el carbono formando anhídrido carbónico, mientras otra es reducida en alto grado para formar metano (Guevara, 1996). El proceso anaeróbico ocurre en cuatro etapas, hidrólisis, acidogénesis, acetanogénesis, y metanogénesis.

Biol es el efluente resultado de la digestión anaeróbica, es utilizado como abono y es una fuente de fitorreguladores que ayudan a las plantas a tener un óptimo desarrollo, generando mayor productividad a los cultivos (Aparcana, 2008). El biol es un producto estable biológicamente, rico en humus y una baja carga de patógenos. El biol tiene una buena actividad biológica, desarrollo de fermentos nitrosos y nítricos, microflora y hongos. El biol contiene bastante materia orgánica, en el caso del biol de bovino podemos encontrar hasta 40%, y en el de porcino 23 %. El biol agregado al suelo provee materia orgánica que resulta fundamental en la génesis y evolución de los suelos, constituye una reserva de nitrógeno y ayuda a su estructuración, particularmente la de textura fina. La cantidad y calidad de esta materia orgánica influirá en procesos físicos, químicos y biológicos del sistema convirtiéndose en un factor importantísimo de la fertilidad de estos. La combinación de estos efectos resultará en mejores rendimientos de los cultivos que sean producidos en ese suelo. La capacidad de fertilización del biol es mayor al estiércol fresco y al estiércol compostado debido a que el nitrógeno es convertido a amonio (NH4), el cual es transformado en nitratos y levaduras que serán un excelente complemento a suelos improductivos o desgastados.

PARTE EXPERIMENTAL

Compostaje

El montado de la pila para el proceso de compostaje se hizo de la siguiente manera:

- 1.- Sobre el suelo colocar una capa de rastrojo o paja de 30 cm de altura a lo largo de la cama.
- 2.- Posteriormente agregar en diferentes puntos de la pila el estiércol.
- 3.- Humedecer muy bien cada una de las capas y se continua poniendo capas hasta tener 1 m o 1.5 m de altura. Se volteara cada semana y ver que no esté muy seca ni muy húmeda.
- 4.- Cubrir con plástico, para que se conserve el calor que genere y además no se pierda humedad y para cubrirla de la lluvia.
- 5.- Tomar temperatura; medir cada semana el pH conductividad electrolítica según la NOM-AA-021 REC-NAT-2000, para ver cómo evoluciona el proceso de compostaje.
- 6.- Finalmente se debe hacer una evaluación de madurez, según Zucconi (1987) para verificar que la composta ya esté lista para ser usada en suelo y que esté libre de algún toxico.

Digestión anaeróbica

Se montaron por duplicado 8 biodigestores de plástico de 20 litros, diseñados al 7% de sólidos, base seca y al 70% de capacidad, con un tiempo de retención de 8 semanas, la mezcla fue estiércol de vaca y agua. Una serie de digestores se montó haciendo un ajuste de pH inicial a 7.5 y la otra serie sin ajuste de pH. Los reactores se mantuvieron en invernadero, se midió la producción de biogás, ésta última mediante globos de volumen conocido. El contenido de metano en el biogás fue determinado por cromatografía de gases. Al digestato se le determino pH, conductividad eléctrica, y fitotoxicidad, como se describió anteriormente, al inicio de carga y cada semana.

Cultivo de acelga

Para evaluar el efecto de la composta y los bioles se utilizaron 200 macetas se sembraran 200 semillas de acelga considerando 20 semillas por cada tratamiento, a los 2 meses, se evaluó el crecimiento total de acelga, longitud de raíz y peso de la acelga. Se aplicaron semanalmente 75 ml de agua con 25 ml de biol a cada maceta. Como control se utilizó suelo sin la adición de composta o biol.

RESULTADOS

Compostaje

Los componentes de pila montada tuvieron cambios físicos con respecto al tiempo, los más notorios fueron en la textura, apariencia, reducción del volumen, tamaño de las partículas, cambio en la coloración y olor; estos cambios se dieron como resultado de la actividad microbiana, que descompusieron los componentes orgánicos de los residuos. Con el proceso de compostaje la materia orgánica original fue transformada hasta llegar a una textura como un suelo vegetal, no se distinguieron los componentes iniciales, el color cambio en comparación con el de los residuos y lo más notorio fue que el olor característico de los residuos orgánicos fue desapareciendo gradualmente, al final se percibió con olor a suelo húmedo característico de la presencia de actinomicetos. En las figura 1 se aprecia la pila inicial y la composta obtenida.





Figura 1. Fotografía de la pila que se fue construyendo con los residuos (izquierda), pila obtenida de composta (derecha)

La figura 2 muestra el cambio que ocurrió en el pH durante el proceso de compostaje, este varia por la producción de ácidos y la liberación de amoniaco. El valor de pH final para la composta se encontró dentro de los límites permisibles por la norma PROY-NTEA-006-SEGEM-RS-2005, que establece los requisitos para la producción de mejoradores de suelos elaborados a partir de residuos orgánicos, el valor de la norma para el pH es de 6.5 a 8.



Figura 2. Variación en los valores del pH

La figura 3, indica las variaciones en la temperatura que se registraron en la pila de compostaje, marcando las etapas mesofilica, termofílica y enfriamiento. Si la temperatura se incrementa demasiado podría producir la muerte de los microorganismos implicados en el desarrollo del proceso, que no formaran esporas que ayudaran a la resistencia térmica de estos organismos. Con ello, se produciría una reducción de la biodiversidad y actividad microbiana en la pila y en consecuencia, una disminución en la velocidad de descomposición de la materia orgánica.

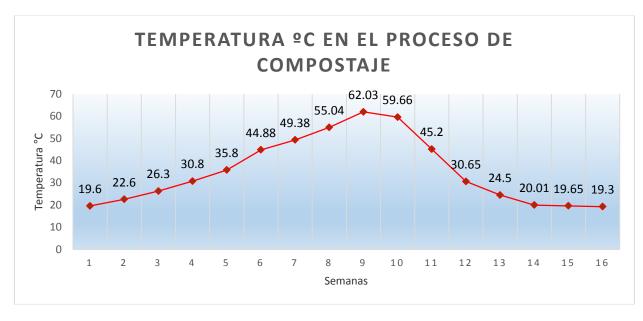


Figura 3. Variaciones en la temperatura durante el proceso de compostaje **Cultivo de acelga**

La figura 4 muestra las macetas con las acelgas a un mes de sembradas



Figura 4. Acelgas a un mes de sembradas

Se observó que con la adición de bioles las acelgas crecieron más que con la composta y que en el control, lo cual indica que en el biol hubo mayor cantidad de nutrientes comparados con los obtenidos en la composta.

Hay reportes que indican que en los bioles hay formación de fitoreguladores, lo cual también puede explicar porque con los bioles hubo mayor desarrollo, de tal forma que la longitud promedio de la parte aérea, de la raíz y el peso de las acelgas fue mayor con la aplicación de los bioles, seguido del tratamiento con la composta y en ambos casos el desarrollo fue mejor que con el control suelo donde no se adicionó ningún abono.

CONCLUSIONES

Los residuos orgánicos y de origen animal como es el estiércol de vaca, mediante el proceso de compostaje fueron transformados en material libre de olor y con aspecto similar a suelo, para la producción de los mejoradores de suelos a partir de residuos orgánicos. El uso de estos residuos orgánicos para la elaboración de compostas es una forma de valorización de los mismos.

Se recomienda elaborar el biol ya que se obtienen mejores beneficios y se obtiene en menor tiempo y con un menor costo que al elaborar composta.

Los residuos son aprovechables a través del compostaje y digestión anaerobia, transformándose eficazmente en abono orgánico. Someter a estiércol de vaca a compostaje y digestión anaeróbica es una buena manera de reducir la contaminación por estiércol, y aprovechar sus componentes para producir fertilizantes orgánicos. Es importante promover estas metodologías para el manejo de los residuos de una manera amigable con el ambiente.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología así como al Instituto Nacional de las Mujeres por el apoyo brindado al proyecto titulado "Productos verdes para el empoderamiento de mujeres en comunidades rurales de Puebla y Tlaxcala".

BIBLIOGRAFÍA

1. J. M. O. Álvarez, Prioridades del plan 2014 para la campaña 2010-2011. AIMCRA: Asociación de investigación para la mejora del cultivo de la remolacha azucarera, Vol 104, 2010, pp. 15-18.

- 2. S. Aparcana, Estudio sobre el valor fertilizante de los productos del proceso de fermentación anaeróbica para producción de biogás. (en línea). Consultado 30 abril- 2010. Disponible en http://www.manualdelombricultura.com/foro/mensajes/18545.html.
- 3. V.A. Guevara, Fundamentos básicos para el diseño de biodigestores anaeróbicos rurales. Producción de gas y saneamiento de efluentes. Documento OPS/CEPIS/96. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente Organización Panamericana de la Salud. Lima, 1996, pp.80.
- 4. Y. Trápaga, F.T. Torres Torres, Mercado internacional de la agricultura orgánica. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones Económicas; Juan Pablos Editor, 1994, pp 232.
- 5. S. A. Trinidad, Abonos Orgánicos in Sistema de Agronegocios Agrícolas. Ed. Colegio de Posgraduados, SAGARPA, 1996.
- 6. S.A. Trinidad El uso de abonos orgánicos en la producción Agrícola. Serie de cuadernos de edafología 10. Centro de edafología, colegio de posgraduados, Chapingo, Méx. 1999.
- 7. F. Zucconi, A. Pera, M. Forte, M. de Bertoldi, Evaluating toxicity of inmature Compost, BioCycle, Vol 22,1987, 54-57.

DIAGNÓSTICO AMBIENTAL DE LA LAGUNA DE SALTIAGUILLO EN DURANGO COMO INSUMO PARA EL COMITÉ DE CUENCA

García-Aguirre K., García Serrano L. Sánchez-Ortíz E., Navarro-Hernández C.

Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Zacatecas

Centro Interdisciplinario de Investigaciones y Estudios Sobre Medio Ambiente y Desarrollo.

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango

RESUMEN

El manejo de cuencas hidrográficas es un tema de gran interés en donde las instituciones en México deben fortalecerse para consensar el conocimiento y gestión adecuados. Una herramienta que puede apoyar el manejo integral de cuencas es la elaboración de manuales que ofrecen conocimientos básicos y métodos prácticos dirigidos a los responsables de la ordenación y planificación de las cuencas hidrográficas así como estudios que sirvan de marco de referencia para optimizar el manejo y gestión de estos recursos hídricos. Este proyecto está enfocado en la cuenca Laguna de Santiaquillo ubicada en el estado de Durango, se presenta un estudio general empleando SIG de las características como hidrografía, climas, tipos de suelo, fauna y flora, así como los resultados de campo de la caracterización fisicoquímica de suelo y cuerpos de agua que alimentan la Cuenca de la Laguna de Santiaguillo. De lo anterior, se obtuvieron los mapas que indican la distribución de factores bióticos y abióticos y del análisis de suelo y agua muestreados se resalta la presencia de arsénico en altas concentraciones en las zonas muestreadas. Se espera que los resultados obtenidos sirvan como insumo para que el Comité de Cuenca conformado pueda establecer un plan de manejo Integral de Cuenca, a través del proceso participativo de la población en general. Agradecimientos: al Instituto Politécnico Nacional, UPIIZ, CIIEMAD y CIIDIR-Durango.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años la gestión ambiental se ha fortalecido principalmente en temas de recursos naturales, debido al empleo de tecnologías de producción agrícolas perjudiciales como resultado del constante crecimiento demográfico. El manejo de cuencas hidrográficas es de los temas de mayor interés, en el cual la condición latinoamericana ha avanzado a pasos agigantados, a pesar de ello las instituciones en México no han logrado consensar el conocimiento y gestión adecuada de las cuencas; como ejemplo en México cada dependencia gubernamental del sector medio ambiental cuenta con una regionalización diferente ya sea hidrológica-administrativa, hidrológica-forestal o ecológica, lo cual dificulta el consenso para la elección de una unidad territorial única para la aplicación de políticas públicas.

Donde una herramienta que puede para el manejo integral de cuencas que se ha venido desarrollando es la elaboración de manuales que ofrecen conocimientos básicos y métodos prácticos dirigidos a los responsables de la ordenación y planificación de las cuencas hidrográficas. Estos manuales pretenden presentar avances conceptuales y metodológicos en cuanto a estudios ambientales en cuencas; así como el uso de nuevas tecnologías para el estudio de los recursos naturales y su aplicación para la evaluación y análisis del agua como servicio ambiental.

Este proyecto está dirigido a la cuenca Laguna de Santiaguillo ubicada en el estado de Durango, que recibe una recarga media anual de 30.42 hm³/año, lo que representa el 2.4% del agua presente en la zona de estudio, la descarga natural comprometida es del 23.04 hm³/año es decir, el

75.8%, el acuífero presenta una sobre concesión de 90.69% casi tres veces la capacidad de la recarga media anual, lo que propicia la sobreexplotación con un déficit subterráneo de 83.32 hm³/año. Lo anterior indica un manejo inadecuado del recurso hídrico que a mediano y largo plazo afectará de manera directa las actividades económicas de la zona. Así mismo es importante destacar que los problemas económicos, sociales, ecológicos, organizacionales y culturales de las instituciones y habitantes son los principales conflictos que invitan a la población local formar parte de la planificación y toma de decisiones del recurso que esta cuenca les ofrece.

La gestión de dichos recursos invaluables se concibe como el proceso por medio del cual se decide la manera en que el escenario futuro debe ser conservado o variado con respecto al presente y debe coadyuvar a resolver cuestionamientos como; ¿cuáles son las estrategias que se requieren para conservar los recursos agua y suelo?, ¿cuáles son los cambios requeridos?, y ¿cómo se deben realizar estos cambios? Por lo que la gestión y desarrollo de investigaciones pertinentes están asociados a cálculos, estimaciones, previsiones y definición de expectativas, e incluso a los procedimientos, estrategias y normatividades que las premisas del desarrollo sostenible imponen.

Considerado que tanto el agua y suelo, como parte de los servicios ambientales que ofrecen los ecosistemas, constituyen factores indispensables que son capaces a su vez de proveer los sustentos fundamentales para el mantenimiento y sostenimiento de los ecosistemas y los recursos naturales a fin de que puedan proveer beneficios básicos a la sociedad, contribuyendo a su calidad de vida y perpetuidad. La planificación integral de los recursos naturales básicos agua y suelo, deben basarse entonces en su diagnóstico, protección y aprovechamiento racional, así como en el manejo sostenible de los recursos.

Por lo que se plantea un Diagnóstico Ambiental Preliminar (DAP) empleando sistemas de Información Geográfica (SIG), considerado que una de las más amplias y complejas aplicaciones de los SIG es sin lugar a dudas en las ciencias ambientales y al mismo tiempo una de las más recurrentes junto a la planificación del territorio y la administración de los recursos naturales (RRNN),. los SIG son herramientas para la mejor gestión de la información disponible del territorio. Lo cual implica las diferentes y diversas aproximaciones que se pueden tener sobre el mismo, algo que resulta bastante diverso y complejo. Por otro lado es precisamente el manejo de este tipo de información "territorial", por el que principalmente un SIG se diferencia de otras herramientas de soporte a la toma de decisiones. Para poder abordar como un SIG ayuda en el proceso de toma de decisiones en el manejo, administración y gestión de los recursos, primero es necesaria una revisión de los conceptos y definiciones básicas relacionados a la toma de decisiones, como por ejemplo a que nos referimos cuando se tiene un problema y qué tipos de problemas pueden existir, las diferentes aproximaciones para resolverlos y cómo se concibe un proceso de toma de decisiones.

CARACTERIZACIÓN BASICA DE LA CUENCA

La caracterización básica de la cuenca corresponde a su descripción espacial sobre cartografía oficial a las escalas definidas de acuerdo a la normatividad vigente, así como la descripción político administrativa de la misma a nivel departamental, municipal, veredal, incluyendo la jerarquización de centros poblados. Igualmente, en el caso de la presencia de comunidades étnicas en la cuenca objeto de ordenación, se realizará la descripción espacial de territorios colectivos y resguardos indígenas.

CARACTERIZACIÓN BIOFÍSICA DE LA CUENCA

Compuesto por los factores y elementos que integran el medio natural, que por su importancia determinan las características y la dinámica del medio físico - biótico y su vulnerabilidad frente a las principales actividades humanas que se desarrollan en la subzona hidrográficas. Dentro de los

factores y elementos que integran este componente, como mínimo se debe caracterizar los siguientes:

- Clima
- Hidrografía
- Edafología
- Tipos de vegetación

RESULTADOS

Empleando los Sistemas de Información Geográfica se realizaron los mapas que se socializaron con el comité de Cuencas de la cuenca Laguna de Santiaguillo, como fuente de información para el planteamiento de alternativas de gestión para la cuenca.

Se procesaron datos para generar los siguientes mapas:

• Ubicación geográfica y división política

La cuenta "Laguna de Santiaguillo" está ubicada en la zona centro del estado de Durango, con una superficie total de 25 mil km², esta región se encuentra dentro de 3 municipios como se muestra en la figura 1, además existen 59 ejidos en el 76% de la superficie de la cuenca.

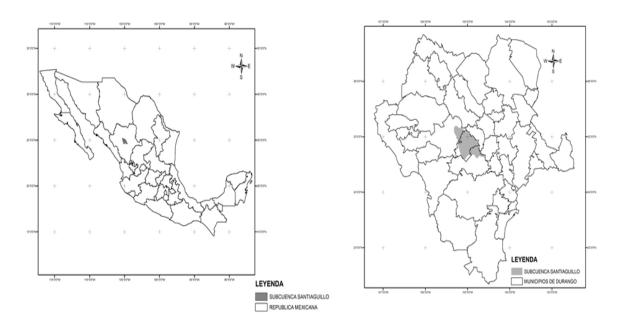


Figura 4. Ubicación de la cuenca en la república Mexicana y dentro del estado de Durango. Los municipios que abarca el área de interés son: Nuevo Idea, Dgo. Santiago Papascuaro, Dgo. Y Nuevo Ideal, Dgo.

Coordenadas extremas:

Latitud N: 24° 22′ 02″ a 25° 20′ 41′

Longitud W: 104° 36' 46" a 105° 14' 38'

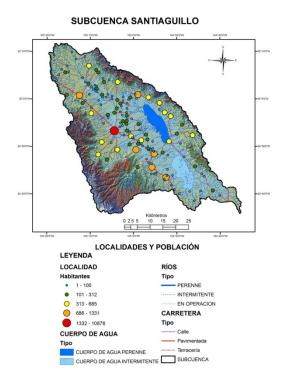


Figura 5. Localidades y población de la cuenca.

En total, existen 30,000 habitantes dentro de la región, distribuidas en 151 localidades, además se tienen en la zona 34 colonias de la cultura menonita con un total de 7,000 habitantes de esta etnia. Sin embargo, como puede observarse en la figura 2, solo existe una localidad con más de 1332 habitantes que se trata de la cabecera municipal de Nuevo Ideal.

Tipos de clima

La región está representada en su mayoría por un clima semiseco templado que rodea a la laguna, además de esto ay regiones de templado subhúmedo y semifrío subhúmedo, que como se muestra en el mapa siguiente. Las características principales de este tipo de climas es la precipitación que debería estar por encima de 2,000 mm para la región templada, más de 300 mm para la zona seca y fría.

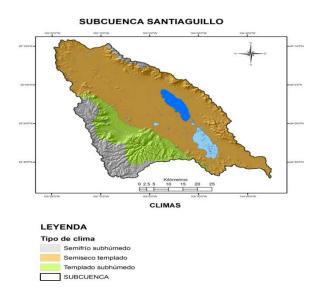


Figura 3. Climas de la región de la "Laguna de Santiaguillo".

La precipitación se vuelve un factor de importancia debido a que está íntimamente relacionada con el clima de la región, en toda el área de estudio se presentan cifras de más de 300 mm de precipitación anual, lo cual resulta fructífero para las actividades económicas de esta zona de interés.

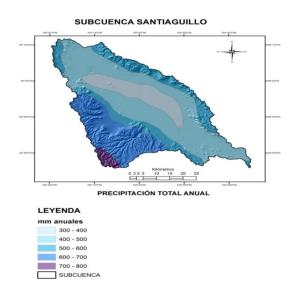


Figura 4. Precipitación total anual en el área de interés.

Incluso en las regiones de los extremos de la cuenca hay registros de más de 700 mm de precipitación, lo que favorece la escorrentía hacia la laguna como se observa en el mapa de la figura 4.

Hidrografía

El acuífero Valle de Santiaguillo recibe una recarga media anual de 30.42 hm3/año apenas el 2.4% del agua presente en la zona de estudio, la descarga natural comprometida es del 23.04 hm3/año que representa el 75.8%, el acuífero presenta una sobreconcesión de 90.69% casi tres veces la

capacidad de la recarga media anual con lo que se favorece la sobreexplotación por lo el déficit subterráneo es de 83.32 hm³/año.

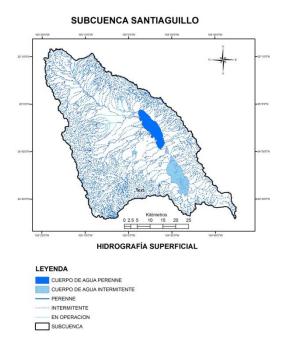


Figura 5. Hidrografía superficial de la subcuenca Santiaguillo.

La Región cuenta con un cuerpo de agua perene, así como algunos de estado intermitente, las corrientes que suministran a estos cuerpos son en su mayoría de naturaleza intermitente, sin embargo existen algunos de origen perene los cuales están en operación dentro de la región de la subcuenca, lo que puede apreciarse en la figura anterior.

Edafología

La zona de la subcuenca está formada principalmente por 8 tipos de suelos: Feozem Haplico, Litosol, Planosol Molico, Regosol Eutrico, Rendzina, Solonchak Ortico, Vertisol Cromico, Vertisol Pelico y Xerosol Haplico, como se observa en el mapa de la figura 6.

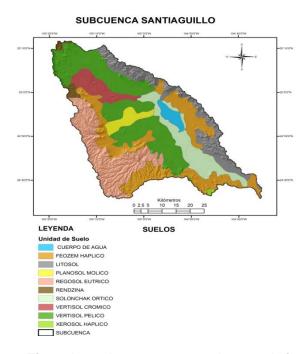


Figura 6. Tipos de suelos presentes en la zona de interés.

Tipos de Vegetación

Dentro de la vegetación encontrada en la zona de la subcuenca, se tiene una gran diversidad, el tipo predominante es el bosque de pino en la zona suroeste de la región, seguido por las zonas de cultivo de riego y temporal como se puede observar a continuación en el mapa de la figura 7.

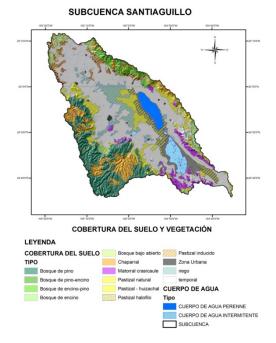


Figura 7. Cobertura del suelo y vegetación de la subcuenca de Santiaguillo.

En cuanto a la caracterización fisicoquímica de cuerpos de agua, se muestran los datos de los parámetros evaluados para cinco puntos eel cuadro 1.

Cuadro 1. Datos Fisicoquímicos para monitoreo de agua en la zona Este

	Ejido Benito Juárez				
Muestra	M1 "Pozo"	M2 "Abrevadero"	M3 "Pozo"	M4 "Descarga"	M5 "Pozo"
Temperatura (°C)	20	16.4	20	20	20
рН	6.82	8.72	7.43	7.16	7.5
Conductividad (μS)	189	308	291	853	339.7
Uso	Abrevad ero	Abrevadero	Riego pinos	Descarga	Riego de cultivos
Observaciones	Poca turbidez	Turbidez, presencia de plantas	Agua traslúcid a	Corriente a lada del camino, con muy mal olor	Apreciencia muy limpia
Turbidez (NTU/FNU)	4.52	69.18	7.73	321.9	5.55
Presencia de bacterias coliformes	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Índice del NMP por 100 cm3	-	-	33	>= 2 400	46

Del análisis de suelo, se tiene que el suelo es de tipo Franco arcillo arenoso, con un pH promedio de 7 y un porcentaje de materia orgánica de 1.8%. En el Cuadro 2 se muestran contenidos de Arsenico, mercurio y plomo para cinco puntos evaluados.

Cuadro 2. Datos de As, Hg y Pb en suelo en la zona Este

	Arsénico	(ppm)	Mercurio (ppm)		Plomo (ppm)	
	×	σ	×	σ	×	σ
M1	113.002	6.59	18.83	2.735	31.185	4.93
M2	46.041	9.738	14.379	3.122	-1.521	9.646
М3	41.261	2.782	22.006	3.304	-15.092	9.699
M4	45.392	6.148	14.869	4.186	-11.493	15.659
M5	38.281	2.869	22.53	8.738	-7.918	7.84

CONCLUSIONES

Las problemáticas relacionadas al agua y las plagas en los cultivos y en los árboles, así como el manejo inadecuado de los RSU y el uso de plaguicidas son las principales causas de la

contaminación de agua identificados por la población, aunados a los largos periodos de sequía. De este trabajo se presentan cinco mapas construidos empleando Sistemas de Información Geográfica que se proporcionaron al comité de Cuenca y se utilizaron en talleres participativos para visualizar percepciones de los pobladores, problemáticas ambientales y en su momento generar alternativas para el manejo y gestión de la cuenca. Por otro lado, la calidad del agua es el general regular de acuerdo con los criterios de la IDEAM. Todas las muestras de suelo analizadas muestran valores para la concentración de mercurio y arsénico superiores a lo establecido por la normatividad nacional e internacional, lo que es a largo plazo un riesgo para la salud.

BIBLIOGRAFÍA

- Del Ramo, A., & Guillén, F. (s.f.). Región de murcia digital. Obtenido de http://www.regmurcia.com/servlet/s.Sl?sit=c,365,m,2012,a,293&r=ReP-8170-DETALLE REPORTAJESABUELO.
- Gonzales Elizondo , M. S. (2012). VEGETACIÓN DE LA SIERRA MADRE OCCIDENTAL, MÉXICO: UNA. Obtenido de http://www1.inecol.edu.mx/abm/resumenes/Acta100(351-404).pdf.
- 3. *Marco geológico*. (s.f.). Obtenido de http://www.ptolomeo.unam.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/132.248.52.100/136/a6.pdf?sequence=6.
- 4. SEMARNAT. (2000). Obtenido de Vegetación: http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/estadisticas_2000/naturaleza/estadistica-am/informe/acrobat/capitulo2-1-7.pdf.
- SEMARNAT. (2005). Obtenido de Vegetación de México: http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_04/02_vegetacion/recuadros/c_rec1_02.htmm.
- 6. Tierra, a. A. (2012). *Ventanas al universo*. Obtenido de http://www.windows2universe.org/earth/geology/ig_basalt.html&lang=sp
- 7. Fundamentos de Gestión Ambiental: http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/IDEA
- Matriz de indicadores de evaluación de impacto. (2003). Recuperado el 2013 de Octubre de 5, de http://piensealgoysientahondo.blogspot.mx/2013/02/matriz-de-indicadores-de-evaluacion-de.html.
- 9. Zamalloa, E., & Díaz Palacios , J. (2005). Guías Metodológicas para la Gestión Ambiental. Lima, Perú:

ALUMINIO Y SILICIO EN LA SOLUCIÓN ASÉPTICA Y LA GERMINACIÓN DE LA SEMILLA BOTÁNICA (FUZZ) DE CAÑA DE AZÚCAR

Héctor Emmanuel Sentíes-Herrera, Libia I. Trejo-Téllez, Fernando C. Gómez-Merino, Carlos Flores-Revilla y Roberto Loyo-Joachin

Colegio de Postgraduados. hector.senties@colpos.mx; tlibia@colpos.mx; fernandg@colpos.mx Centro de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar, A. C. rloyo@cniaa.mx; cflores@cniaa.mx

RESUMEN

Existe un grupo de elementos conocidos como benéficos, que sin ser esenciales pueden ejercer un efecto favorable en el crecimiento y desarrollo de las plantas superiores, actuando en procesos vitales o en el aprovechamiento de nutrimentos. El presente trabajo, tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes concentraciones de los elementos benéficos Al y Si, como complemento a la solución aséptica utilizada en el proceso de hibridación de la caña de azúcar. Se utilizó el cruzamiento HOCP 93-746 x CP 96-1252. Se evaluaron 6 tratamientos más un testigo absoluto, en un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones. Las variables evaluadas en las soluciones fueron: pH y conductividad eléctrica (CE); en semilla se determinó el porcentaje de germinación. El valor de pH de la solución aumentó con la adición de Al y Si en sus tres concentraciones, siendo Al [100 µM] y Si [10 µM] las que presentaron los valores más altos en comparación al testigo. La CE también fue afectada por efecto de los tratamientos, con incrementos significativos con la adición de Si [5 µM] y reducida por acción de Si [10 µM], siendo este último estadísticamente diferente al testigo. En relación al porcentaje de germinación, los tratamientos no presentaron diferencias estadísticas, a excepción del Si [15 µM], que presentó el menor porcentaje. En general, la tendencia con ambos elementos benéficos, fue que a mayor concentración de éstos, menor fue el porcentaje de germinación y en todos los casos el resultado inferior al registrado en el tratamiento testigo.

INTRODUCCIÓN

La obtención de nuevas combinaciones híbridas de caña de azúcar se realiza mediante la combinación de caracteres de interés para el fitomejorador (Silva *et al.*, 2013). Para lo anterior, en los meses de octubre a enero en condiciones ambientales de México, se lleva a cabo año con año este proceso conocido como hibridación (CIDCA, 2017).

Para la hibridación se obtiene tallos de ambos progenitores con flores disponibles, para el armado y establecimiento del cruzamiento que pueden ser de tipo biparental o policruzamiento (Andrade-Landell *et al.*, 2010). Sin embargo, uno de los problemas de mayor importancia en este proceso, es el bajo porcentaje de germinación. Por lo que el presente estudio, se ha enfocado en el uso de un grupo de elementos en el proceso de hibridación, que sin ser esenciales para las plantas, pueden al ser suministrados por diferentes vías, ejercer un efecto favorable en el crecimiento y desarrollo de las plantas, y que son conocidos como elementos benéficos (Pilon-Smits *et al.*, 2009). Dichos elementos, pueden favorecer o mejorar una condición e intervenir en diferentes rutas metabólicas

que activen mecanismos de defensa a estrés biótico y abiótico, y mejorar el aprovechamiento de otros nutrimentos, entre otros beneficios más (Trejo-Téllez *et al.*, 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en la estación de Hibridación de la Caña de Azúcar del Centro de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar, A. C. (CIDCA), ubicado en Tuxtla Chico, Chiapas, a 14°56´ latitud norte y 92°51´longitud oeste, a una altitud de 320 m (INAFED, 2016). El clima es cálido húmedo con temperatura media anual de 26.4 °C y precipitación media anual de 4,259 mm (Serrano-Altamirano *et al.*, 2006; CONAGUA, 2016).

El cruzamiento biparental estuvo conformado por el progenitor femenino HOCP 93-746 y el masculino CP 96-1252. Dicho cruzamiento se realizó de acuerdo a las condiciones de trabajo del CIDCA, para lo cual se utilizaron panículas sincronizadas y sin apertura de flores. Una vez establecido el cruzamiento, éste se mantuvo en la casa de cruzamientos durante un periodo de 12 días. Al término de este tiempo, se eliminó el progenitor masculino y el progenitor femenino se trasladó a la casa de maduración. En cuanto se empezaron a desprender las flores de la panícula, éstas fueron cosechadas y se siguió el proceso de poscosecha para la obtención de la semilla botánica Fuzz.

Los tratamientos evaluados se derivaron de dos elementos benéficos a tres concentraciones como sigue: Al a 50, 100 y 150 μ M y Si a 5, 10 y 15 μ M. Las fuentes fueron Al₂(SO₄)₃ y SiO₂. Como testigo absoluto se utilizó la solución aséptica. La adición de estos elementos se realizó dos veces durante la duración del cruzamiento, siguiendo el criterio de la reposición de ácidos fijos.

Las variables estudiadas fueron el potencial hidrógeno (pH), conductividad eléctrica (CE) y porcentaje de germinación (PG). El pH y la CE de la solución aséptica se midieron en días alternos con un medidor portátil Modelo PC18 marca CONDUCTRONIC, Puebla, México. El porcenteje de gemrinación se calculó en base a un total de 1100 semilla sembradas.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones. Análisis de la varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias (Tukey; *P*< 0.05) se realizó de manera independiente para cada elemento benéfico, con el programa estadístico SAS v. 9.4.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pH promedio de la solución aséptica se mantuvó entre 2.63 (tratamiento testigo) como el valor más bajo y 2.76 (tratamiento Si [10 μ M]) como valor más alto (**Cuadro 1**). Lo anterior indica poca variación; sin embargo, entre estos valores existen diferencias estadísticas significativas. Los tratamientos Si [10 μ M] y Al [100 μ M] presentaron durante los 12 días que duró el cruzamiento, los valores más altos de pH en compración con el tratamiento testigo, que su valor de pH fue de 2.63.

Cuadro 1. Valores de pH durante el periodo de cruzamiento (12 días)

Elemento Benéfico[concentración]	рН	Mínimo	Máximo

Testigo	2.63±0.03b	2.56	2.75
AI [50 μM]	2.70±0.04ab	2.59	2.84
Al [100 μM]	2.75±0.03a	2.70	2.85
Al [150 μM]	2.71±0.05ab	2.55	2.82
Si [5 μM]	2.73±0.05ab	2.58	2.83
Si [10 μM]	2.76±0.01a	2.73	2.80
Si [15 μM]	2.70±0.04ab	2.63	2.85

Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias estadísticas entre concentración por elemento benéfico (Tukey, $P \le 0.05$).

La CE promedio de la solución aséptica osciló entre 1.19 dS m $^{-1}$ (tratamiento Si [10 μ M]) como valor más bajo y 1.75 m $^{-1}$ (tratamiento Si [5 μ M] como valor más alto (**Cuadro 2**); siendo estos valores extremos del intervalo, estadísticamente diferentes. Solo el tratamiento Si [10 μ M] fue estadísticamente inferior al tratamiento testigo.

Cuadro 2. Valores de conductividad eléctrica (dS m⁻¹) durante el periodo de cruzamiento (12 días)

Elemento Benéfico [concentración]	CE	Mínimo	Máximo
Testigo	1.63±0.03ab	1.60	1.70
Al [50 μM]	1.30±0.15bc	1.00	1.70
Al [100 μM)	1.26±0.07bc	1.10	1.40
Al [150 μM]	1.28±0.14bc	1.00	1.60
Si [5 μM]	1.75±0.12a	1.50	2.00
Si [10 μM]	1.19±0.09c	1.00	1.40
Si [15 μM]	1.34±0.09abc	1.10	1.60

Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias estadísticas entre concentración por elemento benéfico (Tukey, $P \le 0.05$).

En relación al porcentaje de germinación (**Figura 1**), el tratamiento de Si [15 μ M], fue el redujo significativamente esta variable, disminuyendo alrededor de un 50% la germinación. El resto de los tratamientos fueron estadísticamente iguales al testigo. Sin embargo, la tendencia que se observó, es que, a mayor concentración del elemento benéfico, menor porcentaje de germinación.

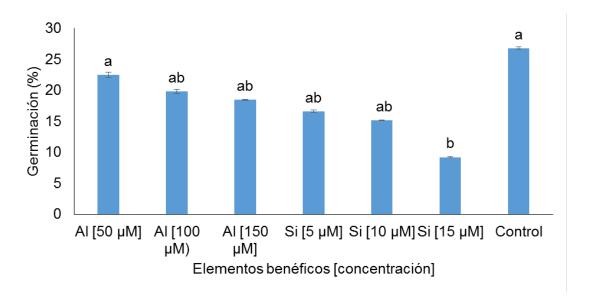


Figura 1. Porcentaje de germinación de la semilla botánica Fuzz obtenido por los tratamientos de elementos benéficos. Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias estadísticas entre concentración por elemento benéfico (Tukey, $P \le 0.05$).

En la presente investigación se observaron cambios importantes en el pH y la CE de la solución aséptica por efecto de Al y Si. Para el pH, en todos los casos se mostró un aumento de éste, lo que implica una disminución de la acidez de la solución por efecto de los tratamientos. Por el contrario, la CE disminuyó en todos los tratamientos, con excepción de Si [5 μΜ] que fue la más alta, pero sin significancia estadística con el testigo.

El efecto en la germinación puede deberse más al cambio de pH que a los cambios en la CE, dado que los tratamientos de Si [5 y 10 μ M] presentaron un pH de 2.73 y 2.76 y una CE de 1.75 y 1.19 dS m⁻¹. En este sentido, el pH fue menor en la concentración de Si [15 μ M], con un valor de 2.70 y su CE se mantuvo en un valor intermedio a las otras concentraciones de Si con 1.34 dS m⁻¹.

Sin embargo, la respuesta a los diferentes elementos benéficos y concentraciones, puede también diferir por genotipo de caña de azúcar. Sentíes-Herrera *et al.* (2016a), evaluaron la adición de Al y Si en las mismas concentraciones en la solución aséptica, pero con progenitores distintos CC 93-3826 (femenino) y CP 80-1743 (masculino), y se observó que el pH tuvo incrementos superiores al testigo con concentraciones de Si de 10 y 15 μM. Los tratamientos Si 5 μM y Al 50, 100 y 150 μM, disminuyeron el pH, haciendo más ácida la solución. En relación a la CE, las tres concentraciones de Si y Al, mostraron incrementos significativos en comparación con el testigo. Sin embargo, en germinación los efectos fueron muy distintos, ya que la concentración de Si [5 μM], mostró el porcentaje más alto, y la concentración de Al [150 μM], disminuyó significativamente la germinación (Sentíes-Herrera *et al.*, 2016b).

Los elementos benéficos como Al y Si pueden tener efectos horméticos, en los que a bajas dosis puede haber efectos estimulantes, y a altas dosis efectos inhibitorios (Poschenrieder *et al.*, 2013). Sin embargo, el presente estudio, los potenciales efectos benéficos no fueron tan evidentes en la germinación de Fuzz, dado que las medias fueron muy parecidas entre tratamientos, con excepción de la dosis más alta de Si que redujo significativamente esta variable.

CONCLUSIONES

El pH de la solución aséptica aumenta por efecto de las tres concentraciones ensayadas de Al y Si.

La CE de la solución aséptica disminuye por efectos de los tratamientos, a excepción de la concentración 10 μ M de Si, que la aumentó significativamente en comparación con el valor en la solución testigo.

A dosis bajas de Al y Si, el porcentaje de germinación se mantiene estadísticamente semejante al testigo, pero disminuye conforme aumenta la concentración de estos elementos en la solución aséptica.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. C. E. Silva, F. Martínez, C. Madrid, T. León, "La floración en caña de azúcar, su manejo para mejoramiento genético y en la producción comercial", III Congreso AETA, Sep.18-20 del 2013. Guayaquil-Ecuador, pp.1-9.
- 2. C. Poschenrieder, C. Cabot, S. Martos, B. Gallego, J. Barceló, "Do toxic ions induce hormesis in plants?", Plant Science, Vol. 212, 2013, pp. 15-25.
- 3. CIDCA, "Hibridación," http://www.cniaa.mx/Cidca.aspx (Consultado: 25 de abril de 2017).
- 4. CONAGUA, "Precipitación pluvial media histórica y total anual en el Estado de Chiapas", Disponible en: http://www.conagua.gob.mx/OCFS07/Contenido/Documentos/mediasgrfs.htm. 2016. (Consultado: 25 de abril de 2017).
- E. A. Pilon-Smits, C. F. Quinn, W. Tapken, M. Malagoli, M. Schiavon, "Physiological functions of beneficial elements". Current Opinion in Plant Biology, Vol. 12, 2009. pp. 267-274.
- 6. H. E. Sentíes-Herrera, L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, C. Flores-Revilla, R. Loyo-Joachin, "Elementos benéficos afectan pH y CE de la solución aséptica y la fisiología de la planta de caña de azúcar en el proceso de hibridación", XIII Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia, 2016a.
- 7. H. E. Sentíes-Herrera, L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, C. Flores-Revilla, R. Loyo-Joachin, "Elementos benéficos afectan la fisiología de germinación de la semilla botánica (Fuzz) de caña de azúcar", XIII Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia, 2016b.
- INAFED. "Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México. Tuxtla Chico".
 Disponible
 http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM07chiapas/municipios/07102a.html. 2016.
 (Consultado: 25 de abril de 2017).
- L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, "Respuestas fisiológicas y bioquímicas de plantas de tabaco a concentraciones de aluminio en invernadero", Terra Latinoamericana, Vol. 25, 3, 2007, pp. 251-259.
- M. G. Andrade-Landell, J. A. Bressiani, "Melhoramento genético e manejo varietal". (Canade-açúcar. L. L. Dinardo-Miranda, A. C. M. Vasconcelos, M. G. A. Landell (eds), Instituo Agronomico Campinas, 2010), pp. 101-176.
- 11. V. Serrano-Altamirano, G. Díaz-Padilla, A. López-Luna, M. A. Cano-García, A. D. Báez-González, E.R. Garrido-González, "Estadísticas climatológicas básicas del Estado de Chiapas (período 1961-2003)", (Centro de Investigación Regional Pacífico Sur, Campo Experimental Centro Chiapas. Libro Técnico 1, INIFAP, 2006), p. 186.

LIXIVIADOS DE VERMICOMPOSTA EN EL CRECIMIENTO Y FLORACIÓN DE Laelia anceps subesp. anceps (ORCHIDACEAE)

María de la Luz Buendía-Valverde, Olga Tejeda-Sartorius, Libia Iris Trejo-Téllez, Juan Vidal Bello, Yasbet Ríos Barreto.

Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, *olgats@colpos.mx; tlibia@colpos.mx; luzmaria_buendia@hotmail.com
Universidad Autónoma Chapingo, jvidalbello@yahoo.com.mx, yasisar.26@gmail.com

RESUMEN

Se evaluaron diferentes concentraciones de lixiviados de vermicomposta en el crecimiento de brotes vegetativos y floración de *Laelia anceps* subesp. *anceps*. Los tratamientos fueron: T1 (testigo, sin lixiviado), T2 (5% de lixiviado), T3 (10%), T4 (15%), T5 (20%) y T6 (25%). El largo de hoja y el diámetro de pseudobulbo incrementan con la concentración de 15% de lixiviado. El mayor porcentaje de inducción floral se presentó con las concentraciones 10 y 20%, pero el tamaño de la flor disminuye con 10% de lixiviado. El menor tiempo a antesis se presentó con 5% y la mayor longitud de inflorescencia en el testigo. Aunque no se observó un efecto definitivo con alguna concentración particular de lixiviado de vermicomposta, los resultados muestran características de desarrollo interesantes bajo su efecto, tanto en el crecimiento vegetativo como en la inducción y desarrollo floral. Se concluye que los lixiviados de vermicomposta estimulan el crecimiento de la orquídea en estudio, así como algunas variables de la floración, pero se requieren mayores observaciones y análisis de concentraciones.

INTRODUCCIÓN

La producción de orquídeas es un reto difícil en países como México, donde hay escasez en la generación de materiales mejorados, y donde la extracción ilegal de plantas del medio silvestre, es la actividad más notoria. Es urgente, por tanto, generar protocolos de propagación, producción y fomentar la cultura por los materiales silvestres para reducir el impacto negativo en su hábitat natural.

La industria de la floricultura genera muchas ganancias a países productores, y está sujeta a problemas muy semejantes a cualquier otra actividad agrícola, sin embargo, no recibe los mismos subsidios gubernamentales ni se le destina una cantidad proporcional a la investigación (Daughtrey y Benson, 2005). La horticultura ornamental, al igual que cualquier actividad agrícola, requiere el uso de fertilizantes y pesticidas más amigables con el ambiente. Al mejorar las condiciones de crecimiento y, por tanto, la salud de las plantas, se reduce el riesgo de enfermedades y plagas, de tal manera que la disminución del uso de pesticidas y fertilizantes convencionales, promoverá mayor y mejor destino de los recursos a la investigación, así como programas educacionales certeros para una industria de la horticultura ambientalmente segura y amigable (Latimer *et al.*, 2006; Daughtrey y Benson, 2005).

Un proceso de va de la mano con propuestas y alternativas para la salud ambiental es el vermicompostaje de los desechos orgánicos, cuya producción es alarmante a nivel mundial y va en aumento, lo que genera serios problemas de contaminación. Las vermicompostas son productos derivados de la acelerada degradación biológica de residuos o desechos orgánicos por interacciones entre lombrices de tierra y microrganismos (Kiyasudeen *et al.*, 2016). El exceso de agua liberado de un proceso de vermicompostaje es comúnmente conocido como lixiviado de vermicomposta (Kiyasudeen *et al.*, 2016). Cuando se colectan los lixiviados de vermicomposta

pueden ser usados como fertilizantes líquidos, ya que contienen alta concentración de nutrientes para las plantas y presencia de ácidos húmicos y fúlvicos (Gutiérrez-Miceli *et al.*, 2008; Zandonadi y Busato, 2012). Algunos autores han sugerido usar los lixiviados diluidos para disminuir daño a las plantas (Gutiérrez-Miceli *et al.*, 2008).

Los lixiviados de vermicomposta se han investigado en diferentes cultivos, tales como sorgo (Gutiérrez-Miceli *et al.*, 2008), maíz (García-Gómez *et al.*, 2008); y en hortalizas como tomate (Oliva-Llaven *et al.*, 2010); rábano (Gutiérrez-Miceli *et al.*, 2011). En el caso de las ornamentales, es más común el uso de vermicompostas como sustrato, como se ha reportado para nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd) (Hidalgo y Harkess, 2002a), crisantemo (Hidalgo y Harkess, 2002b). Y aunque existen algunos reportes del uso de lixiviados en algunas ornamentales, como en *Solidago x hybrida* (Ramírez Gerardo *et al.*, 2015), en general, los reportes son limitados en la floricultura, pero en orquídeas, es prácticamente inexistente.

El objetivo de la presente investigación fue evaluar diferentes concentraciones de lixiviados de vermicomposta en el crecimiento e inducción floral de la orquídea *Laelia anceps* subesp. *anceps*.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal. Se seleccionaron plantas de Laelia anceps subesp. anceps de 4-5 pseudobulbos en etapa de descanso, previo a la emisión de brotes vegetativos. Las plantas se colocaron en macetas con corteza de pino, turba, perlita (60:20:20, v:v:v). Se colocaron en ambiente invernadero con una temperatura máxima de 31 °C y mínima de 10 °C.

Vermicomposta. Se obtuvo una vermicomposta a partir de residuos vegetales de jardín y estiércol de bovino, a la cual se le aplicó 1 kg de lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) por metro cuadrado de material en compostaje. El proceso de vermicompostaje fue de cuatro meses, aproximadamente.

Lixiviado de vermicomposta. En contenedores de 60 x 40 x 40 cm se aplicó vermicomposta, obtenida a partir del proceso arriba descrito, y se inoculó la lombriz roja californiana a razón de 200 lombrices por contenedor. Las lombrices fueron alimentadas con una mezcla de harina de maíz y harina de alfalfa (40 – 50 g de cada harina), 400 g de residuos de diversas frutas y 50 g de melaza diluida. Los contenedores se mantuvieron con 80% de humedad. Los lixiviados de vermicomposta se empezaron a colectar después de 15 días aproximadamente, cuando no tuvieron malos olores y su coloración fue café intensa. Los contenedores se instalaron en un invernadero de 10 x 4 m para mayor control de la reproducción de lombriz y de la producción de lixiviados.

Tratamientos y diseño experimental. Los tratamientos consistieron de diferentes porcentajes de concentración del lixiviado: T1 (testigo, solo riego con agua), T2 (5% de lixiviado), T3 (10%), T4 (15%), T5 (20%), T6 (25%). Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar, utilizando 14 repeticiones por tratamiento.

Variables de crecimiento. Hoja: largo y ancho; Pseudobulbo: lago y diámetro; Floración: tiempo a antesis, vida de la flor, tamaño de flor y longitud de inflorescencia.

Análisis estadístico. Con los resultados obtenidos se realizaron análisis de varianza y prueba de comparación de medias con la prueba de LSD utilizando los procedimientos PROC ANOVA y PROC GLM. En las pruebas estadísticas aplicadas se utilizó un nivel de significancia de α =0.05. En estos análisis se usó el software SAS (SAS, 2011).

RESULTADOS

Variables vegetativas

El tratamiento con 15% de concentrado de lixiviado de vermicomposta aumentó el largo de la hoja de *Laelia anceps* subesp. *anceps*, en comparación con el resto de las concentraciones evaluadas. Mientras que el tratamiento con 10% de lixiviado promovió el menor crecimiento (**Figura 1A**). El ancho de la hoja no mostró diferencias estadísticas por efecto de las concentraciones de lixiviado (**Figura 1B**).

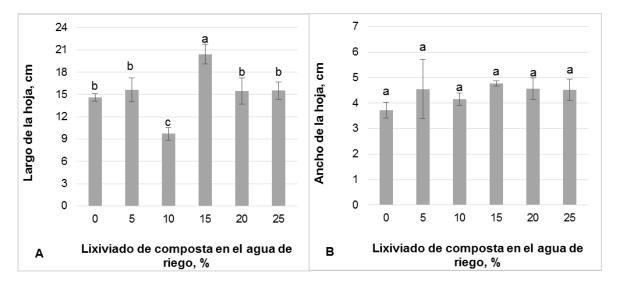


Figura 1. Variables de crecimiento vegetativo. Hoja: **A**) largo, y **B**) ancho, en plantas de *Laelia anceps* subesp. *anceps*, bajo diferentes concentraciones de lixiviados de vermicomposta. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indica diferencias estadísticas (LSD al 5%).

El largo del pseudobulbo no mostró diferencias estadísticas entre tratamientos (**Figura 2A**); por el contrario, el mayor diámetro correspondió a la concentración de 15% de lixiviado, y el menor lo mostraron las plantas del testigo (sin lixiviados) (**Figura 2B**).

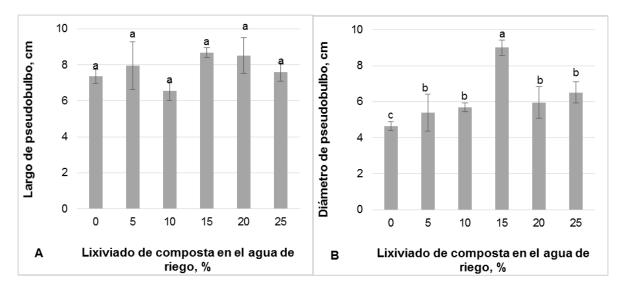


Figura 2. Variables de crecimiento vegetativo. Pseudobulbo: **A**) largo, y **B**) diámetro, en plantas de *Laelia anceps* subesp. *anceps*, bajo diferentes concentraciones de lixiviados de vermicomposta. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indica diferencias estadísticas (LSD al 5%).

Variables de floración

Los resultados de floración que se presentan a continuación consideran solo las unidades experimentales que presentaron inducción floral. En el **Cuadro 1** se presenta el porcentaje de unidades experimentales que presentaron dicha inducción. Así, las concentraciones 10 y 20% de lixiviado (T3 y T5, respectivamente) presentaron el mayor porcentaje de inducciones florales. Además, se observó que no todas las plantas que emitieron brotes se indujeron a floración (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Porcentaje de unidades experimentales con inducción floral respecto al total de repeticiones.

Tratamiento	Concentrado de lixiviado de vermicomposta (%)	Unidades experimentales con emisiones de brotes vegetativos (%)	Unidades experimentales con inducción floral (%)
1	0	28.57	21.43
2	5	57.14	21.43
3	10	35.71	35.71
4	15	28.57	28.57
5	20	35.71	35.70
6	25	57.14	21.43

El menor tiempo a antesis se presentó en plantas bajo la concentración de 5% de lixiviado (117 días desde aparición del tallo floral hasta la antesis). Se observó que el tiempo a antesis fue en aumento conforme incrementó la concentración de lixiviados y en el testigo. Sin embargo, si bien entre éstos ya no hubo diferencias estadísticas, un contraste de 18 días entre la antesis de plantas en 10% y 25% de lixiviados, en términos de la producción de orquídeas, es muy importante (**Figura 3A**). Las diferentes concentraciones de lixiviado no afectaron la vida de la flor (**Figura 3B**).

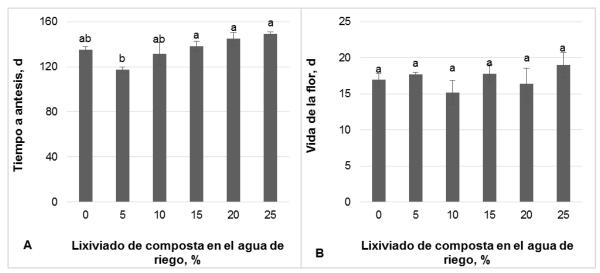


Figura 3. Variables de floración: **A)** Tiempo a antesis de la primera flor (días); y **B)** Vida de la flor (días) en plantas de *Laelia anceps* subesp. *anceps*, bajo diferentes concentraciones de lixiviados de vermicomposta. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indica diferencias estadísticas (LSD al 5%).

El tamaño de la flor en lo referente a la longitud entre pétalos (P*P) fue mayor por acción de las concentraciones de 5 y 15% y menor con la de 10%, tanto para esta variable (**Figura 4A**) como para la del crecimiento entre sépalos (S*S) (**Figura 4B**).

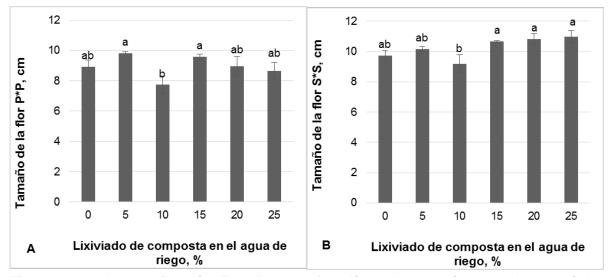


Figura 4. Variables de floración. Tamaño de la flor: **A)** longitud de pétalo izquierdo a pétalo derecho (P*P), (cm); y **B)** longitud de sépalo izquierdo a sépalo derecho (S*S), (cm), en plantas de *Laelia anceps* subesp. *anceps*, bajo diferentes concentraciones de lixiviados de vermicomposta. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indica diferencias estadísticas (LSD al 5%). Por su parte, la longitud de la inflorescencia fue mayor en el testigo (53 cm). Para efectos de la producción de orquídeas en maceta, esta característica no es recomendable, ya que un tallo floral muy largo, dificulta el manejo en maceta. Con las diferentes concentraciones del lixiviado, es notoria la disminución de la longitud del tallo floral, donde las concentraciones de 10 y 25% promovieron la menor longitud de todos los tratamientos (34 y 33 cm), (**Figura 5**).

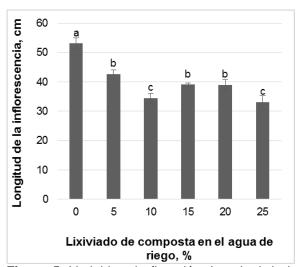


Figura 5. Variables de floración. Longitud de la inflorescencia (cm) en plantas de *Laelia anceps* subesp. *anceps*, bajo diferentes concentraciones de lixiviados de vermicomposta. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indica diferencias estadísticas (LSD al 5%).

CONCLUSIONES

El largo de hoja y diámetro de pseudobulbo incrementan con la concentración de 15% de lixiviado. El mayor porcentaje de inducción floral se presentó con las concentraciones 10 y 20%, pero el tamaño de la flor disminuye con 10% de lixiviado. El menor tiempo a antesis se presentó con 5% y la mayor longitud de inflorescencia, con el testigo. Aunque no se observó un efecto definitivo con alguna concentración particular del lixiviado de vermicomposta, los resultados muestran características de desarrollo interesante bajo su efecto, tanto en el crecimiento vegetativo como la inducción y desarrollo floral.

Particularmente para producción de orquídeas en maceta, la disminución de la longitud del tallo floral por acción del lixiviado contribuye a la facilidad del manejo en maceta. Asimismo, el menor tiempo a antesis dado por alguna concentración de lixiviado, es de interés para guiar la investigación en la reducción del ciclo reproductivo, que en orquídeas es largo. Lo anterior muestra distintivos interesantes desde un punto de vista hortícola, y plantea la posibilidad de seguir explorando el efecto de los lixiviados de vermicomposta en la producción de *Laelia anceps* subesp. *anceps*, como alternativa a la reducción de fertilizantes sintéticos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. D.B. Zandonadi, J. Busato, "Vermicompost humic substances: Technology for converting pollution into plant growth regulators", Int. J. Environ. Sci. Eng. Res., Vol. 3, 2, 2012, pp. 73-84.
- 2. F.A. Gutiérrez-Miceli, M.A. Oliva-Llaven, P. Mendoza-Nazar, B. Ruíz-Sesma, J.D. Álvarez-Solís, L. Dendooven, "Optimization of vermicompost and worm-bed leachate for the organic cultivation of radish", J. Plant. Nutr., Vol. 34, 2011, pp. 1642-1653.
- 3. F.A. Gutiérrez-Miceli, R.C. García-Gómez, R. Rincón-Rosales, M. Abud-Achila, M.A. Oliva-Llaven, M.J. Guillén-Cruz, L. Dendooven, "Formulation of a liquid fertilizer for sorghum (Sorghum bicolor (L.))", Biores. Technol., Vol. 99, 2008, pp. 6174-6180.
- 4. J.G. Latimer, R.D. Oetting, P.A. Thomas, D.L. Olson, J.R. Allison, S.K. Braman, J.M. Ruter, R.B. Beverly, W. Florkowski, C.D. Robacker, J.T. Walker, M.P. Garber, O.M. Lindstrom, W.G. Hudson, "Reducing the pollution potential of pesticides and fertilizers in the environmental horticultural industry: I. greenhouse, nursery and sod production", Hortechnol., Vol. 6, 2, 1996, pp. 115-124.

- M.A. Oliva-Llaven, L. Rodríguez-Hernández, P. Mendoza-Nazar, B. Ruíz-Sesma, J.D. Álvarez-Solís, L. Dendooven, "Optimization of worm-bed leachate for culturing of tomato (*Lycopersicon esculentum Mill*) inoculated with *Glomus fasciculatum* and *Pseudomonas fluorescens*", Electronic J. Biotechnol., Vol. 13, 2, 2010, doi:10.2225/vol13-issue2-fulltext-2
- 6. M.G. Ramírez Gerardo, M.A. Chávez-García, J. Mejía-Carranza, "Evaluación de un vermicompost y lixiviados en *Solidago x hybrida*, y mineralizaciónde C orgánico en incubaciones aerobias", Phyton, Vol. 84, 2015, pp. 397-406.
- 7. M.L. Daughtrey, D.M. Benson, "Principles of plant health management for ornamental plants", Annu. Rev. Phytopathol., Vol. 43, 2005, pp. 41-69.
- 8. R. García-Gómez, L. Dendooven, F.A. Gutiérrez-Miceli, "Vermicomposting leachate (worm tea) as liquid fertilizer for maize (*Zea mays* L.) forage production", Asian J. Plant Sci., Vol. 7, 4, 2008, pp. 360-367.
- 9. P.R. Hidalgo, R.L. Harkess, "Earthworm castings as a substrate for poinsettia production", HortSci., Vol. 37, 2002a, pp. 304-308.
- 10. P.R. Hidalgo, R.L. Harkess, "Earthworm castings as a substrate amendment for chrysanthemum production", HortSci., Vol. 37, 7, 2002b, pp. 1035-1039.
- 11. S.K. Kiyasudeen, M.H. Ibrahim, S. Quaik, S. Ahmed-Ismail, "Prospects of organic waste management and the significance of earthworms", (Springer, Switzerland), 2016.
- 12. SAS Institute Inc., SAS/STAT Users Guide. Version 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA), 2011.

ESTUDIO DE LA DESNATURALIZACIÓN DE ALBÚMINA MEDIANTE TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS.

Maribel flores Cahuantzi, Valentín López Gayou, Orlando Zaca Moran, José Gerardo muñoz Hernandez, Abdu Orduña Díaz, Raúl Jacobo delgado Macuil

CIBA-IPN, Tlaxcala maribelfcahuantzi@gmail.com

RESUMEN

La desnaturalización de las proteínas ha sido estudiada con diferentes técnicas con el fin de aportar más datos respecto a los cambios conformacionales de la proteína una vez que es desnaturalizada. Una de las proteínas con actividad biológica importante es la albumina, una proteína de reserva que representa del 15.1 a 11.8 % de las proteínas de *J. curcas*. En el presente trabajo se realiza un estudio mediante espectroscopia infrarroja de la desnaturalización de la albumina mediante un análisis de los cambios estructural de la proteína bajo diferentes concentraciones de dodecilsulfato de sodio SDS y temperatura. Se encontró que la temperatura entre 50°-70°C no desnaturaliza la albumina, solo hay modificaciones conformacionales de la proteína, a temperatura ambiente a partir de concentraciones bajas de surfactante (1%) hay una formación de enlaces entre la proteína y el detergente que perduran aun con el incremento de temperatura, pero solo a partir de una concentración de SDS al 5% empieza a haber un desplegamiento de la proteína que nos indica la desnaturalización de esta.

INTRODUCCIÓN

Las proteínas pueden ser cadenas polipeptidicas muy largas de 100 a varios miles de residuos aminoacidicos unidos por enlaces peptídicos formados por el grupo amino terminal (N- terminal) unido al grupo carboxílico terminal (C-terminal) de otro aminoácido. Se definen cuatro niveles estructurales de proteínas: primaria se refiere a los enlaces covalentes formados por la secuencia de aminoácidos (enlaces peptídicos y puentes disulfuro). La secundaria se referente a las disposiciones estables que dan lugar a patrones repetitivos. La terciaria describe los plegamientos tridimensionales y la cuaternaria cuando una proteína posee dos o más subunidades polipeptidicas¹, los diferentes niveles estructurales ayudan establecer las conformaciones (disposición espacial de los átomos de una proteína, como el resultado de la rotación alrededor de los enlace sencillos sin romper los enlaces covalentes) más estables y modificaciones que tienen las proteínas cuando se unen a otras moléculas o catalizan reacciones. . En base a su estructura las proteínas cumplen con funciones fisiológicas como por ejemplo de estructura (glucoproteinas de membrana, colágeno), de transporte (hemoglobina, citocromos), defensa (inmunoglobulinas), homeostática (regulan pH), enzimática y de almacenamiento (como la

La pérdida de la estructura tridimensional suficiente para originar la pérdida de la función se denomina desnaturalización. La desnaturalización de proteínas implica el rompimiento de enlaces no covalentes excepto los puentes disulfuro, por cambios en el pH, solventes orgánicos, sales, temperatura o detergentes 2 . La estructura de las proteínas ha sido investigada usando técnicas de difracción de rayos X donde se necesitan cristales altamente ordenados que pueden ser de proteína de gran peso molecular, con ayuda de un ordenador se obtiene un mapa tridimensional de densidad electrónica pero depende el grado de orden estructural la proteína, Esta técnica aporta poca información acerca de los cambios moleculares interiores de las proteínas, por lo que solo brinda un comparativo de la modificación estructural pero no de las interacciones que tuvo en el medio. La RMN proporciona la localización precisa de las terminaciones de las cadenas laterales de aminoácidos en el exterior de la proteína relacionados con el desplegamiento o plegamiento de las moléculas que conforman la proteína. Dicroísmo circular mediante la cual se pueden observar espectros de las conformaciones α y β para poder determinar si la proteína está correctamente plegada en su estructura secundaria y seguir las transiciones entre el plegado y desplegado de la

proteína ³. En el caso de la espectroscopia Infrarroja permite determinar la estructura secundaria de la proteína mediante la absorción de los grupos amino y los grupos de las cadenas laterales proporcionando información del mecanismo de las reacciones proteicas obteniendo el destino de los varios grupos individuales implicados en la reacción y deducir sus cambios ambientales y estructurales⁴.

Como ya se mencionó anteriormente la albúmina es un una proteína de reserva sin embargo, la importancia particular de esta proteína es que es abundante en la naturaleza se une fácilmente a iones y otros compuestos, representa aproximadamente la mitad de proteínas séricas (42g/L), se encuentra en la leche, es el principal componente de la clara del huevo y en las semillas de las planta es fuente de carbono y compuestos nitrogenados para la germinación. Su peso molecular de 66,000 Da, está constituida por 609 aminoácidos, es rica en azufre, soluble en agua y en disoluciones de sales neutras⁵. Debido a la distribución y las múltiples funciones de la albúmina en este trabajo se tienen como objetivo el estudio de como la temperatura y SDS actúan sobre la albúmina obtenida del fraccionamiento por solubilidad de la harina de la semilla de Jatropha curcas.

TEORÍA

La albumina sérica y ovoalbúmina son ampliamente estudiadas, sin embargo, de la albúmina proveniente de la semilla de J.curcas existen pocos estudios y ninguno de su caracterización de la desnaturalizacion por métodos espectroscópicos de ahí el interés de esta proteína. Las albúminas se encuentran en las dicotiledóneas y están compuestos por polipéptidos de bajo peso molecular (alrededor de 12 kDa). La albúmina en la semilla de J. curcas cumple con funciones enzimáticas, de defensa y de reserva por lo que es depositada en cuerpos proteicos durante el desarrollo del endospermo. Representan de 15.1 -11.8 % de la proteínas presentes en la semilla de Jatropha curcas. Son buena fuente de lisina y aminoácidos azufrados, estos últimos da lugar a agregados de alto peso molecular los cuales cuando se reducen producen polipéptidos de bajo peso molecular. Esta proteína contiene en mayor cantidad aminacidos ácidos, seguido de arginina (básico) y de residuos aromáticos (Leu, Ille, Ala, Gly, Val, Pro)8. La albúmina sérica se desnaturaliza a 50°C, sin embargo, cuando se le añade SDS tiene un efecto protector sobre la proteína a esa temperatura pero por arriba de 85° C no tiene ese efecto, la mayoría de las proteínas son susceptibles a temperatura la cual afecta principalmente a los puentes de hidrogeno⁹. En presencia de surfactantes como el SDS (NaC₁₂H₂₅SO₄) se forma un complejo proteína- SDS con cargada negativamente Se ha propuesto que el SDS forma una vaina a lo largo de la longitud de la cadena principal de la proteína, aumenta la propensión de los residuos catiónicos para formar α-hélices. Forma puentes de hidrogeno entre los átomos de oxígeno de la moléculas de SDS y los átomos de nitrógeno del polipéptido formando una micela cilíndrica flexible, alrededor de los cuales los segmentos hidrófilos del polipéptido se asocian. 10 El SDS es capaz de romper los puentes de hidrógeno entre acido aspártico, glutamina, treonina, serina y cisteína, además de formar interacciones hidrofobias de tirosina, fenilalanina, metionina, lisina, isoleucina, valina, alanina v Glicina, 11 Por esta razón es importante estudiar el efecto de la temperatura y el surfactante sobre la albúmina vegetal.

La espectroscopia infrarroja como método para determinar estructura de proteínas, se basa en el hecho de que las moléculas tienen frecuencias vibracionales determinados por la masa de los átomos y por el acoplamiento vibracional asociado con cambios en el dipolo. Con la espectroscopia infrarroja ha permitido asociar las diferentes frecuencias de vibración con el plegamiento estructural secundario mediante un patrón diferencial en los enlaces de hidrogeno y las orientaciones geométricas de los enlaces amida en las hélices α , las hojas β , giros β . Obtener nueve bandas de absorción por la repetición de polipéptidos (aminas A.B, I-VII) 12 , observar la termoestabilidad y desnaturalización de toxinas 13 , observar la desnaturalización de proteínas en solución acuosa 14 , incluso revelar cambios e interacciones estructurales de proteínas en granos senescentes 15

Entre la ventajas que proporciona es que se necesita una pequeña cantidad de muestra (~1 mg), tiempo corto para registro del espectro, mínima preparación de la muestra, capacidad para medición de muestras líquidas, cristalinas o amorfas. Esta situación es debido a la sensibilidad para establecer la composición química y la arquitectura de moléculas, haciendo a la espectroscopia infrarroja una valiosa herramienta para la investigación estructural de proteínas

cuando se refiere al plegado y desdoblamiento ya que el estado de protonación de la mayoría de las cadenas laterales se refleja en el espectro^{17,18}. Uno de los obstáculos de este método es la dificultad en la interpretación del espectro de muestras con multicomponentes y la determinación de la correspondencia entre los cambios en las bandas y alteraciones en las propiedades bioquímicas de los constituyentes.¹⁹

METODOLOGÍA

La albúmina utilizada para este estudio se obtuvo de la harina de las semillas de *Jatropha curcas* la cual es un desecho agroindustrial obtenido de la extracción de aceite para biodisel. La albumina fue obtenida mediante fraccionamiento proteico en base a solubilidad. Una vez obtenida la fracción esta fue liofilizada para ser almacenada para su posterior uso. Las muestras fueron preparadas en agua desionizada a una concentración de 1mg/ml. El dodecilsulfato de sodio (SDS) fue adquirido a Sigma-aldrich este fue preparado a una concentración del 10%. Para la preparación de las muestras de consideraron dos variables, la primera fue la concentración de SDS (1%-25%) respecto a la albumina en un volumen total de 1 ml. La segunda variable fue la temperatura la cual se varia de temperatura ambiente a 70°C con agitación de 3000 r.p.m. La caracterización espectroscópica fue realizada utilizando un espectrofotómetro Vertex 70 marca Bruker trabajando en el rango espectral de 650 a 4000 cm⁻¹ con una resolución de 4 cm⁻¹. Las muestras fueron medidas en modo ATR (reflectancia total atenuada).

RESULTADOS

La Figura 1 correspondiente al espectro de la albúmina sérica, donde se observan los picos característicos de las aminas I y II (1500 -1700 cm ⁻¹), mismos que se han reportado en trabajos anteriores ^{17,19}. De igual manera en la figuro 2 se presenta el espectro obtenido de la albúmina de J. curcas (negro) donde se observa los picos de las aminas I (1654 cm ⁻¹) y II (1546 cm ⁻¹), así como el espectro del SDS (rojo) con los grupos sulfato y los enlaces C-H (1558 cm ⁻¹) de la cadena hidrófoba y el enlace C-O (1654 cm ⁻¹) del C unidos al O del grupo SO₄ ⁻². La estructura se muestra en la figura 3.

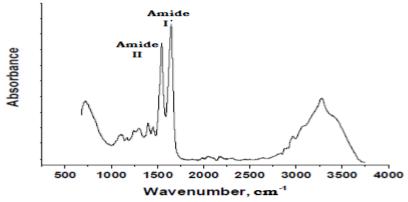


Figura 1: Espectro de absorción de la albúmina sérica (K V Abrosimova et., al.)

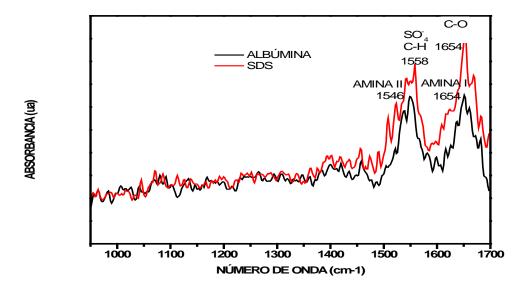


Figura 2: Espectros de albúmina (1mg/ml) y SDS (10%).



Figura 3: Estructura del dodecil sulfato de sodio (SDS) www.google.com

En la figura 4 se observa que a 30 min variando la temperatura, hay solo un cambio conformacional de la estructura, ya que los picos de las aminas I (1654 cm ⁻¹) y II (1546 cm ⁻¹) se siguen conservando y solo hay un leve desplazamiento del pico correspondiente a la amina II (1555 cm ⁻¹).

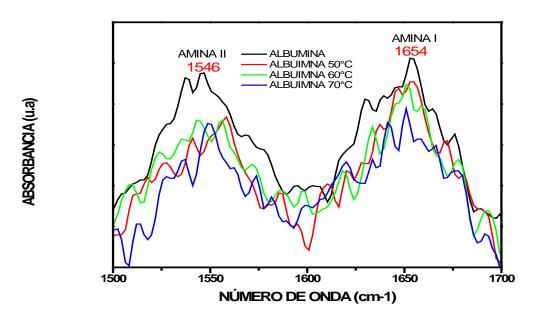


Figura 4: Espectro de la albúmina a temperatura ambiente, 50°C ,60°C y 70°C durante 30 minutos. En la Figura 5 a temperatura ambiente se aprecia las bandas características de las aminas pero también, la presencia de dos picos en las regiones 977 y 1060 cm⁻¹ cuando se añade el surfactante.

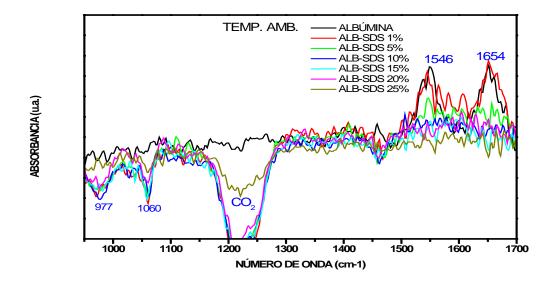


Figura 5: Espectro de albumina y surfactante (1%-25%) temperatura ambiente.

Se observa a partir de 1% de SDS a temperatura ambiente aparecen dos picos en la región de 977 y 1060 cm⁻¹ que no aparecen en el espectro de la albúmina ni SDS. El pico en 977cm⁻¹ podría corresponder a los enlaces C-O y C-N debido a la unión de la cadena hidrofobica del surfactante a las cadenas laterales de los aminoácidos. El segundo pico (1060 cm⁻¹) corresponde a la región donde aparece los iones sulfato propios del SDS que proporcionan la carga a la proteína. La intensidad de ambos picos va aumentando conforme se aumenta la concentración del surfactante y la temperatura; ya que se rompen puentes de hidrogeno o enlaces hidrofobicos¹² (Fig. 6).

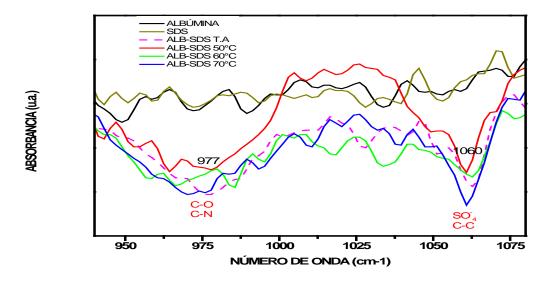


Figura 6: Espectro de los picos formados por enlaces entre la albumina y el SDS. En la Figura 7 se observa que a temperatura ambiente y a partir del 5% de SDS hay una desnaturalización de la proteína relacionado con la disminución de la intensidad de los picos de ambas aminas.

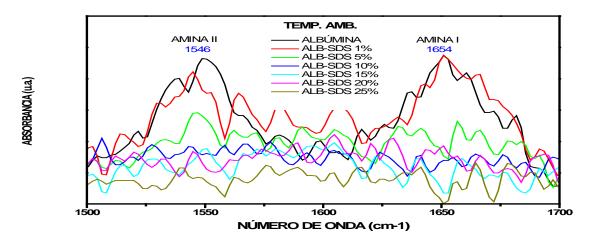


Figura 7: Espectro de albúmina con diferentes concentraciones de SDS

Cuando se combinan las variables y se hace el análisis de la intensidad de los picos se observa que la albúmina sufre un cambio conformacional a una concentración de SDS (1%) y a partir del 5% empieza el despliegue de la proteína en todas las temperaturas. Figuras 8 y 9

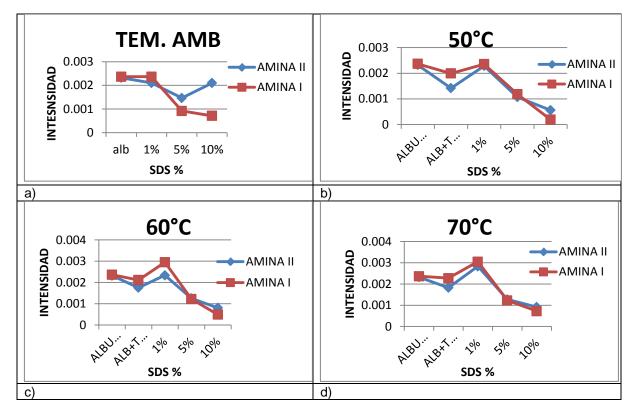


Figura 8. Graficas de intensidad de los picos de las aminas I y II a diferentes concentraciones de SDS y temperaturas.

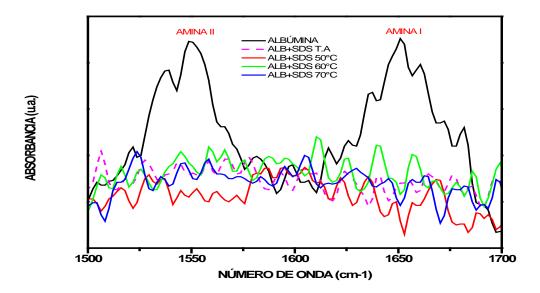


Fig.9. Espectro de albúmina con 5% de SDS a diferentes temperaturas por 30 minutos.

CONCLUSIONES

Con el presente estudio se puede concluir que el incremento de la temperatura de temperatura ambiente a 70°C la albumina no presenta desnaturalización, solo hay modificaciones conformacionales de la proteína. A temperatura ambiente a partir de concentraciones bajas de surfactante (1%) hay una formación de enlaces entre la proteína y el detergente que perduran aun con el incremento de temperatura, pero solo a partir de una concentración de SDS al 5% empieza a haber un desplegamiento de la proteína que nos indica la desnaturalización de esta.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. D.L Nelson, M.M. Cox Principios de bioquímica. 5ta ed. Editorial Omega, pp. 92,113.
- S. M. Ribeiro, R. G. Almeida, C.A.A. Pereira. Identification of a Passifora alata Curtis dimeric peptide showing identity with 2s albumins. Peptides, Vol 32, Issue 5, May 2011, pp. 868-874
- 3. H.R. Horton, L.A. Moran Principios de bioquímica .4ta ed. Editorial Pearson, pp. 79,87-89.
- 4. R. Mora Soporte nutricional. 3ra ed. Editorial Panamericana. p. 109.
- 5. A. Barth. Progress in Biophysics & Molecular Biology 74 (2000) pp.141–173.
- 6. D. Fukushima 1991. Structures of Plant Storage and ther Function. Food Rev. J.Agric. Food Chem. Vol. 44, pp. 6-29.
- 7. P.R. Shewry J.A Napler y A,S, Tatham 1995. Seed storage proteins: structures and biosíntesis. Plant Cell 7, pp. 945-954.
- 8. S.F. Peralta,G. Tintoré, A. M. Ayala, Biochemical evaluation of protein fractions from physic nut (Jatropha curcas L.) L. Julio 2012. Grasas y Aceites;Jul-Sep 2012, Vol. 63 Issue 3. p 253.
- 9. Y. Moriyama, E. Watanabe, K. Kobayashi, Secondary Structural Change of Bovine Serum Albumin in Thermal Denaturation up to 130 °C and Protective Effect of Sodium Dodecyl Sulfate on the ChangePhys. Chem. B, Vol. 112, No. 51, 2008
- K. L. Gudiksen, I. Gitlin, D. T. M and G. M. Whitesides. Increasing the Net Charge and Decreasing the Hydrophobicity of Bovine Carbonic Anhydrase Decreases the Rate of Denaturation with Sodium Dodecyl Sulfate. Biophysical Journal Volume 91 July 2006, pp. 298–310

- 11. H. Yang, S. Yang, J. Kong, A. Dong, S. Yu. Obtaining information about protein econdary structures in aqueous solution using Fourier transform IR spectroscopy. Vol.10 No.3, Nature Protocols 2015, pp. 382-393.
- 12. M. Sánchez, A, scire, F. Tanfani. The thermal unfolding of the ribosome-inactivating protein saporin-S6 characterized by infrared spectroscopy. Biochimica et Biophysica Acta 1854 2015, pp. 1357–1364
- 13. M. Fan, W. Cai, X. Shao Investigating the Structural Change in Protein Aqueous Solution using Temperature-Dependent Near-Infrared Spectroscopy and Continuous Wavelet Transform. Applied Spectroscopy 2016, pp. 1–8.
- 14. Y. Guo,W Cai, K. Tu, S. Tu, Infrared and Raman Spectroscopic Characterization of Structural Changes in Albumin, Globulin, Glutelin, and Prolamin during Rice Aging. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2013, Vol. 61, pp.185–192.
- 15. K. L. Gudiksen, I. Gitlin, D. T. M and G. M. Whitesides. Increasing the Net Charge and Decreasing the Hydrophobicity of Bovine Carbonic Anhydrase Decreases the Rate of Denaturation with Sodium Dodecyl Sulfate. Biophysical Journal Volume 91 July 2006, pp. 298–310
- 16. K V Abrosimova, O V Shulenina, S V Paston. FTIR study of secondary structure of bovine serum albumin and ovalbumin. Journal of Physics: Conference Series 769 2016, pp. 12-16.
- 17. K. Liu, F.H. Hsieh. Protein_protein interactions during high-moisture extrusion for fibrous meat analogues and comparison of protein solubility methods using different solvent systems. J. Agric. Food Chem. 2008, 56, pp. 2681–2687
- 18. B. Andreas. Infrared spectroscopy of proteins. Biochimica et Biophysica Acta 1767 2007, pp. 1073–110.
- 19. M Schmid, TK Prinz, A. Stäbler and S. Sängerlaub (2017) Effect of Sodium Sulfite, Sodium Dodecyl Sulfate, and Urea on the Molecular Interactions and Properties of Whey Protein Isolate-Based Films. Front. Chem. Vol. 4, p.49.

ALIMENTOS FUNCIONALES A PARTIR DE CULTIVOS CON BAJO REQUERIMIENTO DE AGUA: SNACKS DE GARBANZO, NOPAL Y AMARANTO.

Moreno-Contreras María Guadalupe, Licea-De-Anda Eva Marcela, Herrera-Flores Teresa Susana.

Universidad Politécnica de Pénjamo, Carretera Irapuato-La Piedad, km44 Predio "El Derramadero" C.P. 36921 Pénjamo, Guanajuato gmoreno@uppenjamo.edu.mx

RESUMEN

En los últimos años se ha observado la tendencia de los consumidores por adquirir productos alimenticios con altos niveles nutricionales y/o que proporcionen beneficios a la salud, conocidos como alimentos funcionales [1], lo que representa una oportunidad para el desarrollo de productos de valor agregado. El objetivo del presente proyecto consistió en desarrollar formulaciones de snacks funcionales, a partir de cultivos alternativos que presenten bajos requerimientos de agua. Se elaboraron 2 tipos de snacks (4 formulaciones): una botana horneada de garbanzo, trigo y nopal, y una barra de amaranto sin piloncillo, adicionada con avena y mucílago de nopal. La botana horneada presentó un contenido nutrimental 18% de proteína y 9% de fibra dietética, muy por arriba de la mayoría de las botanas comerciales; su aceptabilidad fue evaluada mediante una prueba hedónica, siendo ligeramente menor que una botana horneada comercial de maíz. La barra de amaranto presentó un 6% de fibra dietética y sólo 7% de grasa, siendo por su composición un alimento que puede ser consumido por diabéticos. Sin embargo, las formulaciones de la barra mostraron baja aglomeración y alta humectación, lo que altera sus propiedades sensoriales y disminuye su vida de anaquel, por lo que es necesario evaluar nuevas formulaciones para solventar la problemática. Se concluye que los snacks elaborados a partir de garbanzo, nopal y/o amaranto, presentan propiedades nutrimentales de interés, siendo necesario realizar algunas modificaciones para mejorar su aceptabilidad.

INTRODUCCIÓN

Las últimas tres décadas se han caracterizado por un importante cambio en las tendencias de consumo en el sector alimentario. Los consumidores se están inclinando por adquirir productos que no sólo cubran las necesidades nutrimentales, sino que además aporten un beneficio a la salud [1-5], lo que representa un área de oportunidad para la investigación y el desarrollo de nuevos productos que cubran esta necesidad del mercado y que, desde un enfoque sustentable, busque la selección de cultivos que aporten beneficios socioambientales.

TEORÍA

El término "alimento funcional", ampliamente utilizado en el ámbito académico y comercial, nació en Japón en la década de los ochenta con la publicación de la reglamentación sobre los FOSHU (Food with Specific Health Uses) definidos como "alimentos procesados los cuales contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano" [4]. Sin embargo, en la mayoría de los países no existe una definición legal del término; en México, la legislación vigente no emplea el término de alimentos funcionales, aunque la norma oficial mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010, establece que está permitido declarar, sugerir o implicar que existe una relación entre un alimentos, o sus constituyentes, y la salud del consumidor; pero a diferencia de otros países, prohíbe la declaración de propiedades saludables

que impliquen la utilidad de un alimento en la prevención, alivio, tratamiento o cura de una enfermedad.

Existe en el mercado una gran diversidad de productos funcionales: yogurt, galletas, pastelillos, bebidas, botanas, pastas o cereales, con una razonada y creciente aceptación por parte de los consumidores en países como Reino Unido, Francia, Alemania, Japón y Estados Unidos; sin embargo, diversas encuestas han mostrado que el éxito de estos productos en el mercado no está garantizado, principalmente por la desconfianza en propiedades "novedosas" y los incidentes en seguridad alimentaria [2]. En América Latina, donde la mayoría de la población no sabe que son, los alimentos funcionales constituyen apenas un mercado incipiente, con oportunidad principalmente en las áreas urbanas donde los consumidores están adquiriendo conciencia del papel de la alimentación en la salud [1, 5, 6]; dadas las condiciones económicas, sociales y ambientales de las economías en desarrollo, especialmente en las zonas rurales, los alimentos funcionales representan un importante reto para los programas I+D+I públicos y privados.

En dicho proceso es necesario tomar en consideración características adicionales al valor benéfico o saludable de un cultivo de interés siendo el valor ambiental, desde un punto de vista sustentable, una característica indispensable. México, por su diversidad biológica y climática, es un país con una amplia oportunidad para implementar cultivos con propiedades funcionales; sin embargo, el sector agrícola presenta sus propios retos: el 70% del agua potable se emplea en dicha actividad económica, lo que deriva en la sobreexplotación de los mantos acuíferos. Esto genera la necesidad de evaluar cultivos que además de poseer propiedades funcionales de interés para la población mexicana, presenten menores requerimientos de agua y disminuyan la presión sobre los mantos acuíferos ya afectados.

El garbanzo (Cicer arietinum) es la segunda leguminosa cultivada alrededor del mundo, después del frijol. De acuerdo a datos de la FAO [7], la producción mundial de garbanzo en 2014 fue de 13.73 millones de toneladas, de las cuales México aportó 171,665 ton. El garbanzo es ampliamente consumido en todo el mundo, y se le considera una buena fuente de carbohidratos, proteínas, fibra dietética, vitaminas y minerales de fácil adquisición y bajo costo, siendo al mismo tiempo una de las leguminosas con menor contenido en factores antinutricionales [8, 9]. Desde el punto de vista agronómico, el garbanzo representa una alternativa interesante a los cultivos tradicionales debido a que renueva la fertilidad del suelo por su asociación simbiótica con rizobacterias; además requiere un bajo consumo de agua [10, 11, 12].

El nopal (Opuntia spp) es originario de América y se encuentra en una gran variedad de condiciones agroclimáticas, en forma silvestre o cultivada, en todo el continente americano, África, Asia, Europa y Oceanía [13]. De acuerdo a la SAGARPA, en 2015 la superficie sembrada de nopal (tuna, nopalitos y forrajero) superó las 77,000 Ha [14], aunque se estima que la superficie de nopal silvestre puede alcanzar los 3 millones de hectáreas [13]. Tanto la fruta (tuna) como los brotes (cladodios o penca) constituyen una importante fuente de alimentación humana y animal. Los cladodios se caracterizan por un elevado contenido de agua, fibra, vitaminas y minerales que al ser combinados con una fuente de proteína, constituyen una alimentación completa [13, 15]. El género Opuntia se adapta fácilmente a las zonas áridas caracterizadas por condiciones secas, lluvias erráticas y tierras pobres sujetas a erosión, gracias a que poseen adaptaciones fenológicas, fisiológicas y estructurales con el fin de mantener su desarrollo con un alto nivel de eficiencia bajo condiciones limitadas de agua [15].

El amaranto (Amaranthus spp) es un cultivo que es parte de la agricultura tradicional desde épocas prehispánicas logrando persistir hasta la actualidad. Se cultiva principalmente en los estados de Tlaxcala, Puebla y Estado de México con una producción nacional en 2015 de 8,551 toneladas [14]. Esta semilla presenta la característica de poseer una proteína de alto valor biológico que presenta el balance de aminoácidos más cercanos a la proteína ideal; el cultivo de amaranto adquiere cada vez mayor interés debido a sus múltiples aplicaciones tanto en la alimentación humana ya que incluso las hojas y tallos tiernos pueden ser consumidos como verdura, como en las áreas farmacéutica, cosmética, alimentación animal y ornamental. Sus diversas variedades

prosperan en regiones centrales del país de baja precipitación y tiene la capacidad de adaptarse a nuevos ambientes [16, 17].

El objetivo del presente trabajo consistió en desarrollar formulaciones de snacks con características de alimentos funcionales, a partir de cultivos alternativos que presentan bajos requerimientos de agua y que pueden ser adecuados para su siembra en las regiones áridas y semiáridas de México.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Las pruebas fueron realizadas con grano de garbanzo blanco criollo del ciclo agrícola 2014-2015, (Pénjamo, Guanajuato). El nopal (variedad xoconostle), fue obtenido de cultivares en Abasolo y Pénjamo, Gto. La semilla de amaranto de la variedad Revancha (*Amaranthus hypochondriacus*) fue proporcionada por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Cevamex) y cultivada en Pénjamo en el ciclo P-V 2015. La avena, canela y harina de trigo se obtuvieron de fuentes comerciales.

Preparación de la muestra

El grano de garbanzo se trituró en un molino (Pulvex, México). La harina fue tamizada a través de una malla de 1 mm, para la obtención de harina fina y eliminación de la testa. Los cladodios de nopal de 25-35 cm de largo se limpiaron para eliminar las espinas, se desinfectaron sumergiéndolos 10 min en una solución de cloro comercial (150 ppm) y se cortaron en cuadros de aproximadamente 2x2 cm, tras lo cual se sometieron a secado en horno de convección a temperatura de 70°C por 24 horas, triturando el material para obtener la harina. El reventado de la semilla de amaranto se realizó mediante aire caliente, empleando una máquina para palomitas doméstica Modelo RHP310 (Nostalgia Products, USA) con lapsos de procesamiento de 40 a 60 s.

Formulación y Diseño experimental

Botana horneada rica en fibra a partir de garbanzo, trigo y nopal

Se realizaron pruebas preliminares para la formulación y procesamiento de la botana horneada, modificando la proporción de ingredientes, el tiempo de horneado y la aplicación o no de un precocimiento (Tabla 1). Se efectuaron mezclas de harina de garbanzo, trigo y nopal. Una vez elaborada la mezcla, se adicionó 0.25 g de chile de árbol como saborizante natural. Para las formulaciones M1 y M2 se estableció un diseño factorial completo 2² con dos repeticiones. Los factores evaluados fueron la proporción de nopal (3 y 5%) y el tiempo de horneado (17 y 21 min).

Tabla 11. Factores modificados en las formulaciones de la botana con garbanzo.

Muestra	Ing	Ingredientes (%)*			Procesamiento (Preparación y Tiempo de horneado)		
	G	N	Z	T			
				0			
				0			
MP1	60	40	0				
MP2	70	30	0	0	A)	Precocimiento en Comal (270°C 10°C/10 segundos	
MP3	80	20	0			por lado) y Horneado (120°C/ 12, 24, 30, 33 o 36	
MP4	100	0	0	0		minutos)	
MP5	30	20	50	0	B)	Horneado directo (120°C/ 12, 24, 30, 33 o 36 minutos	
M1	35	5	0	•	C)	Horneado directo (120°C/ 17 y 21 minutos)	
M2	37	3	0	60	,	, <u> </u>	
				60			

60

* G: Harina de garbanzo, N: harina de nopal, Z: harina de maíz, T: Harina de Trigo. Las muestras preliminares MP1-MP5 se procesaron con las condiciones "A" y "B". Las muestras finales M1 y M2 se procesaron con las condiciones "C".

Para la preparación del snack se mezclaron las harinas, se les agregó agua hasta obtener la consistencia necesaria para elaborar la tortilla, empleando una máquina casera de prensado, y fueron sometidas procesamiento correspondiente para la obtención de la botana.

Barra de amaranto, avena y nopal

Para la formulación preliminar de este snack se modificó la proporción de amaranto, extracto acuoso de mucílago de nopal (N), avena (V) y edulcorante (S) (Tabla 2). Se empleó semilla de amaranto de la variedad Revancha con 8% de humedad y reventada mediante aire caliente. El extracto acuoso de mucílago de nopal (obtenido por maceración, nopal: agua 1:2, 60°C/2 h) se empleó como aglomerante de la barra; como edulcorante se empleó un producto comercial a base de stevia (0.5 g/100 g de Rebaudiósido A al 97% Pureza). Una vez mezclados los ingredientes, la mezcla se extendió en moldes rectangulares de teflón y se horneó a 120°C por 15 minutos.

Tabla 12. Factores modificados en las pruebas preliminares para la formulación de la barra de amaranto

Prueba		Ingredientes *		
Preliminar -	A (g)	M (mL)	S (g)	V (g)
PP1	40	15, 20, 25 o 30	0.5	0
PP2	40	15	0.5, 0.6, 0.7, 0.8 o 1	0
PP3	38, 37, 36 o 35	15	1	2, 3, 4 o 5

^{*} A: semilla reventada de amaranto, M: Extracto acuoso de mucílago de nopal, S: Edulcorante con stevia,

V: Avena

Análisis bromatológicos, microbiológicos y sensoriales.

La determinación de las propiedades bromatológicas fue de acuerdo a metodología establecida: humedad (NMX-F-428-1982, método rápido en termobalanza), cenizas (NMX-F-066-S-1978), proteína (NMX-F-068-S-1980, Micro Kjeldahl, factor de conversión 6.25), Grasas-Extracto etéreo (NMX-F-089-S-1978.) y Fibra cruda (NMX-F-090-S-1978). El contenido de carbohidratos se calculó por diferencia. El valor medio obtenido de los análisis bromatológicos fueron empleados para obtener el contenido calórico de las muestras M1 Y M2, de acuerdo a lo establecido en la NOM NOM-051-SCFI/SSA1-2010.

Adicionalmente, muestras de la botana "M2 17" (65-37-3) y de la barra "PP3" (35-15-1-5) fueron enviadas a un laboratorio acreditado para la determinación de azúcares reductores totales, fibra dietética, grasas y perfil de ácidos grasos. A estas muestras se les realizó también el análisis microbiológico para determinación de bacterias mesofílicas aerobias y coliformes totales.

Para la evaluación sensorial preliminar, se les dio a probar las muestras de botana o barra a un panel de 5 jueces no entrenados quienes emitían una opinión positiva (+, me gusta) o negativa (-, no me gusta) respecto a la textura, apariencia y sabor. En el caso de opiniones negativas, se registraron las observaciones o propuestas de mejora.

Se realizó el análisis sensorial de la botana horneada mediante una prueba hedónica con escala de aceptación de 5 puntos (1= me disgusta mucho, 2= Me disgusta ligeramente, 3=Ni me gusta ni me disgusta, 4= Me gusta ligeramente y 5= Me gusta mucho) para lo cual se convocó a personas de 18 a 20 años, estudiantes de la Universidad Politécnica de Pénjamo, a los que se les explicó la escala de calificaciones y se les dieron a probar las muestras identificadas mediante clave. El control de esta prueba fueron totopos comerciales hechos de maíz horneado y nopal.

Para los análisis bromatológicos y sensoriales en que los que se indica significancia estadística, se realizó un análisis de varianza (ANAVA) y pruebas de comparación de medias de Fisher con un valor de alfa <0.05 empleando el software Minitab 17 (2013).

RESULTADOS

Con la finalidad de obtener productos alimenticios con propiedades funcionales a partir de cultivos con bajos requerimientos de agua, se establecieron dos tipos de formulaciones: una botana horneada tipo totopo a partir de harina de garbanzo (aporte proteico) y harina de nopal (fibra dietética); la segunda formulación consistió en una barra de amaranto, en la cual se sustituyó el piloncillo por mucílago de nopal como aglomerante, y se adicionó un edulcorante comercial con Rebaudiósido A (Reb A), para darle el sabor dulce característico de las golosinas conocidas como alegrías. En las siguientes secciones se presentan los resultados obtenidos en las pruebas preliminares y la caracterización de los snacks.

Formulación de botana horneada de trigo enriquecida con garbanzo y nopal.

Las formulaciones preliminares MP1-MP5 fueron elaboradas variando las proporciones de garbanzo y nopal, el proceso de preparación, el tiempo de horneado o la adición de harina de maíz (Tabla 1). Solamente las muestras con 100% de harina de garbanzo (MP4) tuvieron opiniones positivas en cuanto a sabor y apariencia (3+). Las muestras con 20% o más de harina de nopal (MP1, MP2, MP3 Y MP5) no resultaban atractivas a la vista ni al gusto (Figura 1A, primera y tercera columna). En cuanto a textura ninguna de las muestras MP1-MP5 tuvo opiniones positivas siendo referidas por los panelistas como "duras". Respecto al procesamiento, se prefirieron las muestras que fueron directamente horneadas (4+) sin un precocimiento en comal (2+), debido a su apariencia más uniforme (Figura 1A, columna 2 y 4). Respecto al tiempo de horneado fueron aceptables únicamente las de 24 minutos, de menor dureza que el resto de las muestras.

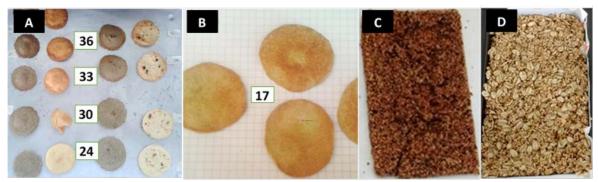


Figura 1. Apariencia de la muestras de formulaciones de botana de garbanzo(A y B) y de barra de Amaranto (C y D). A) De Izquierda a derecha: MP2 (Horneada), MP1 (Horneada), MP2 (Precocida y horneada), MP1 (Precocida y horneada); el número en los recuadros blancos corresponde al tiempo de horneado. B) Muestras M2 horneadas que se emplearon en las pruebas de aceptación. C) Formulación PP1 con 20 mL de extracto acuso de mucílago de nopal. D) Formulación PP3 con 5 g de avena, adicionada con canela.

De acuerdo a los resultados de la evaluación sensorial preliminar, se decidió incluir harina de trigo en la formulación, para que el gluten favorezca las propiedades de la masa [18] y permita obtener una textura adecuada de la botana; también se disminuyó el porcentaje de harina de nopal para mejorar la apariencia. A las muestras M1 y M2 (Tabla 1, Figura 1B) se les determinó humedad, cenizas, proteínas, grasas, carbohidratos, fibra cruda y contenido energético (Tabla 3); a la M2 con 17 minutos se le determinó además el contenido de grasas saturadas, fibra dietética y sodio.Con estas pruebas se pudo establecer que las botanas M1 y M2 presentan una mayor calidad nutrimental en comparación con las frituras y botanas que se encuentran en el mercado. Es especialmente destacable que el contenido proteico promedio de 18% duplica el máximo reportado para los productos comerciales [19], la fibra dietética es el triple de la mayoría de frituras y el nivel de grasas saturadas, así como contenido energético, están por debajo de las botanas comerciales.

Sin embargo, el nivel de sodio supera los 500 mg/100 g, por lo que no puede ser considerado como un producto bajo en sodio.

Los análisis microbiológicos realizados a la muestra M2-17 indicaron que tanto el número de bacterias mesofílicas totales (20 UFC/g, límite: 10,000 UFC/g) como el de coliformes totales (<10 coliformes/ mL, límite 30 UFC/g) se encuentran dentro de los rangos para este tipo de productos de acuerdo a la NOM-147-SSA1-1996.

Tabla 3. Contenido nutrimental de la botana horneada y comparación con productos comerciales.

BOTANA	Grasas (g/100g)		Proteínas (g/100g)	Azúcares (g/100g)	Energía (kcal/100g)	Fibra (g/100 g)		Sodio* (mg/100g)
	Totales	Saturadas*	(9,1009)	(9,1009)	(Rodii 100g)	Cruda	Dietética*	(mg/100g/
M2- 17	11.2	2.8	19.7	62.3	428.4	62.3	9.8	555.7
M1-17	11.3	ND	16.9	63.0	421.6	63.0	ND	ND
M2-21	14.5	ND	17.4	61.5	445.9	61.5	ND	ND
M1-21	14.0	ND	17.8	61.5	443.8	61.5	ND	ND
Botanas Comerciales (Rangos) [19]	14-38	3-17	5-9	51-68	430-576	S.I.	3◊ 11§	426-2673

ND: No determinado; SI: sin información.

Los resultados obtenidos para las muestras M1 y M2 en las pruebas de aceptabilidad fueron menores respecto al control, el cual obtuvo valores superiores a 4 (Tabla 4). Esto puede de ser atribuido a que el maíz constituye uno de los principales alimentos en nuestra población, por lo que existe una preferencia respecto a un producto elaborado con este cereal al compararlo con nuevos productos. En el aspecto de textura se obtuvo que la mezcla M1 17 tiene una media ligeramente más elevada, así como la evaluación de olor (3.7) y apariencia (4.1); en cuanto en sabor; la mezcla M2 17 fue numéricamente superior con un valor de 3.7.

Tabla 4. Resultados de la prueba hedónica para la aceptabilidad de las botanas

Muestras	Características evaluadas				
Muesti as	Textura	Olor	Apariencia	Sabor	
Control (Botana comercial)*	4.5 a	4.2 a	4.3 a	4.4 a	
M1 17	3.9 b	3.7 b	4.1 a	3.6 b	
M1 21	3.4 c	3.6 b	3.9 b	3.4 c	

[♦] Valor declarado en la etiqueta de 3 frituras comerciales elaboradas con papa, trigo o maíz.

[§] Valor declarado en la etiqueta comercial de una tostada horneada de maíz y nopal.

^{*} Análisis realizados por laboratorio acreditado CIAJ (Cámara de la Industria Alimenticia de Jalisco)

M2 17	3.7 b	3.7 b	4.0 a	3.7 b
M2 21	3.6 b	3.6 b	4.0 a	3.3 b

^{*} Botana comercial horneada de maíz

Letras diferentes en la misma columna indican significancia estadística (Fisher,p<0.05)

Formulación de barra de amaranto con mucílago de nopal, avena y edulcorante con stevia.

Para definir la formulación adecuada de la barra de amaranto se realizaron varias pruebas preliminares en las que se modificó el contenido de extracto acuoso de mucílago de nopal, de edulcorante y de avena (Tabla 2). En experimentos previos se encontró que las mezclas presentaban un exceso de humedad que impedía que las barras conservaran su forma, por lo que se incluyó una etapa de horneado en el procesamiento. En la Figura 1C y 1D se muestra la apariencia de algunas de las muestras preliminares tras el proceso de horneado. En la prueba preliminar 1 (PP1) sólo las muestras con 15 mL de mucílago de nopal recibieron opiniones positivas (3+), pues al aumentar el volumen del extracto la barra se volvía suave y no aglomeraba (Figura 1C). Además, se registraron observaciones de que el sabor no era dulce, por lo que en la prueba PP2 se modificó el contenido de edulcorante con stevia, desde 0.5 hasta 1.0 g. De estas pruebas, la muestra con 1 g de edulcorante, correspondiente a una porción recomendada por el fabricante, obtuvo el mayor número de opiniones favorables (3+).

En la PP3 se buscó adicionar la barra con un cereal que complementara el perfil de aminoácidos aportado por el amaranto [16, 17], por lo que se elaboraron barras con 2 a 5 g de avena. Con la finalidad de mejorar el sabor, a estas muestras se les añadió canela molida antes del horneado. Las cinco muestras de la PP3 obtuvieron calificaciones positivas (4+ y 5+), de las cuales, la barra con 5 g de avena fue la que se seleccionó para realizar las siguientes pruebas, debido a que presento una mejor aglomeración y apariencia (Figura 1D).

Es importante mencionar que durante la etapa de pruebas preliminares se observó que las barras horneadas poseían una textura crujiente de acuerdo a los panelistas, pero al transcurrir 24 h las barras se reblandecían y adquirían una textura húmeda, lo cual puede ser atribuido a la alta capacidad del mucílago de nopal para retener agua [13].

La muestra preliminar PP3-5 (35 g de Amaranto, 15 mL de extracto acuoso de mucílago de nopal, 5 g de avena, 1 g de edulcorante y canela como saborizante natural) fue enviada a un laboratorio certificado que determinó el contenido de los parámetros indicados en la Tabla 5.

Tabla 5. Parámetros evaluados en la barra de amaranto formulación PP3-5 de la botana horneada *

Grasas (g/100 g)		Azúcares Redutores	Fibra dietética	Sodio	Mesófilos aerobios	Coliformes Totales	
		totales	(g/100 g)	(mg/100 g)	(UFC/g)	(UFC/g)	
Totales	5.27						
Saturadas	1.36	8.32	6.08	9.8	60	<10	
Monoinsaturada	s 1.7	0.32	0.00	9.0	00	<10	
Poliinsaturadas	2.21						

^{*} Análisis realizados por laboratorio acreditado CIAJ (Cámara de la Industria Alimenticia de Jalisco)

La formulación PP3-5 presenta propiedades funcionales, debido a su bajo contenido en grasas (5.27%, saturadas 1.36%) y sodio (9.8 mg/100g), y por su aporte de fibra dietética (6.8%); además, cumple con los parámetros microbiológicos establecidos en la normativa

CONCLUSIONES

La botana horneada elaborada con trigo, garbanzo y nopal cuenta con las características nutrimentales propuestas, con un contenido elevado de proteína y fibra (18 y 9%) y bajo contenido en grasas saturadas (2.8%) y contenido energético (435 kcal). En comparación con marcas comerciales, posee un valor nutrimental mayor, constituyendo una alternativa como alimento funcional por las características del garbanzo y nopal; siendo únicamente necesario regular el contenido de sal añadida para que la botana pueda ser considerada baja en sodio.

Respecto a la barra de amaranto y nopal sin azúcares añadidos, las pruebas preliminares de aceptabilidad permitieron la selección de parámetros óptimos. La formulación PP3-5, que incluye avena y canela, se caracterizó por un baja contenido en grasas (sólo 1.36% de grasas saturadas) y sodio, mientras que presenta valores de fibra dietética superiores a la mayoría de los productos procesados, aunque se requiere completar la caracterización bromatológica para evaluar el aporte nutrimental de forma completa. Por otra parte, las formulaciones de la barra mostraron una alta humectación, que afecta las propiedades sensoriales y aglomeración del producto, por lo que es necesario evaluar materiales de empaque para solventar la problemática.

BIBLIOGRAFÍA

- 31. B. De Ancos; I. Fernández-Jalao; C. Sánchez-Moreno, "Compuestos funcionales en productos de IV y V gama" Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, vol. 17, 2, 2016, pp. 130-148.
- 32. I. Siro, E. Kapolna, B. ta Kapolna, A. Lugasi, "Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review", Appetite. Vol. 51, 2008, pp 456–467.
- 33. B. Bigliardi, F. Galati, Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. Trends in Food Science and Technology. Vol. 31, 2008, pp. 118–129.
- 34. E. Torija-Isasa, "Alimentos funcionales y obesidad. Interés y realidad." An Real Acad Farm., Vol. 82, 2016, pp. 260-276.
- 35. A. Valenzuela, R. Valenzuela, J. Sanhueza, G. Morales, "Alimentos funcionales, nutraceúticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación?" Revista chilena de nutrición. Vol. 41, 2014, pp.198–204.
- 36. F. M. Lajolo, "Functional foods: Latin American perspectives". Br J Nutr., Vol. 88, Suppl 2, 2002, pp. S145-50.
- 37. FAOSTAT, FAO, "Statistical databases 2015". Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Consultada el 26 Abril 2017. Disponible en http://www.fao.org/faostat/en/#home.
- 38. A. K. Jukanti, P. M. Gaur, C. L. L. Gowda, R. N. Chibbar, "Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review", British Journal of Nutrition., Vol. 108, 2012, pp. S11–S26.
- 39. A. G. Cota, G.A. Yañez, E.J. Esquer, R. Anduaga, y J. M. Barrón, "Efecto de la variedad y la fertilización en indicadores de calidad proteica in-vitro de dos variedades y una línea de garbanzo (*Cicer arietinum*)" Revista chilena de nutrición, Vol. 37, 2, 2010, pp. 193-200.
- 40. Y. T. Gan, T. D. Warkentin, D. J. Bing, F. C. Stevenson, C. L. McDonald, "Chickpea water use efficiency in relation to cropping system, cultivar, soil nitrogen and Rhizobial inoculation in semiarid environments", Agricultural Water Management. Vol. 97, 2010, pp.
- 41. M. B. González, E.P. Vélez, C. Scott y A.E. García, "Estimación del volumen de agua usado en una zona de riego mediante una imagen de satélite e información complementaria", Agrociencia, Vol. 35, 2001, pp. 589-597

- 42. F. Viera de Figueiredo, B. Valdez Gascón, P. Ortega Murrieta y G. Fierros Leyva "Riesgo restringido y su efecto en el cultivo de Garbanzo Blanoro y Tequi Blanco 98", *INVURNUS*, Vol. 8, 2013, pp. 3-10.
- 43. C. Sáenz y H. Berger. "Utilización agroindustrial del nopal" FAO Food & Agriculture Org., Vol. 162, 2006, 165 pp.
- 44. Servicio de Información Y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) SAGARPA, "Anuarios Estadísticos de la Producción Agrícola 2014". Consultado 26 abril 2017. Disponible en http://www.gob.mx/siap/
- C. Mondragon-Jacobo y S. Pérez-González, S. "El nopal (Opuntia spp.) como forraje",
 C. Mondragón-Jacobo, S. P. González, E. Arias, S. G. Reynolds, & M. D. Sanchez (Eds.). Food & Agriculture Org. FAO, Vol. 169, 2003.
- 46. E. Espitia-Rangel, C. Mapes-Sánchez, D. Escobedo-López, M. De La O-Olan, P. Rivas-Valencia, G. Martínez-Trejo y J. M. Hernández-Casillas, "Conservación y uso de los recursos genéticos de amaranto en México" (SINAREFI-INIFAP-UNAM, Centro de Investigación Regional Centro. Celaya, Guanajuato, México, 2010, 201 pp.
- 47. C. Mapes-Sánchez, "El amaranto (*Amaranthus spp.*) planta originaria de México.", Academia, Ciencia y Cultura. AAPAUNAM, Vol. 4, 2010, pp. 217-222.
- 48. R. Villanueva-Flores, "El gluten del trigo y su rol en la industria de la panificación" Ingeniería Industrial, Vol. 32, 2014, pp. 231-246.
- 49. Procuraduría Federal del Consumidor PROFECO, Laboratorio. "Frituras al Desnudo ¿Qué se esconde detrás del sabor?" Revista del Consumidor, Abril 2012, pp. 46-55." Disponible en http://red.ilce.edu.mx/sitios/tabletas/familia/Laboratorio_Frituras.pdf

MICROCÁPSULAS DE ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN PRODUCIDAS POR GELIFICACIÓN IÓNICA UTILIZANDO COMO PARED ALGINATO/MUCILAGO (OPUNTIA FICUS-INDICA).

Ma Guadalupe Garnica Romo, Manuel Alejandro Alcantar Covarrubias y Héctor Eduardo Martínez Flores

Facultad de Ingenieria Civil, Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.

Estudiante de Maestría Institucional en Ciencias Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.

Facultad de Quimico Farmacobiologia, Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo

RESUMEN

Los aceites esenciales muestran diferentes propiedades, y algunos como el proveniente de los cítricos, son de gran interés en la industria cosmética y alimentaria. Tal es el caso del aceite esencial de limón. Sin embargo, sus componentes químicos son susceptibles de modificarse por condiciones medio ambientales, por lo que deben ser protegidos para que sus propiedades permanezcan inalteradas. El objetivo de la presente investigación fue micro-encapsular aceite esencial de limón por el método de gelificación iónica, vía atomización, utilizando como material pared una mezcla de alginato/mucílago de Opuntia ficus-indica (en proporciones 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 y 1:3). La interacción de los polímeros utilizados como material pared fue observada a través de la técnica de espectroscopia infrarroja. A las microcápsulas obtenidas se les midió tamaño de partícula. Las microcápsulas fueron liofilizadas para analizar su morfología utilizando microscopía electrónica de barrido. Posteriormente, se midió la eficiencia por medio de espectroscopia UV/Vis. Los biopolímeros utilizados en la microencapsulación no presentaron interacción significativa, observado por espectroscopia de infrarrojo. Las microcápsulas obtenidas presentaron una distribución de tamaño de partículas que varió de 16 a 75 micras, aumentando el tamaño de las partículas conforme se aumentó el contenido de mucílago en la mezcla alginato/mucílago. Al ser observadas por microscopia electrónica de barrido, las microcápsulas presentaron forma esférica, y cierta porosidad, al mostrarse una superficie rugosa y ligeramente colapsada por la pérdida de aqua al ser liofilizada. La determinación de la cantidad de aceite encapsulado se cuantifico por espectroscopia de Uv-Vis. Se obtuvo la máxima eficiencia de encapsulación para las microcápsulas elaboradas solamente con alginato (18.39%) seguida de alginato-mucílago en relación 3:1 (18.06%). El método de atomización usando gelificación iónica resulto un método sencillo y eficaz para microencapsular y de esta forma proteger el aceite esencial de limón.

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales son una mezcla de compuestos de naturaleza oleosa obtenidos de la materia vegetal. Particularmente, el aceite esencial de limón posee una gran importancia económica debido a su composición química. Por sus propiedades aromáticas, los aceites de los cítricos han sido aplicados como aromatizantes, en alimentos, bebidas y en cosméticos. Sin embargo, el aceite esencial de limón es susceptible a la degradación causada por la luz, el calor y la humedad. En general, el proceso de microencapsulación de compuestos sensibles se compone de dos pasos: 1) la emulsificación del material activo con una solución densa de una material pared, como un polisacárido o una proteína, y 2) el secado o enfriamiento de las emulsiones. La gelificación iónica es una técnica en la que las microcápsulas son producidas por el goteo de una solución polimérica (normalmente se utiliza alginato) sobre una solución catiónica (generalmente se utiliza el calcio), en agitación constante.

Un sistema binario se encuentra formado por dos substancias. En el presente trabajo se utilizó la mezcla de alginato y mucílago como un sistema binario.

Algunos estudios han reportado que el alginato puede formar complejos fuertes con otros polímeros naturales como la pectina, esto se realiza mediante una asociación fuerte entre sus cadenas; posteriormente, los geles se forman después de la adición de cationes divalentes como los del calcio ⁽¹⁾. En este sentido, Chan *y col.* (2012) y Koo *y col.* (2013) ^(2,3) utilizaron la mezcla de alginato con pectina en las combinaciones apropiadas obteniendo una elevada eficiencia de encapsulación en comparación con un sistema individual de alginato.

Sin embargo, los trabajos de investigación sobre la encapsulación de compuestos activos utilizando la mezcla de alginato y mucílago de nopal son escasos. De acuerdo con Zamora-Vega *y col.* (2012) ⁽⁴⁾, los materiales de revestimientos formados con mucílago, inulina y alginato pueden proporcionar mayor protección a los probióticos en productos alimenticios. Además, los autores reportaron que la mezcla de estos materiales le proporcionó mayor suavidad a la superficie de las micrócapsulas. Esto le confiere un valor positivo a los productos alimenticios que contengan microcápsulas con superficie suave ⁽⁵⁾. Por lo cual, la mezcla de alginato y mucílago de nopal puede resultar en microcápsulas con características muy interesantes (menor rugosidad en la superficie y mayor eficiencia de encapsulación).

PARTE EXPERIMENTAL

El diagrama de flujo resume los principales pasos realizados en el presente trabajo de investigación (figura 1).

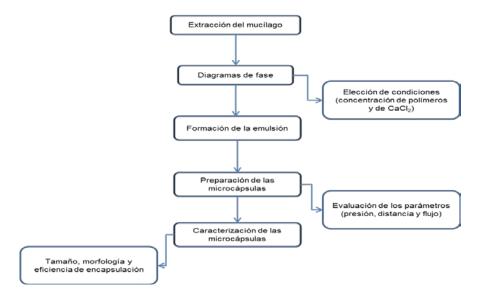


Figura 1. Diagrama de flujo del desarrollo del trabajo

Los diagramas de fases fueron construidos en base a la técnica de Mukai-Correa (2003). Los materiales fueron disueltos en agua destilada hasta disolverse completamente, se utilizaron las siguientes concentraciones en solución: 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5 % (p/v); en combinación con la solución de cloruro de calcio en concentraciones de 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5 % (p/v). En las mezclas binarias se utilizó la mezcla alginato-mucílago en las proporciones 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 y 1:3. Después de la disolución, se pipetearon 2.5 mL de la solución polimérica en 0.5 mL de solución de cloruro de calcio dentro de un tubo de ensaye. Los tubos se agitaron en un vórtex por 10 s, siendo después colocados en reposo a temperatura ambiente. Transcurridas 24 h, se realizó la construcción de los diagramas, los tubos se invirtieron para observar con mayor claridad las fases sol, gel y sinéresis. Los tratamientos fueron realizados por triplicado. La preparación de las microcápsulas se realizó en base a la técnica de Mukai-Correa (2003)⁽⁶⁾, con algunas modificaciones. Las emulsiones fueron preparadas con soluciones de alginato al 2.0% (concentración obtenida de los diagramas de fase) y el aceite de esencial de limón; estas fueron atomizadas en una solución de cloruro de calcio al 1% (p/v) (concentración obtenida de los diagramas de fase), en agitación constante. Las emulsiones fueron transportadas hacia el

atomizador de doble fluido con la boquilla de 0.7 mm de diámetro mediante una bomba peristáltica. Se probaron con tres velocidades diferentes: 3, 6 y 9 ml/min. Entre el pico de atomizador y la superficie de la solución iónica fueron probadas tres distancias: 12, 20 y 28 cm. Se probó con tres presiones de trabajo: 7.5, 15 y 22.5 lb/in².

Después de la atomización, las microcápsulas fueron mantenidas en agitación constante en la solución de calcio durante 30 min. Posteriormente, fueron escurridas en un tamiz de acero inoxidable con un diámetro de 44 µm y se lavaron durante 5 min con agua destilada, posteriormente fueron tamizadas.

RESULTADOS

Los análisis por IR fueron realizados para determinar la posible interacción entre los biopolímeros y la presencia del aceite esencial en las microcápsulas liofilizadas. Los espectros IR de los ingredientes (alginato, mucílago y pectina en polvo; el aceite esencial de limón), las microcápsulas producidas sólo con alginato y la mezcla de polimérica que contienen el aceite esencial de limón se presentaron en la figura 2.

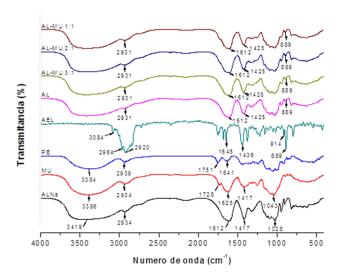


Figura 2. Espectros IR de los ingredientes y las microcápsulas. Ingredientes: (ALNa) Alginato de sodio, (MU) Mucílago, (PE) Pectina, (AEL) Aceite esencial de limón. Microcápsulas que contienen AEL: (AL) Alginato, (AL-MU 3:1) Alginato-Mucílago 3:1, (AL-MU 2:1) Alginato-Mucílago 2:1, (AL-MU 1:1) Alginato-Mucílago 1:1.

Además, las microcápsulas presentaron la forma esférica con ligero colapsamiento causado por el solvente (figura 3). De forma similar a las microcápsulas liofilizadas, las microcápsulas dispersadas presentaron una superficie porosa, esto puede atribuirse a que las microcápsulas contienen el aceite esencial de limón. De acuerdo con Paula y col. (2011) ⁽⁷⁾, la principal causa de porosidad de las cápsulas con quitosano y goma de marañón se debe a la encapsulación del aceite esencial de Lippia sidoides. Además, las microcápsulas formuladas con alginato-mucílago en 3:1 presentaron una superficie con apariencia más suave que las microcápsulas preparadas con solo alginato (fig. 40a-b). Esto no pudo apreciarse en las microcápsulas con alginato mucílago en 2:1 y 1:1 debido a la pérdida de agua en las microcápsulas (fig. 3c-d). De acuerdo con Zamora-Vega y col. (2012)⁽⁴⁾, las microcápsulas formuladas con alginato, mucílago e inulina presentaron una superficie suave mientras que las microcápsulas formadas solo con alginato presentaron una superficie heterogénea, rugosa y fracturada. Además, Sheu y Marshal (1993) ⁽⁸⁾ reportaron que la superficie suave puede tener una influencia positiva en las evaluaciones sensoriales en los productos alimenticios, a los que se les han añadido cápsulas con la propiedad de superficie suave.

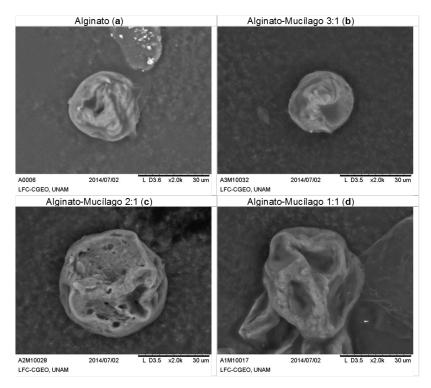


Figura 3. Morfología de las microcápsulas sin liofilizar por MEB (2000X).

La distribución de tamaño de las microcápsulas en las diversas formulaciones se presentó en forma de histogramas en la figura 4. Para las microcápsulas de alginato, el histograma presentó una distribución de tamaño de 16 a 53 µm, la barra de 27 µm presenta la mayor frecuencia de los datos (figura 4a). Para las microcápsulas de alginato-mucílago en 3:1, el histograma presentó una distribución de tamaño de 16 a 66 µm, la barra de 31 µm presenta la mayor frecuencia de los datos (figura 4b). En el caso de las microcápsulas de alginato-mucílago en 2:1, el histograma presentó una distribución de tamaño de 19 a 62 µm, las barras de 32, 36 y 41 µm presentan la mayor frecuencia de los datos (figura 4c). Con las microcápsulas de alginato y mucílago en 1:1, el histograma presentó una distribución de tamaño de 21 a 75 µm, las barras de 32 y 37 µm presentan la mayor frecuencia de los datos (figura 4d).

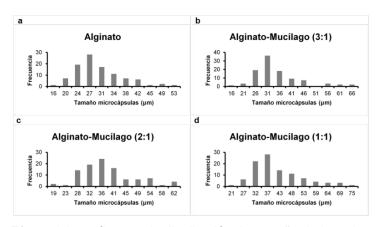


Figura 4. Efecto del mucílago en la distribución de tamaño de las microcápsulas.

Los histogramas presentaron una distribución unimodal con las barras máximas que representan el tamaño medio de las microcápsulas. Se observó que el valor de las barras con los picos máximos es mayor conforme se incrementó la cantidad de mucílago en las formulaciones (figura 4).

CONCLUSIONES

Las microcápsulas con las características deseadas (morfología y tamaño) fueron obtenidas mediante la combinación adecuada de los parámetros del proceso de atomización; presión (22.5 lb/in²), distancia (20 cm) y flujo (3 ml/min). Las microcápsulas presentaron una distribución de tamaño de 16 a 75 µm, donde las barras con la mayor frecuencia de los datos representaron el tamaño medio de las microcápsulas (histogramas). Si se requiere disminuir el tamaño de las cápsulas, la presión de aire deberá incrementarse y disminuir el flujo de la solución. Sin embargo, el tiempo de atomización se incrementará al disminuir el flujo de la solución. Las microcápsulas liofilizadas presentaron una superficie rugosa, con cierta porosidad y colapsamiento. Por el contrario, las microcápsulas sin liofilizar dispersadas en etanol presentaron cierta porosidad, menor colapsamiento y una superficie menos rugosa. La porosidad de las microcápsulas se atribuye al aceite encapsulado (MEB).

BIBLIOGRAFÍA

- 1. L. Liu, M.L. Fishman, J. Kost, y K.B. Hicks, "Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route". Biomaterials, 2003, 24, pp.3333-3343.
- 2. E.S. Chan, T-K. Lim, P. Ravindra, R. F. Mansa y A. Islam, "The effect of low air-to-liquid mass flow rate ratios on the size, size distribution and shape of calcium alginate particles produced using the atomization method". Journal of Food Engineering, 2012, 108, pp. 297–303
- 3. S.Y. Koo, K.H. Cha, D. Song, D. Chung, y C. Pan, "Microencapsulation of peppermint oil in an alginate-pectin matrix using a coaxial electrospray system", International Journal of Food Science and Technology, 2013, 49, p.p. 733-739.
- 4. R. Zamora-Vega, J.L. Montañéz-Soto, H.E. Martínez-Flores, R. Flores-Magallón, C.V Muñoz-Ruiz, J. Venegas-González y T Ariza-Ortega, "Effect of incorporating prebiotics in coating materials for the microencapsulation of Sacharomyces boulardii", International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2012,63, p.p.930-935.
- 5. T.Y. Sheu, y R.T. Marshall, "Microentrapment of Lactobacilli in calcium alginate gels". J Food Sci, 1993, 58, p.p 557–561.
- 6. R. Mukai-Correa, "Producao e caracterizacao de microcapsulas obtidas por gelificacao ionica para alimentacao de larvas de peixe", Campinas. Dissertacao-Universidade Estadual de Campinas. Campinas SP, Brasil, 2003.
- 7. H.C.B. Paula, F.M. Sombra, R.D.F. Cavalcantea, F.O.M.S. Abreua, , R.C.M. de Paula,. "Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with Lippia sidoides essential oil". Materials Science and Engineering, 2011,C 31, p.p. 173-178.
- 8. T.Y. Sheu, y R.T. Marshall, "Microentrapment of Lactobacilli in calcium alginate gels". J Food Sci, 1993, 58, p.p. 557–561.

FORMACIÓN DE CÉLULAS DORMANTES DE MYCOBACTERIUM BOVIS

Susana Flores-Villalva, E. Rodríguez-Hernández, Y. Contreras-Magallanes, J.G. Cantó-Alarcón. F. Milián-Suazo.

CENID Fisiología, INIFAP

Facultad de Ciencias Naturales, UQ.

RESUMEN

Las micobacterias de lento crecimiento, como M. tuberculosis, M. bovis y M. leprae, tienen la habilidad de persistir en su hospedero por largos períodos de tiempo y causar una infección latente. En la infección latente, la bacteria permanece en los tejidos en un estado quiescente o dormante, donde su actividad metabólica es mínima, estas bacterias se caracterizan por no formar colonias directamente o inmediatamente en medio sólido, pero bajo apropiadas condiciones pueden ser reactivadas. Se han descrito varios modelos cuyo objetivo es imitar las condiciones fisiológicas que afronta la micobacteria tras la infección en el huésped. En este estudio realizamos una modificación a la estrategia planteada por Shleeva y colaboradores para inducir la formación de bacterias dormantes de M. bovis. La cepa de referencia M. bovis AN5 fue cultivada en 230 ml de medio Sauton, sin detergente ni medio de enriquecimiento durante 2 y 4 meses a 37 °C, sin agitación en condiciones herméticas. Se tomaron muestras cada 15 días durante 4 meses para evaluar la densidad óptica de los cultivos y contabilizar el número de bacterias por cuenta en placa y microscopia. Nuestros resultados muestran que, tras la incubación en medio mínimo, por 2 meses en estas condiciones se logra la formación de bacterias dormantes de M. bovis. Estas bacterias pueden ser reactivadas tras su incubación prolongada (45 a 60 días) con medio de cultivo enriquecido. Estos resultados preliminares nos permitirán evaluar los mecanismos génicos involucrados en la inducción de dicho estado de dormancia y su reactivación.

INTRODUCCIÓN

La infección de los bovinos con *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) es la causa de la tuberculosis bovina (BTB), la BTB sigue siendo un problema económico importante en muchos países y en todo el mundo, se ha estimado que aproximadamente 50 millones de bovinos están infectados con *M. bovis* (Shu et al., 2014).

La identificación y eliminación temprana de los animales enfermos es la base de los programas de erradicación de la BTB alrededor del mundo. La tuberculinización es la prueba ante-mortem autorizada por la Organización Mundial en Sanidad Animal (OIE, por sus siglas en inglés) (Rothel, Jones, Corner, Cox & Wood, 1990; de la Rua-Domenech et al., 2006; Gormley, Doyle, Fitzsimons, Mcgill & Collins, 2006). Tras el sacrificio, se realiza un examen post-mortem para buscar lesiones sugestivas a BTB, las cuales se analizan por técnicas histopatológicas y bacteriológicas (Corner, Gormley, & Pfeiffer, 2012). El cultivo es la "prueba de oro" para el diagnóstico de la BTB en todo el mundo. No obstante; la BTB sigue manifestándose como un problema en el ganado debido a

diversos factores, entre ellos las limitaciones en la especificidad y sensibilidad de los métodos actuales de diagnósticos (Ramos, Silva & Dellagostin, 2015).

La aplicación efectiva de programas de erradicación no ha sido posible en muchos países por motivos económicos o sociales o ha sido menos eficaz debido a la existencia de reservorios de la infección por *M. bovis* que sirven como una fuente continua de reinfección para los rebaños de ganado. Se necesitan con urgencia nuevas herramientas para el control de esta enfermedad, como vacunas o pruebas diagnósticas mejoradas, y el diseño de estas herramientas puede acelerarse mediante una mayor comprensión de la patogénesis de la enfermedad (Shu et al., 2014).

Las micobacterias requieren medios enriquecidos para crecer, los medios utilizados tradicionalmente son: Stonebrink y Lowenstein-Jensen ya que presentan una menor tasa de contaminación, aunque su rendimiento no siempre sea óptimo. Los medios Middlebrook 7H10 o 7H11 permiten una tasa de crecimiento más rápida, de 28 días, a diferencia de los 36 días con medio Stonebrink; sin embargo, estos medios son más susceptibles al crecimiento de microorganismos contaminantes (Hines, Payeur, & Hoffman, 2006). El intervalo generacional de M. bovis es de 16-20 horas, por lo que los cultivos se deben incubar hasta por ocho semanas (de preferencia 10 - 12 semanas) a 37°C en una atmosfera enriquecida con dióxido de carbono (CO2) al 5% (Corner, 1994). Lo anterior, limita el diagnóstico de la BTB y las subsecuentes pruebas de genotipificación. La necesidad de obtener un diagnóstico más rápido y certero ha motivado el desarrollo de sistemas de detección rápidos, conocidos como cultivos rápidos, los cuales se basan en la detección de CO2 radioactivo; sin embargo, estos sistemas son caros y el laboratorio debe tener la infraestructura necesaria para el manejo de radioisótopos, lo que limita su uso general (Wood & Jones, 2001). Entre las principales herramientas que se proyectan como desafíos para los programas de control, se encuentra el desarrollo de nuevas técnicas para el diagnóstico de la infección en las poblaciones y la aplicación de técnicas de genotipificación para la investigación epidemiológica de los aislados (Abalos & Retamal, 2004).

METODOS

Determinación de la cinética de crecimiento: para determinar la cinética de crecimiento de *M. bovis* AN5 se utilizó medio de cultivo mínimo, medio Sauton. Se evaluó la absorbancia a 600nm con un espectrofotómetro durante 50 días, las lecturas se tomaron cada 24 horas los primeros 10 días, posteriormente se tomaron cada 48 horas.

Las células de *M. bovis* AN5 fueron inducidas a dormancia empleando medio mínimo Sauton, el cual fue inoculado con 20 ml del cultivo empleado en la determinación de la cinética bacteriana. Los cultivos fueron incubados a 37 °C sin agitación en frascos de vidrio cerrados herméticamente durante dos y cuatro meses, respectivamente. Se tomaron muestras cada 15 días durante 4 meses para evaluar la densidad óptica de los cultivos y contabilizar el número de bacterias por cuenta en placa y microscopia. Cada cultivo se realizó por triplicado.

RESULTADOS

Con el objetivo de determinar la cinética de crecimiento de *M. bovis* AN5 en medio mínimo, se realizó una cinética de crecimiento, la cual mostró que *M. bovis* AN5 alcanzá su fase logarítmica intermedia de crecimiento a los ocho días de incubación y su fase estacionaria se mantiene desde los 14 días hasta los 38 días de incubación. Posteriormente su crecimiento decrece. Conociendo

este resultado y de acuerdo a los reportes de la literatura se estableció el tiempo para la inducción de la dormancia de *M. bovis* AN5.

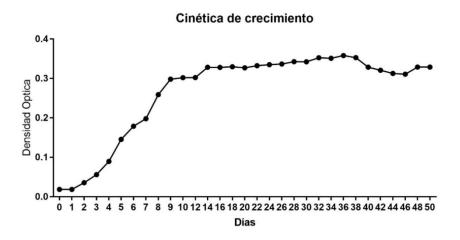


Figura 1. Cinética de crecimiento de *M. bovis* AN5. Esta cepa fue crecida en medio Sauton. Se determinó la absorbancia (600nm) cada 24 horas durante los primeros 10 días, a partir de este y hasta el día 50 las lecturas se hicieron cada 48 horas.

Las células de *M. bovis* AN5 fueron inducidas a dormancia empleando medio mínimo Sauton. Los cultivos fueron incubados a 37 °C sin agitación en frascos de vidrio cerrados herméticamente durante dos y cuatro meses, respectivamente. El monitoreo se realizó cada 15 días en tubos Falcón con 10 ml de medio. En la Figura 2 se observa como el crecimiento bacteriano en condiciones herméticas se mantiene sin cambios hasta los 75 días de incubación, posteriormente hay un aumento en el crecimiento bacteriano hasta los 105 días de incubación el cual decrece a los 120 días de incubación. El aumento en la O.D. a los 90 y 105 días, se puede deber al resultado de un desarrollo secundario menor de células que permanecen viables en el cultivo bacteriano o de una reanimación espontánea de las células no cultivables, o por una combinación de estos dos procesos. Conforme pasa el tiempo de estimación de la dormancia las bacterias tienen menos capacidad de generar colonias en placa.

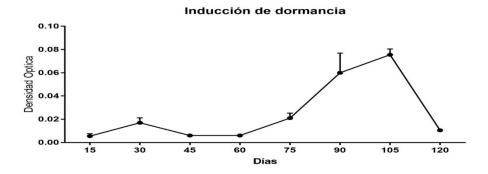


Figura 2. Dormancia de *M. bovis* AN5. Esta cepa se creció en medio Sauton. Se determinó la densidad óptica (600nm), haciendo lecturas por triplicado cada 15 días durante cuatro meses.

El monitoreo de la dormancia bacteria se realizó por conteo celular en cámara de Neubauer y por determinación de UFC (unidades formadoras de colonia) en placa. Como las bacterias fueron cultivadas en medio sin detergente, mostraron bastante agregación, por lo cual se separaron tras

su agitación mecanica 3 veces con perlas de vidrio, además se filtraron con jeringa calibre 21 por 8 veces. Para separar lo agregados celulares que no se separaron después de este proceso, las células se filtraron con membranas de 5 y 3 μ m de poro. La literatura indica que las células dormantes de M. tuberculosis están representadas por una mezcla de células ovoides de una longitud aproximada de 1.1 μ m y células cocoides de un diámetro aproximado de 0.5 a 0.7 μ m, por lo cual filtramos las células con una membrana de 1.5 μ m de poro. Las células obtenidas tras la filtración con membrana de 1.5 μ m se contaron en cámara de Neubauer cada 15 días. El cuadro 2, muestra el número de células dormantes obtenidas después de la filtración por membrana de 1.5 μ m.

Días de dormancia	5 μm	1.5 µm	
30	8.5 x 10 ⁶	1.2 x 10 ⁵	
45	1.9 x 10 ⁵	1.8 x 10 ⁵	
60	7 x 10 ⁴	2.3 x 10 ⁵	
75	1.8 x 10⁵	3.2 x 10 ⁵	
90	5.4 x 10 ⁶	3.5 x 10 ⁵	
105	4.4 x 10 ⁵	4.6 x 10 ⁶	
120	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁷	

Cuadro 2. Conteo bacteriano del tiempo de dormancia. Se realizó el conteo de los tubos para muestreo de medio Sauton con AN5, de los 30 a los 120 días.

Para determinar la dormancia de las células, estas se sembraron en medio middlebrock 7H9. En el cuadro 3 se observa el número de UFC obtenidas y el tiempo de crecimiento. La capacidad de formar UFC disminuye a los 30, 60, 90 y 105 días, de la misma forma, las células tardan más tiempo en crecer en placa. Factores que indican que las células están disminuyendo su metabolismo conforme ingresan a dormancia.

Días	UFC	Día de crecimiento
15	1.2 x 10 ²	15
30	5 x 10 ¹	25
45	8 x 10 ¹	30
60	5 x 10 ¹	60
75	2.6 x 10 ²	45
90	4 x 10 ¹	30

105	9 x 10 ¹	46
120	1.4 x 10 ²	46

Cuadro 3. Conteo de UFC de la dormancia después de obtener el filtrado del cultivo de AN5 en medio Sauton de la membrana de 1.5 μ m de cada 15 días, se realizó un cultivo en medio agar 7H10 Middlebrook con OADC.

CONCLUSIONES

Los resultados muestran que la incubación prolongada durante 2 meses, en medio mínimo sin enriquecimiento y en condiciones de hipoxia se induce la dormancia de *M. bovis*. Las células en este estado permitirán el estudio del estado de latencia en un modelo *in vitro*. Así como la evaluación de los factores que inducen la reactivación de dichas bacterias.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Abalos, P. & Retamal, P. 2004. Tuberculosis: ¿una zoonosis re-emergente? Rev. Sci. Tech. Off. Int Epiz. 23 (2): 583-594.
- 2. Blanco, F., Bianco, M., Meikle, V., Garbaccio, S., Vagnoni, L., Cataldi, A., & Bigi, F. 2011. Respuesta inmune en terneros experimentalmente infectados con diferentes dosis de Mycobacterium bovis. RIA. 37 (2):189–192.
- 3. Downing, K., Betts, J., Young, D., McAdam, R., Kelly, F. & Mizrahi, V. 2004. Global expression profiling of strains harbouring null mutations reveals that the five rpf-like genes of Mycobacterium tuberculosis show functional redundancy. Tuberculosis. 84 (3-4): 167-179
- 4. Gupta, R. & Srivastava, R. 2012. Resuscitation promoting factors: a family of microbial proteins in survival and resuscitation of dormant mycobacteria. Indian J Microbiol. 52 (2): 114-121.
- Mukamolova, G., Turapov, O., Young, D., Kaprelyants, A., Kell, D. & Young, M. 2002. A family of autocrine growth factors in Mycobacterium tuberculosis. Mol Microbiol. 46 (3): 623-635.
- 6. Ramos, D., Silva, P. & Dellagostin, O. 2015. Diagnosis of bovine tuberculosis: review of main techniques. Braz J Biol. URL: 10.1590/1519-6984.23613.
- 7. Rivera, S., Jiménez, J. & Deward, J. 2009. Valoración de las pruebas diagnósticas para tuberculosis bovina en un rebaño bovino ubicado en zona de alta incidencia del estado Zulia, Venezuela. Rev Cient. 19 (6): 566-575.
- 8. Romano, M., Aryan, E., Korf, H., Bruffaerts, N., Franken, C., Ottenhoff, T. & Huygen, K. 2012. Potential of Mycobacterium tuberculosis resuscitation-promoting factors as antigens in novel tuberculosis sub-unit vaccines. Microbes Infect. 14 (1): 86-95.
- 9. Ruggiero, A., Tizzano, B., Geerlof, A., Pedone, E., Pedone, Ć., Wilmanns, M. & Berisio, R. 2007. Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of a resuscitation-promoting factor from Mycobacterium tuberculosis. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 63: 870-873.
- 10. Shu, D., Heiser, A., Wedlock, DN., Luo, D., de Lisle, GW. & Buddle, BM. 2014. Comparison of gene expression of immune mediators in lung and pulmonary lymph node granulomas from cattle experimentally infected with Mycobacterium bovis. Vet Immunol Immunop. 160 (1): 81-89.
- 11. Thoen, OC. & Ebel, ED. 2006. Diagnostic tests for bovine tuberculosis. In: Thoen OC, Steele HJ, Gilsdorf JM, editors. Mycobacterium bovis Infection in Animals and Humans. 2nd ed. Iowa, USA. Blacwells. pp. 49-53.

- 12. UniProt (Universal Protein Resource). 2015. RpfA; RpfB; RpfC; RpfD; RpfE URL: http://www.uniprot.org/. Citado el 17 de noviembre de 2015.
- 13. Wivagg, C. & Hung, D. 2012. Resuscitation-Promoting Factors Are Required for β-Lactam Tolerance and the Permeability Barrier in Mycobacterium tuberculosis. J ASM. 56 (3): 1591-1594. URL: 10.1128/AAC.06027-11.
- 14. Zhang, Y. 2004. Persistent and dormant tubercle bacilli and latent tuberculosis. Front Biosci. 1 (9): 1136-1156.

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE JAMÓN TIPO VIRGINIA MEDIANTE SU CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA

A. Mendoza Pacheco, C. Cruz Calva, G. Reséndiz López, R. González Tenorio, N.-I. Toto Arellano y A. Monzalvo Hernandez

Universidad Tecnológica de Tulancingo (CTOF-UTEC)

Forrajes y Carnes de Santiago Tulantepec S.P.R de R.L.

RESUMEN

En esta investigación se evaluó la calidad del Jamón tipo Virginia de acuerdo a los parámetros que especifica la Norma Oficial Mexicana NOM-158-SCFI-2003, la importancia de realizar estos análisis en los alimentos, radica en que nos ayuda evaluar la calidad e inocuidad de un producto y si es apta para el consumo humano. Para la caracterización físico-química y microbiológica, se tomó muestra de jamón Virginia con un número de lote 07061639 el cual se obtuvo de la empresa Forrajes y Carnes de Santiago Tulantepec S.P.R de R.L. Los métodos que se utilizaron para determinación de los parámetros bromatológicos fueron: Humedad, Grasa, Fibra, Proteína, Cenizas y Sodio con sus diferentes normas para realizar los procedimientos adecuados. Para los parámetros microbiológicos fue el método de siembra por vertido para mesófilos aerobios, mohos y levaduras, para determinación de s.aureus y E.coli se empleó el método rápido con placas petrifilm. Los resultados que se presentan permiten concluir que los parámetros físico-químicos y microbiológicos si cumplen con la Norma oficial Mexicana NOM-158-SCFI-2003 y por lo tanto el producto es apto para consumo humano.

INTRODUCCIÓN

La importancia de realizar los análisis en los alimentos, como el análisis físico-químico y microbiológico, radica en que nos ayuda evaluar la calidad e inocuidad de un producto.

El presente proyecto "análisis fisicoquímicos y microbiológicos del jamón Virginia marca Carnex" muestra información sobre la definición de análisis fisicoquímicos y microbiológicos de igual manera los puntos que los conforman.

Este proyecto fue un reto para nosotros ya que no teníamos nociones de que se trataban los análisis fisicoquímicos y microbiológicos, pero investigando sobre el tema y enfocarnos en las NOM y con ayuda del personal de la planta y el doctor Roberto se concluyó el proyecto satisfactoriamente.

Para poder entender y culminar el proyecto se investigó los orígenes del jamón, también fue de utilidad el haber participado en la elaboración del producto ya que se observó el proceso a fondo y la información se plasmó en un diagrama de flujo que es comprensible para cualquier persona. Esté punto es importante saberlo para pasar a la realización de los análisis ya que es información que va de la mano para poder elaborar la etiqueta.

Este proyecto se basó en los requisitos que pide la NOM 158, que nos indica los parámetros de calidad e inocuidad que debe tener un Jamón ya que es una NOM solo enfocada a los jamones cocidos y en las NOM en las que nos debemos enfocar para realizar una etiqueta.

Enfocándonos en loa análisis fisicoquímicos nos basamos en los procedimientos de cada una de sus diferentes NOM para poder determinar humedad, proteína, grasa, cenizas, carbohidratos, sodio y fibra, con los resultados obtenidos se determinó que el Jamón Virginia que se realiza en la planta está dentro de la clasificación comercial de "". Conforme los parámetros que la NOM 158

clasifica a los jamones. Cabe mencionar que en alguna de las NOM se modificó la manera de realizar procedimiento y la cantidad de algunos reactivos no son los determinados o no son los mismos los que determina la NOM pero no influye en nada para la determinación de los análisis puestos que se realizó conforme al material que se cuenta en el ICAP.

Para la realización de los análisis microbiológicos se realizaron los procedimientos que determinan las NOM. Para la determinación de mesofilos aerobios, mohos y levaduras se realizó el análisis tradicional el cual consta de preparar agar y realizar la siembra de la muestra en cajas Petriy se somete a cierta temperatura para que se puedan reproducir las bacterias y para confirmas se realizó también con las Placas petrifilm™3M™ la cual es más sencillo ya que solo la muestra es distribuida en la placa y se somete a la incubación. En el caso del S. aureus y E.coli solo se realizó con las placas. Observando los resultados obtenidos y comparando con los parámetros que permite la NOM 158 se determinó que es un producto libre de mohos y levaduras, s. aureos y E.coli, en el caso de mesofilos aerobios tiene una cantidad de 50UFC/g pero no rebasa los límites que son de 100,000UFC/g y es un producto apto para el consumo.

Este proyecto fue de importancia ya que nos permite saber las cantidades de nutrientes que tiene el Jamón y si está libre de bacterias para su consumo.

La empresa Forrajes y Carnes de Santiago Tulantepec S.P.R de R.L, en su afán por iniciar actividades de exportación de sus productos, requiere de contar con todos los elementos necesarios para cumplir con las disposiciones legales para la comercialización de sus productos. Estas disposiciones legales incluyen el contar con la información nutrimental, y por otro lado asegurar la inocuidad de cada uno de sus productos. En este sentido, se pretende que mediante el análisis fisicoquímicos y microbiológicos, se tenga la información necesaria para describir las características del producto y de esta manera dar cumplimiento al etiquetado con el fin de que esta empresa pueda iniciar sus operaciones de comercialización a nivel internacional. El proyecto "Característica fisicoquímicas y microbiológicas de Jamón Virginia marca CARNEX" tiene como finalidad realizar pruebas de laboratorio que describan las características que contiene el producto ya mencionado y mejorar la calidad e inocuidad del producto.

FUNDAMENTOS TEORICOS

Es un tema muy debatido la proporción de alimentos de origen animal y vegetal en el hombre primitivo (periodo paleolítico) según algunas teorías la caza podría suponer hasta un 35% de la composición de la dieta del hombre, la que equivaldría a unos 800 gr de carnes rojas diarias a lo que es lo mismo cuatro veces a la cantidad de carne que se suele consumir en la actualidad. Si esto fuera cierto habría que preguntarse por las repercusiones sobre la colesterolemia (concentración sanguínea de colesterol. Es un término también empleado para referirse a la hipercolesterolemia o evaluación de los niveles plasmáticos de colesterol) de estos individuos. En realidad su incidencia aún considerado como ciertos los datos aportados sería baja por varios motivos: el primero es la escasez de grasa en los animales de vida silvestre: en segundo lugar, la baja esperanza de vida del hombre primitivo, que no daría tiempo a la formación de placas de ateroma (lesión de la capa interna de las arterias que se caracteriza por el depósito de grasa en forma de manchas amarillentas): por ultima hemos de tener la gran actividad física que desarrollaban estos individuos, por lo que el riesgo aún disminuirá más.

La carne es una de los alimentos más frecuentes compartidos la cual no suele ocurrir con los alimentos de origen vegetal [1] La trasformación de la carne se ha realizado desde tiempos remotos con el fin primordial de conservarla con periodos de largos tiempos. Convertir la carne en embutidos, ayuda sin duda a la conservación. Los embutidos abarcan la preparación y una gran cantidad de productos como jamón, chorizo y longaniza entre otros [2]. La producción de carne de porcino guarda una gran relevancia dentro de la ganadería mexicana, al representar

aproximadamente una cuarta parte de la carne que se producen en el país y ubicarse como una de las carnes más demandada en el medio rural, en donde la producción de traspatio se ha mantenido como fuente de abastecimiento de carne para esa población. El porcino doméstico no existía en América y son los españoles lo que la introducen en los terrenos conquistados. Es importante señalar que la carne de esta especie era consumida por parte de algunas etnias de América, como producto de la cacería del jabalí. En la época de la Conquista, el porcino fue la principal fuente de abasto de carne para los conquistadores, los cuales alimentaban con el maíz que los indígenas pagaban como tributo. Posteriormente se permitió a la población indígena disponer de algunos animales que dieron origen a la producción para autoabastecimiento, bajo un esquema de pastoreo, que actualmente también se le conoce como traspatio. En los años 70's, la porcicultura experimentó un cambio sustancial hacia la modernización, con el surgimiento de granjas altamente tecnificadas, lo que se tradujo en un aumento significativo en los niveles de productividad. Esta situación, en conjunto con el crecimiento en la demanda de carne de porcino, conllevó a que la porcicultura ocupara el primer lugar dentro de la oferta de carnes en México, al aportar hasta el 49% de las carnes producidas en los años 1983 y 1984 [4]. En el año de 1991, el 99 % de las unidades de producción contaban con una población de menos de 20 cabezas, lo que representó el 52 % del inventario nacional, mientras que el 1 % restante disponía de más de 20 cerdos por granja, conjuntando el 48 % del inventario. Esta situación ha traído como consecuencia un aumento en la capacidad contaminante de las granjas porcinas, en especial, en regiones del país que presentan una alta densidad de población porcina, ya que la porcicultura en México independientemente de ser practicada en todo el país, muestra una gran concentración en pocas entidades, donde la operación de grandes grupos de productores y empresas permite ofertar grandes volúmenes de carne para el abasto interno e inclusive para la exportación, de tal forma que el 68.7 % de la producción nacional es generada en 6 entidades del país: Jalisco, Sonora, Guanajuato, Puebla, Yucatán y Michoacán. La porcicultura es una amplia y compleja cadena productiva que incluye desde la producción de granos forrajero y oleaginoso para la elaboración de alimentos equilibrados, la creación de fármacos y productos biológicos para el cuidado de la salud de los animales hasta llegar a los establecimientos de sacrificio, de Tipo Inspección Federal (TIF), para que la carne de cerdo se convierta en un alimento realmente sano (SAGARPA, 2016)

2.1 Aspectos de la certificación TIF. Un sello de calidad que brinda seguridad

La certificación TIF es un reconocimiento que otorga SAGARPA a las plantas procesadoras de carnes que cumplen con las normas y exigencias del Gobierno Mexicano y se coloca un sello véase ¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.. Sello TIF.



Figura 1. Sello TIF

Un Establecimiento TIF es una instalación de sacrificio de animales de abasto, frigoríficos e industrializadores de productos y subproductos cárnicos, que es objeto de una inspección sanitaria permanente, en la que se verifica que las instalaciones y los procesos cumplan con las

regulaciones que señala SAGARPA para que los alimentos sean inocuos. Los Establecimientos TIF tienen el propósito de obtener productos de óptima calidad higiénico – sanitaria con reconocimiento internacional, ya que cuentan con sistemas de inspección y controles de alto nivel que promueven la reducción de riesgos de contaminación de sus productos; esto se logra a través de la aplicación de Sistemas de inspección por parte del personal capacitado oficial o autorizado. La certificación TIF minimiza el riesgo de que los productos y subproductos cárnicos puedan representar una fuente de zoonosis y (se dice de cualquier enfermedad propia de los animales que incidentalmente puede contaminarse a las personas) o diseminadores de enfermedades a otros animales, disminuyendo la afectación a la salud pública, la salud animal, la economía y el abasto. Esta certificación trae consigo una serie de beneficios a la industria cárnica, permitiendo la movilización dentro del país de una manera más fácil. Del mismo modo, abre la posibilidad del comercio internacional, ya que los establecimientos TIF son los únicos elegibles para exportar [5].

2.2. Despiece de canal

Se define como canal al cuerpo del porcino, sacrificado en rastro, al cual se le ha quitado cabeza, piel, viseras y cañas como se muestra en la *¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..*

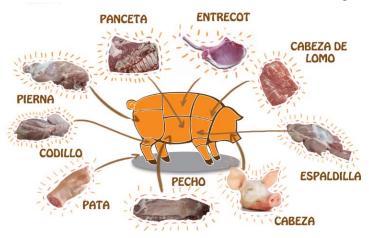


Figura 2. Despiece del canal.

En algunas regiones existen cientos de productos cárnicos, ver Figura 3) distintos, con nombres y sabores diferentes. Pese a la diversidad de formas y sabores, muchos de estos productos usan tecnologías de elaboración similares. Estos productos pueden clasificarse como sigue:

Según el método, el sabor de la carne se puede variar mediante el empleo de especias, el modo de presentación, el grado de salazón, curación, desecación y ahumado.

Una clasificación de los productos cárnicos es la siguiente:

- Embutidos crudos: chorizos y longanizas.
- Embutidos escaldados: salchichas.
- Embutidos cocidos: queso de puerco y morcilla o rellena.
- Carnes curadas: jamón, tocino y chuleta



Figura 3. Productos derivados del cerdo

2.3. Procesos de elaboración de jamón cocido

2.3.1. Deshuesado y despiece

El deshuesado se realiza de forma manual. Tras el mismo se procede al despiece de las masas musculares, lo que conlleva eliminar el exceso de grasa de cobertura, cartílagos, tendones, ganglios linfáticos y ligamentos que podrían perjudicar la formación del gel cárnico y, en consecuencia, la cohesión y la textura del producto final. A ello hay que añadir que se reduciría la homogeneidad de las diferentes piezas.

A menudo, esta operación "de limpieza" se acompaña de otra que consiste en realizar cortes en el tejido conjuntivo que cubre cada músculo para favorecer la salida de la proteína muscular y su posterior gelificación.

- Métodos de salazón. Actualmente destacan dos tendencias en la salazón del jamón cocido:
- Salazón húmeda. Realizada casi siempre por sistemas de inyección con multiaguja, lo cual permite fabricar un elevado número de jamones al día con características bastante uniformes.
- Ablandadoras, que presentan un mayor diámetro y facilitan la repartición de la salmuera.
 Salazón "más seca"

Denominada así para diferenciarla de la empleada en los jamones curados. Se realiza durante el malaxado, aportando los elementos de la salmuera en polvo y añadiendo cierta cantidad de agua para facilitar la disolución y penetración de las sales.

A día de hoy, es más frecuente el empleo de la salazón húmeda que el de la salazón "más seca", ya que es más rápida y consigue una mayor homogeneidad de las piezas.

2.3.2. Moldeado

Consiste en introducir las piezas en moldes para que adquieran una forma más atrayente de cara al consumidor y/o permitan una mejor funcionalidad de cara al transporte u otras operaciones en las que facilitarán el manejo. Se lleva a cabo en moldes, existiendo en el mercado una gran variedad de materiales para su fabricación. Por lo general, se emplean moldes más rígidos para aquellos jamones fabricados a partir de una extremidad entera. Unos moldes muy frecuentes en el

mercado son los fabricados con acero inoxidable y forrados con plástico, los cuales soportan bien el posterior tratamiento térmico de cocción.

2.3.3. Rellenado

Permite un mejor tratamiento posterior de la pieza y una presentación comercial más aceptable al introducir porciones de jamón en los huecos que puedan haber quedado en el contenido del molde

2.3.4. Desgaseado

Se eliminan las burbujas de aire que puedan haber quedado en el "limo del malaxado", lo cual mejora la calidad del producto final.

2.3.5. Prensado

Permite mejorar la presentación al reforzar la acción del moldeado. Se trata de una operación prescindible en aquellos jamones envasados al vacío, pues la presión negativa del mismo ya garantiza una forma adecuada.

2.3.6. Maduración

Se realiza en algunas ocasiones para mejorar la calidad del producto final. Tiene lugar en saco de cocción o en molde.

2.3.7. Cocción

La cocción es una de las operaciones más importantes del proceso pues tiene una serie de efectos tecnológicos e higienizantes:

- Ligazón de la masa mediante la coagulación de las proteínas, estableciéndose un gel cárnico que favorece la aparición de la textura deseada.
- Desarrollo de las características sensoriales propias del jamón cocido: sabor, aroma, textura y color.
- Inactivación de las enzimas cárnicas (lipasas y proteasas, fundamentalmente) que pudieran causar alteraciones posteriores en el producto.
- Prolongar la vida útil, al destruir las formas vegetativas de los microorganismos, ya que se emplean valores de tiempo y temperatura típicos de una pasterización.

2.3.7.1 Procedimiento de la cocción

El tratamiento térmico de cocción se realiza en baños de agua caliente que no llegan a alcanzar la ebullición. El tiempo de inmersión dependerá, sobre todo, del calibre de la pieza pero, en todos los casos, debe ser suficiente para que en el interior del producto se alcance una temperatura de pasterización, que se mantendrá hasta que se complete el tratamiento térmico. A esta temperatura no se destruyen las endosporas bacterianas ni las esporas fúngicas, por lo que podrían desarrollarse posteriormente si el jamón se almacena a temperatura ambiente. Es por ello que tras el tratamiento térmico se debe proceder a un rápido enfriamiento que debe continuar durante el almacenamiento.

La cocción puede llevarse a cabo de diferentes maneras: a temperatura constante (generalmente a unos 80° C) o con temperatura escalonada. Este último método se desarrolla en una primera fase de 30-60 minutos de duración a 90° C y una segunda a 75-85° C de duración similar. De esta manera, con la primera fase se consigue el cierre de los poros del jamón, lo que aumenta el rendimiento del producto final. En cualquier caso, hay que evitar la "sobrecocción" pues conlleva una consistencia inadecuada, escaso desarrollo del color o inestabilidad del mismo, pérdida de jugosidad y alteraciones del sabor. Una vez efectuado el tratamiento térmico, es preciso tener cuidado con la posterior manipulación ya que existe un importante riesgo de contaminación, sobre todo por bacterias lácticas que son los principales microorganismos alterantes de este producto. Los jamones cocidos tradicionales son más propensos al deterioro microbiano por su menor contenido en sal y aditivos que los jamones convencionales.

2.3.4. Reprensado

Se utiliza en jamones no malaxados para terminar de configurar su forma final.

2.3.5. Enfriamiento

Se emplean duchas (de agua o aire fríos) o baños (de agua fría) a 0-4° C, para reducir la temperatura del producto hasta valores de refrigeración (4° C). Es importante que el descenso de la temperatura sea lo más rápido posible, sobre todo en el intervalo de 20-40° C pues en él existen temperaturas óptimas para la reactivación de la microbiota superviviente (Carlos, 2011).

Como se mencionó anteriormente, el jamón cocido se prepara con las piezas de carne identificables obtenidas a partir del despiece total o parcial de los miembros posteriores de cerdos aptos para el consumo. De ello se desprende que puede proceder de una misma extremidad posterior, o de ambas, ya sean, o no, del mismo animal. La obtención del pernil suele ser parecida a las del jamón curado de cerdo blanco. En la elaboración de jamón cocido, la adecuada elección de la materia prima es fundamental para la obtención de un producto óptimo. En este sentido hay dos factores a tener en cuenta las características microbiológicas de la materia prima y la aptitud tecnológica de la carne para el tratamiento al que va hacer sometida. El valor del pH resulta de esencial importancia en la evaluación de esta aptitud, ya que este dato permite predecir la capacidad de retención de agua de la carne (CRA) de la que dependerán las pérdidas por cocción y la jugosidad final del jamón. El diagrama de flujo del proceso de elaboración de jamón cocido se muestra en la Figura 4

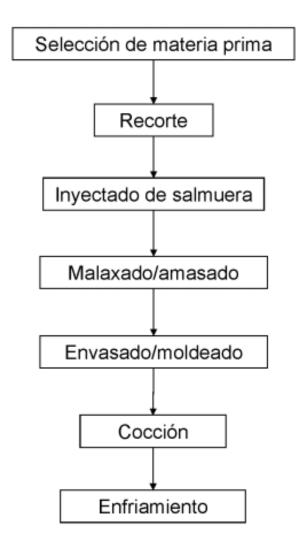


Figura 4. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de jamones cocidos

La salmuera puede ser inyectada en la pieza de carne mediante diversos métodos (inmersión en salmuera, inyección, etc.), siendo el más empleado el de inyección, que consiste en inyectar la salmuera directamente mediante un sistema de agujas huecas. La etapa de malaxado/amasado permite aumentar la blandura, jugosidad y cohesión del jamón cocido, así como el rendimiento del producto, ya que tanto el amasado como el malaxado inducen la extracción de las proteínas solubles en sales (actina y miosina), que coagulan durante el calentamiento e influyen positivamente sobre la consistencia.

2.4 Clasificación de la materia prima

La selección se basa en el estudio de ciertos parámetros que determinarán si las piezas son aptas, o no, para su transformación, o si será necesaria alguna variación con respecto al sistema de fabricación propio de la industria. Los principales parámetros a considerar son:

Peso. Es un factor importante cuando se pretende elaborar un jamón cocido a partir de un pernil entero. Si éste va ser despiezado, el peso no es un factor relevante.

Espesor de la grasa de cobertura.Es importante conocerlo para saber el tipo de jamón que se va a elaborar. Generalmente se establecen tres grosores: inferior a 15 mm, de 15 a 25 mm y superior a 25 mm, no debiendo superarse los 20 mm en los jamones magros y extramagros.

pH a las 24 horas post-sacrificio. En ningún caso debe ser superior a 6,2, pues existe el riesgo de que aparezcan carnes DFD, que son susceptibles de contaminación microbiana. El límite inferior es de 5,5, nivel bajo el cual es muy probable la presencia de un defecto tipo PSE. Se suelen establecer cuatro categorías de jamones en función de la medición del pH en el músculo Semi-membranosos:

Jamones con pH < 5,5 (defecto PSE)

Jamones con pH comprendido entre 5,5 - 5,8

Jamones con pH comprendido entre 5,8 - 6,2

Jamones con pH > 6,2 (defecto DFD)

En la elección de la materia prima, lo ideal es que el pH se sitúe en torno a 5,8 pues con este valor se consigue una capacidad de retención de agua (CRA) apropiada. La determinación del pH debe hacerse en el interior de la pieza y, al menos, en tres sitios diferentes.

2.4.1. Características de calidad

- **-Color.** Al igual como ocurre con el jamón curado, el jamón cocido destaca por tener un color rosáceo como consecuencia de la adición de nitritos. El nitrito es reducido a óxido nítrico, el cual reacciona con la mioglobina formando nitrosomioglobina, que es la que da el color rojizo. Este color cambia de rojo a rosa durante el proceso de cocción, especialmente a temperaturas superiores a 65°C, debido a la formación de nitrosohemocromo, que da una coloración rosa claro.
- **Textura.** La textura de los jamones cocidos depende de factores como el contenido en humedad, la presencia de tejido conectivo, el tratamiento térmico y el grado de hidrólisis al que hayan llegado las proteínas miofibrilares. Por otro lado, algunos factores del proceso como la etapa de enfriamiento, pueden afectar a la jugosidad, la textura global, la aceptabilidad y el color.
- Aroma y sabor. El jamón cocido experimenta numerosos cambios bioquímicos durante su elaboración como consecuencia de reacciones enzimáticas como la proteólisis y la lipólisis aunque, en este tipo de productos, las enzimas responsables tienen un tiempo de acción muy corto. La elevada actividad de agua y el bajo contenido en sales del jamón cocido hace que las condiciones sean muy favorables para la proteólisis, aunque también es cierto que las enzimas musculares son sensibles a temperaturas mayores de 50°C, lo que provoca su rápida inactivación durante la cocción.

2.5 Descripción particular (Virginia)

Embutido cárnico curado y cocido con una extensión del 65% preparado con las extremidades posteriores del cerdo, que ha sido sometido a un tratamiento de tenderizado reducción de partícula, curado por masaje, cocido y mantenido en refrigeración lo cual le confiere el grado de conservación, y con las características sensoriales peculiares de color, olor, sabor y textura.

2.6. Descripción de análisis fisicoquímicos

El análisis químico de los alimentos constituye un parte importante de un programa de garantías de la calidad en el procesado de los alimentos; empezando desde los ingredientes y los materiales

brutos, a lo largo de todos el procesados, hasta los productos acabados. El análisis químico es igualmente importante en la formulación y el desarrollo de nuevos productos, y en la evaluación de nuevos procesos para la elaboración de productos alimentarios y en la identificación del origen de los problemas en el caso de los productos inaceptables. Desde un punto de vista etimología la palabra Bromatología se deriva del griego $\beta \rho \tilde{\omega} \mu \alpha$ (broma), alimento y $\lambda o \gamma o s$ (logos), estudio y significa *Ciencia de los alimentos*. No obstante, definirla como concepto no es tarea fácil porque el sentido de esta ciencia ha ido variando con su desarrollo histórico y, según las épocas, se han hecho mayor énfasis en los aspectos, o enfoques, que han estado más en consonancia con las preocupaciones de cada momento. En realidad, resulta más fácil describir el concepto de Bromatología que definirlo.

Durante muchos siglos, el ser humano se ha alimentado de un modo rutinario, aunque algunas de sus prácticas empíricas, seguidas desde muy antiguo, pueden considerarse totalmente acertadas. El estudio de los alimentos bajo una consideración científica, en el sentido actual de esta palabra, es un empeño relativamente reciente. Aunque tenga antecedentes desde la época de Hipócrates (siglo V a. de C.), sus fundamentos se inician con los trabajos de Lavoisier y adquieren un auténtico auge a raíz de los descubrimientos de Pasteur, momento considerado como el arranque de la Bromatología en cuanto en Ciencia, que han continuado su desarrollo hasta la época actual. Por ello, el concepto de la Bromatología debe ser expresado de un modo vivo dinámico, que refleje su evolución a través de la historia y permita, a su vez, sugerir algunas perspectivas a cerca de su desarrollo futuro.

En el momento actual debemos entender la Bromatología como una ciencia que responde a un cuerpo coherente de conocimientos sistematizados a cerca de la naturaleza de los alimentos, de su composición química y de sus comportamientos bajo diversas condiciones. Por tanto, se puede definir como la ciencia que se centra en el estudio de los alimentos desde todo los puntos de vistas posibles, teniendo en cuanta todos los factores involucrados, tanto en la producción de las materias primas, como en su manipulación, elaboración, conservación, distribución, comercialización y consumo.

La diversidad de sustancias químicas integradas en la composición de los alimentos resulta un factor de fundamental importancia para las distintas fases implicadas en los procesos de fabricación, comercializando y consumo de los alimentos:

- Los cambios que se producen durante la preparación y manipulación de las materias primas.
- Los procesos tecnológicos de elaboración de los animales.
- > La conservación de los ya preparados.
- Los procesos culinarios necesarios que se han de aplicar para su consumo.

Así, los fenómenos químicos y enzimáticos que acaecen en los alimentos guardan una relación muy estrecha con los requisitos que deben cumplir para que tales alimentos ofrezcan una buena calidad organoléptica o un excelente valor nutritivo.

En definitiva, la Bromatología debe ser considerada como una ciencia aplicada, estrechamente relacionada con la industria alimentaria y las leyes de la alimentación, dentro de una perfecta compenetración entre la ciencia y la práctica [6].

2.7. Parámetros de la calidad

Humedad. La determinación de humedad puede ser el análisis más importante llevado a cabo en un producto alimentario y, sin embargo, puede ser el análisis del que es más difícil obtener resultados exactos y precisos. La materia seca que permanece en el alimento posterior a la remoción del agua se conoce como sólidos totales. Este valor analítico es de gran importancia

económica para un fabricante de alimentos. Los datos sobre contenido de humedad se utilizan para expresar los resultados de otras determinaciones analíticas en una base uniforme (por ejemplo, con base en el peso seco). El contenido de humedad de los alimentos varía enormemente. El agua es un constituyente principal en la mayoría de los productos alimenticios. La forma de preparar la muestra para este análisis quizá sea la fuente de error potencial más grande, así que se deben tomar precauciones para minimizar las pérdidas o ganancias de agua inadvertidas que ocurren durante estos pasos. Obviamente, cualquier exposición de la muestra a la atmósfera abierta debe ser tan breve como sea posible. Se debe minimizar cualquier probabilidad de calentamiento de la muestra mientras se muele. La pérdida de humedad de la muestra se manifiesta en forma lineal con respecto a la humedad relativa ambiental [7]. Grasa. La grasa son compuestos orgánicos muy heterogéneos, pero tiene en común la propiedad de ser solubles en algunas substancias denominadas solventes orgánicos, como pueden ser (C₂H₅)₂O, éter de petróleo, C₆H₁₄, etc. Los alimentos de origen natural para los animales, por lo general contienen niveles bajos de grasa, pero en los alimentos balanceados el empleo de aceites, grasas y cebos es práctica común a que aportan un beneficio económico-nutricional [8].

Fibra. La fibra alimentaria ha suscitado, desde hace años, un interés progresivo dentro de la comunidad científica internacional a raíz de los estudios epidemiológicos que establecieron una relación entre la carencia de este componente en la dieta y la mayor incidencia de ciertas enfermedades y trastornos fisiológicos de las sociedades desarrolladas. Dichas investigaciones han ido encaminadas a delimitar la definición de fibra alimentaria "dietary fibre", desarrollar técnicas adecuadas, estudiar las propiedades fisicoquímicas y profundizar en los efectos fisiológicos. El auge de la fibra se debe, a la transcendencia de sus efectos fisiológicos. Se han indicado que su consumo puede prevenir una serie de enfermedades de gran importancia, sobre todo en la civilización occidental, como el cáncer de colon y la diabetes. La relación entre la acción fisiológica de la fibra alimentaria y el descenso de determinadas dolencias tiene un origen pura mente epidemiológica; es necesario, por tanto, un conocimiento más profundo sobre su comportamiento real en el organismo. Actualmente se están llevando a cabo estudios de distinta amplitud para conocer las propiedades fisicoquímicas de la fibra y trabajos experimentales sobre el comportamiento de sus diferentes componentes en el tracto digestivo 1 humano. El estado actual del tema es tal que se debe exigir a los científicos, y cuanto más a los profanos, una cierta prudencia a la hora de informar a los consumidores[9].

Proteína. Entre todos los compuestos químicos, las proteínas deben considerarse ciertamente como lo más importantes, puesto que son las sustancias de la vida. Desde un punto de vista químico, las proteínas son polímeros grandes. Son poliamidas y los monómeros de los cuales derivan los ácidos, a –amino carboxílicos. Una sola molécula proteínica contiene ciertos, e incluso miles, de unidades de aminoácidos, las que no pueden ser de unos 20 tipos diferentes. El número de combinaciones diferentes, es decir, el número de moléculas proteínicas distintas que pueden

existir, es casi infinito. Es probable que se necesiten decenas de miles de proteínas diferentes para formar y hacer funcionar un organismo animal.

Cenizas. Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica. Las cenizas normalmente, no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las perdidas por volatilización o a las interacciones químicas entre los constituyentes.

El valor principal de la determinación de cenizas (y también de las cenizas solubles en agua, la alcalinidad de las cenizas y las cenizas insolubles en ácido) es que supone un método sencillo para determinar la calidad de ciertos alimentos, por ejemplo en las especias y en la gelatina es un inconveniente un alto contenido en cenizas. Las cenizas de los alimentos deberán estar comprendidas entre ciertos valores, lo cual facilitará en parte su identificación.

En los vegetales predominan los derivados de potasio y en las cenizas animales los del sodio. El carbonato potásico se volatiliza apreciablemente a 700°C y se pierde casi por completo a 900°C. El carbonato sódico permanece inalterado a 700°C, pero sufre pérdidas considerables a 900°C. Los fosfatos y carbonatos reaccionan además entre sí [10].

Sodio. Se señala como fuentes principales de sodio en la dieta, las verduras en conserva, las salsas listas y la sal de mesa agregadas a los alimentos. Por su parte, indican que el 10% de la ingesta de sodio proviene de alimentos como frutas, verduras, leche y pescado, que lo poseen en forma natural, el 75% de sodio proviene de alimentos procesados y el 15% restante es ingerido a través de la sal de mesa. De esta manera, se ha determinado que el cloruro de sodio es la principal fuente del sodio en los alimentos, sin embargo se debe tener en cuenta que hay otras fuentes de sodio que contribuyen al total del sodio en la dieta, tales como el glutamato mono sódico, componente de la salsa de soya, y aditivos de alimentos, como el benzoato de sodio, nitrato de sodio, ácido pirofosfato de sodio. El bicarbonato de sodio y citrato de sodio se ingieren como aditivos alimentarios y pueden consumirse en cantidades sustanciales como antiácidos[10].

INVESTIGACIÓN Y EXPERIMENTACIÓN

En la elaboración de este producto se utiliza una unidad integral para jamón distribuida por la empresa FABPSA®. El producto es embutido y cocinado en bolsa termo-encogible la cual es distribuida por la empresa ZUBEX SA DE CV. Todos los aditivos utilizados y materiales (Tabla 1) de empaque que se utilizan en la elaboración de este producto se observan en la, se reúnen las condiciones para su aplicación y su uso según lo declarado en los certificados de calidad. Las operaciones que se realizan para la fabricación de este producto incluyen el deshuesado, desgrasado, preparación de salmuera y masaje. Los operarios de aseguramiento de la calidad serán los encargados de revisar todas las operaciones del proceso, recibir la materia prima, revisar los certificados de calidad y decidir el destino final de todas las materias primas y productos de acuerdo a las especificaciones de control establecidas. Las maquinas utilizadas en el procedimiento del Jamón se encuentran en la (Tabla 2). Maquinas industriales para el proceso del Jamón Virginia.

Tabla 1. Aditivos utilizados y su porcentaje

MATERIAS PRIMAS	%	KG
Pierna y/o espaldilla de cerdo	45,01	100,00
Agua	31,51	70,000
Hielo	10,80	24,000

Fécula de papa	7,02	15,600
Condimentos	2,97	6,600
Proteína de soya + fosfatos	2,08	4,620
Sal de curación	0,45	1,000

Tabla 2.La marca y modelo de máquinas industriales para el proceso del Jamón Virginia NOMBRE DE LA MÁQUINA MARCA **MODELO** Molino M-32-3 Torrey **Tombler EDEL** SUM-300C Super Spool Valve P648801-2 Clipadora Paila de cocimiento S/M S/M Mesa, embutidora de acero inoxidable S/M Handtmann Embutidora de vacío VF608 Carro de carga S/M Fábrica de hielo Torrey MHN-550/1210

3.1. El proceso de elaboración

El proceso de elaboración consistió, en deshuesar, desgrasar y eliminar tejido conectivo de las piezas cárnicas para posteriormente someterla al proceso de tenderizado, se utilizó un tenderizador eléctrico (Mendoza), donde se pasa la carne para obtener un tenderizado. Posteriormente se somete al proceso de molido, se utilizó un molino eléctrico con placa de 2 k (sin navaja, ver Figura 5. Se depositó la carne molida en un Tombler o también conocido como bombo de masaje (su utilidad es dar masaje a los productos cárnicos en ambiente de vacío).



Figura 5. Homogenización de la carne

Procedieron se pesaron los condimentos de la unidad de acuerdo a la formulación. Posteriormente se preparó la salmuera de acuerdo a la formulación, el orden de adicción de los insumos fue el siguiente:

Pesaron y depositaron la cantidad de agua necesaria en el agitador de salmuera posteriormente se diluyo la proteína de soya y el colorante se agregaron los condimentos añadiéndose un poco más de hielo y agregaron la fécula más la sal de curación. Se vacío el total de la salmuera preparada en el Tombler, (Figura 6) y se masajeo en frio por un lapso de 3000 ciclos (5 ciclos de 50 minutos con 10 minutos de paro) un giro hacia cada lado. Dejar madurar 12 horas (en frío).



Figura 6. Añadir salmuera preparada

Posteriormente se cortaron las fundas termo-encogible de 8.2 in. X 50 cm de largo, y engrapar por un extremo con una clipadora. La embutidora fue ajustada a 3558 cm3, y así proceder al embutido seguido del engrapado al otro extremo (Figura 8). Fueron colocados en unos moldes y se pasaron a la paila con un vapor de 70°C hasta obtener una temperatura interna de 69-71°C. Una vez alcanzando la temperatura se retiraron las piezas de los moldes y finalmente se pusieron a enfriar sumergiendo las piezas en hielo (Figura 9), se retiraron y se conservaron en refrigeración (2-4°C).



Figura 86. Embutido y Engrapado



Figura 9. Piezas sumergidas en hielo

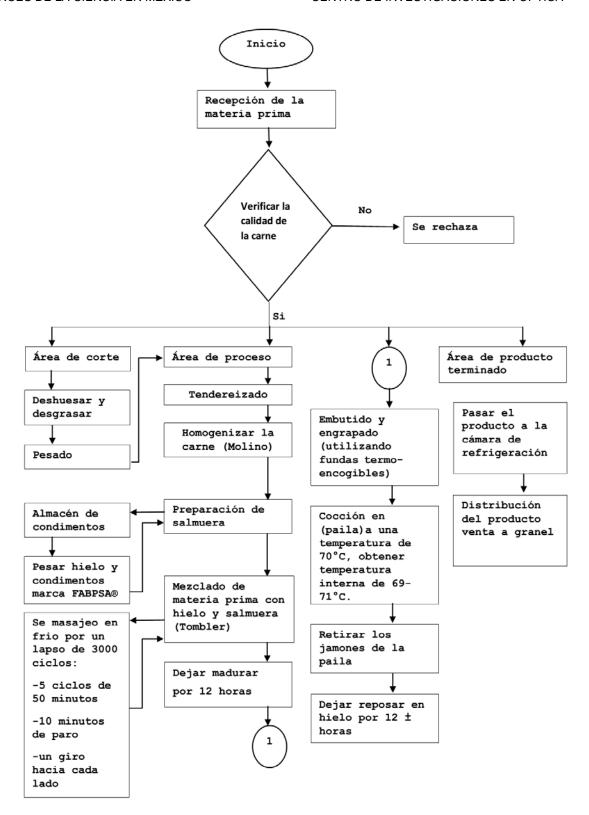


Diagrama de flujo de proceso Jamón

De acuerdo con la NOM-158-SCFI-2003 se establecen los métodos de prueba para los efectos de llevar a cabo las verificaciones físico-químicas del jamón, que involucran la determinación de Humedad, Grasa y Proteína. Sin embargo los análisis físico-químicos para el jamón, es necesario realizar otras pruebas como lo son ceniza, fibra y determinación de sodio. Se realizó una previa preparación de la muestra de jamón, que consistió en la homogenización de la misma, ver Figura 10, esto con objetivo de facilitar su posterior utilización en las diversas pruebas físico-químicas a realizar.



Figura 107. Muestra de Jamón Virginia

Humedad

Se entiende por humedad, la pérdida en peso que sufre un alimento al someterlo a las condiciones de tiempo y temperatura prescritos; el método para determinar la humedad del jamón se basó en la NOM-F-083-1986 con ciertas modificaciones. Los materiales utilizados para determinar humedad (Tabla 33).

Tabla 3. Material, equipo utilizado en la determinación de Humedad

1 balanza analítica

3 Cápsulas de aluminio

1 estufa de secado

5g de jamón Virginia

1 cuchillo

1 pinza para crisol

1 licuadora

1 desecador

3.3. Procedimiento

Para la determinación de humedad es necesario meter a peso constante las capsulas de aluminio por lo que se introdujeron en una estufa, durante 2 horas a condiciones de $120 \pm 2^{\circ}$ C. Posteriormente, las capsulas fueron colocadas en un desecador donde se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente. Una vez frías las cápsulas se procedió a registrar el peso, a continuación se pesó 5g de muestra (previamente homogenizada) en las capsulas y se registró el peso de la capsula y la muestra. Las cápsulas se colocaron en el horno y se sometieron a desecación en condiciones de $102 \pm 2^{\circ}$ C durante 4 horas. Transcurrido este tiempo, se procedió al enfriamiento en el desecador se registró el peso nuevamente esta operación se realizó por triplicado (

Tabla 4) El contenido de humedad del jamón Virginia se calculó por diferencias de peso antes y después del tratamiento.

Tabla 4. Pesos de la determinación de Humedad

NO. CÁPSULA

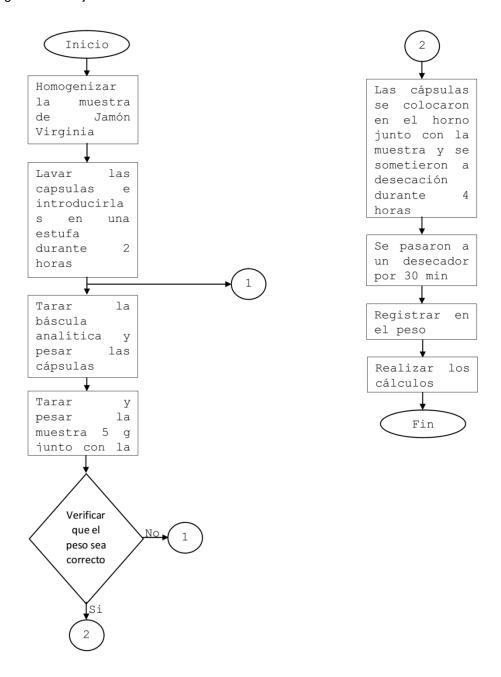
PESÓ CÁPSULA

PESÓ MUESTRA

PESÓ CÁSULA + MUESTRA SECA

1	12.7987	5.1333	13.9320	
2	11.3780	5.0427	12.4938	
3	11.2901	5.0168	12.3573	

Diagrama de Flujo Humedad



El método Soxhelt utiliza un sistema de extracción cíclica de los componentes solubles en éter que se encuentra en el alimento. La NMX-F-089-S-1978 establece el procedimiento para la determinación de ácidos grasos (extracto etéreo) por el método de Soxhlet en todos los alimentos

sólidos, excepto los productos lácteos. Los materiales para determinar la prueba de determinación de materia en grasa en el alimento (Tabla 5).

Tabla 5. Material, equipo y reactivos utilizados en la determinación de Grasa

3 vasos marca Büchi

3 cartuchos

1 sistema de extracción de grasa

Algodón

1 desecador

Agua destilada

5g de Jamón Virginia

 C_2H_6O

1 estufa

1 Pinza

3.4 Procedimiento

Se partió de muestras secas obtenidas tras la determinación de humedad que fueron introducidas en cartuchos de celulosa, tapadas con algodón (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.11) y colocadas en el equipo de Sistema de Extracción de Grasa con una marca Büchi y un modelo BUL-36681. Se colocaron los vasos de vidrio (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.) previamente llevados a peso constante los cuales contenían aproximadamente 80 ml de éter de petróleo). Una vez programado el equipo (extracción 3.45 horas) se inició el proceso de extracción de grasa.



Figura 11. Cartuchos de celulosa



Figura 128. Sistema de Extracción de Grasa

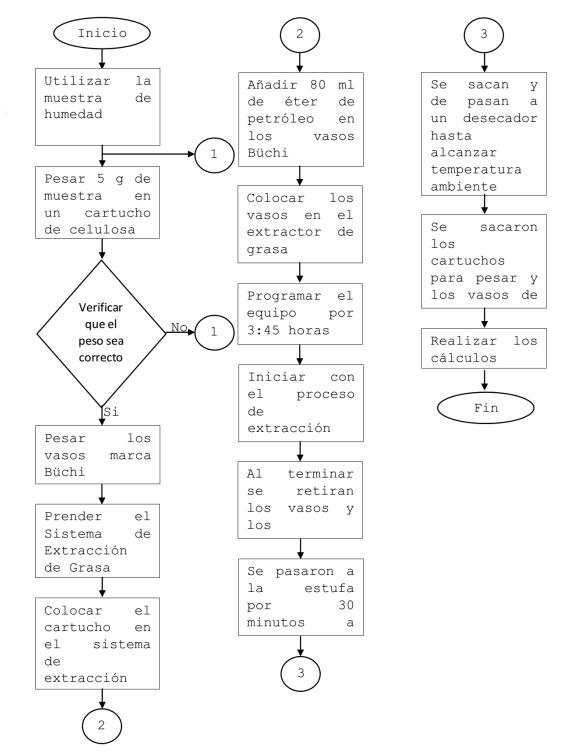
Una vez terminado el proceso, se retiraron los vasos con la grasa y se introdujeron 30 minutos en una estufa a 100 ± 2 °C, se llevaron al desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente constante, se pesaron y se anotaron (*Tabla*).

Tabla 6. Pesos de la determinación de Grasa

NO. CARTUCHO PESO MUESTRA PESO VASO PESO VASO CON

			GRASA	
4	5.1333	85.9206	86.7287	
1	5.0427	85.9187	85.9783	
2	5.0168	84.9439	85.0098	

Diagrama de Flujo de grasa



Este método se basa en la digestión ácida y alcalina de la muestra obteniéndose un residuo de fibra cruda y sales que con calcinación posterior se determina la fibra cruda.

Para la determinación de la fibra se siguió la NMX-F-090-S-1978 con ciertas modificaciones.

Los materiales para determinar la prueba de determinación de fibra en un alimento (

Tabla).

Tabla 7. Material, equipo y reactivos utilizados en la determinación de Fibra

3 Beaker de 2L	3 embudos
1 espátula	3 aros metálicos
3 telas de lino	1 plancha de calentamiento
Solución de H2SO4 de concentración	1 pocillo
Solución de NaOH 0.313 N	Guantes
Agua destilada	Tiras para el PH

3.5.1 Procedimiento

Se partió de muestras obtenidas tras la determinación de humedad y grasa aproximadamente 2 g de muestra que fueron introducidas a un vaso de 600 ml, se agregó 200 ml de ácido sulfúrico concentrado. Colocarlos en el equipo de multiunidades de extracción (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.13) pre ajustar, a partir de que empiece la ebullición iniciar conteo para que hierva exactamente 30 minutos.



Figura 13. Multiunidades de Extracción

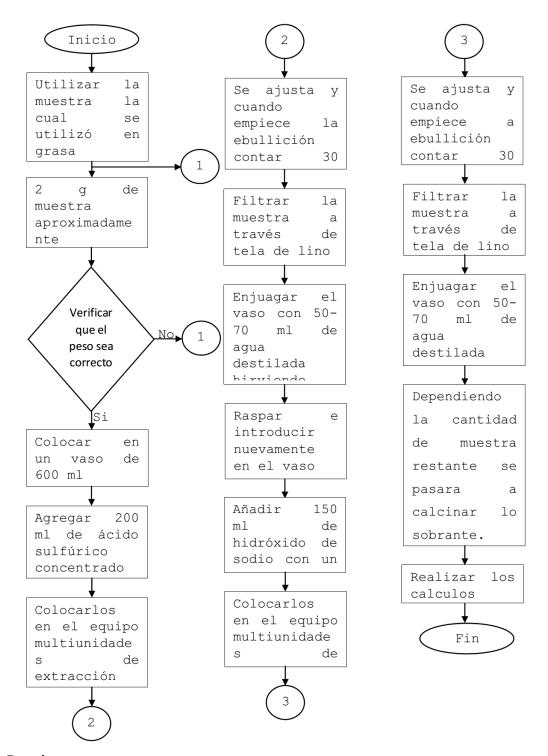
Posteriormente se retiraron los vasos y se filtró a través de papel o tela de lino. Enjuagar el vaso con 50-70 ml de agua destilada hirviendo y verterla sobre el papel o tela de lino, lavar tantas veces que sea necesario, hasta neutralizar. Raspar e introducir nuevamente en el vaso de 600 ml (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.14) y añadir 150 ml de hidróxido de sodio .313 (NaOH). Colocarlos en el equipo de multiunidades de extracción pre ajustar, a partir de que empiece la ebullición iniciar conteo para que hierva exactamente 30 minutos.



Figura 14. Raspar la muestra restante

Posteriormente se retiraron los vasos y se filtró a través de papel o tela de lino. Enjuagar el vaso con 50-70 ml de agua destilada hirviendo y verterla sobre el papel o tela de lino, lavar tantas veces que sea necesario, hasta neutralizar. Dependiendo la cantidad de muestra restante se pasara a calcinar lo sobrante.

Diagrama de Flujo de fibra



Proteína

El método Kjeldahl-Gunning se basa en la descomposición de los compuestos de nitrógeno orgánico por ebullición con ácido sulfúrico. El hidrógeno y el carbón de la materia orgánica se oxidan para formar agua y bióxido de carbono. El ácido sulfúrico se transforma en SO₂, el cual reduce el material nitrogenado a sulfato de amonio.

El amoniaco se libera después de la adición de hidróxido de sodio y se destila recibiéndose en una disolución de H₃BO₃. Se titula el nitrógeno amoniacal con una disolución valorada de ácido, cuya normalidad depende de la cantidad de nitrógeno que contenga la muestra. En este método de Kjeldahl-Gunning se usa el sulfato de cobre como catalizador y el sulfato de sodio para aumentar la temperatura de la mezcla y acelerara la digestión. Los materiales para determinar la prueba de terminación de proteína en un alimento (*Tabla 13*).

Tabla 13. Material, equipo y reactivos utilizados en la determinación de Proteína

1 equipo digestor Kjeldahl

1 Equipo destilador Kjeldahl

1 balanza analítica

Ácido sulfúrico al 98%

Hidróxido de sodio al 48% (Na OH)

3 Tubos de Kjeldahl

1 bureta de 25ml

1g de Jamón Virginia

1 Bureta automática

Agua destilada

Ácido bórico

HCl al 0.1 M

Indicador mixto (rojo de metilo)

3 matraces Erlenmeyer 250ml

1 pinza doble

Procedimiento

Se utilizó 1 g de muestra previamente homogenizada la cual fue colocada en el tubo de digestión en conjunto de 5g de mezcla digestora y 12 ml de ácido sulfúrico concentrado, se agito suavemente por rotación y se introdujo en la unidad del equipo de Digestor Kjeldahl con una marca Büchi y un modelo K-424, a una temperatura de 420°C a la que se llevó progresivamente. La digestión se mantuvo durante 2 horas, hasta la total clarificación (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.), transformándose el nitrógeno en amoniaco y quedando éste en disolución en forma de ión amonio.



Figura 15. Unidad de Digestor Kjeldahl

Una vez realizada la digestión, se liberó el amoniaco mediante la alcalinización del medio con aproximadamente 50 ml de NaOH al 40% después de haber añadido 50 ml de agua destilada.

El amoniaco se arrastró en una corriente de vapor durante 10 minutos en la Unidad de Destilación con una marca Büchi y un modelo K-350, hasta alcanzar un volumen de 150 ml del destilado, que se recogió en un matraz con 40 ml del reactivo de ácido bórico al 4% (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.). El contenido se valoró por titulación con ácido sulfúrico 0,1 N hasta el viraje del indicador, midiendo el volumen gastado con una bureta.



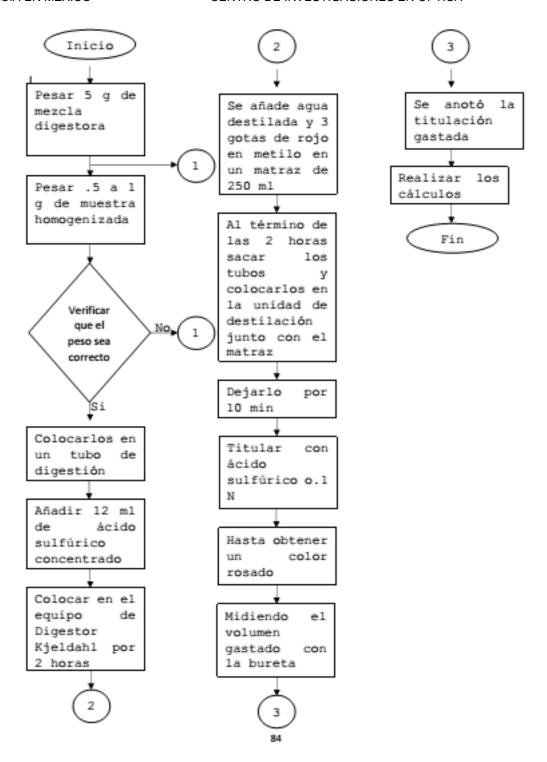
Figura 16. Unidad de Destilación

El contenido de proteína del Jamón Virginia se calculó por diferencias de peso antes y por diferente gasto en la titulación, y el conjunto se pesó y se anotó (*Tabla 14*).

Tabla 14. Peso y titulación de la determinación de Proteína

	PESO MUESTRA	GASTO EN TUTULACIÓN
1J	0.7902	11.5
2J	0.5870	8.7
3J	0.6452	9.3

Diagrama de Flujo Proteína



Cenizas

Este método es aplicable a todas las muestra de alimentos sólidos. Para las muestras líquidas determinar primero los sólidos y sobre este material aplicar la técnica descrita. Para la

determinación de las cenizas se siguió la NXM-F-066-S-1978. Los materiales para determinar la prueba de terminación de cenizas en un alimento (Tabla 15)

Tabla 15. Material y equipos utilizados en la determinación de Cenizas

3 crisoles 1 espátula	
3 mecheros	1 balanza de precisión con cuatro decimales
1 estufa	1 desecador
1 pinza	1g de Jamón Virginia

Procedimiento

Se introdujeron unos crisoles de porcelana (marcados previamente) en estufa a $100 \pm 2^{\circ}$ C durante al menos 30 minutos para su desecación. Se sacaron y enfriaron en un desecador durante 30 minutos. Posteriormente estos fueron pesados registrándose el peso constante en una balanza de precisión con cuatro decimales. En dicho crisoles fueron pesados 5 g de muestra anotando el peso exacto del incremento. Fueron pasados a unos mecheros y se dejaron ahí hasta que dejaron de humear (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.).



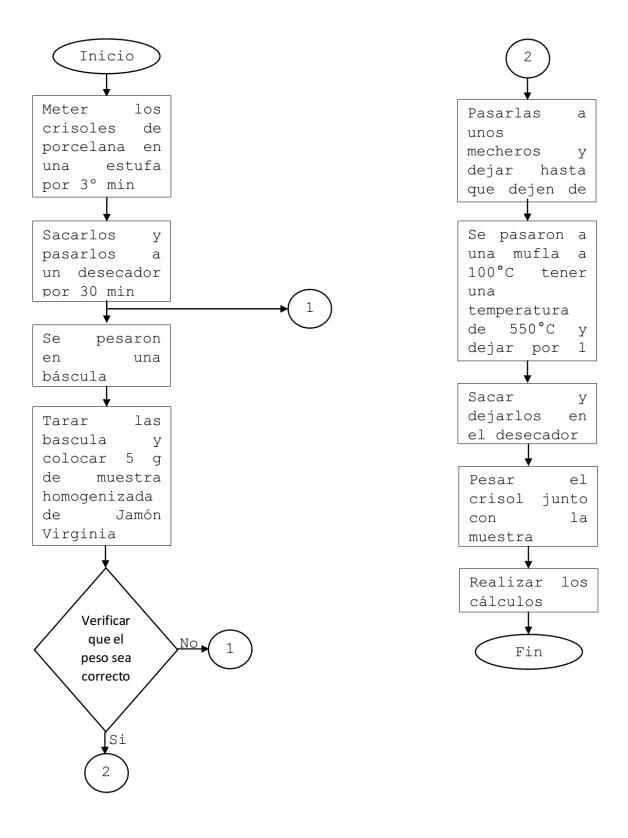
Figura 17. Proceso de ceniza

Posteriormente se introdujo en la mufla a 100°C para ir subiendo la temperatura 50°C cada 3º minutos hasta llegar a 250°C. Cuando la temperatura llego a 550°C y se mantuvo a esa temperatura durante aproximadamente 1 hora, comprobando que tras ese tiempo las cenizas tenían un color blanco o ligeramente gris. Finalmente, los crisoles con las cenizas fueron enfriados en el desecador y posteriormente fueron pesados (*Tabla 16*).

Tabla 16. Pesos de la determinación de Cenizas

NO. CRISOL	PESO CRISOL	PESO MUESTRA	PESO CRISOL +
			CENIZAS
8	28.7660	2.0174	28.8188
4	27.0274	1.9717	27.0869
9	29.3697	2.2009	29.4339

Diagrama de Flujo Ceniza



Sodio

3 vasos precipitados de 250 ml

Se basa en la titulación de una muestra de salmuera, donde se valoran los cloruros contenidos en ella, con una solución valorada de nitrato de plata, empleando cromato de potasio como indicador, según el método de Mohr. Para la determinación de sodio se siguió la NMX-F-150-S-1981 con ciertas modificaciones.

Los materiales para determinar la prueba de determinación de sodio en un alimento (Tabla 17).

Tabla 17. Material, equipos y reactivos utilizados en la determinación de Sodio

5 vasos precipitados de 250 mi
3 embudos
2 buretas de 25
1 pipeta mecánica de 25
1 probeta de 100 ml
3 aros metálicos
5 soportes
2 pizas doble
Agua destilada
10g de Jamón Virginia
Hidróxido de sodio

Fenolftaleína RE Solución de AgNO3 de concentración exactamente conocida alrededor de 0.1N

- 3 vidrios de reloj
- 3 papeles filtro
- 1 matraz aforado de 250ml
- 3 matraz aforado de 500ml
- 2 goteros
- 3 agitadores magnéticos
- 1 planchas de calentamiento
- 1 espátula

Tiras para el PH

Solución de NaOH 0.1N

Solución de etanólica de fenolftaleína 1% m-V

Solución de K2CrO4 5% m-V

Procedimiento

Se utilizó 10 g de muestra previamente homogenizada la cual fue colocada en un vaso precipitado de 250 ml previamente tarado con un error de 0.1 g seguidamente se le añadió 100 ml de agua destilada, se colocaron los vasos precipitados en unas parrillas y así mismo añadirles unos agitadores magnéticos y dejando en reposo durante una hora. Al cabo de ese tiempo se añaden unas gotas de fenolftaleína (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.) y se neutralizo con solución de hidróxido de sodio 0.1 N hasta cambio de color. El contenido del vaso de precipitado se transfirió cuantitativamente a un matraz aforado de 250 ml, se enrasa, se agito y se filtró. De este filtrado se toma una alícuota de 10 o 25 ml.





Figura 18. Gotas de fenolftaleína

Se transfiere la alícuota tomada en un Erlenmeyer y se añaden unas gotas de solución indicadora de cromato de potasio (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.9) y se valora con

solución de nitrato de plata 0.1 N hasta la aparición de un precipitado rojo de cromato de plata (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.0) que perdure durante 30 segundos.

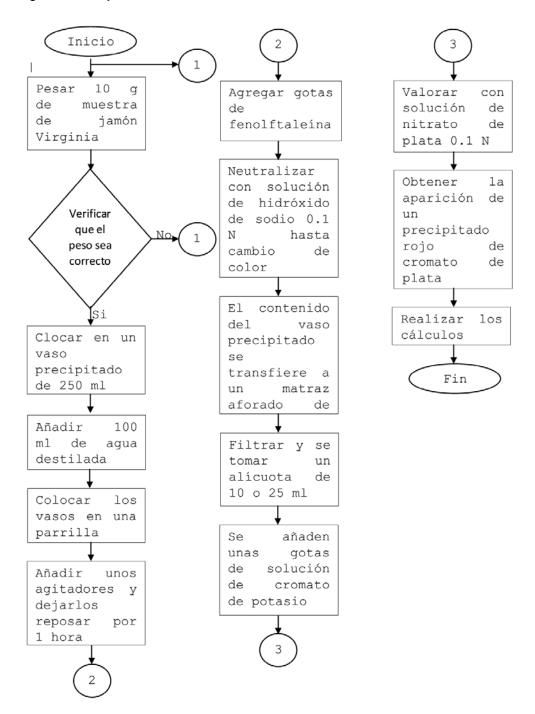


Figura 99. Solución indicadora de cromato de potasio



Figura 100. Precipitado rojo de cromato de plata

Diagrama de Flujo Sodio



Análisis microbiológicos

El análisis microbiológico en la industria de alimentos se constituye en una herramienta básica para el control de materias primas, procesos, productos y manipuladores, ya que permite establecer el

grado de contaminación biológica de estos, por esta razón el control microbiológico es parte fundamental en todo el proceso

Preparación de las muestras

La preparación de las muestras y obtención de las diluciones, se llevó a cabo bajo las indicaciones de la NOM 110-SSA1-(1994) en la cual se establecen los procedimientos para la preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

Procedimiento

Se pesaron asépticamente 10 g de jamón y se homogenizo en 90 ml de agua peptona da estéril, dentro de una bolsa estéril para stomacher (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.) durante 5 min. Una vez homogenizada la muestra con el diluyente se obtuvo la dilución (1x10-1). Para el análisis microbiológico se utilizaron diluciones decimales de 1x10-1 hasta la 1x10-3 con el objetivo de tener un conteo más exacto durante el crecimiento de las bacterias. Dichas diluciones se utilizaron para todas las pruebas microbiológicas que corresponden al jamón (mesofilos aerobios, mohos y levaduras, Staphylococus aureus, e-coli.).



Figura 21. Bolsa Stomacher para homogenizar

Mesofilos aerobios

Cuando se requiere investigar el contenido de microorganismos viables en un alimento, la técnica más utilizada es el recuento en placa, el medio de cultivo con un soporte nutricional adecuado y libre de agentes inhibidores [11]. La determinación de los (UFC) en el jamón se realizó mediante la técnica de recuento en placa que establece la NOM-092-SSA1-1994. Para realizar esta prueba microbiológica todo material que tenga contacto con las muestras deben estar estériles.

Material

- medio de cultivo agar para método estandar
- Placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro

- Micropipeta
- Puntas
- Mecheros de etanol
- Agar MRS (de Man, Rogosa y Sharp) (CM 0361 de Oxoid, Ltd.).

Procedimiento

Distribuir las cajas estériles en la mesa de trabajo previamente marcadas con los datos pertinentes. A partir de la serie de diluciones obtenidas y por duplicado se depositó, usando puntas estériles y con ayuda de una micropipeta, 1 ml de cada dilución en placas de Petri. A las placas que contenían el inóculo les fue añadido aproximadamente 15-20 ml del medio de cultivo agar para método estándar, el cual previamente fue diluido en agua destilada y esterilizado a 121°C durante 15 min, incluir una caja sin inoculo como testigo de esterilidad. Éste fue adicionado a una temperatura aproximada de 45°C, se mezcló mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido contrario a las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr una completa incorporación de inoculo.

Se incubaron las cajas en posición invertida (la tapa hacia abajo) por el tiempo y la temperatura que se requiera, según la NOM-092-SSA1-1994, véase la **(Tabla 18).**

Tabla 18. Especificaciones de incubación dependiendo el grupo de bacterias

Grupo bacteriano	Temperaura	Tiempo de incubación
Termofónicos aerobios	55±2°C	48±2h
Mesofilicos aerobios	35±2°C	48±2h
Psicrotroficos	20±2°C	3-5 días
Psicrofilicos	5±2°C	7-10 días

Una vez solidificadas las placas de agar para método estandar se introdujeron invertidas en estufa de incubación a 35°C por 48h.

Mohos y levaduras

Es de gran importancia cuantificar los mohos y levaduras en los alimentos, puesto que, al establecer la cuenta de estos microorganismos, permite su utilización como un indicador de prácticas sanitarias inadecuadas durante la producción y el almacenamiento de los productos, así como el uso de materia prima inadecuada. El método para la cuantificación de mohos y levaduras en el jamón se realizó aplicando la NOM-111-SSA1-1994, donde se especifica el procedimiento para realizar este tipo da análisis microbiológico y tiempo de incubación para este tipo de microorganismos.

Procedimiento

Se realizó el mismo procedimiento descrito en el método de mesofilos aerobios posteriormente se depositó 1 ml de dilución en las placas de Petri. En este caso como medio de cultivo se empleó agar patata dextrosa, al cual se le adicionó antes de ser vertido sobre las placas acido tartárico hasta alcanzar un pH de 3,5. El agar y el ácido se mesclaron. Posteriormente las placas previamente solidificadas, se introdujeron en posición invertida en estufa de incubación a 25 ± 1°C y se cuantificaron las colonias de cada placa después de 3,4 y 5 días de incubación.

AUREUS

El crecimiento de staphylococcus aureus es acompañado por la producción de eterotoxinas que pueden causar intoxicaciones alimentarias y son producidas por casi una tercera parte de las cepas de *S. aureus*. Es importante señalar que los alimentos que contienen eterotoxinas estafilocócica tienen apariencia, olor y sabor normal. El método para la determinación de *s.aureus* en alimentos se realizara aplicando la NOM-115-SSA1-1994.

Procedimiento

Preparar la muestra del jamón homogenizado y apartir de la dilución obtenida, se colocó la placa petrifilm en una superficie plana y nivelada previamente marcada con los datos pertinentes. se levantó la película superior y usando puntas esteriles y con ayuda de la micropipeta se depositó 1 ml de dilución en el centro de la placa petrifilm, se dejó caer la película superior sobre la muestra, cuidando que no se formen burbujas, voltear boca arriba e incubar a 35°C± durante 3-5 días

E. COLI

La infección que provoca E.coli es una zoonosis (enfermedades transmitidas de animales a humanos) de origen alimentario, es decir que se transmiten a los humanos a través del consumo de los productos alimenticios contaminados con E.coli.

Procedimiento

Se realizó el mismo procedimiento que en el anterior punto de s.aurios pero en este caso se utilizó una placa pertrifilm especial para la determinar E.coli la cual se depositó en el centro 1ml de disolución. Para que esta bacteria multiplique el medio ambiente al que estará expuesto tendrá que cumplir ciertas condiciones (Tabla 15).

	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura	7-8	35-40	46
рН	4,4	6-7	10
Actividad del agua	0,95	0,995	

Tabla 15. Condiciones para el crecimiento de la bacteria E. Coli.

RESULTADOS

La Norma Oficial Mexicana NOM-158-SCFI-2003, "Jamón denominación y clasificación comercial, especificaciones fisicoquímicas, microbiológicas, información comercial y métodos de prueba". Nos asegura la correcta comercialización de los productos objeto de la presente norma ya mencionada y de acuerdo con los distintos grados de calidad de los productos alimenticios denominados Jamón que existen en el mercado, los mismos deben cumplir las especificaciones de la *Tabla 19*6 así como las especificaciones organolépticas y microbiológicas, de conformidad con lo establecido en la presente Norma Oficial Mexicana.

Tabla 196. Especificaciones técnicas de Jamón

Clasificación	% PLG*	% Grasa	%	% Proteína	%	%
comercial	Mínimo	Máximo	Humedad	adicionada	Carragenina	Fécula
			Máximo		Máximo	Máximo
Extrafino	18	6	75	0	1.5	0
Fino	16	6	76	2	1.5	0
Preferente	14	8	76	2	1.5	5
Comercial	12	10	76	2	1.5	10
Económico	10	10	76	2	1.5	10

Los análisis que se realizaron para el Jamón Virginia nos damos cuenta que el Jamón si está apto para el consumo humano y que si cumplo con la NOM-158-SCFI-2003, y con las especificaciones técnicas ya mencionadas. Normas Utilizadas para los análisis: NOM-F-083-1986, NMX-F-089-S-1978, NMX-F-090-S-1978, NMX-F-068-5-1980, NXM-F-066-S-1978, NMX-F-150-S-1981.

Tabla 17. Resultados de pruebas microbiológicas

CERTIFICACIÓN DE ANÁLISIS

PRODUCTO	JAMÓN VIRGINIA	N.O DE LOTE	07061639
FABRICACIÓN	07.06.2016	CADUCIDAD	07.09.2016

ESPECIFICACIONES	RESULTADO	LIMITES
calidad		
Ph	5.1	4.8-5.3
a _w	0.965	0.96-0.98
Color	Rosa característico	Rosa característico
Olor	Característico	característico
Microbiológicas		
Mesofilos aerobios	50UFC/g	100,000 UFC/g
E.coli	Negativo	Negativo
Mohos y levaduras	0 UFC/g	10 UFC/g
s. aureus	0 UFC/g	100 UFC/g
salmonella	Negativo en 25g	Negativo en 25g

CONCLUSIONES

Hoy en día es importante cumplir con las expectativas que un consumidor busca en los productos alimenticios, la información que solicitan comúnmente son: información de las pilas nutrimentales y saber la calidad higiénica que tienen las empresas para realizar los productos. Por ello la estadía consistió en la realización de análisis fisicoquímicos y microbiológicos del Jamón Virginia marca

carnex que son pruebas de gran valor para determinar la cantidad de nutrientes con que cuenta el producto y determinar el grado de inocuidad con la que se procesan los productos el cual determina la calidad de limpieza al producirlos, cabe mencionar la importancia de estas pruebas para cumplir con los requisitos que pide la NOM para la realización de la etiqueta. Este trabajo fue de gran importancia para la empresa y es un requisito esencial para la elaboración de la etiqueta del producto, pero de igual manera para tener antecedentes de que se cumple con estos análisis que son actividades que cumplen por ser es una planta con la certificación TIF.

La estadía fue importante y permitió tener una un panorama de lo que realmente es el ámbito laboral debido a que la demanda del el proyecto fue algo muy diferente a lo que se vio en clase y no se trató temas de la elaboración de alimentos. Pero en la realidad a esto es lo que nos enfrentaremos como futuros ingenieros industriales. Le agradecemos al Dr. Roberto González Tenorio por haber permitido realizar nuestra estadía en la empresa forrajes y carnes de y brindarnos la confianza de participar en el área de producción la cual fue una experiencia muy favorable para nuestra formación académica.

PROPUESTA A FUTURO

La propuesta consiste en que los análisis microbiológicos y fisicoquímicos que realizaron durante la estadía en la empresa desde un principio se sigan trabajando con esos análisis. Y la periodicidad de los análisis microbiológicos sea cada mes y los análisis fisicoquímicos se únicamente cada seis meses con el propósito de contribuir al aseguramiento del logro de una buena calidad y una buena inocuidad con el producto y no contaminarlo con las bacterias.

De la misma manera se propone que los análisis sean realizados por personal del departamento de calidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Rojas, D. M., El hombre carnívoro necesidad del consumo de la carne. Recuperado el 07 de 07 de 2016, de http://www.uco.es/ayc/news/carnivoro.pdf
- 2. Ortiz, I. A., Elaboración de Productos Cárnicos. Recuperado el 07 de 07 de 2016, de http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasaapt/Elaboraci%C3%B3n%2 0de%20productos%20c%C3%A1rnicos.pdf
- 3. Ciudad Juárez: Printed in Mexico.
- Anonimo. (s.f.). Situación actual y representativa de la producción de porcino en México 1990 –1998. Recuperado el 13 de Junio de 2016, de http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Estudios%20de%20situacin%20 actual%20y%20perspectiva/Attachments/5/sitbov04.pdf
- 5. SANASICA. (22 de Julio de 2016). Establecimientos tipo Inspección Federal. Recuperado el 26 de Julio de 2016, de http://senasica.gob.mx/?id=743
- 6. Gutierrez, J. B. (2000). Ciencias Bromatologicas Principios Generales de los Alimentos. Madrid España: Diaz de Santos.
- 7. Cordero, A. S. (2007). Estudio Comparativo de los Metodos Empleados para la Determinación de Humedad. Recuperado el 11 de 07 de 2016, de http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/hermesoft/portallG/home_1/recursos/tesis/contenidos/tesis_septiembre/05092007/estudio_comparativo_de_los_met.pdf
- Barreno, V. C. (2008). Determinación de Parametos Físico-Químicos. Recuperado el 02 de 08 de 2016, de http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/204/1/56T00176.pdf

- Sevilla, M. D. (1993). Influencia del tratamiento termico de la fibra alimentaria y azucares solubles de productos vegetables. Recuperado el 02 de 08 de 2016, de http://biblioteca.ucm.es/tesis/19911996/D/1/AD1000501.pdf
- 10. Celis, M. C. (2007). Determinación de Cloruro de Sodioen las Reaciones Alimenticias. Recuperado el 02 de 08 de 2016, de http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fae.82d/doc/fae.82d.pdf.
- 11. Amador, M. R. (1989). Manual de prácticas de laboratorio de microbiológia sanitaria. Ciudad de México D.F.

GLOSARIO

Animáculos: Es un animal pequeño para ser visto a simple vista se necesita un microscopio pueden vivir y estar en cualquier ambiente en agua y tierra.

Amilopectina: Es un polisacárido que se diferencia de la amilosa en que contiene ramificaciones que le dan una forma molecular parecida a la de un árbol.

Amilosa: Es el producto de la condensación de D-glucopiranosas por medio de enlaces glucosídicos, que establece largas cadenas lineales.

Aspergillus: Es un género de alrededor de 600 hongos (mohos), y es ubicuo. Los hongos se pueden clasificar en dos formas morfológicas básicas: las levaduras y las hifas.

Bacillus cereus: es una bacteria que causa envenenamiento por consumo.

Citología: Parte de la biología que estudia la célula y sus funciones.

Colesterolemia: Tasa de colesterol en la sangre.

Endosporas: Son formas de perdurabilidad de ciertos grupos de bacterias frente al calor, la desecación, la radiación y las influencias químicas. Contienen un genoma y toda la maquinaria metabólica esencial. El termo resistencia de las endósporas es una de sus principales características.

Enterobacterias: son bacterias Gram negativas que contiene más de 30 géneros y más de 100 especies que pueden tener morfología de cocos o bacilos.

Escherichia Coli: también conocida por la abreviación de su nombre, E. coli, es un bacilo gramnegativo de la familia de las enterobacterias que se encuentra en el tracto gastrointestinal de humanos y animales de sangre caliente.

Etanólica de fenolftaleína: Es un indicador de pH que en disoluciones ácidas permanece incoloro, pero en disoluciones básicas toma un color rosado con un punto de viraje entre pH=8,2 (incoloro) y pH=10 (magenta o rosado).

Frigoríficos: una instalación industrial donde se procesan y almacenan productos de origen animal.

Fisiología: Conjunto de propiedades y funciones de los órganos y tejidos del cuerpo de los seres vivos.

Hipercolesterolemia: Aumento de la cantidad normal de colesterol en la sangre.

Lactobacillus: Los lactobacilos son un género de bacterias Gram positivas anaerobias Aero tolerantes, denominadas así debido a que la mayoría de sus miembros convierte a la lactosa y algunos monosacáridos en ácido láctico, dando lugar a la fermentación láctica.

Micotoxinas: Son metabolitos secundarios tóxicos, de composición variada, producidos por organismos del reino Fungi, que incluye setas, mohos y levaduras.

Microbiota: es el conjunto de microorganismos que se localizan de manera normal en distintos sitios del cuerpo.

Monocytogenes: Es una bacteria que se desarrolla intracelularmente y es causante de la Listeriosis.

Morfología: estructura interna y externa, sus formaciones especiales.

Paleolítico: Que es el más antiguo de los períodos prehistóricos, es anterior al mesolítico, y se caracteriza por la fabricación y utilización de herramientas de piedra tallada, la práctica de la depredación (caza, pesca y recolección), el nomadismo y la aparición de las primeras manifestaciones artísticas, como son las pinturas rupestres y las esculturas de piedra o hueso.

Penicillium: es un género del reino Funig Incluye más de 300 especies, la más conocida es Penicillium, productora de penicilina

Solanum tuberosum: es una planta perteneciente a la familia de las solanáceas originaria de Sudamérica y cultivada por todo el mundo por sus tubérculos comestibles.

Staphylococcus aureus: conocido como estafilococo áureo, o comúnmente estafilococo dorado, es una bacteria anaerobia facultativa, Gram positiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no es porulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas, por ella.

Sus scrofa: Es un mamífero artiodáctilo de la familia de los suidos presente en Europa, aunque hay también subespecies en América, África y Asia.

Zoonosis: Se dice de cualquier enfermedad propia de los animales que incidentalmente puede comunicarse a las personas.

NOMECLATURA

AgNO3: Nitrato de Plata **Aw:** Actividad de Agua.

CRA: Capacidad de Retención de Agua. **CDC:** Centro de Investigación Científico

C02: Dióxido de Carbono.

C2H6O: Alcohol (C2H5)2O: Éter Etílico.

C₆H_{14:} Hexano.

GMP: Good Manufacturing Practices

Gr: Gramos.

HCI: Acido Clorhídrico

H2SO4: Etanol **H2S:** Ácido sulfúrico **H**₃**BO**_{3:} Acido bórico

K2CrO4: Cromato de Potasio

MI: Mililitros

NMX: Norma Mexicana.

SAGARPA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

SO₂: Dióxido de azufre

TIF: Tipo Inspección Federal.

XOCONOSTLE: FUENTE IMPORTANTE DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

Leticia Xochitl López-Martínez, Guadalupe López-García, Alejandra N. Alvarado-López

CONACYT-Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Culiacán

Universidad Autónoma del Estado de México. Email: leticia.lopez@ciad.mx

RESUMEN

México es centro de origen de varias especies de *Cactaceae* entre ellos el xoconostle que produce frutas ácidas (similares a las frutos dulces producidos por el nopal) que juegan un papel importante en la alimentación y como medicina tradicional en el tratamiento de obesidad, hipertensión y diabetes, por lo cual en este estudio se propuso determinar las propiedades bioactivas del fruto de xoconostle de distintas parte de la República Mexicana. Se seleccionaron 4 variedades y se evaluaron el contenido de compuestos fenólicos totales, betalaínas y la inhibición de las enzimas α -amilasa, α -glucosidasa y la enzima convertidora de angiotensina I (ACE). El contenido de compuestos fenólicos varió de 145 a 1900 mg/100 g y el contenido de betalainas de 7.9 a 29.56 mg/100 g. Ninguna de las variedades mostró actividad inhibitoria sobre α -amilasa. Todas las variedades presentaron actividad inhibidora de α -glucosidasa (85 a 96%) y fueron capaces de inhibir a la ACE (77.3-89.5%) estos análisis fueron realizados a niveles de 5 mg/mL de compuestos fenólicos totales. Actualmente se realizan en nuestro laboratorio estudios sobre el efecto de los procesamientos tradicionales (caseros) sobre estos compuestos bioactivos y como se verán afectadas las actividades inhibidoras estudiadas.

INTRODUCCIÓN

Uno de los enfoques terapéuticos para disminuir la hiperglicemia postprandial es retardar la absorción de la glucosa a través de la inhibición de las enzimas hidrolizantes de carbohidratos como α -glucosidasa y α -amilasa. Estudios epidemiológicos han demostrado que dietas ricas en vegetales pueden reducir el riesgo de una amplia variedad de enfermedades incluyendo a la diabetes, debido a la presencia de compuestos de naturaleza fenólica.

El xoconostle posee betalainas que se ha demostrado poseen actividad antioxidante con efectos no toxicos en los humanos que pueden prevenir la oxidación de membransas lipídicas (Livrea and Tesoriere, 2006). También se ha identificado la presencia de compuestos fenólicos que protege al ser humano del estrés oxidativo para así contribuir a prevenir algunas enfermedades (Osorio-Esquivel y col., 2011).

Al xoconostle se le han atribuido propiedades medicinales como hipoglucemiante e hipolipemiante

(Osorio-Esquivel y col., 2011, a la fecha, los estudios dirigidos a la caracterización de fitoquímicos presentes en las diversas variedades de xoconostle son escasos, por lo cual es importante profundizar en el conocimiento de la composición de este fruto, generando información que lo avale como un alimento funcional y nutracéutico. De esta manera, se generará nueva información que contribuya a la promoción del consumo del xoconostle, así como su revaloración en la dieta de la población de todo el país.

PARTE EXPERIMENTAL Obtención de la muestra Las muestras de xoconostle se obtuvieron en diversos mercados del estado. De México, Hidalgo y Zacatecas en los años 2015-2016, se seleccionaron por tamaño, forma, grado de madurez, sin daños mecánicos visibles, libres de enfermedades y plagas.

Obtención de los extractos crudos

La extracción metanolica se realizó colocando 4 g de muestra en un tubo de 40 mL y se adicionaron 25 mL de una mezcla metanol:agua (95:5 v/v) y se mantuvieron en agitación constante a 25°C durante 12 h, después de ese tiempo las muestras fueron filtradas, se colectaron los filtrados y se centrifugaron a 8000 rpm durante 15 min a 4°C, se retiraron los sobrenadantes y se eliminó el solvente en un rotavapor a 45°C. Los extractos obtenidos fueron almacenados a 4°C hasta el momento de ser analizados.

Determinación de betalainas totales

La concentración de betalainas totales fue determinada acorde a lo establecido por Ravichandran y col. (2011). Por lo que se determinó el contenido de betacianinas y betaxantinas en los extractos, a 540 nm y 480 nm, respectivamente, en un espectrofotómetro UV-Visible (Velab). La lectura de la absorbancia obtenida se utilizó para calcular la concentración de betacianinas y betaxantinas, posteriormente se calculó el contenido de betalainas totales para cada tratamiento, mediante la adición de las 2 anteriores.

Determinación de compuestos fenólicos totales

La concentración de compuestos fenólicos totales se determinó por el método de Gao y col. (2002). En un tubo de ensaye se colocaron 100 μ L de los extractos y se les adicionaron 700 μ L de una solución 0.2N del reactivo de Folín-Ciocalteu, se mezclaron y reposaron durante 3 min a 25 oC, posteriormente se adicionaron 900 μ L de carbonato de sodio y la mezcla se mantuvo por 90 min en la oscuridad, después de ese tiempo se determinó la absorbancia a 765 nm. Los compuestos fenólicos totales fueron expresados como mg ácido gálico/g en base a una curva estándar. Las mediciones espectrofotométricas se realizaron en un espectrofotómetro con arreglo de diodos Hewlett Packard HP8452A.

Actividad inhibitoria de la enzima α-amilasa

El ensayo para medir la inhibición de la actividad de la α -amilasa por los extractos fue adaptado de Adisakwattana y col. (2009). La enzima α -amilasa (páncreas de porcino, 3 U/mL) fue disuelta en amortiguador de fosfatos salino 0.1 M pH 6.9. Se adicionaron 200 μL de los extractos en una solución de almidón (1 g/L) y la reacción se inició al adicionar 500 μL de la solución de la enzima, la mezcla fue incubada a 25oC durante 10min, después de ese tiempo se adicionaron 500 μL de amortiguador de fosfatos 0.02 M (pH 6.9 con cloruro de sodio 6 mM). La mezcla de reacción se incubó nuevamente a 25°C durante 10 min y se detuvo por la adición de 1 mL de una solución que contenía ácido dinitrosaliciílico al 1%, fenol al 0.2%, Na_2SO_3 al 0.05% e NaOH al 1% en solución acuosa. Después de ese tiempo, la mezcla se incubó a 90oC durante 5 min, y se enfrió a 25oC. Posteriormente, la mezcla se diluyó con 10 mL de agua destilada y se determinó la absorbancia a 540 nm. La muestra control consistió en 200 μL de amortiguador de fosfatos pH 6.9, en lugar de los extractos. Se utilizó una solución de 0.44 mg/mL de acarbosa como inhibidor positivo.

Actividad inhibitoria de la enzima α-glucosidasa

El ensayo para medir la inhibición de la actividad α-glucosidasa de los extractos fue adaptado de Yuan y col. (2012). Una mezcla de 50 μL de los extractos (0.7 mg/mL de compuestos fenólicos totales), 100 μL de amortiguador de fosfatos 0.1 M a pH 6.9 y 100 μL de una solución de α-glucosidasa de levadura *S. cerevisiae* (67 mU/ensayo) se incubaron en un plato de 96 pozos a 25oC durante 10 min, después de ese tiempo, se adicionaron 100 μL de una solución de ρ-nitrofenil α-D glucopiranósido (p-NPG) 0.1 M en amortiguador de fosfatos pH 6.9 a cada pozo. Esta mezcla fue nuevamente incubada a 25oC durante 10 min. La absorbancia fue determinada a 405 nm en un lector de microplatos (SpectraMax M2, Molecular Devices Corp., SoftmaxPro v.4.6 software, Sunnyvale, CA, USA). Los cambios en la absorbancia fueron determinados antes de la

incubación y después de 30 min de la adición del p-NPG; y fueron comparados con una muestra control que consistió en 50 µL de amortiguador de fosfatos pH 6.9, en lugar de los extractos. Se utilizó una solución de acarbosa (0.44 mg/mL) como inhibidor positivo.

Actividad inhibidora de angiotensina I

La inhibición de la angiotensina I se adaptó del Kwon *et al.*, 2007. 50 mL de los extractos se incubaron con 20 mL de amortiguador de borato 0.1 M (0.3 M de NaCl, pH 8) con 2 mU de una solución de angiotensina I a 25 oC durante 10 minutos. Posterior a la preincubacion se adicionaron 100 mL de hipuril-histidil-leucina que actuó como sustrato de la enzima, la mezcla se incubó 37 °C durante 1 h, después de ese tiempo la reacción se detuvo con 150 mL de HCL 0.5 N. El ácido hipúrico formado por la reacción se detectó y cuantificó por cromatografía liquida de alta presión (HPLC) con detector de arreglo de diodos a 228 nm. Se utilizó ácido hipúrico como estándar.

Análisis estadístico

Todos los experimentos fueron diseñados utilizando un diseño de bloques completamente al azar y el nivel de significancia (p<0.05) entre medias de los tratamientos se estableció utilizando ANOVA de una sola vía con el software MINITAB v.15.

RESULTADOS

Los compuestos fenólicos han recibido creciente atención debido a sus actividades biológicas. López-Martínez y col., (2013), han reportado que este tipo de compuestos juegan un papel importante en la actividad α -glucosidasa y α -amilasa, por lo tanto, pueden contribuir al manejo de la diabetes tipo 2, en este estudio los compuestos fenólicos constituyen el principal grupo de compuestos que actúan como antioxidantes

Contenido de betalainas y compuestos fenólicos totales

En este estudio se encontró diferencia significativa en betalainas totales entre los tipos de xoconostle estudiados ($p \le 0.05$), se encontró en intervalo de 7.9 a 29.56 mg/100 g). Los resultados obtenidos son menores a los encontrados por Lopez y col, (2015) que estudio 15 genotipos de xoconostle mexicano (1.7 a 35.06 mg/100 g). La diferente coloración de los xoconostles es debido a la presencia de las betaxantinas y las betacianinas y so contenido individual en las variedades estudiadas.

El intervalo de compuestos fenólicos totales se encontró de 145.13 a 1900 mg/100 g, valores superiores a los encontrados por Lopez y col., (2015) (132.84 – 231.37 mg/ 100 g), el grado de madurez al ser cosechados, las diferencias genéticas y las condiciones medioambientales entre otros factores afectan el contenido de betalainas y compuestos fenólicos totales, estos factores pueden explicar la variación de estos fitoquímicos entre las 4 variedades estudiadas (Tabla 1).

Tabla 1. Contenido de compuestos fenólicos totales y betalainas totales de las variedades de xoconostle

Variedad	Compuestos fenólicos totales (mg/100 g)	Betalaínas totales (mg/100 g)
Cuaresmeño	145.13 <u>+</u> 10.1 ^a	7.9 <u>+</u> 1.2 ^a
Sainero	723.45 ±6.12 ^b	21.33 +1.1 ^b
Rosita	345.59 <u>+</u> 7.44 ^c	15.14 +1.4°
Borrego	1900.06 +69.86 ^d	29.56 +1.1 ^d

^{a-d}Las medias con letras iguales en una misma columna no difieren significativamente (p>0.05).

Inhibición enzimática

Entre las variedades de xoconostle estudiados Ninguna de las variedades mostró actividad inhibitoria sobre α -amilasa. Todas las variedades presentaron actividad inhibidora de α -glucosidasa (85 a 96%) y ACE (77.3-89.5%)

En general la actividad inhibitoria de la variedad Borrego, seguida de Sainero, Rosita y Cuaresmeño, esto debido al tipo de compuestos fenólicos y betalaínas que se encuentran presentes en cada uno de ellos. Las diferencias en compuestos fenólicos y actividad inhibitoria encontradas en este estudio con respecto a estudios previos pudieran ser debidas a la diferencia entre las variedades estudiadas, a su origen, incluyendo los factores climáticos, además del tipo de extracción y concentración de compuestos fenólicos a los que cada uno fue evaluado.

Tabla 2. Inhibición de la actividad enzimática de las variedades de xoconostle

		Actividad enzimática (% inhibición)		
Tipo xoconostle	de	α-amilasa	α-glucosidasa	ACE
Borrego		1.8	95.87 <u>+</u> 2.5 ^a	89.51 <u>+</u> 1.7 ^a
Sainero		0.92	92.33 <u>+</u> 2.1 ^b	86.17 <u>+</u> 2.1 ^b
Rosita		1.1	85.14 <u>+</u> 5.5 ^c	77.94 <u>+</u> 2.8 ^c
Cuaresmeño		1.1	84.90 +2.9 ^c	77.31 +3.6 ^{cd}

^{a-b}Las medias con letras iguales en una misma columna no difieren significativamente (p>0.05).

CONCLUSIONES

En este estudio se puede apreciar que las variedades de xoconostle poseen cantidades apreciables de betalaínas y compuestos fenólicos totales, los cuales son capaces de proveer buenas actividades antioxidantes. La variedad borrego presento el mayor contenido de compuestos fenólicos y actividades inhibidoras, por lo cual podría parecer que existe una correlación entre estos compuestos y las posibles actividades benéficas a la salud que poseen los xoconostles.

BIBLIOGRAFÍA (ARIAL, bold, 10 pt. justificado a la izquierda)

- 1. Adisakwattana, S., Chantarasinlapin, P., Thammarat, H., Yibchok-Anun, S. (2009). A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal alpha-glucosidase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry.* 24 (5), 1194–1200.
- 2. Gao, L., Oomah, B. D. & Mazza, G. (2002). Wheat quality: antioxidant activity wheat millstreams. In P. Ng, & C. W. Wrigley (Eds.), Wheat quality elucidation. St. Paul, MN: AACC International, ACCC Press. 233 Pp.
- 3. Kwon, Y.I.I., Vattem, D.A. & Shetty, K. (2006). Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, **15**, 107-118.
- 4. Livrea, M. A. and Tesoriere, L. 2006. Health benefits and bioactive components of the fruits from *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. J.PACD 8: 73-90.
- 5. Lopez-Martínez, C. R. L., Mateos, R. G., Vazquez, C. G., & Castellanos, J. S. (2015). Antioxidant components and nutritional quality of 15 genotypes of Xoconostle (Opuntia spp.). *JPACD*, *17*, 33-49.
- López-Martínez, L. X., Aguilar Cisneros, L. M., & Dublán-García, O. 2014. Actividad antioxidante e inhibidora de α-glucosidasa y α-amilasa de tres variedades de cebolla (Allium cepa L.). Nova Scientia, 6(12), 234-347.
- 7. Ravichandran, K., Saw, N. M. M. T., Mohdaly, A. A., Gabr, A. M., Kastell, A., Riedel, H., ... & Smetanska, I. (2013). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food research international*, *50*(2), 670-675.
- 8. Yuan, T., Wan, C., Liu, K. and Seeram, N.P. 2012. New maplexins FI and phenolic glycosides from red maple (*Acer rubrum*) bark. *Tetrahedron*. 68 (4), 959–964.

BIOESTIMULACIÓN CON LÁSER HE-NE Y LEDS SOBRE LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE CHILE POBLANO

Moreno-Jiménez, A. M., Ortiz-Morales, M. y Loza-Cornejo, S.

Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara. Centro de Investigaciones en Óptica (Unidad Aguascalientes).

RESUMEN

El chile (Capsicum annuum L. var. poblano), es una especie de gran importancia, por lo que es necesario incrementar su producción. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto bioestimulatorio del tratamiento con láser He-Ne y diodos emisores de luz (LEDs), sobre la germinación y desarrollo de plántulas del chile poblano. Se utilizó un láser He-Ne con períodos de exposición 0, 60 y 120 segundos, combinados con luz LED azul, roja y el control (luz fluorescente). Se evaluó el porcentaje de germinación (PG), índice de velocidad de germinación (IVG), longitud de raíz (LR) longitud de hipocótilo (LH), diámetro de hipocótilo (DH) y peso fresco (PF) de las plántulas. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar, un análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de medias de Tukey (P < 0.05). Los resultados demostraron que el tratamiento 120s de irradiación con luz roja presentó el mayor PG. La variable IVG mostró un valor máximo con el tratamiento luz roja sin irradiar. LR se favoreció con el tratamiento de 60s y luz roja. Los tratamientos 60 y 120s de irradiación con luz fluorescente destacaron por inducir un incremento en diámetro de hipocótilo (DH). Para la variable LH los tratamientos favorables fueron luz azul y roja con 120s de irradiación; los valores más altos de peso fresco de plántulas se obtuvieron con el tratamiento 120s de irradiación y luz azul. Se concluye que la exposición al láser He-Ne y distintas longitudes de onda de LEDs son eficaces para la propagación y crecimiento de plántulas de Capsicum annum var. poblano.

INTRODUCCIÓN

El chile (*Capsicum annuum* L.) es una de las hortalizas más importantes a nivel mundial. México es de los países con mayor producción y tiene una amplia diversidad de variedades o cultivares [1]. Sin embargo, en los últimos años el incremento en la producción ha sido bajo, por lo que en la actualidad se están llevando a cabo numerosas investigaciones para tratar de aumentar la producción de esta hortaliza.

El uso de métodos físicos se ha destacado como una alternativa eficaz para mejorar la producción de plantas. La calidad de la luz influye en el crecimiento de las células, tejidos, características fotosintéticas y rendimiento de los cultivos, las cualidades fisiológicas, morfológicas, la regulación de estrés y el envejecimiento de las hojas [2]. Ejemplos de métodos físicos en los que interviene la luz como factor estimulante, son la irradiación láser y los diodos emisores de luz (LEDs), los cuales se han destacado como una alternativa eficaz para mejorar la producción de plantas [3].

El tratamiento pre-germinativo con láser He-Ne, constituye una técnica no invasiva para las plantas y es capaz de inducir la germinación y mejorar el crecimiento y desarrollo de las mismas [4,5]. Por otro lado, las características de los diodos emisores de luz (LEDs) en comparación con lámparas tradicionales, incluyen vida larga, alta eficiencia, tamaño pequeño y menor radiación térmica [6,7]. Además, un diodo emisor de luz (LED), es capaz de coincidir con la mayoría de los receptores de la fotosíntesis de las plantas, estimulando el desarrollo de plántulas más vigorosas y con mejor desempeño morfo-anatómico, fisiológico y bioquímico [8].

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto bioestimulatorio que ejerce el tratamiento con láser He-Ne y diodos emisores de luz (LEDs), sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de chile poblano.

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención del material. Las semillas se recolectaron a partir de los frutos maduros de *Capsicum* annuum, var. poblano que se obtuvieron comercialmente. Las semillas viables se separaron en grupos de 50 para la aplicación de los tratamientos pre-germinativos.

Tratamiento pre-germinativo. Para el tratamiento de las semillas se empleó un láser de He-Ne con 10 mW de potencia, una longitud de onda (ë = 632,8 nm), mancha de luz de 3.8 cm² y densidad de potencia de 2.63 mW/cm². Se utilizó un diseño completamente al azar que incluyó 3 repeticiones de 50 semillas por cada tratamiento. Las semillas se irradiaron durante períodos de exposición de 60 y 120 segundos, utilizando semillas no irradiadas como control. El arreglo del láser se muestra en la Figura 1.

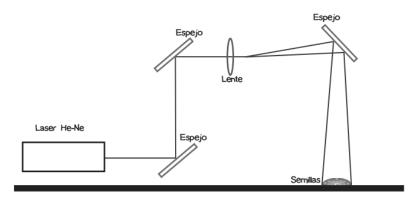


Figura 1. Arreglo del láser He-Ne para la irradiación de las semillas.

Después de irradiadas, las semillas se desinfectaron con cloro comercial al 10% y captan al 5% [9], con la finalidad de reducir el riesgo de contaminación por hongos. Posterior a la desinfección, las semillas se sembraron sobre papel filtro en cajas Petri estériles con agua destilada. Enseguida, las semillas se sometieron a un tratamiento de luces LEDs; las cajas se colocaron en cámaras de vidrio, con un panel de 6 focos por cámara dispuestos en la parte superior. Los focos LED (SMD 5050, HR16) se adquirieron de JACH Iluminación.

Se aplicaron dos tratamientos para la radiación de luz LED: luz azul (77.95 µmol·m⁻²·s⁻¹) y luz roja (40.47 µmol·m⁻²·s⁻¹), además del control (luz fluorescente, 100.52 µmol·m⁻²·s⁻¹), con un fotoperiodo de 11 horas luz. Las semillas estuvieron en las cámaras por 30 días. La temperatura y humedad relativa se registraron con un higrotermógrafo portátil CONTROL COMPANY y tuvieron un promedio de 24.4 °C y 35.8 % respectivamente.

Variables evaluadas

Porcentaje de Germinación (PG). Al final de la prueba se dividió el número total de plántulas germinadas entre el número total de semillas sembradas [1].

Índice de Velocidad de Germinación (IVG). Se realizaron conteos diarios del número de semillas germinadas, considerando germinación positiva la emergencia de la radícula. El cálculo del IVG se hizo de acuerdo a la propuesta de Vadillo *et al.* [10]:

IVG =
$$\sum$$
 (ni/ti) [1]

Dónde:

ni = Número de semillas germinadas en el i-ésimo día; ti = Tiempo en días, para la germinación en el i-ésimo día. Caracteres morfológicos. Se tomó una muestra representativa (n= 15) de plántulas por tratamiento, para medir las variables longitud de la raíz (LR), longitud del hipocótilo (LH), diámetro del hipocótilo (DH), y peso fresco (PF) de las mismas, utilizando un vernier digital MITUTOYO y una balanza analítica OHAUS (Precisión 0.0001 g) [11].

Análisis estadístico

Los parámetros de la estadística descriptiva y pruebas de comparaciones múltiples de Tukey (p<0.05) para examinar las diferencias entre los tratamientos, se determinaron con el programa de análisis estadístico SAS (2002) [12].

RESULTADOS

En la germinación de las plántulas de chile poblano se observó un efecto bioestimulatorio positivo de los tratamientos aplicados de Láser He-Ne y diodos emisores de luz, aunque no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Las semillas del tratamiento de luz fluorescente (control) con 0s, 60s y 120s de irradiación láser presentaron los porcentajes más bajos de germinación; en contraste, las semillas tratadas con 120s combinadas con LEDs rojos presentaron el valor más alto de PG (Fig. 2); similar a lo establecido por algunos autores [5, 13, 14].

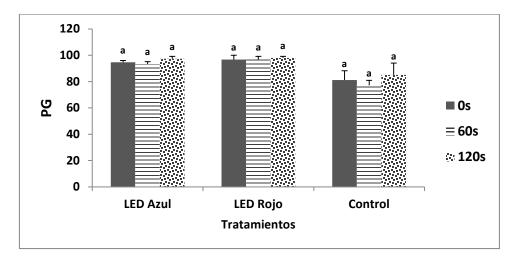


Figura 2. Porcentaje de Germinación (PG) de semillas de *Capsicum annuum* var. poblano sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne, bajo la influencia de distintos tratamientos de luz LED. Las barras representan la media \pm error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey; P < 0.05).

El Índice de Velocidad de Germinación se mostró claramente favorecido en el grupo tratado con LEDs rojos; no obstante, en cuanto a las dosis de irradiación con láser He-Ne, no se observó una diferencia significativa del efecto del láser sobre esta variable, lo cual coincide con lo mencionado por Álvarez et al. [15].

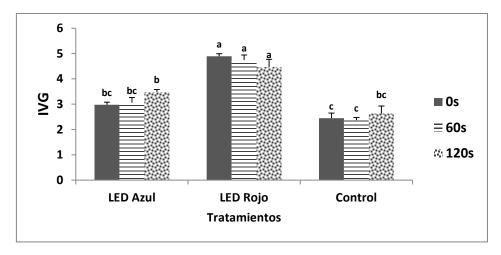


Figura 3. Índice de Velocidad de Germinación (IVG) de semillas de *Capsicum annuum* var. poblano sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne, combinado con distintos tratamientos de luz LED. Las barras representan la media \pm error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey; P < 0.05).

En los cuatro indicadores de crecimiento analizados se observó un efecto estimulante tanto en las dosis de láser He-Ne aplicadas como en la exposición de LEDs (Tabla 1). La longitud de la raíz se favoreció con la luz roja, siendo la dosis de 60s la que presentó el valor más alto, lo cual coincide con lo señalado para otras especies como el trigo [16]. Para la longitud del hipocótilo, destacó el tratamiento con 120s de irradiación combinado con luz LED azul y roja ya que se registraron valores de 14.2 mm y 14.1 mm, respectivamente; un efecto similar fue observado en otras especies [17,18]. Para la variable diámetro de hipocótilo, no se observó un efecto estimulante de la exposición a diodos emisores de luz; sin embargo si resalta la aplicación de láser tanto en la dosis de 60 como en la de 120 segundos respecto al control. Por otra parte, la luz LED azul potenció positivamente el peso fresco de las plántulas, destacando también para esta variable la dosis de irradiación de 120s (Tabla 1); un efecto similar fue registrado por Li *et al.* [19] en *Brassica campestris*.

Tabla 1. Caracteres morfológicos de plántulas de chile poblano, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne, crecidas bajo la influencia de distintos tratamientos de luz LED.

Tratamiento de luz	Tiempo de exposición láser	LR (mm)	LH (mm)	DH (mm)	PF (g)
LED Azul	0s	50.7 ± 14 ^{cd}	13.3 ± 1.05 ^{ab}	1.01 ± 0.03 bc	0.05 ± 0.004 ^c
	60s	17.8 ± 6.98 ^d	13.1 ± 0.76 ab	1.07 ± 0.04 ^b	0.07 ± 0.008 ab
	120s	63.5 ± 7.85 bc	14.2 ± 0.81 ^a	1.12 ± 0.02 ab	0.08 ± 0.003 a
LED Rojo	0s	74.4 ± 11.0 abc	12.3 ± 0.4 ab	1.2 ± 0.03 ab	$0.05 \pm .002$ ^c
	60s	103.8 ± 7.8 ^a	12.0 ± 0.5 ^{ab}	1.07 ± 0.03 b	$0.05 \pm .002$ °
	120s	96.5 ± 8.9 ab	14.1 ± 1.0 ^a	1.2 ± 0.04 ab	$0.06 \pm .002$ bc
Control	0s	24.3 ± 6.1 ^d	11.3 ± 0.7 ^{ab}	1.2 ± 0.05 ^{ab}	$0.05 \pm .004$ ^c
	60s	21.8 ± 5.2 ^d	10.6 ± 0.4 ^b	1.3 ± 0.05 a	$0.05 \pm .003$ °
	120s	24.6 ± 3.6 ^d	12.1 ± 0.7 ab	1.3 ± 0.04^{a}	$0.06 \pm .003$ bc

LR= Longitud de la raíz, LH= Longitud del hipocótilo, DH= Diámetro del hipocótilo, PF= Peso fresco. Los datos representan la media \pm error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey; P < 0.05).

CONCLUSIONES

En la presente investigación la dosis de irradiación láser de 120 segundos fue la más efectiva en la germinación y crecimiento de plántulas de *C. anuumm* var. poblano.

La calidad de la luz LED azul estimula la producción de biomasa y el desarrollo de las plántulas de chile poblano.

El tratamiento de LEDs rojos tuvo un efecto favorable en las plántulas de chile poblano; mejoró el porcentaje de germinación y aceleró dicho proceso; indujo además, el crecimiento o alargamiento de la plántula.

La estimulación con láser He-Ne y diodos emisores de luz sobre las semillas tiene un efecto positivo sobre la germinación y el crecimiento de plántulas, lo cual pudiera indicar ser un tratamiento eficaz para la propagación y producción de plántulas de *Capsicum annum* var. poblano.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Prado, U. G., Lagunes, E. L., García, L. E., Bautista, M. C., Camacho, C. W., Mirafuentes, F. y Aguilar, R. V., 2015. Germinación de semillas de chiles silvestres en respuesta a tratamientos pregerminativos. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios, 2(5): 139-149.
- 2. XiaoYing, L., ShiRong, G., ZhiGang, X. y XueLei, J., 2011. Regulation of chloroplast ultrastructure, cross-section anatomy of leaves, and morphology of stoma of cherry tomato by different light irradiations of light-emitting diodes. HortScience, 46(2): 217-221.
- 3. Aladjadjiyan, A., 2012. Physical factors for plant growth stimulation improve food quality. Food production—approaches, challenges and tasks In Tech Publisher. pp 145–168.
- 4. Perveen, R., Ali, Q., Ashraf, M., Al-Qurainy, F., Jamil, Y. y Raza, A.M., 2010. Effects of different doses of low power continuous wave He–Ne laser radiation on some seed thermodynamic and germination parameters, and potential enzymes involved in seed germination of sunflower (*Helianthus annuus L.*). Photochemistry and Photobiology, 86: 1050–1055.
- 5. Jamil, Y., Perveen, R., Ashraf, M., Ali, Q., Iqbal, M. y Raza, A. M., 2013. He-Ne laser-induced changes in germination, thermodynamic parameters, internal energy, enzyme activities and physiological attributes of wheat during germination and early growth. Laser Physics Letters, 10(4): 1-8.
- 6. Landis, T.D., Pinto, J.R., Dumroese, R.K., 2013. Light-emitting diodes (LED): applications in forest and native plant nurseries. Forest Nursery Notes 33: 5-13.
- 7. Bourget, C.M., 2008. An introduction to light-emitting diodes. HortScience 43 (7): 1944-1946.
- 8. Olle, M. y Viršilė, A., 2013. The effects of light-emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality. Agr. Food Sci., 22; 223–234.
- 9. González, A.J., 2003. Desinfección de semilla de judía (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo granja asturiana con antifúngicos y antibacterianos. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas, 29:* 461-470.
- 10. Vadillo, G., Suni, M. y Cano, A., 2004. Viabilidad y germinación de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). Rev. Peru. Biol., 11(1): 71-78.

- 11. Álvarez-Fonseca, A., Chávez-Suárez, L., Ramírez-Fernández, R., Estrada-Prado, W., Estrada-Labrada, Y. y Maldonado-Rodríguez, A., 2013. Efecto del tratamiento de semillas con bajas dosis de rayos X en plantas de pimiento (*Capsicum annuum*). Nucleus 53: 14-18.
- 12. SAS, 2002. SAS User's Guide: Statistics. SAS Inst. Inc.
- 13. Paniagua, P.G., Hernández, A.C., Rico, M.F., Domínguez, P.F.A., Martínez, O.E. y Martínez, G.C.L., 2015. Efecto de la luz LED de alta intensidad sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de brócoli (*Brassica oleracea* L.). Polibotánica, *40*: 199-212.
- 14. Jha, P., Norsworthy, J.K., Riley, M.B. y Bridges, W., 2010. Annual changes in temperature and light requirements for Palmer amaranth (Amaranthus palmeri) seeds retrieved from soil. *Weed Sci.* 58:426–432.
- 15. Álvarez, A., Ramírez, R., Chávez, L. y Camejo, Y., 2011. Effect of the treatment of seeds with radiation laser of fall promotes in a hybrid of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Revista Granma Ciencia 15(2): 1-9.
- 16. Yang, L., Han, R. y Sun, Y., 2012. Damage repair effect of He-Ne laser on wheat exposed to enhanced ultraviolet-B radiation. Plant Physiology and Biochemistry 57: 218-221.
- 17. Samuolienė, G., Brazaitytė, A., Urbonavičiūtė, A., Šabajevienė, G. and Duchovskis, P., 2010. The effect of red and blue light component on the growth and development of frigo strawberries. Zemdirbyste Agriculture 97:99-104.
- 18. Johkan, M., Shoji, K., Goto, F., Hahida, S. & Yoshihara, T. 2010. Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. HortScience 45: 1809–1814.
- 19. Li, H., Tang, C., Xu, Z., Liu, X. y Han, X., 2012. Effects of different light sources on the growth of non-heading chinese cabbage (*Brassica campestris* L.). Journal of Agricultural Science 4: 262–273.

ANÁLISIS PROTEOMICO DIFERENCIAL DURANTE LA TRANSFORMACIÓN DE MÚSCULO A CARNE EN LOMO DE CERDO

Elba Rodríguez Hernández, Luis López Hernández, Mayra González Mendoza y Ana María Anaya escalera.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

RESUMEN

En México, la producción de carne de cerdo se estima en 300 mil toneladas anuales, promoviendo importantes ganancias en la industria cárnica. La carne de cerdo es un alimento rico en proteínas y minerales, por lo tanto es de alto contenido nutricional para el ser humano. En los últimos años, algunos de los parámetros que ha cobrado mayor relevancia en relación a la carne de cerdo son la suavidad y terneza que son indispensables para determinar su calidad. Actualmente se sabe poco sobre las moléculas involucradas en la transformación de músculo a carne. Durante el sacrificio el cerdo es sometido a estrés, lo que desencadena reacciones oxidantes en el músculo. En este trabajo determinamos el patrón de expresión diferencial de las proteínas sarcoplásmicas en músculo (Longissimus dorsi) del cerdo, inmediatamente después del desangrado y a las 24 horas post-mortem. Los resultados demuestran que existe un patrón de expresión diferencial entre los dos tiempos analizados; lo que sugiere que ciertas proteínas se incrementan en respuesta al estrés inducido por la isquemia generalizada, evidenciando proteínas que posiblemente estén involucradas en la transformación del músculo a carne. Las expectativas de este trabajo están encaminadas a la identificación de las proteínas que mostraron cambios evidentes en su expresión. Los cambios en la expresión de proteínas involucradas en la transformación de músculo a carne son importantes para identificar moléculas asociadas a calidad.

INTRODUCCIÓN

La carne de cerdo es un alimento rico en proteínas y minerales, por lo tanto es de alto contenido nutricional para el ser humano. En los últimos años, algunos de los parámetros que ha cobrado mayor relevancia en relación a la carne de cerdo son la suavidad y terneza de la carne que son indispensables para determinar su calidad. A pesar de la extensa investigación relacionada con estos parámetros se conoce poco sobre las moléculas que están involucradas en dicho proceso. El cerdo es sometido a estrés ante-mortem (Adzitey y Nurul., 2010) y condiciones post-mortem del músculo que impactan en la calidad. Durante el sacrificio del animal, el estrés incrementa por las condiciones de hipoxia e isquemia, lo que causa cambios fisiológicos que llegan a impactar en el potencial redox (Kemp y Parr., 2012) desencadenando la generación de radicales libres altamente pro-oxidantes. La oxidación puede inducir cambios en las proteínas y activación de otras moléculas, modificando la proteólisis y la textura final de la carne (Lomiwes y col., 2014). Existen proteínas de choque térmico que se sintetizan en respuesta a estrés físico, químico ó biológico que mantienen la homeostasis celular (Yu y col., 2009). El objetivo de este trabajo fue determinar el patrón de expresión diferencial de las proteínas en carne de lomo de cerdo, así como la identificación de proteínas en ese mismo tejido. Los cambios en la expresión de proteínas involucradas en diferentes procesos fisiológicos que dan lugar la transformación de músculo a carne son de vital importancia para identificar moléculas asociadas a calidad.

PARTE EXPERIMENTAL

Muestras biológicas: Un grupo de tres cerdos machos de la raza Large White x Duroc de 63 días de edad mantenidos bajo las mismas condiciones de alimentación y cuidados, fueron movilizados a jaulas individuales donde permanecieron hasta la cosecha. Antes del sacrificio los animales fueron aturdidos eléctricamente y sacrificados bajo condiciones humanitarias en un rastro TIF (NOM-033-ZOO-1995). Se les tomo una muestra de tejido (2 g de *Longissimus dorsi* [LD]) después del desangrado y a las 24 horas posmortem. Las muestras fueron almacenadas a -80 °C.

Extracción de proteínas sarcoplásmicas: Las muestras congeladas (2 g de músculo obtenido a las 0 y 24 hrs posmortem) fueron homogenizadas en frío en 6 ml de buffer de extracción (pH 7.6) que contiene Tris 20 mM, EDTA 2 mM, MgCl2 4 mM e inhibidor de proteasas. La solución se homogenizó y se centrifugó a 14,000 rpm durante 20 min a 4 °C, el sobrenadante que contiene las proteínas sarcoplásmicas se almacenó a -80 °C.

Electroforesis bidimensional: Las proteínas sarcoplásmicas fueron (40 μ g) mezcladas con amortiguador de hidratación que contiene urea 7M, tiourea 2M, DTT 0.3% (w/v), CHAPS 2%, Tris 40mM, inhibidor de proteasas 5mM (w/v), 0.8% (v/v) de anfolitos 3-10 y bromofenol al 0.1%. Las tiras IPG de rango de pH de 3-10 de 7 cm fueron hidratadas con 125 μ L de la mezcla durante 16 horas. Las tiras fueron sometidas a un protocolo de isoelectroenfoque con un paso inicial de 20 min a 250 V lineal, con incremento gradual del voltaje a 4000 V y se conservó a este voltaje hasta un estado continuo ó a un máximo de 4000 V/hr. La corriente y carga se limitó a 0.05 mA y 0.2 W por tira. Las tiras se equilibraron con dos amortiguadores; uno con DTT y otro con iodacetamida durante 15 min. Las proteínas se separaron por SDS-PAGE al 15% y los geles fueron teñidos con azul de Coomassie.

RESULTADOS

El objetivo de este trabajo fue identificar proteínas diferencialmente expresadas durante la transformación de músculo a carne, lo que permitirá conocer las moléculas involucradas en este proceso, que aporte conocimiento del mecanismo de transformación y mejorar los parámetros de calidad de carne para incrementar su aceptación en el consumidor. Este estudio fue realizado mediante técnicas proteómicas. Los resultados demuestran que existe un patrón de expresión diferencial cuando se comparan las proteínas del músculo de cerdo LD a las 0 hrs (inmediatamente después del desangrado del animal) y proteínas de carne a las 24 hrs. Se detectaron al menos diez proteínas diferencialmente expresadas; entre las que destacan las identificadas con los números 4, 7, 8, 11 y 13 las cuales se sobreexpresan a las 24 hrs posmortem; e interesantemente las proteínas 9 y 10 a ese mismo tiempo disminuyen su expresión (Figura 1). Este es el primer reporte donde se analiza el patrón de expresión diferencial de proteínas bajo estas condiciones. La perspectiva de este trabajo es realizar la identificación de estas proteínas mediante LC MS/MS e inmunodetección con anticuerpos, en este último caso, estamos interesados en investigar a las proteínas involucradas en el proceso de maduración de la carne como algunas proteasas y proteínas de choque térmico. De acuerdo a la literatura, las proteínas HSP, como HSP70 y HSP27 son chaperonas moleculares que inducen su expresión en repuesta al estrés; pertenecen a una familia de proteínas que tienen una gran variedad de funciones y que pueden co-existir en el mismo compartimento celular (núcleo o citoplasma), aunque la significancia funcional de su múltiple localización aún es desconocida (Kabani y Martineau., 2008), así como las caspasas las cuales son proteínas que tienen su función en la activación de la apoptosis celular. Los resultados muestran varias proteínas que cambian su expresión en un rango de masa molecular de las HSP y caspasas, por lo que sería interesante determinar si estas corresponden a las proteínas antes mencionadas.

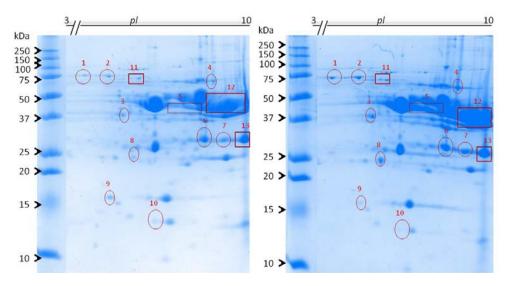


Figura 1. Electroforesis bidimensional de proteínas sarcoplásmicas de LD de cerdo. Panel A. Proteínas sarcoplásmicas de LD a las 0 hrs después del desangrado del cerdo. Panel B. Proteínas sarcoplásmicas de LD a las 24 hrs posmortem. La SDS-PAGE fue al 15% y fue teñido con azul de Coomassie R-250. Los círculos yb rectángulos señalan proteínas diferencialmente expresadas en las dos condiciones analizadas.

La identificación de proteínas que modifican su expresión durante la transformación de músculo a carne permitirá conocer los mecanismos a nivel molecular de maduración de la carne de cerdo e incidir de una manera más certera para incrementar la calidad de esta.

CONCLUSIONES

En este trabajo determinamos el patrón proteómico diferencial entre tejido de músculo y carne del LD de cerdo e identificamos al menos diez proteínas que mostraron cambios evidentes de expresión. Cinco proteínas mostraron una sobreexpresión y dos disminuyeron su nivel de manera evidente a las 24 hrs posmortem con respecto a las 0 hrs. Los resultados sugieren que las proteínas que regulan su expresión a las 0 y 24 hrs tienen una función importante en la transformación de músculo a carne del LD de cerdo, quizá permitiendo un mecanismo significativo de protección del tejido a la necrosis y muerte por apoptosis. Sin embargo, es necesario realizar estudios complementarios relacionados a la identificación de proteínas por MS e inmunodetección que nos permitan proponer moléculas candidatas para mejorar la calidad de la carne de cerdo.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Adzitey, F. and Nurul, H. (2010). Pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) meats: causes and measures to reduce these incidences a mini review. International Food Research Journal, 18, 11-20.
- 2. Kemp, C.M. and Parr, T. (2012). Advances in apoptotic mediated proteolysis in meat tenderization. Meat Science, 92, 252–259.
- 3. Lomiwes, D., Farouk, M. M., Wiklund, E. and Young, O. A. 2014. Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review. Meat Science, 96, 26-40.
- 4. Yu, J., Tang, S., Bao, E., Zhang, M., Hao, Q. and Yue, Z. (2009). The effect of transportation on the expression of heat shock proteins and meat quality of M. *longissimus dorsi* in pigs. Meat Science, 83, 474–478.
- 5. Kabani, M. and Martineau, C. N. (2008). Multiple Hsp70 Isoforms in the Eukaryotic Cytosol: Mere Redundancy or Functional Specificity?. Current Genomics, 9, 338-348.

TIPIFICACIÓN DE TOXINA SHIGA 2 DE RUMIANTES MENORES DE 21 DÍAS CON SÍNDROME DIARREICO

Gonzalo Martínez Valdez, Mónica Silva Vega; Rómulo Bañuelos Valenzuela, Lucía Delgadillo Ruiz, Edgar Esparza Ibarra, Jorge Luis Ayala Luján

Unidad Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Avenida preparatoria s/n colonia Hidráulica Zacatecas, Zac. ²Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Zacatecas, Km 31.5 de la carretera panamericana tramo Zacatecas-Fresnillo. ³Unidad Académica de Ciencia Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Campus Siglo XXI Zacatecas, Zac.

Email: msilva58@hotmail.com

RESUMEN

Escherichia coli es la especie predominante entre las diversas bacterias anaerobias facultativas que constituyen parte de la microbiota intestinal de animales de sangre caliente. Este proyecto tiene como objetivo identificar toxina Shiga 2 de bacterias aisladas en rumiantes lactantes (<21 días) con síndrome diarreico. Las muestras fueron obtenidas a partir de 183 ovinos, 66 caprinos y 67 bovinos. Para la identificación de bacterias se realizó una siembra por estría en placa en medio CHROMagar[™] O: 157. La extracción se realizó utilizando el kit Ultra Clean Microbial DNA Isolation de MO-BIO Laboratories Inc. Las reacciones se desarrollaron con el primer de toxina Shiga 2 (Stx2a: TTAACCACCCCACCGGGCAGT, Stx2b:GCTCTGGATGCATCTCTGGT) (Leotta et al., 2005). Con el uso del CHROMagar E. coli O157 presenta una coloración malva o rosa. Se extrajo DNA de 108 muestras de un total de 353 que corresponde al 30.5%, las cuales son bacterias identificadas como E. coli O157:H7. Solo 13 bacterias amplificaron para toxina shiga 2, relativamente un número pequeño pero si consideramos que esa bacteria es muy patógena v que además la toxina es termorresistente este pequeño número de bacterias pueden convertirse en un grave problema de salud pública (O'Brien y Holmes, 1987). De las bacterias que expresaron para toxina Shiga 2, no excluye que el resto de las otras bacterias tengan el gen de expresión para toxina Shiga 1, por lo tanto como futura perspectiva se determinara la expresión de este gen.

INTRODUCCIÓN

Escherichia coli es un patógeno importante en el ganado, la medicina y la salud pública (Kaper et al., 2004), y productor de toxina Shiga (STEC). Los rumiantes domésticos como vacas, ovejas y cabras pueden portar STEC y E. coli O157 H7 en sus heces, por lo que se consideran reservorios naturales de estos patógenos (Blanco et al., 2005; Sánchez et al., 2009). Aproximadamente el 30% de los corrales de engorda de ganado arrojan E. coli O157:H7 (Callaway et al., 2009). La patogenicidad de STEC reside en diferentes factores de virulencia, incluyendo las toxinas Shiga (Stx1 y Stx2), intimina, enterohemolisina y el autoaglutinantes STEC adhesina (AEA) (Gyles, 2007). La capacidad toxigénica de las cepas es necesaria para que el paciente desarrolle colitis hemorrágica y diarrea con sangre, ya que la citotoxina STX es el principal mecanismo de patogenicidad de EHEC y su síntesis está relacionada con la presencia del bacteriófago STX, que está insertado en el genoma. La STX actúa a nivel de síntesis de proteínas, ya que se une a la subunidad 60S de los ribosomas de las células intestinales o renales del hospedero (O'Brien y Holmes, 1987).

En las cepas EHEC aisladas, se han encontrado las variantes STX1 y STX2 que son inmunológicamente diferentes, de tal manera que se pueden aislar bacterias que sinteticen alguna de las toxinas o ambas. Además de la toxina, las EHEC tienen otros mecanismos de patogenicidad como el fenómeno de adherencia y esfacelación (A/E), y presentan el gene cromosomal eae que codifica para la proteína de membrana externa (OMP) de 94 kilodaltones (kDa), llamada intimìna, cuya expresión es regulada por genes plasmídicos; el gen eae también se encuentra en las cepas EPEC. Otro factor de patogenicidad es el plásmido pO157, de 60 megadaltones (MDa) y que codifica para la enterohemolisina (Schmidt et al., 1995).

PARTE EXPERIMENTAL

Se tomaron muestras de heces (n=316) obtenidas de: 183 ovinos, 66 caprinos y 67 bovinos, muestreados por vía rectal usando un hisopo estéril y transportados en medio Stuart. Los muestreos se realizaron durante los meses de agosto del 2014 y marzo del 2015 en los municipios de Calera, Morelos, Rio Grande y Enrique Estrada del estado de Zacatecas.

Cada muestra se sembró en cajas petri con agar MacConkey (SMAC) y fueron incubadas en una estufa bacteriológica a 37°C durante 18 a 24 hrs (Samadpour *et al.*, 1990). Las colonias rosas cremosas con morfología colonial compatible con *E. coli*, se aislaron individualmente para su posterior resiembra en medio cromogénico CHROMagarTM especifico para *E. coli* O157 H:7.

Las colonias identificadas como *E coli* O157 H:7 se subcultivaron en cajas petri con agar base, incubando a 37 °C durante 24 h; con la finalidad de obtener una cantidad suficiente de material bacteriano aislado. Para la extracción de DNA se utilizó el kit Ultra Clean Microbial DNA Isolation (MO BIO Laboratories Inc.) siguiendo las recomendaciones del fabricante.

El ADN de cada muestra se cuantificó en un espectrofotómetro (NanoDrop ND-1000 LabTech) y su pureza fue determinada considerando relaciones de absorbancia de 260/280nm y 260/230nm.

Para la amplificación del gen Stx2 se utilizaron los pares de oligonucleótidos iniciadores para amplificar el fragmento Stx2 de la toxina Shiga 2 de *Escherichia coli* Stx2a TTAACCACACCCCACCGGGCAGT Stx2b GCTCTGGATGCATCTCTGGT en dirección 5´-3´ y un tamaño de fragmento de 346 pb. (Leotta *et al.*, 2005). Después se realizó la PCR con las mezclas de reacción que contenían: 25 ng de ADN genómico, 2.0 mM de MgCl2, 0.2 μM dNTPs (fermentas), 10 nM de cada iniciador, 1 unidad de Taq ADN polimerasa (ACTGene), 1x Buffer, en un volumen final de 25 μL de reacción. Para evitar contaminación con DNA exógeno, la mezcla de la reacción se llevó a cabo en una campana de PCR con luz UV integrada, posteriormente el DNA fue amplificado en un termociclador. Las condiciones de amplificación fueron de: 5 minutos a 94 °C, seguido por 40 ciclos a 94 °C por 30 segundos, 30 segundos a 60 °C, 30 segundos a 72 °C, y un paso final a 72 °C por 2 minutos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los animales muestreados en los municipios del estado de Zacatecas fueron 67 bovinos, 183 ovinos y 66 caprinos, de los 316 animales muestreados se aislaron 379 bacterias ya que en algunos animales se encontró desarrollo de más de una bacteria. Después de la resiembra de Chromagar resultaron 287 muestras con coliformes, 51 muestras con *E coli* O157 H7, 16 muestras con *Proteus spp* y 25 muestra no determinadas. Para hacer la amplificación del gen de toxina Shiga 2 se seleccionaron 109 muestras incluyendo las 51 muestras identificadas como *E coli* O157 H7 y el resto de las muestras con coliformes.

De las 108 muestras a las que se les realizó la amplificación solo en 13 se encontró el gen que amplifica a toxina Shiga 2. Encontrándose en los carriles: 16 (ovino), 17 (caprino), 20 (bovino), 21(bovino), 28 (bovino), 52 (bovino), 53 (bovino), 54 (bovino), 55 (bovino), 57 (bovino), 81 (bovino), 82 (bovino) y 95 (ovino). Siendo el mayor número encontrados en bovinos. Sin embargo, no excluye que el resto de las otras bacterias tengan el gen de expresión Tsx1 para Shiga 1, considerando que las cepas STEC pueden producir Stx1, Stx2, solas o en combinación (Mac Leod et al., 1991).

Las Stx se clasifican en dos tipos, Stx1 y Stx2, esta clasificación se basa en la neutralización del efecto citotóxico sobre células Vero con anticuerpos específicos. Hasta el momento para Stx1 se identificó la variante Stx1c (Zhang et al., 2002), y para Stx2 se describieron numerosas variantes, Stx2c (stx2vh-a y stx2vh-b), Stx2e, Stx2d y Stx2f (Marques et al., 1987, Pierard et al., 1998, Schmidt et al., 2000, Zhang et al., 2002). Por lo que se recomienda que en futuras investigaciones se determine la expresión de Stx1.

CONCLUSIÓN

Las bacterias coliformes fueron las de mayor presencia, sin embargo en el caso de las muestras con el número 17 y 28 identificadas como coliformes fecales, no siendo encontradas en bovinos y según los criterios de CHROMagar, no se trata de una muestra patógena, muestran tener genes que les dan capacidad de ser productoras de toxina Shiga 2, aunque no estén identificadas como Escherichia coli O157:H7. Lo que indica que todas las muestras de heces fecales de rumiantes de granja son potencialmente peligrosas a tratarse de una enterobacteria con capacidad de producir

toxinas termoresistentes y causar daños severos en humanos, por lo que las medidas de seguridad para evitar contaminación de alimentos con heces fecales de animales al momento del sacrificio, debe ser una prioridad.

BIBLIOGRAFÍA

- Blanco M, Padola NL, Krüger A, Sanz ME, Blanco JE, González EA. Virulence genes and intimin types of Shiga-toxin-producing Escherichia coli isolated from cattle and beef products in Argentina. IntMicrobiol. 2004; 7: 269–76.
- 2. Callaway, T.R. Carr, M.A., Edrington, T.S., Anderson, R. C., and Nisbet, D.J. Diet, Escherichia coli O157 H7, and cattle: a review after 10 years, Curr. Issues Mol. Biol. 11, 67-79.
- 3. Gyles CL. Shiga toxin-producing Escherichia coli: an overview. J Anim Sci. 2007; 85:E45–62.
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. Pathogenic Escherichia coli.Nat Rev Microbiol. 2004; 2:123–40.
- Leotta, G. A., I. Chinen, S. Epszteyn, E. Miliwebsky, I. C. Melamed, M. Motter, M. Ferrer, E. Marey, and M. Rivas. 2005. Validación de una técnica de PCR múltiple para la detección de Escherichia coli productor de toxina Shiga.Rev. Arg. Microbiol. 37:1–10. http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v37n1/v37n1a01.pdf
- 6. MacLeod DL, Gyles CL, Wilcock BP. 1991. Reproduction of edema disease o swine with purified Shiga-like toxin-II variant. Vet. Pathol. 28: 66-73.
- 7. Marques, L. R. M., Peiris, J. S. M., Cryz, S. J., & O'brien, A. D. (1987). Escherichia coli strains isolated from pigs with edema disease produce a variant of Shiga-like toxin II. FEMS Microbiology Letters, 44(1), 33-38. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1987.tb02237.x
- 8. O'Brien, A. D., and R. K. Holmes. 1987. Shiga and Shiga-like toxins. Microbiol. Rev. 51:206-220.
- 9. Pierard D, Muyldermans G, Moriau L, Stevens D, Lauwers S. 1998. Identification of new verocytotoxin type 2 variant B-subunit genes in human and animal Escherichia coli isolates. J. Clin. Microbiol. 36: 3317-3322.
- Sánchez S, Martínez R, Rey J, Garcia A, Blanco J, Blanco M, et al. Phenogenotypic characterization of Escherichia coli O157:H7 isolates from domestic and wild ruminants. Vet Microbiol. 2009; 142:445–9.
- 11. Schmidt, H., Beutin, L., & Karch, H. (1995). Molecular analysis of the plasmid encoded hemolysin of Escherichia coli O157: H7 strain EDL 933. Infection and immunity, 63(3), 1055-1061. http://iai.asm.org/content/63/3/1055.full.pdf
- 12. Zhang, W., Bielaszewska, M., Kuczius, T., & Karch, H. (2002). Identification, characterization, and distribution of a Shiga toxin 1 gene variant (stx1c) in Escherichia coli strains isolated from humans. Journal of Clinical Microbiology, 40(4), 1441-1446. DOI: 10.1128/JCM.40.4.1441-1446.2002

EFECTO DE DIFRENTES MÉTODOS DE COCCIÓN SOBRE COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN FLOR COMESTIBLE DE GASPARITOS (*Erythrina americana*)

Elia Nora Aquino-Bolaños, Ángel Ramón Flores-Sosa, Arelly Capistrán-Carabarín, Yemelly Ruíz-Romero, Vicente Velásquez-Melgarejo, José Cruz Carrillo-Rodríguez, José Luis Chávez Servia.

Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, Dr. Rafael Sánchez Altamirano S/N, Industrial Animas, Xalapa, 91192, Veracruz, México.

Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca, Ex-Hacienda Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, 71230 Oaxaca, México.

Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR Unidad Oaxaca, Hornos No. 1003, Santa Cruz Xoxocotlán, 71230 Oaxaca, México.

RESUMEN

El gasparito (Erythrina americana) es una flor comestible valorada por las características organolépticas que imparte a los platillos en los que se utiliza. En estado fresco contiene compuestos bioactivos como polifenoles y antocianinas, pero se desconoce el efecto del proceso de cocción sobre estos compuestos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de diferentes métodos de cocción tradicionales (ebullición, vapor y horneado) y el tiempo (3, 5 y 10 min) sobre el contenido de polifenoles y actividad antioxidante en flor comestible de gasparitos. El valor de cada variable de respuesta se expresó por medio de una razón (R) calculada a partir del contenido de la muestra tratada y el tejido fresco. Independientemente del tiempo de cocción, disminuyó la concentración de polifenoles en los tratamientos con vapor (R=0.63) y horneado (R=0.81), pero en ebullición (R=1.46) se incrementó; en cuanto al contenido de antocianinas, el valor disminuyó en los tres tratamientos, pero en ebullición (R=0.77) la pérdida fue menor; por el contrario, en horneado (R=0.35) se observó la mayor degradación. La actividad antioxidante aumentó en todos los tratamientos y en mayor proporción en ebullición (R=2.33). También se observó que, independientemente del método de cocción, la menor pérdida en los parámetros evaluados (polifenoles, antocianinas y actividad antioxidante) ocurrió cuando la flor se cocinó durante 3 min. Por el contrario, en cocción por 10 min disminuyeron polifenoles y antocianinas, obteniendo valores de R=0.69 y 0.27, respectivamente. El método de cocción y el tiempo, influyeron en el contenido final de compuestos con actividad antioxidante, siendo el tratamiento de ebullición por 3 min el que incrementa o conserva los compuestos bioactivos de gasparitos.

INTRODUCCIÓN

Las flores comestibles presentan colores, sabores y aromas que mejoran las características organolépticas de los alimentos (Lara-cortes *et al.*, 2013) por lo que son utilizadas para elaborar una amplia diversidad de platillos como: sopas, cremas, tamales, guisos, ensaladas y postres (Caballero-Roque *et al.*, 2009). Recientemente, el consumo de flores comestibles se ha incrementado debido a que se ha reportado que poseen compuestos bioactivos, a los cuales les son atribuidas propiedades antioxidantes (Mlcek y Rop, 2011), antitumorales (Ukiya *et al.*, 2002), antiinflamatorias (Ukiya *et al.*, 2006) y antimutagénicas (Wongwattanasathien *et al.*, 2010).

En México, una de las flores comestibles de mayor consumo son los gasparitos (*Erythrina americana*). Esta flor es de color rojo brillante y se produce en conjuntos terminales cónicos (Ordoñez-Díaz y Pardo-Tejada, 1982). En su composición presenta compuestos de interés por sus propiedades nutrimentales, como: minerales, vitaminas y aminoácidos esenciales (Sotelo *et al.*, 2007), además de compuestos fenólicos, como antocianinas, que le confieren actividad antioxidante. Sin embargo, también posee factores antinutrimentales (alcaloides e inhibidores de tripsina), por lo que antes de consumirse, es necesario eliminar o reducir la concentración de estos compuestos a niveles seguros (Sotelo *et al.*, 2003).

Por la elevada temperatura que se alcanza, la cocción es un método efectivo para eliminar los factores antinutrimentales. No obstante, los compuestos fenólicos, al ser termosensibles, también se pueden degradar. Diversos autores han reportado que en distintas hortalizas y flores comestibles, durante su cocción, disminuye la concentración de polifenoles y antocianinas en comparación con el tejido fresco, sin embargo en otros estudios se ha observado lo contrario (Turkmen et al., 2005; Murador et al., 2014; Murador et al., 2016a). En el caso de los gasparitos, se desconocen los cambios que ocurren en los compuestos fenólicos cuando la flor es sometida a los tratamientos de cocción que comúnmente se emplean para su preparación.

Por lo anterior el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de diferentes métodos de cocción tradicionales y el tiempo sobre el contenido de polifenoles y actividad antioxidante en flor comestible de gasparitos.

PARTE EXPERIMENTAL

Material Biológico

Se utilizaron gasparitos (*Erythrina americana*) cosechados en el municipio de Emiliano Zapata, Ver. ubicado en una altitud de 860 m.s.n.m a una longitud de 96,808611 y latitud 19,428611. Se seleccionaron aquellas flores que presentaban la misma coloración y libres de daño mecánico.

Métodos de cocción

Con agua en ebullición

Se pesaron 15 g de flor de gasparito, los cuales fueron sumergidos en 1 litro de agua a 94 °C. Posteriormente se retiró del agua y fueron colocados inmediatamente en un baño de agua a 6 °C para detener el proceso de cocción. Se eliminó el exceso de agua y se realizaron los análisis.

Con vapor

Se colocaron 15 g de flor de gasparito en una vaporera digital (Hamilton Beach) con capacidad de 5.2 litros a una temperatura de 85 °C. Posteriormente fueron retirados y sumergidos en un baño de agua a 6 °C para detener el proceso de cocción de las muestras. Enseguida se retiró el exceso de agua y se realizaron los análisis.

Horneado

50 g de gasparitos fueron colocados en un horno eléctrico convencional a 180 °C en charolas cubiertas con papel aluminio. Finalizada la cocción, las charolas se colocaron en una cama de hielo para detener el proceso.

Cada método de cocción se realizó por un tiempo de 3, 5 y 10 minutos y se utilizó la flor de gasparito en fresco como control.

Preparación del extracto

Se tomaron 3.0 g de la flor de gasparito tratada, así como en estado fresco, los cuales fueron homogenizados (DAIHA-Brand HG-IS-A, Gangwan, Korea) a 50 rpm por 30 s con 27 ml de acetona acidificada al 70% (acetona/agua/ácido acético, 70:29.5:0.5 v/v/v) y posteriormente se centrifugaron a 4000 rpm, 10 °C y 20 min (Hettich zentrifuge, Universal 32R, Tuttlingen, Alemania). En el sobrenadante se midió la concentración de polifenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante.

MÉTODOS

Polifenoles totales

El contenido de fenoles totales se determinó mediante el método espectrofotométrico de Singleton y Rossi (1965). Se tomaron 400 µl del extracto, se adicionó 1 ml de agua destilada y 200 µl de reactivo Folin-Ciocalteu 2 N, durante 5 a 8 min. Posteriormente se colocaron 2 ml de Na₂CO₃ al 7% (p/v) y se aforó con agua destilada, se agitó y se mantuvo en incubación por 1 h a temperatura ambiente. Terminando el tiempo de incubación se leyó a una absorbancia de 750 nm en un espectrofotómetro (Jenway, modelo 6305, Bibby Scientific Ltd, United King). La cuantificación se realizó con una curva estándar de ácido gálico (0.02 a 0.165 mg ml⁻¹).

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se realizó por el método propuesto por Brand-Williams *et al.* (1995). Se tomaron 100 μl de la muestra y se adicionaron 2.9 ml del reactivo DPPH (2,2-difenil-picril-hidracilo) (6 mg 100 ml⁻¹ en metanol al 80% (v/v)), se agitó vigorosamente y se mantuvo en oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posterior a esto se registró la absorbancia a 517 nm. Para la cuantificación se utilizó una curva estándar de Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (0.13-0.79 μmol Eg Trolox ml⁻¹).

Antocianinas

La determinación de antocianinas se llevó a cabo mediante el método de pH diferencial descrito por Giusti y Wrolstad (2001). Se utilizaron cloruro de potasio ajustado a un pH=1 y acetato de sodio a pH=4.5, los cuales fueron adicionados a 600 µl de la muestra, llevándolos a un volumen final de 3 ml. Posteriormente se leyó a una absorbancia de 510 nm para cianidina como absorbancia máxima en el intervalo visible de 420-700 nm con un blanco de metanol al 80%. Para obtener el valor final de absorbancia se utilizó la siguiente fórmula: A= (Amax-A700 nm) pH 1 - (Amax-A700 nm) pH 4.5 Dónde: Amax es la máxima absorbancia, mientras que A700 es la lectura dada a esa absorbancia.

La concentración de antocianinas se estimó con la ecuación: Antocianinas (mg Γ^1) = (A*PM*FD*1000) / (E^1), dónde A es la absorbancia a 510 nm; PM es el peso molecular para cianidina (449.2 g mol 1) FD es el factor de dilución, E es el coeficiente de extinción molar (26900 g mol 1 cm 1) y 1 es la longitud de la trayectoria de la celda (1 cm).

Análisis estadístico

Los resultados de las variables de respuesta se expresaron por medio de una razón (R), calculada a partir del contenido de la muestra tratada y el tejido fresco (Murador *et al.*, 2016b). Estos valores fueron analizados utilizando Modelos Lineales Generalizados, con un diseño bifactorial y su respectiva interacción. El modelo tuvo el factor tratamiento con tres niveles (ebullición, vapor y horneado) y el factor tiempo con tres niveles (3, 5 y 10 min). Además se realizó una comparación de medias por el método de Tukey (P< 0.05). Se comprobó que las variables de respuesta cumplieran con los supuestos de independencia, normalidad y homogeneidad de varianza. Todos los análisis fueron procesados en el software Statistica 7.0

RESULTADOS

El análisis de varianza mostró diferencias significativas (p<0.05) en la concentración de polifenoles, antocianinas y actividad antioxidante debido al efecto de los factores método de cocción y tiempo, así como por su interacción (Cuadro 1).

Polifenoles

El tratamiento de ebullición por tres minutos mostró incremento en la concentración de los polifenoles obteniendo un valor de R=2.7 en comparación con el tejido fresco (inicial=48.32 mg EAG g⁻¹ bs; Figura 1A). El aumento observado podría ser atribuido a que las altas temperaturas provocaron la ruptura de la estructura interna de la flor, facilitando la extracción de los compuestos fenólicos de la matriz celular como lo señalaron Blessington *et al.* (2010) para la papa, no obstante, a los 5 y 10 min disminuyó su contenido registrando valores de R=0.96 y 0.70, respectivamente, lo cual podría deberse a que estos compuestos por ser termosensibles y solubles en agua, su exposición prolongada a las condiciones del tratamiento provocaron su degradación. Un comportamiento similar ha sido observado en flores comestibles en ebullición por largos periodos de tiempo. En flor de calabaza se reportó la pérdida del 65% de los polifenoles, mientras que en coliflor fue del 58% (Loubet-González, 2010; Ahmed y Ali, 2013).

En el caso del horneado, la mayor degradación de los compuestos fenólicos se presentó al minuto cinco (R=0.76), esta concentración se mantuvo constante hasta el minuto diez. Los tratamientos de cocción por calor seco, como el horneado, pueden provocar la disociación de los compuestos fenólicos de la estructura celular por la modificación de ligninas y polisacáridos, lo cual incrementa su disponibilidad exponiéndolos para su degradación, además, por las altas temperaturas alcanzadas, se produce la evaporación del agua intracelular, facilitando la oxidación de los fenoles (Xu y Chang, 2008; Arinola y Adesina, 2014; Murador *et al.*, 2016b).

Por otra parte, la cocción en vapor, en comparación con los otros tratamientos, presentó la mayor degradación de polifenoles. Entre los tres tiempos (3, 5 y 10 min) no se observaron diferencias, registrando una pérdida del 33 (R=0.67), 37 (R=0.63) y 40% (R=0.60), respectivamente. Resultados similares han sido reportados para otras flores comestibles cocidas con vapor. Loubet-Gonzalez (2010) reportó que el contenido de polifenoles en flor de calabaza cocida con vapor disminuyó en 24%, asimismo Ahmed y Ali (2013) observaron que en colifrol la pérdida fue del 18%. Por el contrario, en hortalizas de hojas verdes, como espinaca y col berza, sometidas bajo el mismo tratamiento, se reportó incremento en el contenido de polifenoles en comparación con las muestras control (Turkmen *et al.*, 2005; Murador *et al.*, 2016b). Estas diferencias podrían atribuirse a que la matriz alimentaria al ser diferente, el compuesto fenólico mayoritario que contiene también es distinto, con una distribución en la estructura celular específica y determinada resistencia al calor, por lo que, a pesar de someterse bajo las mismas condiciones, presentan cambios diferentes (Turkmen *et al.*, 2005).

Cuadro 1. Significancia del método de cocción, tiempo e interacción en cuadrados medios del análisis de varianza de las antocianinas, polifenoles y actividad antioxidante presentes en flor de gasparitos.

Fuentes de Variación	GL	Antocianinas Monoméricas	Polifenoles Totales	Actividad Antioxidante
TRATAMIENTO	2	1.07**	4.60**	13.28**
TIEMPO	2	2.69**	4.02**	6.57**
TRAT*TIEMPO	4	1.73**	2.89**	4.356**
Error	63	<0.01	<0.01	<0.01
C.V. (%)		12.3	4.4	4.8

^{**:} altamente significativos. GL: Grados de Libertad. C.V.: Coeficiente de Variación.

Antocianinas

Las antocianinas son compuestos fenólicos altamente sensibles a temperaturas superiores a los 80 °C (Hou *et al.*, 2013), por lo que en los tres tratamientos la mayor concentración de estos

compuestos se presentó en el minutos tres (Figura 1B). En ebullición se observó incremento del 71% (R=1.71) en compración con el tejido fresco (inicial=4.97 mg cin-3-glu g⁻¹ bs), este aumento esta relacionado con lo observado en los fenoles totales, por lo que dicho comportamiento podría presentarse por las mismas razones que causaron el incremento de los polifenoles. En horneado y vapor, en este periodo de tiempo, presentaron la menor degradación (R=0.49 y 0.57, respectivamente). La corta exposición de los gasparitos a las altas temperaturas propiciaron que la disminución en la concentración de estos compuestos fuera menor en comparación con los otros tiempos.

Por el contrario, al minuto 10, los tratamientos ebullición y horneado presentaron la mayor disminución en el contenido de antocianinas. La degradación en ebullición fue del 100%, mientras que en horneado fue de 76%, esto muestra que el uso de ambos métodos, por un tiempo mayor a 5 min, no es adecuado para la conservación de estos compuestos. No obstante, en la cocción con vapor no se observaron diferencias en la concentración de antocianinas en los distintos tiempos de análisis, lo cual muestra que, a los 10 min, este tratamiento retuvo la mayor cantidad de antocianinas (R=0.44) en comparación con los otros métodos. Resultados similares fueron reportados por Honk y Koh (2015) en papa de color morado y por Xu *et al.* (2014) en col roja.

El decremento observado para los tratamientos en ebullición y vapor podrían atribuirse, además del efecto de la temperatura, a que las antocianinas son altamente hidrosolubles (He y Giusti, 2010), por lo que al estar las flores en contacto con el agua, se produce la lixiviación de estos compuestos.

Actividad Antioxidante

La actividad antioxidante presente en flor de gasparito fue de 43.59 μg Eq. Trolox g⁻¹ bs. En los tratamientos de ebullición y horneado, se observó incremento en dicha actividad en los tres tiempos (Figura 1C). En ambos casos el mayor aumento se presentó al minuto tres (R=3.89 en ebullición y R=1.5 en horneado). Se ha demostrado que el contenido de polifenoles y antocianinas, está estrechamente relacionado con la actividad antioxidante, por lo que el aumento en la concentración de estos compuestos, como ocurrió en ebullición, provocó el incremento de la actividad antioxidante. Por otra parte, se ha reportado que las altas temperaturas, como las alcanzadas en horneado, pueden provocar la inactivación de peroxidasas, enzimas que provocan la oxidación de los compuestos fenólicos, lo cual incrementa la actividad antioxidante (Murador *et al.*, 2016b). En brócoli y coliflor se ha observado un comportamiento similar, ya que se reportó incremento en la actividad antioxidante posterior a la cocción en agua (ebullición) (Turkmen *et al.*, 2005; Natella *et al.*, 2010).

En la cocción en vapor, no se observaron diferencias en los distintos tiempos. Diversos estudios muestran que es preferible utilizar este método de cocción, ya que conserva o incrementa la actividad antioxidante (Miglio *et al.*, 2008; Murador *et al.*, 2016a), sin embargo en el presente estudio sucedió lo opuesto. En relación con el tejido fresco, se redujo la actividad antioxidante en un 7% (R=0.93). Dicho comportamiento también se observó en los polifenoles y antocianinas, por lo que la disminución mostrada en la actividad antioxidante podría atribuirse al decremento en la concentración de estos compuestos.

CONCLUSIÓN

El método de cocción y el tiempo, influyeron en el contenido final de compuestos con actividad antioxidante, siendo el tratamiento de ebullición por 3 min el que incrementa o conserva los compuestos con actividad antioxidante de gasparitos.

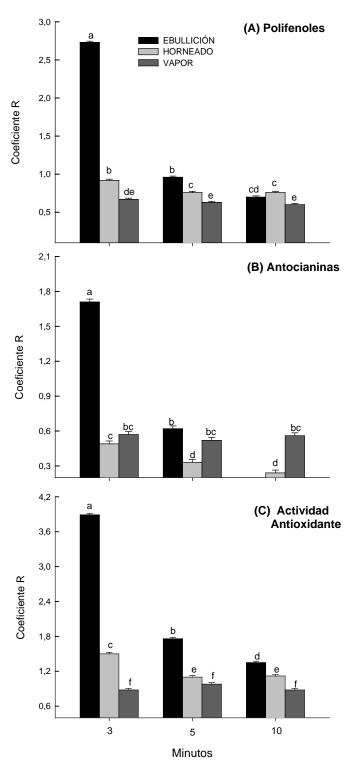


Figura 1. Cambios en el contenido de polifenoles (A), antocianinas (B) y actividad antioxidante (C) en gasparitos sometidos a diferentes métodos de cocción y tiempos. Valores promedio de cuatro repeticiones ± error estándar con la misma letra son estadísticamente iguales.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Ahmed, F. A., Ali, R. F. 2013. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh and processed white cauliflower. BioMed Research International 2013; 1-9.
- 2. Arinola, S. O., Adesina, K. 2014. Effect of Thermal Processing on the Nutritional, Antinutritional, and Antioxidant Properties of *Tetracarpidium conophorum* (African Walnut). Journal of Food Processing 2014; 1-4.
- 3. Blessington, T., Nzaramba, M. N., Scheuring, D. C., Hale, A. L., Reddivari, L., Miller, J. C. 2010. Cooking methods and storage treatments of potato: Effects on carotenoids, antioxidant activity, and phenolics. American Journal of Potato Research 87(6): 479-491.
- 4. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. L. W. T. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology 28(1): 25-30.
- 5. Caballero-Roque, A., Zúñiga, E. J. L., Vázquez, E. M. 2008. La flor de cuchunuc (*Gliricidia sepium*) en la alimentación de la población zoque de Tuxtla, Gutiérrez, Chiapas, México. Avances en Seguridad Alimentaria y Nutricional 1(1): 9-13.
- 6. Giusti, M. M., Wrolstad, R. E. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry F1.2. 1-13.
- 7. He, J., Giusti, M. M. 2010. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. Annual Review of Food Science and Technology 1: 163-187.
- 8. Hong, K. H., Koh, E. 2016. Effects of Cooking Methods on Anthocyanins and Total Phenolics in Purple-Fleshed Sweet Potato. Journal of Food Processing and Preservation 40: 1054-1063.
- 9. Hou, Z., Qin, P., Zhang, Y., Cui, S., Ren, G. 2013. Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa L.*) and their degradation kinetics. Food Research International 50(2): 691-697.
- Lara-Cortés, E., Osorio-Díaz, P., Jiménez-Aparicio, A., Bautista-Baños, S. 2013. Contenido nutricional, propiedades funcionales y conservación de flores comestibles. Revisión Archivos Latinoamericanos de Nutrición 63(3): 197-208.
- 11. Loubet-González A. L. Efecto de diferentes métodos de cocción sobre el contenido y capacidad antioxidante de la flor de calabaza (*Cucurbita pepo L.*). Tesis de Maestría. Querétaro, Qro., México. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química 2010.
- 12. Miglio, C., Chiavaro, E., Visconti, A., Fogliano, V., Pellegrini, N. 2008. Effects of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56(1): 139-147.
- 13. Mlcek, J., Rop, O. 2011. Fresh edible flowers of ornamental plants—A new source of nutraceutical foods. Trends in Food Science and Technology 22(10): 561-569.
- Murador, D., Braqa, A. R., Da Cunha, D., de Rosso, V. 2016a. Alterations in phenolic compound levels and antioxidant activity in response to cooking technique effects: A metaanalytic investigation. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, DOI:10.1080/10408398.2016.1140121
- 15. Murador, D. C., da Cunha, D. T., de Rosso, V. V. 2014. Effects of cooking techniques on vegetable pigments: A meta-analytic approach to carotenoid and anthocyanin levels. Food Research International 65: 177-183.
- 16. Murador, D. C., Mercadante, A. Z., de Rosso, V. V. 2016b. Cooking techniques improve the levels of bioactive compounds and antioxidant activity in kale and red cabbage. Food Chemistry 196: 1101-1107.
- 17. Natella, F., Belelli, F., Ramberti, A., Scaccini, C. 2010. Microwave and traditional cooking methods: effect of cooking on antioxidant capacity and phenolic compounds content of seven vegetables. Journal of Food Biochemistry 34(4): 796-810.
- 18. Ordoñez-Díaz, M. D. J., Pardo-Tejeda, E. 1982. Estudio etnobotanico de tres especies de flores comestibles en la ciudad de Xalapa, Veracruz. Biotica 7(2): 305-321.
- 19. Singleton, V. L., Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16(3): 144-158.

- 20. Sotelo, A., Argote, R. M., Moreno, R. I., Flores, N. I., Diaz, M. 2003. Nutritive evaluation of the seed, germinated seed, and string bean of *Erythrina americana* and the detoxification of the material by boiling. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51(9): 2821-2825.
- 21. Sotelo, A., López-García, S., Basurto-Peña, F. 2007. Content of nutrient and antinutrient in edible flowers of wild plants in Mexico. Plant Foods for Human Nutrition 62(3): 133-138.
- 22. Turkmen, N., Sari, F., Velioglu, Y. S. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. Food Chemistry 93(4): 713-718.
- 23. Ukiya, M., Akihisa, T., Tokuda, H., Suzuki, H., Mukainaka, T., Ichiishi, E., Yasukawa, K., Kasahara, Y., Nishino, H. 2002. Constituents of compositae plants: III. Anti-tumor promoting effects and cytotoxic activity against human cancer cell lines of triterpene diols and triols from edible chrysanthemum flowers. Cancer Letters 177(1): 7-12.
- 24. Ukiya, M., Akihisa, T., Yasukawa, K., Tokuda, H., Suzuki, T., Kimura, Y. 2006. Anti-inflammatory, anti-tumor-promoting, and cytotoxic activities of constituents of marigold (*Calendula officinalis*) flowers. Journal of Natural Products 69(12): 1692-1696.
- 25. Wongwattanasathien, O., Kangsadalampai, K., Tongyonk, L. 2010. Antimutagenicity of some flowers grown in Thailand. Food and Chemical Toxicology 48(4): 1045-1051.
- Xu, B., Chang, S. K. 2008. Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic contentand antioxidant activities of cool season food legumes. Food Chemistry 110(1): 1-13.
- 27. Xu, F., Zheng, Y., Yang, Z., Cao, S., Shao, X., Wang, H. 2014. Domestic cooking methods affect the nutritional quality of red cabbage. Food Chemistry 161: 162-167.

EFECTO DEL TERMOULTRASONIDO SOBRE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA, CONTENIDO DE AFLATOXINAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LECHE.

Tania Atzimba Hernández Falcón, Araceli Monter Arciniega, Nelly del Socorro Cruz Cansino, Teresita de Jesús Saucedo Molina, José Alberto Ariza Ortega, Ernesto Alanís García y Araceli Castañeda Ovando

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

INTRODUCCIÓN

La leche está constituida por aqua, grasas, proteínas, lactosa, vitaminas y minerales además de otras sustancias que están presentes en menor concentración, y que en conjunto forman un sistema fisicoquímico estable de más de 450 compuestos¹. Se ha encontrado que algunas proteínas de la leche tienen actividad antioxidante, esto es relevante, ya que la oxidación de lípidos es una de las principales causas de deterioro químico en los alimentos, debido a que conduce a cambios indeseables en el sabor, textura y valor nutricional en los alimentos². Entre las proteínas con capacidad antioxidante en la leche se encuentran la lactoferrina, lactoperoxidasa, lisozima, βlactoglobulina y α-lactoalbúmina. Mientras que en las caseínas, la capacidad antioxidante está dada por el contenido de fosfato en su estructura química y los residuos de aminoácidos³. La AF M₁ es un metabolito hidroxilado de la AF B₁ que se puede encontrar en la leche de animales que son alimentados con piensos que contiene maíz u otros cereales contaminados con AF B₁², por lo cual representa un problema de salud para los consumidores. En México, los métodos térmicos, como la pasteurización y la ultrapasteurización, que son utilizados para la eliminación de algunos microorganismos, no garantizan su inactivación o total eliminación de esta toxina. Por lo anterior, es necesario evaluar el efecto de otros métodos para el tratamiento de dicho alimento, tal es el caso del termoultrasonido, el cual además podría garantizar la calidad fisicoquímica y nutricional de la leche.

PARTE EXPERIMENTAL

La muestra de leche se obtuvo del Rancho Universitario del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAP) de la UAEH, la cual fue sometida a tratamiento de homogeneización y termoultrasonicación en diferentes condiciones, una muestra pasteurizada y una sin tratamiento fueron utilizadas como controles. Todas las muestras obtenidas fueron almecenadas a -32°C hasta su análisis. El proceso de homogeneización se llevó a cabo con un homogeneizador digital (IKA® Ultra Turrax) a 11,000 rpm durante 5 minutos. La pasteurización se realizó según Juraga *et al.* (2011). Se sometieron muestras de leche homogeneizadas y no homogeneizadas a un procesador ultrasónico de 1500 W (VCX 1500 HV Sonics & Materials, Inc. Newtown, CT, EE.UU.). Las muestras se procesaron a una potencia constante de 20 kHz durante periodos de tiempo de 10 y 15 min respectivamente, la temperatura inicial y final fue registrada (Tabla 1).

Tabla 1 – Temperatura inicial y final de las diferentes leches después del tratamiento						
Muestras	CL	U-10	U-15	HU-10	HU-15	HP

T (%C)	T ¹	8	31 ± 3.61	31 ± 2.65	30 ± 3.00	29 ± 3.61	8
T (°C)	T^2	_	48.27 ± 2.89	54.87 ± 1.42	50.20 ± 0.40	55.07 ± 0.40	85

T: Temperatura. T¹: Temperatura inicial. T²: Temperatura final. CL: control. U-10: leche bronca – estandarizada – termoultrasonicada – 10 minutos. U-15: leche bronca – estandarizada – termoultrasonicada – 15 minutos. HU-10: leche bronca – estandarizada – homogenizada – termoultrasonicada – 10 minutos. HU-15: leche bronca – estandarizada – homogenizada – termoultrasonicada – 15 minutos. HP: leche bronca – estandarizada – homogenizada – pasteurizada. 95% de amplitud empleada en termoultrasonido

Determinación de la calidad microbiológica

Los análisis microbiológicos se realizaron mediante la técnica de vaciado en placa. Se realizó recuento total de mesófilos aerobios (RT) en agar para métodos estándar (PCA), incubado a 30°C (LSI-3016A, LabTech®, Korea), durante 48 horas y recuento de *Enterobacteriaceae* (EB) en agar glucosa bilis rojo violeta (VRBG), incubado a 37°C durante 24 horas (LSI-3016A, LabTech®, Korea)⁵.

Determinación del contenido de aflatoxinas

Se realizó con el kit de Euro Proxima® Aflatoxina M1 ELISA, el cual es un análisis inmunoenzimático competitivo. Se realizó bajo las especificaciones del fabricante. Los resultados se expresaron en picogramos equivalentes de aflatoxina M1 por mililitros (pg EAFM1/mL).

Extracción de compuestos antioxidantes

Se llevaron a cabo siguiendo la metodología de Wallace y Giusti (2008)⁶. Utilizando metanol como solvente extractor en una proporción 1:3 (muestra:metanol).

Determinación del contenido de fenoles totales

Los compuestos fenólicos totales se determinaron de acuerdo al método de Stintzing, Schieber, Carle (2001)⁷. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por litro (mg EAG/L).

Capacidad antioxidante por ABTS++

La capacidad antioxidante en base al catión libre de ABTS•+ se realizó de acuerdo al método descrito por Kuskoski, *et al.* ⁸. La actividad antioxidante se expresó como micromoles equivalentes de trolox por litro (µmol ET/L).

Capacidad antioxidante por DPPH•

La capacidad antioxidante en base al radical DPPH• se evaluó de acuerdo al procedimiento reportado por Morales y Jiménez (2001)⁹ y se expresó en micromoles equivalentes de trolox por litro (μmol ET/L).

Capacidad antioxidante por FRAP

Se realizó mediante la metodología descrita por Benzie y Strain (1996)¹⁰; Thaipong, Boonprakob, Crosby, Cisneros-Zevallos y Byrne (2006)¹¹ y se expresó en micromoles de Fierro (II) por litro (μmol Fe(II)/L).

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar (DE), y se analizaron mediante el análisis unidireccional de varianza (ANOVA). Las diferencias entre medias se realizaron por la prueba Duncan con un nivel de significancia de p < 0.05, utilizando el software IBM SPSS Advanced Statistics para Windows, Versión 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, EE.UU.).

RESULTADOS

Recuento total y enterobacterias

La pasteurización térmica convencional y la esterilización son métodos mayoritariamente utilizados para reducir microorganismos en los productos alimenticios¹². Sin embargo, estos métodos térmicos afectan adversamente la calidad sensorial y el valor nutricional de los alimentos líquidos¹³. En el crecimiento de las bacterias mesófilas en las diferentes leches (Figura 1A), las muestras CL, U-10 y HU-10, tuvieron un mayor crecimiento microbiano, mientras que la leche HP presentó menor contenido de bacterias mesófilas. En general todas las leches analizadas se encuentran dentro de lo indicado por la NOM-243-SSA1-2010¹⁴ (≤ 100,000 UFC/mL). El conteo de enterobacterias presentes en la leche debe ser < 20 UFC/g o mL¹⁴, se puede notar que la leche se encontraba en adecuadas condiciones de higiene (Figura 1B) ya que ninguna de las leches analizadas excedió lo indicado por la norma, sin embargo, la leche control mostró los valores más altos con 4.33 ± 0.19 Log UFC/mL, mientras que la leche HP tuvo contenido nulo. La disminución de la carga microbiana en las muestras ultrasónicadas respecto a la control, se debe a que la cavitación causada por los cambios en la presión creada por las ondas ultrasónicas es responsable de la muerte bacteriana¹³, causando un adelgazamiento de sus membranas celulares, un calentamiento localizado y la producción de radicales libres¹⁵. La disminución de la cuenta total en la leche HU-15, respecto a las demás muestras sonicadas, pudo deberse al tiempo y la temperatura de salida (15 minutos a 55°C) durante el procesamiento, ya que de acuerdo a la USDA (2000)¹⁶ unos de los factores que influyen en la inactivación microbiana son amplitud de las ondas ultrasónicas, el tiempo de exposición/contacto y la temperatura de tratamiento. Respecto a las enterobacterias el comportamiento similar de dicha muestra con la leche pasteurizada concuerda con un estudio de Ordoñez et al. (1984)¹⁸ donde combinaron ultrasonido de 20 kHz/160 W usando un disruptor celular con calentamiento en un rango de 5 a 62°C para la inactivación de algunas bacterias. Ellos encontraron que la combinación de ultrasonido y calor aplicado conjuntamente fue significativamente más eficaz en la inactivación de bacterias que los dos métodos utilizados por separado. La forma en que el ultrasonido lleva a cabo la muerte bacteriana pone en ventaja a dicho tratamiento sobre la utilización de la pasteurización, ya que además de la disminución microbiana, puede minimizar la pérdida de sabor, especialmente en una matriz dulce y obtener mayor homogeneidad¹⁹.La muerte celular depende del tamaño de la amplitud utilizada, ya que amplitudes más altas generan inactivación total y la posibilidad de recuperación celular después del tratamiento es escasa. Además, la acción del ultrasonido en un medio acuoso genera la sonólisis del agua, que es la ionización de moléculas de agua, H⁺ y OH⁻, y otros radicales libres, y su recombinación. Estos radicales y nuevos compuestos podrían mostrar un efecto bactericida o de lesión en las células^{20,21}.

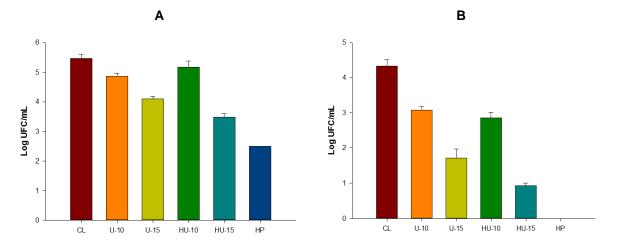


Figura 1 - Resultados de análisis microbiológico: recuento total (A) y enterobacterias (B) de los diferentes

tratamientos.

Contenido de aflatoxinas

El conteo de aflatoxinas se muestra en la figura 2, donde la leche U-15 tuvo el valor más bajo con 459.08 ± 39.17 pg EAF M1/L, mientras que la leche control presentó el contenido más alto significativamente con 12,035.91 ± 200.43 pg EAF M1/L. La NMX-F-700-COFOCALEC-2012 indica un valor máximo permisible de AF M1 en leche cruda de 0.5 μg/L lo que equivale a 500,000 pg/L por lo tanto ninguna de las muestras analizadas supera dicho valor. Por otro lado, de acuerdo a lha et al., (2013)²² la AF M1 es estable en algunos productos lácteos, en leche pasteurizada, leche desnatada o entera y en helados, en procesos de pasteurización lenta, pasteurización rápida y proceso de esterilización, la concentración de contaminación original de la leche cruda permanece prácticamente inalterada²³. La disminución general, observada en las leches termoultrasonicadas, comparadas con la muestra control, se pueden atribuir al uso mismo del ultrasonido y su mecanismo de implosión que afecta la estructura de las células situadas en el micro entorno²⁴, tal pudo ser el caso de las AF, que a pesar de ser estables al calor²⁵, pudieron haber sido dañadas por el efecto de cavitación y cizallamiento.

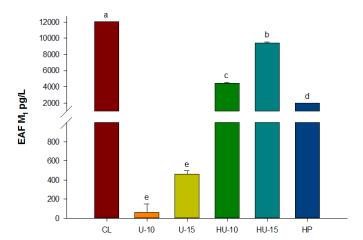


Figura 2– Contenido de aflatoxina M1 de los diferentes tratamientos durante el almacenamiento. $^{a-c}$ Distintos superíndices indican diferencia (p < 0.05).

Compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos tienen capacidad antioxidante y pueden encontrarse en alimentos de origen vegetal y animal 26 . En la Figura 3 se puede observar el contenido fenólico total de las diferentes leches analizadas donde los tratamientos U-15, HU-10, HU-15 y HP presentaron el mayor contenido de fenoles (p < 0.05) que el resto, siendo la muestra control la de menor contenido. O'Connel y Fox $(2001)^{26}$ atribuyen esta diferencia en gran medida a la región de producción, el periodo de lactación, la alimentación de la vaca e incluso al catabolismo de aminoácidos. Los altos contenidos de fenoles en las leches ultrasonicadas en comparación con la leche control, se pueden deber a que los compuestos fenólicos están unidos a otros componentes la leche como caseínas y lipoproteínas 27 , los cuales son liberados por acción de la cavitación sobre estos componentes durante el tratamiento con ultrasonido 28 .

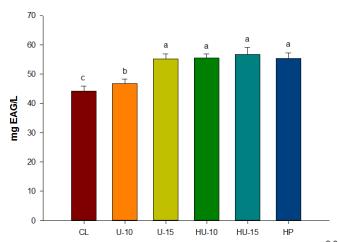


Figura 3– Contenido de fenoles totales de los diferentes tratamientos. $^{a-c}$ Distintos superíndices indican diferencia (p < 0.05).

Capacidad antioxidante por ABTS++

La capacidad antioxidante mediante la medición del radical ABTS se utiliza con frecuencia por la industria alimentaria y la investigación agrícola, ya que mide la capacidad de sustancias puras o extractos, para atrapar radicales libres mediante la donación de átomos de hidrógeno o electrones²⁹.

Los resultados de dicha medición se observan en la Figura 4, donde la leche control (243.87 \pm 16.68 µmol ET/L) y la U-15 (204.16 \pm 21.00 µmol ET/L) presentaron significativamente la menor capacidad antioxidante, mientras que la muestra HP tuvo la mayor capacidad antioxidante que el resto con 78,762.83 \pm 38.21 µmol ET/L. Resultados inferiores (2,241 µmol ET/L) se encontraron en leche no pasteurizada³⁰ comparados con las leche U-10, HU-10 y HP que tuvieron resultados entre 3,798 y 78,762 µmol ET/L.

Los resultados obtenidos en la determinación de ABTS/ET, en las leches termoultrasonicadas a excepción de la muestra U-15, pudieron deberse a la acción del mismo ultrasonido, ya que este causa irrupción de las paredes celulares biológicas facilitando la liberación del contenido³¹, ya que el ultrasonido actúa sobre la estructura terciaria y cuaternaria de las caseínas liberando estos compuestos³², entre ellos pudiesen encontrarse las caseínas, las cuales son bajas en cisteína pero

tienen un contenido más alto de otros aminoácidos potencialmente antioxidantes tales como tirosina, triptófano, histidina, lisina y metionina. Se ha reportado que la caseína y sus hidrolizados pueden eliminar radicales libres³³.

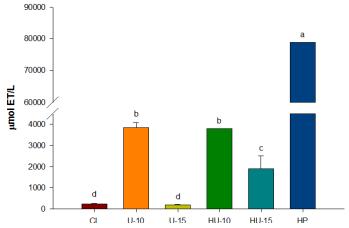


Figura 4 – Capacidad antioxidante por ABTS de los diferentes tratamientos analizados. $^{a-c}$ Distintos superíndices en la misma columna indican diferencia significativas (p < 0.05).

Capacidad antioxidante por DPPH•

El método DPPH se utiliza comúnmente para evaluar la capacidad neutralizadora de radicales libres de una molécula antioxidante, y se considera como uno de los métodos colorimétricos estándar, y fáciles para la evaluación de propiedades antioxidantes de compuestos puros. Aunque este radical tiene similitudes limitadas con los radicales peroxilo, actúa bien en diferentes sistemas disolventes incluyendo etanol, acetona acuosa, metanol, alcohol acuoso y benceno En la Figura 5 se observa la capacidad antioxidante por DPPH de las diferentes leches, donde la muestra HU-15 con 5,400.77 \pm 441.17 µmol ET/L presentó la mayor capacidad antioxidante (p < 0.05) que el resto y la muestra U-10 fue la menor. Es posible argumentar que la presencia de compuestos liposolubles de la leche como vitamina E y β -caroteno, son las que le confieren la capacidad antioxidante. En un estudio realizado por Bučević-Popović *et al.* (2014) menciona que existe una alta relación entre la capacidad antioxidante y la matriz lipídica (aproximadamente 70% de ácidos grasos saturados, 26% de ácidos grasos monoinsaturados y 4% de ácidos grasospoliinsaturados de esta manera podría decirse que las leches tuvieron una buena estabilidad en la matriz lipídica, lo que les confirió buena capacidad antioxidante.

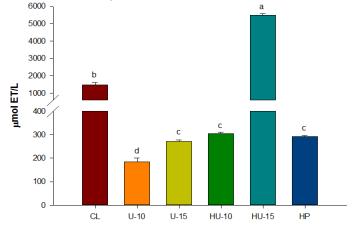


Figura 5 – Capacidad antioxidante por DPPH de los diferentes tratamientos. ^{a-c} Distintos superíndices en la misma columna indican diferencia significativas (p < 0.05).

Capacidad antioxidante por FRAP

Los antioxidantes en la leche son de gran importancia ya que impiden la peroxidación lipídica y mantienen su calidad, estos compuestos se encuentran principalmente en la caseína y en el suero²⁷. En los resultados de capacidad antioxidante por FRAP (Figura 6) se aprecia que en la leche control, HU-15 y HP, no fue detectada capacidad antioxidante por este método, mientras que para la leche HU-10 presentó significativamente la capacidad más alta con 19.85 ± 1.59 µmol Fe (II)/L. La capacidad antioxidante la llevan a cabo las caseínas a través de su unión con el hierro, mediante los residuos de fosfoserina que se encuentran en la micela de caseína, esta reacción permite inhibir la oxidación lipídica en la leche³⁵. La presencia de capacidad antioxidante en las muestras tratadas por ultrasonido pueden deberse a la liberación de péptidos antioxidantes a partir de las caseínas², ya que el ultrasonido actúa sobre la estructura terciaria y cuaternaria de las caseínas liberando estos compuestos³6

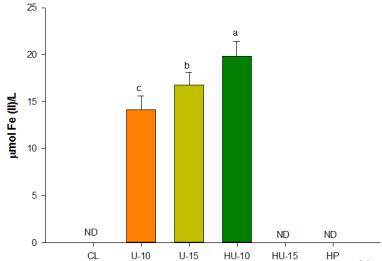


Figura 6— Capacidad antioxidante mediante FRAP de las diferentes muestras. $^{a-c}$ Distintos superíndices indican diferencia significativas (p < 0.05)..

CONCLUSIONES

Las leches sometidas a tratamiento por termoultrasonido mostraron una importante reducción de microorganismos aunque no mayor a la muestra pasteurizada, sin embargo los resultados se encontraron dentro de los rangos permitidos por la norma. El contenido de aflatoxinas M1 fue menor en leches termoultrasonicadas que en la control y pasteurizada. Respecto a los antioxidantes presentes las muestras sometidas a ultrasonido por más tiempo (15 min) tuvieron mejor contenido de fenoles y en capacidad antioxidante la muestra HU-15 presentó mayor capacidad excepto por el método de FRAP. Por lo anterior, se puede decir que el tratamiento por termoultrasonido es una opción viable para sustituir la pasteurización ya que logra reducir la carga microbiana en leche, así como liberar compuestos antioxidantes en la misma, factores que son de importancia para la salud e inocuidad de los alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Badui, D. S. (2013). Leche. En: Química de los alimentos. México: Editorial Pearson, Pp 55

- 2. O. Power, P. Jakeman, y R. J. Fitz-Gerald, "Antioxidative peptides:enzymatic production, in vitro and in vivo antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides". *Amin. Ac.*, Vol. 44, 3, 2012, pp. 797-820.
- 3. V. Bucevic-Popovic, I. Delas, S. Medugorac, M. Pavela-Vrancic y T. Kulisic-Bilusic. "Oxidative stability and antioxidant activity of bovine, caprine, ovine and asinine milk". *Int jour of dai. tech.*, Vol. 67, 3, 2014, pp. 394-401.
- 4. E. Juraga, S. B. Sobota, Z. Herceg y J. A. Rezek. "Application of high intensity ultrasound treatment on *Enterobacteriae* count in milk". *Mljek*, Vol. 61, 2, 2011, pp. 125-134.
- 5. IDF (1991). Consumption statistics for milk and milk products. International Dairy Federation Bulletin No. 254, Brussels, Belgium.
- 6. T. C. Wallace y M. M. Giusti. "Determination of color, pigment, and phenolic stability in yogurt systems colored with nonacylated anthocyanins from *Berberisboliviana L. as* compared to other natural/synthetic colorants". *Jour. of Food Scie.* Vol. 73, 4, 2008, pp. C241-C248.
- 7. F. C. Stintzing, A. Schieber y R. Carle. "Phytochemical and nutritional significance of cactus pear". *Euro. Food Res. and Tech. Vol.* 212, 4, 2001, pp. 396-407.
- 8. E. M. Kuskoski, A. G. Asuero, M. C. García-Parilla, A. M. Troncoso y R. Fett. "Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos". *Food Scie. and Tech. (Campinas).* Vol. 24, 4, 2004, pp. 691-693.
- 9. F. J. Morales y P. S. Jiménez. "Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence". *Food Chem.* Vol. 72, 1, 2001, pp. 119-125.
- 10. I. F. Benzie y J. J. Strain. "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay". *Analy. Biochem.* Vol. 239, 1, 1996, pp. 70-76.
- 11. K. Thaipong, U. Boonprakob, K. Crosby, L. Cisneros-Zevallos y D. H. Byrne. "Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts". *Jour. of food comp. and anal.* Vol. 19, 6, 2006, pp. 669-675.
- 12. H. Lee, B. Zhou, W. Liang, H. Feng y S. E. Martin. "Inactivation of *Escherichia coli* cells with sonication, manosonication, thermosonication, and manothermosonication: microbial responses and kinetics modeling". *Jour. of Food Eng.* 93, 3, 2009, pp. 354-364.
- 13. D. Knorr. "Effects of high-hydrostatic-pressure processes on food safety and quality". Food tech. (USA). 1993
- Norma Oficial Mexicana: NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- 15. P. Piyasena, E. Mohareb y R. C. McKellar. "Inactivation of microbes using ultrasound: a review". *Inter. Jour. of food micro.* Vol. 87, 3, 2003, pp. 207-216.
- 16. P. Butz y B. Tauscher. "Emerging technologies: chemical aspects". *Food res. Inter. Vol.* 35, 2, 2002, pp. 279-284.
- U.S. Food and DrugAdministration (USDA), (2000). Report Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies: Ultrasound. Recuperado de http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm103342.h tm
- 18. J. A. Ordoñez, M. A. Aguilera, M. L. García y B. Sanz. "Effect of combined ultrasonic and heat treatment (thermoultrasonication) on the survival of a strain of Staphylococcus aureus". *Jour. of Dai. Res.* Vol. 54, 01, 1987, pp. 61-67.
- 19. M. Furuta, M. Yamaguchi, T. Tsukamoto, B. Yim, C. E. Stavarache, K. Hasiba, y Y. Maeda. "Inactivation of *Escherichia coli* by ultrasonic irradiation". *Ultra. Sonochem.* Vol. 11, 2, 2004, pp. 57-60.
- 20. I. Tsukamoto, E. Constantinoiu, M. Furuta, R. Nishimura y Y. Maeda. "Inactivation effect of sonication and chlorination on *Saccharomyces cerevisiae*. Calorimetric analysis". *Ultra. Sonochem.* Vol. 11, 3, 2004, pp. 167-172.
- 21. A. J. Vinson, X. H. Su, L. Zubik y P. Bose. "Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Fruits". *Jour. of Agric. and Food Chem.* Vol. 49, 11, 2001, pp. 5315-5321.
- 22. M., H. Iha, C., B. Barbosa, I., A. Okada y M., W. Trucksess,. Aflatoxin M 1 in milk and distribution and stability of aflatoxin M1 during production and storage of yoghurt and cheese. *Food Contr.* Vol. 29, 1, 2013, p.p 1-6.

- 23. M.Tabari, K. Tabari y O., Tabari. Aflatoxin M1 determination in yoghurt produced in Guilan province of Iran using immunoaffinity column and high-performance liquid chromatography. *Toxic. and ind health*. Vol 29, 1, 2013, p.p 72-76.
- 24. Robles-Ozuna, L. E., y Ochoa-Martínez, L. A. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 13(2), 109-122.
- 25. A., M. Fernandes, B. Corrêa, R., E. Rosim, E. Kobashigawa y C., A., F. Oliveira. Distribution and stability of aflatoxin M1 during processing and storage of Minas Frescal cheese. *Food Cont.* Vol 24, 1, 2012, p.p 104-108
- 26. J. E. O'Connell y P.F. Fox. "Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review". Inter. Dai. Jour. Vol. 11, 3, 2001, pp. 103-120.
- 27. H. Lindmark-Mansson y B. Akesson. "Antioxidative factors in milk". *Brit. Jour. of Nutri. Vol.* 84, S1, 2000, pp. 103-110.
- 28. H. Y. Chen, Y. C. Lin y C. L. Hsieh. "Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs". *Food chem.* Vol. 104, 4, 2007, pp. 1418-1424.
- 29. Y.S. Coria, M. J. Ochoa y M. A. Nazareno. "Health-promoting substances and antioxidant properties of Opuntiasp .fruits. Changes in bioactive-compound contents during ripening process". *Food Chem.* Vol. 126, 2, 2011, pp. 514–519.
- 30. J. Chen, H. Lindmark-Mansson, L. Gorton y B. Akesson. "Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods". *Inter. Dai. Jour.* Vol. 13, 12, 2003, pp. 927-935.
- 31. T. J. Mason, L. Paniwnyk y J. P. Lorimer. "The uses of ultrasound in food technology". *Ultra. Sonochem.* Vol. 3, 3, 1996, pp. S253-S260.
- 32. S. G. Rival, C. G. Boeriu y H. J Wichers. "Caseins and casein hydrolysates. Antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition". *Jour. of Agri. and Food Chem. Vol.* 49, 1, 2001
- 33. Z. Cheng, J. Moore y L. Yu. "High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay". *Jour. of agri. and food chem.* Vol. 54, 20, 2006, pp. 7429-7436.
- 34. R.G. Jensen. "The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000". Jour. Dai. Scie. Vol. 85, 2002, pp. 295-350.
- 35. G. Unal y A. S. Akalın. "Antioxidant activity of milk proteins". *Agro. Food Ind. Hi Tech.* vol. 17, 6, 2006, pp. 4.
- 36. M. Villamiel y, P. De Jong. "Influence of high-intensity ultrasound and heat treatment in continuous flow on fat, proteins, and native enzymes of milk". *Jour. of Agri. and Food Chem. Vol.* 48, 2, 2000, pp. 472-478.

COMPORTAMIENTO AGRONOMICO EN CUATRO VARIEDADES DE SORGO BAJO DOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

Luis Alberto Noriega González, Lourdes Icxel Cornejo Mendaz, Erandi Natalia García Vázquez, Vianney Montoro Torres

Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Roque. Carretera Celaya – Juventino Rosas Km 8.

RESUMEN

El sorgo es un cultivo competitivo debido a su alta rentabilidad y tolerancia a la sequía, además de presentar características deseables para su uso en la alimentación pecuaria y humana. El estado de Guanajuato ocupa el segundo lugar nacional en la producción de este grano, alcanzando en los últimos años una superficie sembrada superior a las 250 mil hectáreas, con un volumen de producción de 1,500,000 toneladas. El objetivo de la presente investigación fue identificar el genotipo con mejor comportamiento agronómico para productividad con manejo sustentable y convencional. El trabajo experimental se estableció en el Instituto Tecnológico de Roque, bajo condiciones de riego en el ciclo Primavera-Verano 2016. Los materiales genéticos utilizados en esta evaluación fueron cuatro híbridos de sorgo DAS-4202 (T3-Sustentable y T8-Convencional). DAS-4255 (T1-Sustentable y T7-Convencional), cobalto (T2-Sustentable y T5-Convencional) y San Jerónimo (T4-Sustentable y T6-Convencional); se utilizó un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Las variables analizadas fueron número de hojas, número de plantas e hijuelos, floración, altura de planta, grosor de tallo, longitud de panoja, ancho de panoja, rendimiento y peso de 100 semillas. El análisis de varianza logró detectar diferencias altamente significativas para las variables floración, altura de planta, longitud y ancho de panoja y rendimiento. El resto de las variables no presentaron diferencias estadísticas. Los tratamientos con mejor rendimiento fueron el 1, 5, 6, 7 y 8, con un rango en rendimiento de 9.6 a 11.6 t ha⁻¹. Con respecto a floración el material genético San Jerónimo (T4 y T6) fue el más tardío con 78 días a floración y los tratamientos 1 y 8 los de mayor precocidad con 73 días. Los tratamientos 6, 4, 2 y 5, presentaron la mayor longitud de espiga, con una media entre ellos de 31 cm.

INTRODUCCIÓN

El sorgo dentro de los cereales es el quinto más producido en el mundo con 56 millones de toneladas métricas en el 2009 según FAOSTAT (2017), siendo Estados Unidos, India, México y Nigeria los principales países productores. Estos países juntos, aportan aproximadamente la mitad de la producción mundial (Chuck et al., 2011). La FAO (2015) menciona que México en el año 2014 ocupó el segundo lugar en producción a nivel mundial con 8,394,057 toneladas, lo que no asegura el abasto de éste grano básico pero disminuye la dependencia de importación para complementar la demanda, y estas cifras procuran alentar para alcanzar la autosuficiencia del país en la producción de éste cultivo, a su vez, estabilizar la economía evitando los precios de importación que pueden llegar a ser elevados en determinada época del año y por consiguiente los precios de los alimentos industriales balanceados para la alimentación pecuaria. En el estado, el sorgo se cultiva en 34 municipios, involucrando a 37,915 unidades de producción que durante el ciclo Primavera - Verano 2014 y 2015 sembraron 260,250.0 y 241,628.0 ha de este cultivo, respectivamente. El cultivo del sorgo en Guanajuato aporta el 19.03% de la producción nacional de este grano y a nivel estatal alcanza un valor de la producción de \$3,346.63 millones de pesos. Esta actividad económica beneficia de manera directa a más de 65 mil familias guanajuatenses (Yáñez, 2016). El sorgo es un cultivo competitivo debido a su alta rentabilidad y tolerancia a la sequía, además de presentar características deseables para su uso en la alimentación humana y ganadera (Montes *et al.*, 2010). La FAO (1995), considera al cultivo de sorgo como uno de los cultivos más tolerantes a la sequía, ya que requiere de poca cantidad de humedad durante su crecimiento y presenta rendimientos aceptables en condiciones donde otros cultivos no lo hacen. Con el crecimiento actual de la población a nivel mundial y la reducción en la disponibilidad de agua, el sorgo se presenta a corto plazo como un cultivo de importancia en la sobrevivencia humana.

TEORÍA

Los primeros informes muestran que el sorgo existió en India en el siglo I d. C. esculturas que lo describen se hallaron en ruinas asirías de 700 años a.C. Sin embargo, el sorgo quizás sea originario de áfrica Central- Etiopía o Sudán, pues es allí se encuentra la mayor diversidad de tipos. El sorgo como cultivo doméstico llegó a Europa aproximadamente hacia el año 60 d.C. pero nunca se extendió mucho en éste continente. No se sabe cuándo se introdujo la planta por primera vez en América. Las primeras semillas probablemente se llevaron al hemisferio Occidental en barcos de esclavos procedentes de África (Vargas, 2009). La planta de sorgo presenta las siguientes características botánicas: raíces adventicias, fibrosas y desarrollan numerosas laterales. La profusa ramificación y amplia distribución del sistema radicular es una de las razones por las cuales el sorgo es tan resistente a la falta de agua. Los tallos son cilíndricos, erectos, sólidos y pueden crecer a una altura de 0.60 m. a 3.50 m. estando divididos longitudinalmente en canutos (entrenudos). Las hojas aparecen alternas sobre el tallo, todas las variedades varían en el tamaño de sus hojas. Las hojas de sorgo se doblan durante periodos de seguía, características que reduce la transpiración, contribuye a tan peculiar resistencia de la especie a la seguía. La inflorescencia del sorgo se denomina con el nombre de panícula. El color de la semilla, ya sea blanco, rojo, amarillo o café proviene de complejos genéticos que envuelven al pericarpio. La mayor parte del cariópside es endosperma, el cual se compone de almidón casi en su totalidad (Gutierrez, 2003). El cultivo de sorgo se destaca por su mayor adaptación y mejor respuesta en condiciones edafoclimáticas limitantes, dando estabilidad de rendimientos en situaciones productivas de menor potencialidad. La expansión de la agricultura y la intensificación de la producción ganadera, ha conducido a una mayor utilización de áreas marginales con limitantes edafoclimáticas importantes. Entre las climáticas, se destacan deficiencias hídricas estacionales, determinadas por el régimen de lluvias desfavorable y/o manejo poco eficiente del agua; entre las edáficas, especialmente en áreas deprimidas y asociadas a la proximidad de la capa freática, altos contenidos de sales solubles y/o sodio intercambiable. El sorgo juega un rol importante, porque además de usar esta especie como recuperadora, por su capacidad de producir un balance positivo del carbono preservando la estructura física del suelo, se utiliza como forraje (Giorda & Ortiz, 2012). El sorgo representa el grano forrajero con mayor presencia en nuestro país, ya que es el principal ingrediente en la formulación de alimentos balanceados en el sector pecuario. La superficie dedicada a este cultivo alcanzó un promedio de 2 millones de hectáreas en los últimos diez años, con un volumen cercano a los 6.5 millones de toneladas anuales. El rendimiento alcanzó en los últimos cinco años entre 3.7 y 3.9 ton/ha. Tamaulipas es el principal productor nacional, al concentrar el 40.3% del volumen y el 38.2% del valor generado en 2012. Otras entidades con una producción importante de sorgo son: Guanajuato, Michoacán, Sinaloa, Nayarit y Jalisco. El 28% de la superficie se cultiva bajo la modalidad riego, de la cual se obtiene el 49% del volumen y valor generados. Asimismo, el 53% de la superficie se cultiva en el ciclo Primavera-Verano y el 47% restante en el Otoño-Invierno (FIRA, 2014). El estado de Guanajuato es una de las entidades agrícolas más importantes del país. Este estado ocupa el 2do. Lugar nacional en producción de sorgo con una participación del 24%, Las condiciones del suelo y clima en el estado son propicias para el desarrollo agrícola (Bernal et al., 2015). Los rendimientos de este cultivo se pueden disminuir drásticamente si no se toman medidas para evitar la competencia de las malezas, la carencia de nutrientes, de agua o el ataque de plagas, principalmente en la etapa de V₅, en la etapa fenológica de diferenciación del punto de crecimiento es cuando el cultivo de sorgo cambia de fase vegetativa a reproductiva, a partir de este momento se define el tamaño potencial de la panoja. La absorción de nutrientes es rápida, por lo que el suministro adecuado de nutrientes y aqua son necesarios para proporcionar el máximo crecimiento. La etapa de embuche es el período crítico donde se define el rendimiento. En la etapa de floración los fotosintatos almacenados en el tallo también se mueven hacia el grano. Un estrés hídrico severo puede causar una pobre producción de fotosintatos, por lo cual el llenado de los granos se verá afectado, sin embargo, si las condiciones ambientales son favorables, la planta de sorgo puede compensar las limitaciones que hayan sucedido durante el ciclo, y que hayan causado un menor tamaño de la planta, área foliar o número de plantas mediante el aumento del número de granos por panoja, así como el peso de los mismos. La idea de adoptar sistemas sustentables requiere que la unidad agrícola sea considerada un sistema global, en el que la investigación y la producción busquen no solamente resultados en relación a altos rendimientos en cada rubro, sino en optimizar al sistema como un todo. Lo que se necesita para el diseño de sistemas agrícolas sustentables es una transformación agroecológica de los monocultivos que se logrará favoreciendo la diversidad vegetal en los campos así como la heterogeneidad del paisaje, una estrategia que representa una ruta sólida para aumentar la productividad, la sostenibilidad y la resiliencia de la producción agrícola a la vez que reduce los impactos socio-económicos y ambientales no deseados debidos al cambio climático (Sutherst et al., 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

El experimento se estableció en la Comunidad de San Cayetano, en el predio conocido como la recibidora (parcelas de investigación del ITRoque), en el Municipio de Celaya, Guanajuato. Sus coordenadas geográficas se encuentran determinadas por los siguientes valores: Longitud (dec): -100.819722. Latitud (dec): 20.603333. La localidad se ubica a una altura de 1760 msnm. El clima en esta zona, presenta una temperatura máxima de 25.5 ° C y la mínima de 16° C, la media anual es de 20.85 °C, es un clima semi seco y semi cálido, con una precipitación pluvial promedio de 575.3 mm anuales (SEINTBA, 2012). El suelo que predomina es el Vertisol Pélico. El experimento se condujo bajo condiciones de punta de riego. El manejo agronómico de los cuatro materiales genéticos de sorgo evaluados en esta investigación, se llevo a cabo de forma convencional y sustentable. El manejo convencional consistió en fertilización sin argumento técnico como se realiza en la zona, con 20 kg de semilla como densidad de siembra, en monocultivo y con aplicaciones químicas para el control de plagas. Para el manejo sustentable se realizó un análisis de suelo y se aplicó la fertilización integral en base a los requerimientos del cultivo utilizando fertilizantes químicos, biofertilizantes y ácidos fúlvicos, se combino en este un insecticida granulado sistémico a base de imidacloprid. Se utilizaron 16 kg de semilla como densidad de siembra y se colocaron cultivos atraventes de insectos benéficos como girasol (Figura 1) y cilantro; así como de repelencia de plagas como la chía. Se realizaron monitoreos semanales para el control de plagas. Se instalaron trampas e implementaron aplicaciones de productos biorracionales como jabones v extractos vegetales (Cola de caballo y Piretrina natural). Los materiales genéticos utilizados en este trabajo fueron las variedades: DAS-4202 (de ciclo intermedio, con altura de planta de 1.65 metros, de color de grano café y panoja semi-abierta, con 135-145 días a cosecha), DAS-4255 (de ciclo intermedio y altura de planta de 1.30 metros, el color de grano es rojo, con panoja semi-compacta. Los días a la cosecha son 140 días). Cobalto (de ciclo intermedio y altura de planta de 1.65 metros. con color de grano rojo pálido con un tipo de panoja semi- abierta y 145 días a cosecha), San Jerónimo (con ciclo intermedio-tardío, altura de planta de 1.70 metros, con un color de grano

bronceado y panoja semi-abierta, con 160 días a la cosecha). Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Las variables analizadas fueron número de hojas, número de plantas e hijuelos, floración, altura de planta, grosor de tallo, longitude de panoja, ancho de panoja, rendimiento y peso de 100 semillas.



Figura 1. Tratamientos con el sistema de producción sustentable utilizando plantas atrayentes de insectos benéficos.

RESULTADOS

El análisis de varianza logró detectar diferencias altamente significativas, para las variables floración, altura de planta, longitud y ancho de panoja y rendimiento. Los tratamientos con mejor rendimiento fueron el 1, 5, 6, 7 y 8, con un rango en rendimiento de 7.6 a 11.6 t ha⁻¹ (Figura 2).

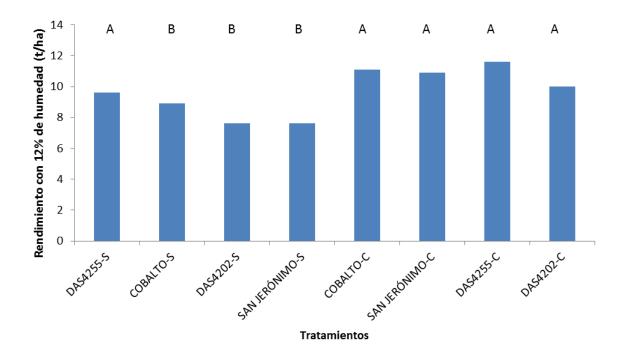


Figura 2. Rendimiento de grano con 12% de humedad en cuatro variedades de sorgo, con dos manejos agrícolas. Instituto Tecnológico de Roque, Primavera – Verano 2016. S=Manejo Sustentable y C=Manejo convencional.

Con respecto a floración el material genético San Jerónimo (T4 y T6) fue el más tardío con 79 días a floración y los tratamientos 3 y 8 los de mayor precocidad con 73 días (Figura 3). Los tratamientos 6, 4, 2 y 5, presentaron la mayor longitud de espiga, con una media entre ellos de 32 cm. Con respecto al número de hojas la media del experimento fue de 10.5 hojas.

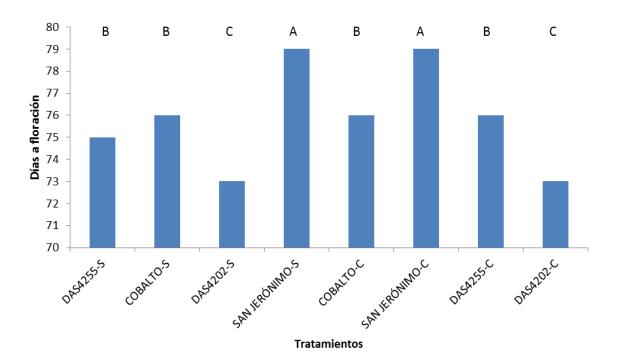


Figura 3. Días a floración en cuatro variedades de sorgo, con dos manejos agrícolas. Instituto Tecnológico de Roque, Primavera – Verano 2016. S=Manejo Sustentable y C=Manejo convencional.

CONCLUSIONES

El sistema donde se expresaron los mejores rendimientos fue el convencional. El genotipo DAS 4255 presentó los mejores rendimientos en ambos sistemas de producción, para esta zona productiva de sorgo. El manejo sustentable fue más económico con respecto al convencional y representa una excelente estrategia para mantener a futuro los sistemas y garantizar la seguridad alimentaria.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Bernal, G., Ivonne, P. & Delgado, R., 2015. *Transformación e innovación de granos: El sorgo para la elaboración de cerveza artesanal.*, Cuernavaca, Morelos: AMECIDER-CRIM, UNAM.
- 2. FAO, 2015. La alimentación y la Agricultura, claves para la ejecución de la Agenda 2030 para el desarrollo sostenible., Roma: Oganización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura.
- 3. FAOSTAT, 2017. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Aagricultura. [En línea] Available at: http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC [Último acceso: 117 Febrero 2017].
- 4. FIRA, 2014. Panorama Agroalimentario. Sorgo 2014. México D.F. Financiera Rural.

- 5. Gutiérrez, J. M., 2003. *El cultivo de sorgo (Sorghum Vulgare Spp.)*, Saltillo, Coahuila.: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- 6. SEINTBA S.C., 2012. *Manifestación de impacto ambiental hidráulico. Modalidad particular.*, Celaya, Guanajuato: Steel Technologies de México S.A de C.V.
- 7. Sutherst, R. W. y otros, 2011. Adapting to crop pest and pathogen risks under a changing climate.. *Wiley Interdisciplinary Reviewss: Climate Change*, 10(102), pp. 220-237.
- 8. Vargas, G., 2009. Producción y comercialización de Sorgo Grano en México y en el Estado de Puebla: Caso DDR Izúcar de Matamoros, Saltillo, Coahuila: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- 9. Yáñez, R., 2016. Avances en la investigación en el manejo integrado del pulgón amarillo del sorgo, Celaya, Guanajuato.: INIFAP, CESAVEG, Fundación Guanajuato Produce A.C. SAGARPA y SDAyR.

CORRELACIÓN ENTRE ESPARCIMIENTO DE LUZ, FIRMEZA Y SST DE GUAYABA (*Psidium quajava* L.) ALMACENADA EN POSCOSECHA

Padilla-Tena, A., Yahuaca-Juárez, B., Huerta-Ruelas, J.A, Cortés-Penagos, C.J., Salgado-Garciglia, R, Ponce-Saavedra, J.

Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas, Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. E-mail: ibqadrianapad@hotmail.com

Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Instituto Politécnico Nacional. Santiago de Querétaro, Querétaro.

Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán.

Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán.

RESUMEN

Para determinar la calidad en frutos de guayaba se emplean métodos analíticos que conllevan a la destrucción de los frutos, por lo que el sector agrícola requiere de implementar métodos no destructivos para determinar la composición y características del fruto a lo largo de su periodo de maduración evitando el contacto con el material. El objetivo de este proyecto fue implementar la técnica de esparcimiento de luz para evaluar los cambios en el fruto de guayaba durante su maduración. Se trabajó con guayabas cultivar "media china" en estado de maduración fisiológica. El fruto se almacenó por 6 días a 20 °C y humedad relativa del 90 -95 %. Para la caracterización óptica se usó la técnica de esparcimiento de luz empleando como fuente de luz un láser de 635 nm, en la evaluación fisicoquímica del fruto se determinó la firmeza mediante la resistencia a la compresión utilizando un texturómetro TA-XT2, los sólidos solubles totales se determinaron por refractómetro manual (% de sacarosa). Los resultados indican que la intensidad de la luz esparcida aumenta conforme avanza la maduración del fruto (2–25 mV) disminuyendo la firmeza de 40 N a 12 N (r = -0.93) e incrementándose los sólidos solubles totales de 10.5 a 13.5 °Brix (r =0.87). La técnica de esparcimiento de luz puede considerarse una alternativa no destructiva para detectar cambios en los frutos durante su maduración y predecir su comportamiento biológico.

Palabras clave: guayaba, maduración, técnica óptica

INTRODUCCIÓN

La guayaba es uno de los frutos de mayor importancia en México, el estado de Michoacán se ubica en el primer lugar como productor de guayaba a nivel nacional con una producción de 148,300 toneladas anuales (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2017), siendo el cultivar "media china" el de mayor importancia comercial (90% de la superficie) caracterizado por producir frutos de forma ovoide, de peso entre 50-140 gr, con epidermis de color amarillo brillante en frutos maduros, con pulpa de color de crema a amarillo y gran contenido de semillas. Este fruto se

consume principalmente en fresco (87- 92 %) y el resto en las industrias de bebidas, mermeladas y otros productos afines (González-Gaona et al., 2002).

La determinación del estado de maduración de los frutos no es sencillo ya que al ser un proceso fisiológico y bioquímico, que está bajo control genético y hormonal, está acompañado por múltiples cambios a nivel celular y las exigencias actuales del mercado obligan a un estricto control de calidad ante las necesidades sensoriales (aspecto externo, color, firmeza, sabor y aroma) que demanda tanto el distribuidor como el consumidor final (Navas, 2014). La evaluación de los parámetros de calidad como firmeza y sólidos solubles totales actualmente se lleva a cabo mediante métodos analíticos tradicionales a través de la destrucción del fruto donde se requiere de equipos específicos costosos para su análisis, representando un valor económico elevado y un prolongado tiempo de análisis (Gregorio, 2014). Por lo que las investigaciones recientes están encaminadas al desarrollo de técnicas no destructivas que permitan medir los índices de maduración y con ello la calidad de los frutos, entre estas técnicas están las basadas en propiedades ópticas (Gregorio, 2014; Lu and Peng, 2006; Nassif et al., 2012; Nicolaï et al., 2007; Peirs et al., 2002; Wang and Li, 2013).

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo de investigación fue implementar la técnica de esparcimiento de luz para evaluar los cambios en el fruto de guayaba durante su maduración.

PARTE EXPERIMENTAL

Material de estudio

Se utilizaron frutos de guayaba cultivar "media china" obtenidos de un mercado local de la ciudad de Morelia, Michoacán; de pulpa color crema, diámetro de 4 - 5 cm y en estado de maduración fisiológica (color verde), los cuales fueron trasladados a una temperatura de 20 °C al laboratorio de Biotecnología "M.C. Víctor M. Rodríguez Alcocer" de la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, donde 60 muestras de frutos se almacenaron a temperatura de 20 \pm 5 °C y una humedad relativa de 90 – 95% para su análisis por un periodo de 6 días.

Caracterización óptica

Para la caracterización óptica se utilizó la técnica de esparcimiento de luz, empleando como fuente de luz un láser He-Ne de 635 nm con poder de emisión de 3 mV y como detector un arreglo de 16 fotodiodos de silicona. Se usó una misma unidad experimental y punto de incidencia para el monitoreo.

Evaluación de la maduración del fruto

Para valorar la maduración de los frutos de guayaba se determinaron los parámetros de firmeza y sólidos solubles totales.

Firmeza

Se realizó mediante la resistencia a la compresión con el uso de un texturómetro TA-XT2, se utilizó un plato plano de compresión de acero inoxidable de 75 mm de diámetro, con una

distancia de compresión de 3 mm y una velocidad de desplazamiento de 1 mm/s, expresando los resultados en Newtons (Maldonado, 2011).

Sólidos Solubles Totales

Se definieron con el uso de un refractómetro manual expresando el porcentaje de sacarosa en °Brix, a través del índice de refracción de acuerdo a lo establecido en la norma NMX-F-103-1982 (NMX-F-103-1982, 1982).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se hizo uso de un modelo de regresión lineal donde como variable respuesta se consideró la intensidad de la luz (mV) y como variables independientes la firmeza (N) y sólidos solubles totales (°Brix), con un nivel de confianza de 95 % (α =0.05), con el uso del paquete estadístico JMP versión 6.0.

RESULTADOS

Resultados experimentales e interpretación

Los resultados de la caracterización óptica indican que conforme avanza el proceso de maduración del fruto la intensidad de la luz esparcida presenta un aumento continuo de 2 a 25 mV. Los resultados promedios durante los seis días de almacenamiento se muestran en la figura 1.

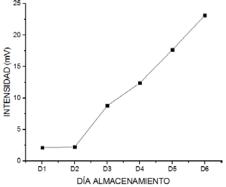
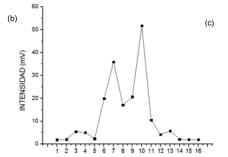


Figura 1 Intensidad de luz esparcida conforme maduración de guayaba

Se obtuvieron tres patrones diferentes de esparcimiento para tres estados de maduración: amarillo, verde amarillo y verde como se muestra en la figura 2, donde se observa que el área bajo la curva va incrementándose conforme transcurren los días de

almacenamiento.



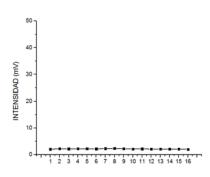
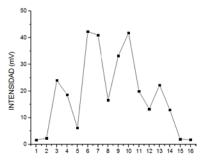


Figura 2 Patrones de técnica de esparcimiento de luz para estados de maduración: (a) verde, (b) verdeamarilla y (c) amarilla

La interacción de la luz con la materia puede presentar dos fenómenos importantes: por un lado, la absorción de la luz



que se relaciona con la concentración de ciertos componentes como azúcares, agua y clorofila, por otro lado, el esparcimiento ofrece una visión de la composición, densidad, estructuras celulares, uniones intracelulares y extracelulares (Lu and Peng, 2006).

Respecto a la firmeza de los frutos, esta presenta una tendencia a disminuir conforme avanza la maduración del fruto (36 N a 12 N) (Figura 3).

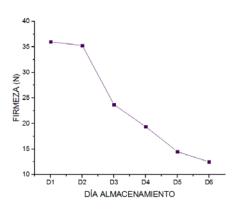


Figura 3 Tendencia de la firmeza en maduración de guayaba

La firmeza está ligada a los cambios estructurales del material biológico, contenido de agua, la turgencia de las células y la composición, donde la pared celular del fruto va cambiando haciéndose cada vez más blando a medida que madura (Dussán-Sarria et al., 2008). Mercado-Silva et al., 1998 reportan una disminución en la firmeza de guayabas cultivar media china en tres estados de maduración: verdes, verde-amarilla y amarilla con valores de 35.9 a 7.1 N en cosecha de primavera- verano y 39.1 a 11.8 N otoño-invierno. Bashir et al., 2003 reporta valores de firmeza para frutos de guayaba de 21 N a 3 N.

En cuanto a sólidos solubles totales se obtuvo un incremento progresivo en su concentración durante la maduración de los frutos de 10.5 a 13.5 °Brix, en la figura 4 se muestran los resultados promedios de 60 muestras. El contenido de SST está constituido por 80 – 95 % de azúcares disueltos en el jugo celular (Del Pilar Pinzón et al., 2007). Este aumento de los SST se debe principalmente a la hidrólisis del almidón a moléculas de glucosa y fructosa, y a la degradación de los ácidos orgánicos (cítrico, ascórbico, málico y tartárico).

DIA ALMACENAMIENTO	SST (°Brix)		
D1	10.73 ± 0.79		
D2	11.73 ± 0.51		

D3	12.08 ± 0.49
D4	12.5 ± 0.60
D5	12.53 ± 0.38
D6	12.78 ± 0.65

Figura 4 Promedios de sólidos solubles totales del proceso de maduración de guayaba

El comportamiento ascendente de los SST concuerda con lo reportado con Mercado-Silva et al., 1998 con 7.8 a 8.5 °Brix en primavera-verano y 11.4 – 12.1 en la cosecha de otoño-invierno, y lo observado por Bashir et al., 2003 de 6 a 13 °Brix para guayaba.

Correlaciones estadísticas

En general, se encontraron correlaciones estadísticamente significativas. La intensidad de la luz esparcida y la firmeza presento un coeficiente de correlación de r = -0.93 y un ajuste de $r^2_{adj} = 0.85$, lo que indica ser una correlación inversamente proporcional, ya que al disminuir la firmeza del fruto conforme avanza el proceso de maduración la intensidad de luz esparcida muestra un incremento (Figura 5). La fórmula predictiva obtenida fue:

Firmeza (N) = 69.829783 - 2.8644642 Intensidad (mV)

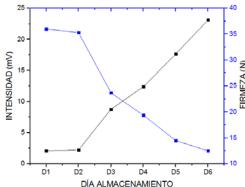


Figura 5 Tendencia de la intensidad de la luz esparcida y firmeza durante el proceso de maduración

Se obtuvo, además, una correlación directamente proporcional significativa para sólidos solubles totales de r=0.87 y un ajuste r^2_{adj} = 0.71 (α =0.05) e intensidad de luz esparcida, observando que en relación al proceso de maduración los sólidos solubles presentan un aumento al igual que la intensidad de la luz (Figura 6), a través de la siguiente fórmula estadística es posible predecir su comportamiento.

SST (°Brix) = 11.81975 + 0.0990744 Intensidad (mV)

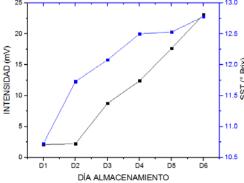


Figura 6 Cambios en la intensidad de la luz y sólidos solubles totales en el proceso de maduración de guayaba

CONCLUSIONES

Con base en los parámetros fisicoquímicos firmeza y SST, así como la intensidad de la luz esparcida, es posible considerar la técnica óptica de esparcimiento de luz como una alternativa no destructiva que permite detectar los cambios que presenta el fruto de guayaba durante su proceso de maduración y con ello la posibilidad de predecir su comportamiento biológico para su clasificación, óptimo almacenamiento y uso.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Bashir, H. A., Bark, A., & Goukh, A. (2003). Compositional changes during guava fruit ripening. *Food Chemistry*, *80*, 557–563.
- 2. Del Pilar Pinzón, I., Fischer, G., & Corredor, G. (2007). Determinación de los estados de madurez del fruto de la gulupa. *Agranomia Colombiana*, 1(25), 83–95.
- 3. Dussán-Sarria, S., Honório, S. L., & Matias, M. D. L. (2008). Resistencia mecánica, tasa respiratoria y producción de etileno de caqui "Fuyu" durante el almacenamiento. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola E Ambiental*, 12(5), 498–502. http://doi.org/10.1590/S1415-43662008000500009
- González-Gaona, E., Padilla-Ramírez, J. S., Reyes-Muro, L., Perales de la Cruz, M. A., & Esquivel-Villagrana, F. (2002). Guayaba su cultivo en Mexico. Pabellón, Aguascalientes, México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte Centro.
- 5. Gregorio, M. P. (2014). *Métodos ópticos para establecer la madurez de cerezas*. Universidad Zaragoza.
- Lu, R., & Peng, Y. (2006). Hyperspectral scattering for assessing peach fruit firmness. Biosystems Engineering, 93(2), 161–171. http://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2005.11.004
- 7. Maldonado, N. E. (2011). *Métodos para la determinaciónde maduración en variedades de guayaba (Psidium guajava L.)*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- 8. Mercado-Silva, E., Benito-Bautista, P., & García-Velasco, M. de los A. (1998). Fruit development, harvest index and ripening changes of guavas produced in central Mexico. *Postharvest Biology and Technology*, *13*(2), 143–150. http://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00003-9
- Nassif, R., Pellen, F., Magné, C., Le Jeune, B., Le Brun, G., & Abboud, M. (2012). Scattering through fruits during ripening: laser speckle technique correlated to biochemical and fluorescence measurements. *Optics Express*, 20(21), 23887. http://doi.org/10.1364/OE.20.023887
- 10. Navas, F. A. (2014). Automatización del Control de Calidad global y exhaustiva de Productos Hortofrutícolas mediante técnicas Láser No Destructivas. Universidad de Murcia. Retrieved from http://nadir.uc3m.es/alejandro/phd/thesisFinal.pdf
- 11. Nicolaï, B., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K., & Lammertyn, J. (2007). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology*, *46*, 99–118. Retrieved from http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/
- 12. NMX-F-103-1982. (1982). ALIMENTOS. FRUTAS Y DERIVADOS. DETERMINACIÓN DE GRADOS BRIX. FOODS.
- Peirs, A., Scheerlinch, N., Touchant, K., & Nicolaï, B. (2002). Comparision of Fourier Transform and Dispersive Near-Infrared Reflectance Spectroscopy for Apple Quality Measurements. *Biosystems Engineering*, 82(2), 169–176. http://doi.org/10.1006/bioe.2002.0066
- 14. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2017). Guayaba, reyna de la vitamina C. Retrieved March 1, 2017, from http://www.gob.mx/siap/articulos/guayaba-reina-de-la-vitamina-c?idiom=es
- **15.** Wang, W., & Li, C. (2013). Measurement of the light absorption and scattering properties of onion skin and flesh at 633nm. *Postharvest Biology and Technology*, *86*, 494–501. http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.07.032

EVALUACIÓN DE DIETAS COMERCIALES PARA CONEJOS EN ENGORDA

Christopher Arturo Narro Banda, José Guadalupe Gómez Soto, Paola Jazmín Aranda Vargas, Tércia Cesária Reis de Souza, Araceli Aguilera Barreyro, María de Jesús Guerrero Carrillo.

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.

RESUMEN

El objetivo general del trabajo fue analizar el contenido nutrimental de 9 dietas comerciales para conejo, compradas en diversos puntos de venta del Estado de Querétaro, para comprobar si los niveles de proteína, extracto etéreo y cenizas coinciden con la tabla nutrimental y son adecuados según los requerimientos para conejos Nueva Zelanda en etapa de engorda. Se realizó el análisis químico para determinar materia seca (MS), extracto etéreo (EE), energía bruta (EB), proteína cruda (PC), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), así como cenizas. El promedio del diámetro de los *pellets* fue de 3.77±0.42 mm, mientras que su longitud de 12.5±2.38 mm. En 8 alimentos el nivel de PC fue menor a lo indicado en la etiqueta, mientras que 5 alimentos presentaron también un mayor contenido de cenizas. El promedio del porcentaje del contenido de FDN, FDA y hemicelulosa fue de 43.33±7.57, 22.10±6.52 y 21.23±2.4, respectivamente, por lo que hay alimentos que superan la recomendación de FDN y FDA que es de 33 y 18% máximo.

INTRODUCCIÓN

En la alimentación del conejo se recomienda utilizar alimentos autorizados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (SAGARPA) para uso en conejos. Un alimento balanceado de óptima calidad debe cubrir los requerimientos de cada una de las etapas en las que se encuentra el animal. La cantidad de nutrimentos mínimo que debe tener un alimento para conejos es de: 16% proteína cruda (PC), 11.5% de proteína digestible (PD), 12% de celulosa, 18% de FDA, 0.4% de calcio, 0.3% de fósforo, 0.6% de potasio, 0.3% de sodio, 0.3% de cloro, 0.25 de magnesio, 2.5 kcal/kg de energía digestible y 2.4 kcal/kg de energía metabolizable. Los valores variarán según la etapa fisiológica y cronológica, así como de las necesidades del animal según la etapa productiva. (García, S/A)

El alimento de los conejos se presenta en forma de gránulos comprimidos, también llamados pellets, que deben tener un diámetro aproximado de 2.5 – 4.5 mm. La longitud de los gránulos debe ser de 7 a 8 mm., 2 a 2.5 veces su diámetro. (García, S/A) Es importante tener en consideración los parámetros anteriores, debido a que el costo de producción mayor en los productos pecuarios es la alimentación. (Barrera, N. & Aviles, P., 2001; Botero & Ossa, 2003; Chard, 2002)

TEORÍA

Importancia de la fibra en la alimentación de los conejos

La fibra es una entidad heterogénea formada por varios componentes químicos de composición conocida, pero cuya estructura tridimensional es variable y poco conocida, que tiene un papel importante sobre la microbiota intestinal, constituye alrededor de un 40-50% del pienso de conejos. Influye en la velocidad de transito del alimento y es un sustrato importante para el crecimiento de esa microbiota, esto afecta la salud y rendimiento productivo del conejo. (Calsamigli, 1997)

Desde el punto de vista químico, la fibra se compone de un entramado de celulosa, hemicelulosa y lignina. A efectos prácticos, se ha definido en términos de fibra bruta (FB), fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD). (Calsamigli,1997)

La organización física y composición química de la pared vegetal son factores de la conformación de los tejidos vegetales que afectan el aprovechamiento como nutriente. (García, 2006) Se utiliza para la predicción de la calidad de los forrajes, la ingestión de materia seca (MS), la digestibilidad y

el valor energético de los alimentos. Un exceso de fibra reduce la capacidad de ingestión de alimentos, la digestibilidad de la ración, la síntesis de proteína microbiana ruminal, y el aporte de energía. (Calsamigli,1997)

El conejo requiere un mínimo de fibra insoluble de 30-33% de FDN, deficiencias ralentizan el tránsito digestivo, reducen rendimiento productivo e incrementan el riesgo de padecer patologías digestivas. (De Blas & Mateos, 1998; Gidenne & García, 2007) La actividad fibrolítica de la microbiota del conejo tiene lugar en el intestino delgado y en el ciego, predominando en ambos segmentos la actividad pectinoliítica frente a la xilanolítica y celulolítica (Maroujnek et al., 1995). Un pienso con déficit en fibra puede demeritar la actividad fibrolítica en especial a nivel de ciego (Giddene et al., 2000).

Hasta un 75% del costo de producción de los conejos está dado por la alimentación. Es importante realizar estudios sobre la composición física y química del alimento comercial disponible a los productores para conocer la calidad nutricional de dichos alimentos. Por lo que el objetivo del presente estudio fue realizar un análisis físico y químico de 9 alimentos comerciales presentes en el Estado de Querétaro y comparar los resultados con las tablas de composición que cada alimento trae impresa.

Características de las principales fuentes de proteínas incluidas en las dietas de conejo

El valor nutritivo de una proteína es determinado por su composición de aminoácidos, digestibilidad o proporción e la proteína ingerida que se digiere en el intestino y absorbido como aminoácidos libres. Los principales factores implicados en la digestibilidad de las proteínas en conejos son la estructura química, propiedades y accesibilidad para la actividad enzimática.

Las proteínas vegetales se encuentran principalmente en la semilla y en las hojas, esto impactara en la cantidad de proteína ofrecida en la composición del alimento. El endospermo del cereal contiene aproximadamente 70% de la proteína total del cereal; el resto está en el germen y en el salvado externo. La proteína de cereales representa aproximadamente 13% de la proteína total de dietas de conejo, mientras que para los subproductos de los cereales, principalmente salvado de trigo, es aproximadamente 20%.Los concentrados de proteínas más utilizados en dietas para conejos en Europa son la soja y el girasol, con niveles de inclusión de 80-90 g kg-1, que comprenden de 35% a 40% del total de la proteína dietética.

Las proteínas de las plantas forrajeras se concentran en las hojas (proteínas foliares), la mayoría se separan de la pared celular por una membrana, aunque una pequeña fracción de proteína insoluble permanece estrechamente unido a la celulosa del pared celular. (Makoni et al., 1993). El forraje más utilizado En las dietas de conejo el heno de alfalfa se usa en un 90% de las dietas; (Villamide et al., 2009) con niveles de inclusión de 200 a 400 g kg-1 aproximadamente un 25% de la proteína en la dieta. El contenido proteico del heno de alfalfa es muy variable, dependiendo principalmente de su estado de maduración y proceso de secado. Las tablas del Instituto Nacional para la investigación Agronómica (INRA, 2002) clasifican Alfalfa deshidratada en cuatro grupos según la proteína (De <160 a 220-250 g kg-1).

Los aminoácidos esenciales más limitantes en las dietas de conejo son metionina (y / o cistina) y lisina, seguida inmediatamente por Treonina y aminoácidos sulfurados. (Taboada *et al.*, 1996).

La excreción de nitrógeno depende estrictamente del nivel de PC dietético. En conejos de engorde, una vez que los requisitos de aminoácidos limitantes se satisfacen con la suplementación de aminoácidos sintéticos, la dieta puede reducirse a <170 g kg-1 (17% PC), disminuyendo así el nitrógeno excretado sin afectar la productividad (Maertens et al., 1997). Diariamente el aumento de peso se ve afectado sólo en <138 g CP Kg-1 (-0,09) aproximadamente 13.8% PC, pero la excreción de nitrógeno es reducido en 38% (Fig. 6.14).

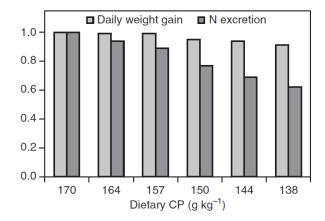


Figura. 6.14. Ganancia de peso diario y el nitrógeno (N) excretado en conejos (32-74 días de edad) según concentración de proteína cruda en la dieta (PC) (170 g CP Kg - 1 = 1) (Maertens et al., 1997).

Como se pudo observar en 8 alimentos el nivel de PC fue menor a lo indicado en la etiqueta, pero tienen valores cercanos al 17% recomendados. En cuanto a la evaluación del alimento el uso de unidades verdaderas como FDN, FDA PD y aminoácidos digestibles en lugar de aparentes como FC, PC y aminoácidos (Carabaño et al., 2009) resultan en una mejoría considerable en la exactitud de la evaluación de piensos y disminución la excreción de nitrógeno. Sin embargo, más información es necesaria en los requerimientos del animal y predicción de digestibilidad de aminoácidos para los ingredientes más comúnmente utilizados.

PARTE EXPERIMENTAL

Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Autónoma de Querétaro. Se molieron 9 alimentos comerciales empleando un molino Thomas-Wiley Laboratory Mill Model 4 de la marca Thomas scientific TM U.S.A., con una criba de 0.5 mm. Se determinó materia seca (MS) por método de Secado (AOAC, 2002), proteína cruda (PC) por el método de Kjeldahl (AOAC, 2002), fibra detergente neutra (FDN) y ácida (FDA) por el método de van Soest (Robertson y Van Soest, 1981), mediante la diferencia de FDN y FDA se obtuvo el valor de hemicelulosa, energía bruta (EB) por Calorimetría (Bateman, 1970), extracto etéreo (EE) por método extracción con éter (AOAC, 2002) y cenizas por el método de incineración (AOAC, 2002). Se midió la longitud y diámetro de los *pellets* empleando un vernier. Los resultados del análisis químico se compararon con los datos impresos en las etiquetas de los alimentos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Valor nutrimental de etiquetas (%)								
Alimento	Proteína	Grasa	Fibra	Cenizas	Humedad	E.L.N.		
1	16 Mín.	3 Mín.	15 Máx.	10 Máx.	12 Máx.	44 Mín.		
2	16 Mín.	3 Mín.	16 Máx.	10 Máx.	12 Máx.	43 Mín.		
3	16 Mín.	3 Mín.	16 Máx.	8 Máx.	12 Máx.	45 por dif.		
4	14.5 Máx	2 Mín.	18 Máx.	10 Máx.	12 Máx.	43.5 Máx.		
5	16 Mín.	3 Mín.	11 Máx.	8 Máx.	12 Máx.	50 por dif.		
6	16.5 Mín.	3 Mín.	15 Máx.	9 Máx.	12 Máx.	44.5 por dif.		
7	16 Mín.	2 Mín.	16 Máx.	14 Máx.	12 Máx.	40 por dif.		
8	16 Mín.	3 Mín.	16 Máx.	8 Máx.	12 Máx.	45 por dif.		
9	15 Mín.	2 Mín.	16 Máx.	9 Máx.	12 Máx.	46.5 por dif.		

RESULTADOS

Los datos obtenidos del análisis químico de los 9 alimentos comerciales se presentan en el Cuadro 2. Respecto a lo indicado en la etiqueta, la MS coincidió con la información; el 55.5% de los

alimentos presentó mayor contenido de cenizas y menor contenido de grasa que lo descrito en las etiquetas. En el 88.8% de los alimentos, el contenido de PC fue menor a lo indicado. El promedio de contenido de FDN, FDA y hemicelulosa fue de 43.41±7.57, 22.85±6.52 y 21.75±2.4, respectivamente, por lo que hay alimentos que superan la recomendación de FDN y FDA que es de 33 y 18% máximo. (García et al., 2006, De blas C., & Mateos GG., 1998 y S.F. García, S/A)|. La fibra es el constituyente mayoritario del pienso de conejos representado entre un 40 y 50% del mismo, existen muy pocos trabajos que estudien el efecto que ejerce la fibra soluble sobre el animal, pese a que pueda tener una mayor influencia sobre la microbiota intestinal que la fibra insoluble, debido a su mayor fermentabilidad. Esto se debe a que es la fracción minoritaria de la fibra, así como a su heterogenicidad y a la dificultad metodológica en cuantificar y caracterizar esta fracción. Una de las propiedades físicas más importantes de la fibra soluble puede ser su capacidad de formar geles y producir viscosidad en el tracto digestivo, pero ésta apenas ha sido estudiada en conejos.

Cuadro 2. Resultados del análisis químico (%)							
Alimento	MS	PC	FDN	FDA	Hemicelulosa	EE	Czs
1	92.65	13.39	40.71	22.62	18.09	1.54	8.82
2	92.54	14.36	44.13	22.82	21.31	2.78	10.81
3	91.49	14.27	39.24	20.12	19.12	2.41	8.71
4	90.38	12.25	52.45	28.11	24.35	2.86	9.15
5	90.10	13.43	34.44	13.28	21.16	3.35	6.99
6	90.81	14.32	44.54	22.01	22.53	3.21	9.31
7	89.99	14.09	46.47	21.60	24.87	1.80	9.88
8	91.92	14.86	34.73	17.11	17.61	2.72	12.05
9	91.39	13.90	53.24	31.22	22.02	2.81	9.57

El promedio del diámetro de los pellets fue de 3.77±0.42 mm, mientras que su longitud de 12.5±2.38 mm. El diámetro y longitud aproximado recomendado del pellet es de 2.5-4 mm y 7-8 mm respectivamente, es decir, de 2-2.5 veces su diámetro (García, S.A.), por lo que de forma general, la longitud de los pellets de los alimentos evaluados es mayor a esta recomendación.

CONCLUSIONES

Debido a que la información nutrimental que presentan la mayoría de las etiquetas de los alimentos comerciales no coincide con los resultados del análisis químico realizado, es indispensable seguir evaluando la calidad del alimento que están empleando los productores para la engorda de los conejos, además de considerar que la evaluación física del alimento no corresponde a las recomendaciones, lo cuál podría ser empleado para en un futuro desarrollar estudios sobre el efecto de dichas características físicas y químicas en el comportamiento productivo de los conejos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C.) 2000 "Oficial Methods of Analysis". Association of Official Analytical Chemists inc. Washington, D.C., E.U.A. 2000
- 2. C. De blas C., & G.G. Mateos, "Feed formulation". Nutrition of the Rabbit. de Blas C, Wiseman J, editorsCAB International; Wallingford, UK. 1998. P.p. 222–232.
- 3. E. Taboada, J. Mendez and J.C. de Blas. "The response of highly productive rabbits to dietary sulphur amino acids content for reproduction and growth". *Reproduction Nutrition and Development*. 1996. 36, 191–203.
- 4. Gidenne, T.; Segura, M.; Lapanouse, A., "Effect of cereal sources and processing in diets for the growing rabbit. I. Effects on digestion and fermentative activity in the caecum". Anim. Res., 2005. 54: 55-64
- 5. Institut national de la recherche agronomique, Instituto nacional para la investigación agronómica de Francia (INRA). "Tables de composition et de valeur nutritive des matieres

- premieres destinees aux animaux d'elevage". Sauvant, D., Perez, J.M. and Tran G. (eds). INRA Editions, Paris, France. 2002.
- 6. Bateman, J. "Nutrición animal: Manual de métodos analíticos". 468 p. Centro Regional de Ayuda Técnica, México, D.F. 1970.
- 7. J. García, R. Carabaño, C. de Blas, A. García, "Importancia del tipo de fibra: Nuevos conceptos y ejemplos para su aplicación en la cunicultura". XXII Curso de especialización FEDNA. Barcelona. 2006.
- 8. L. M. Botero, y J. de la Ossa, J. "Guía para la cría, manejo y aprovechamiento sostenible de algunas especies animales, mamíferos, herbívoros domésticos". Convenio Andrés Bello. Santafé de Bogota D.C. 2003. p.p. 46-58.
- L. Maertens, F. Luzi and G. de Groote. "Effect of dietary protein and amino acids on the performance, carcass composition and N-excretion of growing rabbits". *Annales des Zootechnie*. 1997. 46, 255–268.
- 10. M.J. Villamide, R. Carabano, L. Maertens, J. Pascual, T. Gidenne, L. Falcao-e-Cunha and G. Xiccato. "Prediction of the nutritional value of European compound feeds for rabbits by chemical components and *in vitro* analysis". *Animal Feed Science and Technology.* 2009. 150. 283–294.
- 11. N.F. Makoni, M.G.A. Von Keyserlingk, J.A. Shelford, L.J. Fisher,. and R. Puchala. "Fractionation of fresh, wilted and ensiled alfalfa proteins". *Animal Feed Science and Technology.* 1993. 41, 1–13.
- 12. N. Barrera y P. Aviles, "Uso de la harina de semilla de Cajanus cajan (guandull) como sustituto parcial de raciones para conejos de levante-ceba. Sincelejo". Tesis Zootecnista. Universidad de Sucre. Facultad de ciencias agropecuarias. 2001.
- 13. P.J. Van-Soest, En: "Recent Advances in Animal Nutrition". W. Haresing y D.J.A. Cole (eds.). Butter worths, London, UK. 1985. Pp. 55-70.
- 14. R. Chard, "Los conejos, razas, alimentación, crías, cuidados". Editorial De Vecchi S.A. Barcelona, España. 2002.
- 15. S. Calsamigli, "Nuevas bases para la utilización de la fibra en dietas de rumiantes". Madrid, España. XIII CURSO DE ESPECIALIZACION FEDNA. 1997.
- S.F. García, "Manual de buenas prácticas de producción de conejo en México. Manejo productivo". Comité Nacional Sistema Producto Cunícola. Irapuato, Guanajuato, México. Sin año. P. 17.
- 17. S.F. García, "Manual de buenas prácticas de producción de conejo en México. Instalaciones". Comité Nacional Sistema Producto Cunícola. Irapuato, Guanajuato, México. Sin año. Pp. 13-16.
- 18. T. Gidenne, V. Pinheiro, y L. Falcao-e-Cunha, "A comprehensive approach of the rabbit digestion: consequences of a reduction in dietary fibre supply". Livest. Prod. Sct. 2000. 64:225-237.
- 19. T. Gidenne, y J. García, En: "Recent Advancesin Rabbit Research". Servicio de publicaciones de la UPV, Valencia, españa. (en prensa) 2007.
- 20. M.J. Villamide, R. Carabano, L. Maertens, J. Pascual, T. Gidenne, L. Falcao-e-Cunha, and G. Xiccato. "Prediction of the nutritional value of European compound feeds for rabbits by chemical components and *in vitro* analysis". *Animal Feed Science and Technology*. 2009. 150, 283–294.

PODER CALORÍFICO DE RESIDUOS AGRÍCOLAS (CACAO, BAGAZO DE CAÑA Y FIBRA DE COCO) DE LA REGIÓN GOLFO CENTRO, CON FINES BIOENERGÉTICOS

Patricia Aguilar Sánchez, Rosa Laura Rebolledo García, José Amador Honorato Salazar

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

RESUMEN

Los residuos lignocelulósicos derivados de la producción agrícola se consideran como una opción factible para la producción de energía debido a su disponibilidad, a los beneficios sociales y ambientales que involucran. De acuerdo a los residuos evaluados, la región de Tabasco es considerada a nivel nacional como primer lugar en la producción de cacao (Theobroma cacao), de la cual, se considera a la mazorca como el residuo principal; el coco (Cocos nucifera), en este mismo Estado, es el segundo lugar en producción, considerando a la fibra del fruto como el residuo y el Estado de Veracruz, como el primer productor en caña de azúcar (Saccharum officinarum), teniendo el bagazo como residuo. Dentro de las propiedades que define la calidad de los materiales para combustibles sólidos se encuentra el poder calorífico (PC), por lo que el objetivo principal de este trabajo, fue la determinación del PC para los residuos agrícolas, colectados en los estados de Tabasco y Veracruz. En este estudio, se utilizó un calorímetro de bomba isoperibol PARR1266. Los resultados obtenidos se les aplicó un análisis de varianza, utilizando el programa SAS, seguido de una comparación múltiple de medias por el método de Duncan. Los resultados indican que existen diferencias significativas entre los residuos, obteniendo valores promedio de 4,509.05, 4,391.03 y 3,875.30 cal·g⁻¹ para fibra de coco, bagazo de caña y mazorca de cacao, respectivamente. Estos resultados muestran que la fibra de coco y el bagazo de caña pueden ser competitivos con los residuos forestales que son usados para fines bioenergéticos, los cuales cuentan con rangos similares de desprendimiento de energía.

INTRODUCCIÓN

Debido a la gran variedad de combustibles potenciales de biomasa existentes, la medición precisa de su poder calorífico es un requisito de diseño previo, ya que éste es uno de los parámetros más importantes en la evaluación de la generación competitiva de energía a partir de la combustión de biomasa. Por lo que en este trabajo se determinó el poder calorífico de tres muestras de residuos de biomasa diferentes, como son el cacao, el bagazo de caña y la fibra de coco, colectados en los estados de Tabasco y Veracruz.

TEORÍA

Las reservas de combustible fósil son limitadas y su uso a gran escala está asociada con el deterioro ambiental. Los recursos renovables pueden definirse como un recurso viable sustentable en el largo plazo con razonables costos que pueden ser usados sin efectos negativos. El uso de la biomasa como fuente primaria de bioenergía ha mostrado un potencial para convertirse en una pieza fundamental de un sistema energético sostenible, contribuyendo no solo a la estrategia de diversificación energética del país, sino también a la apropiación de tecnologías emergentes (Chen y Önal, 2016). Los residuos derivados de la producción agrícola, también denominados lignocelulósicos, se consideran como una opción factible para la producción de energía debido a sus beneficios sociales y ambientales. Sin embargo, es importante evaluar la cantidad y la distribución de estos residuos en áreas y regiones específicas como punto de partida para la planificación estratégica en el establecimiento de plantas basadas en la biomasa, ya que determina

el volumen y el tamaño de las plantas de procesamiento, principalmente porque la cantidad de residuos varía con la producción anual (Rouilly y Vaca-Garcia, 2015; Sadhukhan *et al.*, 2014).

El cacao, de nombre científico Theobroma cacao en el caso de la variedad criolla y T. leicocarpo para la variedad conocida como forastero, es originario de Centroamérica básicamente, donde posteriormente fue dispersado hacia otras regiones del continente por el comercio realizado por los Mayas, Toltecas, Aztecas, Olmecas y otras culturas. Se cultiva en regiones de clima tropical y húmedo, localizadas principalmente en las regiones próximas a la Zona Ecuatorial, por lo que requiere de altas temperaturas y ausencia de heladas. En la actualidad el cacao se encuentra en la zona sureste del país, en donde destacan los estados de Chiapas, Guerrero, Oaxaca y Tabasco; siendo esta última entidad la que mayor participación tiene en la producción. Los estados de Tabasco y Chiapas producen el 99.45% del total nacional de cacao; Tabasco es el estado con mayor superficie de cultivo, con aproximadamente 60,324.8 hectáreas. En Tabasco las principales regiones productoras son: la Chontalpa, conformada por Cunduacán, Comalcalco, Cárdenas, Paraíso, Jalpa de Méndez y Huimanguillo; centro y la Sierra, conformado por Teapa y Tacotalpa. En la explotación cacaotera sólo se aprovecha económicamente la semilla. Lo anterior ha derivado en serios problemas ambientales debido a que las pulpas y cáscaras se disponen en los terrenos aledaños a los cacaoteros, lo que da lugar a la aparición de olores fétidos y al deterioro del paisaje, así como también a problemas de contaminación de suelos y cuerpos de agua aledaños en la época de Iluvias por las escorrentías del agua de Iluvia (ASERCA, 2001; Ocampo et al., 2012; Franco-Castillo et al., 2010).

El coco se produce en 92 países del mundo, cerca de 10 millones de hectáreas. Indonesia, Filipinas e India cuentan con alrededor del 75% de la producción de esta materia prima, siendo Indonesia el mayor productor de este. Se estima que la producción actual del coco es con fines para producir electricidad, calor, paneles de fibra, fertilizantes orgánicos, alimento de animales, aditivos de combustible para una emisión limpia, bebidas, entre otros. La fruta de coco produce un 40% de cáscara de coco, la cual contiene un 30% de fibra, siendo el polvo el resto. La composición química de las cáscaras de coco consiste en celulosa, lignina, ácido piroleñoso, gas, carbón vegetal, alquitrán, tanino y potasio. El polvo de coco tiene alto contenido de lignina y celulosa (Zafar, 2015).

La caña de azúcar es una planta que se caracteriza por ser eficiente fotosintéticamente, por lo cual llega a producir grandes cantidades de biomasa. Los residuos de esta, se ocupan para alimentación animal, recuperación de nutrientes, producción de celulosa, así como producción de energía, por medio del material fibroso restante, después de la extracción del jugo, siendo un material que es empleado para generar vapor. Para la modalidad de cosecha en verde, los residuos pueden ser entre 50 y 100 t·ha⁻¹. El Estado de Veracruz ocupa el primer lugar a nivel nacional en el cultivo de caña de azúcar, aportando el 41.6% de la producción total nacional y de la superficie total cosechada. La superficie de caña de azúcar se distribuye en 6 regiones geográficas del país: Noroeste (Sinaloa), Pacífico (Nayarit, Jalisco, Colima y Michoacán), Centro (Puebla y Morelos), Noroeste (Tamaulipas y San Luis Potosí), Golfo (Veracruz, Tabasco y Oaxaca) y Sur (Chiapas, Campeche y Quintana Roo). El valor promedio de materia seca, es de 80 y 20 t·ha⁻¹ de tallos y hojas respectivamente. Desde hace más de 30 años, la industria azucarera mexicana ha destinado una parte importante de sus subproductos (melaza y bagazo) para la fabricación de: piensos, alcohol, levaduras y celulosa. La situación actual de la caña de azúcar está orientada a la

producción de azúcar granulado, y en relación a la producción especializada de bioetanol o a otras alternativas que incluyan la tecnología ya conocida. Este enfogue se denomina bio-refinería y se aplica a un conjunto de alternativas de transformación para una materia prima especializada (SAGARPA, 2016; FIRA, 2015; Viniegra, 2009).

Las propiedades químicas con mayor importancia, las cuáles afectan los procesos de conversión termoquímica y calidad de los combustibles son el análisis proximal (humedad, contenido de cenizas, carbono fijo y volátiles), análisis químico (celulosa, lignina, hemicelulosa y contenido de extractivos) análisis elemental (composición de C, H, N, S y O), poder calorífico, densidad aparente y contenido de metal alcalino. Las características de la biomasa varían según la fuente y necesitan ser conocidas en detalle antes de que se desarrollen los procesos termoquímicos (Sauciuc et al., 2014).

El poder calorífico (PC) de un material, es un parámetro importante para caracterizar una substancia como combustible, la cual indica el contenido de energía o valor calorífico que se libera cuando es quemado en presencia de aire. Este se mide generalmente en términos del contenido energético por unidad de masa (MJ·kg⁻¹) o volumen (MJ·l⁻¹ o MJ·m⁻³). El PC de un material lignocelulósico puede expresarse de la siguiente manera: poder calorífico superior a volumen constante (base seca), poder calorífico inferior a presión constante (base seca) y poder calorífico inferior a presión constante (base húmeda o como es recibida). La combustión de la biomasa básicamente depende del tamaño de partícula y de las propiedades de la materia prima, temperatura y la atmosfera de combustión (Patel et al., 2016; McKendry, 2002; Telmo y Lousada, 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

Para lograr el objetivo de este trabajo, se llevó a cabo una colecta de residuos en el área de producción de cacao, caña de azúcar y coco, las muestras se depositaron en bolsas con etiqueta de identificación y se transportaron al laboratorio del Campo Experimental San Martinito, perteneciente al INIFAP, para su determinación de humedad y poder calorífico.

Se realizó una reducción de tamaño de las muestras, pasándolas por un molino tipo Thomas Wiley. El material molido se tamizó con mallas No. 40 y 60, utilizando el material de la malla 60 para los residuos de bagazo de caña y fibra de coco; para el caso del residuo de cacao, se utilizó el polvo más fino contenido en la base de los tamices. Las muestras reducidas en tamaño se colocaron en bolsas con identificación y se almacenaron para sus posteriores análisis.

Para la determinación de PC, se utilizó un Calorímetro Parr 1266, siguiendo el procedimiento del manual de operación. Antes de iniciar la prueba el calorímetro, se calibró con tabletas de ácido benzoico de grado calorífico y con un peso no mayor a 1 g. Para su determinación se formó un pellet del material previamente molido, con un peso entre 0.5 a 0.9 g al mismo tiempo se tomó una pequeña porción de esta harina de madera para determinar su contenido de humedad (CH). El pellet se colocó en una cápsula de combustión y fue tocado por un alambre de ignición de 10 cm para una correcta combustión, evitando que el alambre tocará las paredes de la cápsula. Después, se cerró la bomba para inyectar oxígeno y finalmente se colocó dentro de la cubeta, conectándose a unos electrodos. La determinación del PC se llevó a cabo en un tiempo no mayor a diez minutos, realizando cinco repeticiones por muestra. Los resultados se obtuvieron directamente del calorímetro en unidades cal g⁻¹ y se ajustan de acuerdo a la ecuación 1.

$$PCt = \frac{At*Ee}{Pnm} \tag{1}$$

 PC_t = poder calorífico total [cal·g⁻¹] Donde:

 A_t = aumento de la temperatura [°C]

 E_e = energía equivalente [cal· °C⁻¹] P_{pm} = peso de la pastilla (muestra) [g]

Para la determinación del CH, se metieron previamente unos vasos de 10 ml en una estufa a una temperatura de110 °C, por lo menos 4 horas, se sacaron y se mantuvieron en un desecador. Posteriormente se pesaron los vasos, identificándolos con el número de repetición y se les colocó ±1 g de harina de muestra. El vaso se pesó con el espécimen y se metió en una estufa con temperatura de 110° C, por períodos de una hora, éste se pesó hasta que llegó a peso constante (aproximadamente de 4 a 6 horas). El cálculo para determinación de CH se realizó como a continuación describe en la ecuación 2:

$$CH = \left(\frac{Ph - Po}{Po}\right) * 100 \tag{2}$$

Donde: CH(%) = Contenido de humedad [%]

 P_h = Peso de la madera con humedad h [g]

 P_o = Peso anhidro de la madera [g]

Para el análisis estadístico, se llevó a cabo un análisis de comparación múltiple de medias con el programa SAS, por el método de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las muestras presentaron en promedio un contenido de humedad del 6.8% para el bagazo de caña y fibra de coco, y para el cacao de 9.4%. Los resultados indican diferencias significativas (p≤0.05) entre las muestras en cuanto a su PC, los cuales se muestran en la tabla 1. Se observa que la fibra de coco es el que presenta el valor más alto, comparado con los otros 2 residuos, esto se puede deber a lo reportado en la literatura, donde mencionan que este residuo tiene un gran contenido de lignina, aportándole así, un desprendimiento de calor elevado. Este, sin embargo, es un valor muy similar al reportado por Zafar (2015) con 4,502.8 cal·g⁻¹.

Tabla 1. Prueba de comparación múltiple de Duncan para PC. Las muestras con la misma letra no son significativamente diferentes.

Especie	Duncan	PC (cal·g ⁻¹)
Fibra de coco	Α	4,509.05
Bagazo de caña	В	4,391.03
Mazorca de cacao	С	3,875.30

En cuanto al bagazo de caña, este valor es más alto a lo reportado por algunos autores como el de Garcés y Martínez (2007) donde reportan en promedio 3,322.3 cal·g⁻¹, por otro lado, el estudio de Diez *et al.* (2010) reporta un valor de 4,186.6 cal·g⁻¹ para su bagazo, siendo un valor muy similar al de este trabajo. La estimación de PC para la mazorca de cacao, representó un valor por debajo de lo reportado por Syamsiro *et al.* (2012) y Spilacek *et al.* (2014), donde reportan valores de 4,063 y 4,321.2 cal·g⁻¹ respectivamente.

CONCLUSIONES

Los residuos agrícolas evaluados presentaron un PC destacado en comparación con algunas especies forestales, las cuales llegan a ser de entre 4,000 a 4,500 cal·g⁻¹ en peso seco. Sin embargo, para considerar a un material viable en aspectos bioenergéticos, es importante contar con los análisis de composición química, análisis elemental y proximal, entre otros; los cuales fortalecerán este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Rouilly, A. and C. Vaca-Garcia. 2015. Bio-Based Materials. In: Clark, J. and F. Deswarte (eds.). Introduction to Chemicals from Biomass, Second Edition. John Wiley & Sons, Ltd., West Sussex, United Kingdom, pp: 205-248.
- 2. Sadhukhan, J. K. S. Ng and E. Martinez H. 2014. Biorefineries and chemical processes: design, integration and sustainability analysis. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex, United Kingdom. 625 p.
- 3. X. Chen, H. Önal, "Renewable energy policies and competition for biomass: Implication for land use, food prices, and processing industry", energy Policy, Vol. 92, 2016, p.p. 270-278.
- 4. ASERCA, Tabasco y el cacao: Crónica de una tradición, 2001. Claridades agropecuarias, un horizonte aserca del mercado agropecuario. Revista 16, 32 pp. Disponible en: http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/revistas/016/ca016.pdf
- 5. E. G. Ocampo B., J. I. Ríos B., Z. B. Soria L., 2012, La producción de cacao en México. Investigación del cacao en México. FCA UNAM. 47 pp.
- 6. M. Franco-Castillo, M. Ramírez-Hernández, R. S. García-Gómez, M. Bernal-González, B. Espinosa-Aquino, J. A. Solís-Fuentes, C. Durán-de-Bazúa., 2010. Reaprovechamiento integral de residuos agroindustriales: cáscara y pulpa de cacao para la producción de pectinas. Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias, 1 (2):45-66.
- 7. Zafar S., 2015. Energy Potential of Coconut Biomass. Bioenergy Consult, powering clean energy future. Disponible: http://www.bioenergyconsult.com/coconut-biomass/
- 8. SAGARPA, CONADESUCA, UACH, 2016. Aprovechamiento de residuos de cosecha de la caña de azúcar, Nota Técnica Informativa del sector de la caña de azúcar.
- 9. FIRA, 2015. Panorama agroalimentario. Dirección de Investigación y Evaluación económica y sectorial. p.35 Viniegra G. G., 2009. Bio-refinerías de la caña de azúcar. Ideas CONCYTEG, Año 4, Núm. 54.
- G. G. Viniegra, "Bio-refinerías de la caña de azúcar", Ideas CONCYTEG, Año 4, 2009.
 Núm. 54. Disponible:
 - www.concyteg.gob.mx/ideasConcyteg/Archivos/54022009_Bio_refinerias_de_la_cana_azu car.pdf
- 11. A. Sauciuc, L. Dumitrescu, I. Manciulea, R. Rauch, H. Hofbauer, "Characterization of Biomass Used for Fischer-Tropsch Diesel Synthesis", Springer, Sustainable Energy in the Built Environment Steps Towards nZEB, 2014, p.p. 335-346.
- 12. M. Patel, X. Zhang, A. Kumar, "Techno-economic and life cycle assessment on lignocellulosic biomass thermochemical conversion technologies: A review", Renewable and Sustainable Energy Reviews., Vol. 53, 2016, p.p. 1486–1499.
- 13. P. McKendry, "Energy production from biomass (part 1): overview of biomass", Bioresource Technology., Vol. 83, 2002, p.p. 37–46.

- 14. C. Telmo, J. Lousada, "Heating values of wood pellets from different species", Biomass and Bioenergy, Vol. 35, 2011, p.p. 2634-2639.
- 15. Parr. 1999. 1266, "Isoperibol Bomb Calorimeter, operating instruction manual", Parr Instrument Comapny, USA.
- 16. R. V. Garcés P., S. V. Martínez S., "Estudio del poder calorífico de bagazo de caña de azúcar en la industria azucarera de la zona de Risalda", Universidad Nacional de Colombia, 2007, p. 57.
- 17. O. A. Diez, G. J. Cárdenas, L. F. Mentz, "Poder calorífico superior de bagazo, médula y sus mezclas, provenientes de la caña de azúcar de Tucumán, R. Argentina", Revista industrial y agrícola de Tucumán, Vol. 87, 2010, p.p. 29-38.
- 18. M. Spilacek, M. Lisy, M. Balas, Z. Skala, "The comparision of Wood chips and cocoa shells combustion", Advances in Environmental Sciences, Development and Chemistry, 2014, p.p. 217-220.
- 19. M. Syamsiro, H. Saptoadi, B. H. Tambunan, N. A. Pambudi, "A preliminary study on use of cocoa pod husk as a renewable source of energy in Indonesia", Energy for Sustainable Development, Vol. 16, 2012, p.p. 74-77.

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS MESOPOROSAS DE ÓXIDO DE SILICIO (SIO₂) COMO ALTERNATIVA EN EL TRANSPORTE DE FÁRMACOS

Laura Gabriela Zamora Espino, Alejandro Jonathan Hurtado Mariles, Marcos Ignacio Jiménez Zúñiga, Jesús Antonio Valencia Arredondo

Universidad Tecnológica de Tecámac, Área Químico-Biológicas, Laboratorio de Bioprocesos

Instituto Politécnico Nacional-Unidad, Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. lau-zamora@hotmail.com

RESUMEN

Las nanopartículas se definen como partículas que tienen al menos una de las dimensiones en el rango comprendido entre 1 a 100 nm, el empleo de estas es muy amplio por ejemplo en el campo de la nanomedicina donde son utilizadas como soportes o plantillas mediante la funcionalización o encapsulación de fármacos. Las nanopartículas de sílice mesoporosas se caracterizan por su elevada superficie específica, su buena biocompatibilidad, su fácil obtención en múltiples estructuras y formas, así como su fácil funcionalización. Es por ello que el objetivo del presente trabajo fue desarrollar un método de síntesis hidrotermal de óxido de silicio (SiO2) a partir de una fuente de Silicato de Sodio (Na₂SiO₃), estableciendo las condiciones adecuados de pH y temperatura para formar estructuras con cualidades específicas, los polvos obtenidos fueron caracterizadas y analizadas por Espectroscopia Infrarroja (FT-IR) y microscopia óptica. El análisis FT-IR de los polvos obtenidos identifico la presencia de óxido de silicio (SiO₂) en los ensayos a 200 °C /12 h /pH de 11 y la imagen microscópica revelo la morfología de estructuras de cualidades de sílice amorfa porosa logrando entonces así una alternativa en la formación de una nanopartícula amorfas de sílice útil en el transporte de fármacos. El método hidrotermal empleado representa una técnica muy versátil y barata debido a las condiciones y reactivos empleados. Con el estudio infrarrojo se demostró la presencia de óxido de silicio en las nanopartículas formadas.

INTRODUCCIÓN

La sílice porosa ha recibido amplia atención para su aplicación en los campos de la separación selectiva, la catálisis, materiales eléctricos y los materiales de prótesis debido a su alta estabilidad térmica y química, áreas de superficie grandes y buenas compatibilidades con otros materiales. Otras áreas de interés creciente en la sílice porosa son como absorbentes de gas, absorbentes de iones de metales pesados y portadores inorgánicos para la inmovilización de enzimas, así como la aplicación en sensores químicos.

Desde el descubrimiento de materiales de sílice mesoporosa ordenada ^{9,2}, diferentes trabajos para la preparación de este tipo de materiales así como el uso de tensioactivos catiónicos como plantilla han sido objeto de estudio ^{3,12}. Por lo general, su preparación consiste en la formación de micelas en solución acuosa, seguido por la polimerización de una fuente inorgánica y la eliminación de los tensioactivos de los poros del material ¹². Para que una nanopartículas se considere como tal debe tener un diámetro que va de 1 a 100 nm ², la homogeneidad de los poros, área superficial alta, y una buena estabilidad térmica.

La porosidad y morfología se determinan por diferentes parámetros de procesamiento como el tipo de surfactante, plantilla y fuente de sílice, así como la composición de materiales de partida, pH, temperatura, tiempo de envejecimiento, aditivos, y disolventes ⁸. Los compuestos solubles en silicato tales como orto silicato de tetraetilo (TEOS) ^{13,6} y silicato de sodio (Na₂SiO₃) se han utilizado principalmente como fuentes de sílice para la síntesis de sílice mesoporosa. TEOS puede ser hidrolizado para obtener grupos silanol mientras que una solución de Na₂SiO₃ ya ofrece estos grupos, y su importe depende en el grado de condensación previa que tiene.

PARTE EXPERIMENTAL Preparación de Sílice Mesoporosa

Se preparó el silicato de sodio a partir de una muestra de sílice en polvo con ayuda de la siguiente ecuación balanceada que determina la formación de silicato de sodio:

$$SiO_2 + NaOH \rightarrow Na_2SiO_3 + H_2$$

$$1 SiO_2 + 2 NaOH \rightarrow 1 Na_2SiO_3 + 1 H_2$$

Una vez obtenida la ecuación, se pesó en una balanza analítica OHAUS, 3 g de sílice en polvo, 2.5 g de hidróxido de sodio y 8 mL de agua destilada, para ser vertidos en un vaso de precipitados de 250 mL con agitador magnético y colocados en una parrilla de la marca Cole Parmer donde se agito la mezcla hasta su total disolución, posteriormente se fue añadiendo lentamente ácido clorhídrico grado analítico por las paredes del vaso con ayuda de una pipeta, la adición de este reactivo es con la finalidad de alcanzar un pH 11, esto de acuerdo a reportes por ¹⁰, ayudara a una eficiente hidrolisis en la solución porque al momento de mezclar la sílice en polvo, el agua y el hidróxido de sodio el pH fue de 13.5

Una vez agregado el ácido clorhídrico hasta un volumen de 3 mL aproximadamente se debe mantener en agitación por 10 minutos hasta lograr una homogenización completa de la solución.

Pasados 10 minutos y hasta alcanzar un volumen aproximado de 8 mL de la solución de silicato de sodio, la mezcla se pasó a una Autoclave de Teflón marca Parr-instruments aforando a un volumen de 40 mL para después sellar la autoclave y pasarlo al horno a una temperatura de 180 °C por 12 horas, este último paso permitirá llevar a cabo la síntesis hidrotermal.

Lavado, Extracción y Secado

La etapa de lavado consistió en que una vez terminado el proceso de la síntesis hidrotermal en el autoclave se vertió el contenido de este a tubos falcon y se centrifugó, este proceso permite eliminar el hidróxido de sodio (NaOH), para esto se colocaron los tubos en una centrifuga Thermo Scientific a 4500 rpm por 15 min en donde se recuperó la pastilla formada al fondo del tubo y se desechó el sobrenadante este proceso fue repetido 3 veces, por consiguiente ya una vez realizado los lavados con agua destilada se colocaron las pastillas obtenidas en morteros para su calcinación en una mufla marca LABTECH a 120 °C por 24 horas.

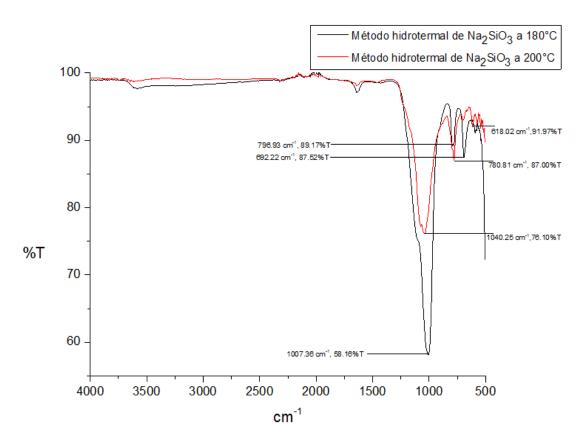
Se sintetizaron las partículas de silicato de sodio (Na_2SiO_3) a dos diferentes temperaturas a 180 °C y 200 °C realizando un promedio que estuviera dentro de los limites propuestos, puesto que reportes de bibliografía hablan sobre temperaturas entre 80 °C y 120 °C por 24-72 horas que son óptimas para que la síntesis hidrotermal se lleve a cabo de manera precisa y poder obtener resultados significativos.

Una vez obtenidos los polvos se llevaron al equipo de espectroscopia infrarroja en un Espectroscopio Infrarrojo de la marca Perkin Elmer en donde se realizó un barrido de 4000 cm-¹ a 500 cm-¹, para ser analizados los polvos se colocaron las muestra en el detector de diamante por lo que es recomendable tomar las medidas adecuadas para hacer uso de este como utilizar guantes para evitar una contaminación de la muestra y la limpieza del equipo para evitar cualquier anomalía. Los resultados obtenidos se compararon de acuerdo a los datos propuestos por ^{5,1}.

RESULTADOS Caracterización de las muestras de óxido de silicio por Análisis infrarrojo (FT-IR)

Los resultados de las gráficas obtenidas por FT-IR deben de cumplir con características muy específicas de acuerdo a los estudios propuestos por ^{5,1}, que describen tres picos característicos del óxido de silicio que son:

- Elongación 1084 cm⁻¹
- Flexión 812 cm⁻¹
- Balanceo 458 cm⁻¹



En la figura anterior se presenta un análisis infrarrojo realizado al método hidrotermal debido a su buena aplicación para la síntesis de la fase deseada bajo condiciones de reacción suaves mediante un solo paso ;además de que permite la obtención de monocristales sin defectos, altamente amorfos, con un tamaño de partícula relativamente controlable y con diversas características morfológicas tal y como se menciona de acuerdo a estudios realizados por ¹¹; se observa en la figura anterior la presencia de 3 bandas o picos importantes de gran intensidad, las cuales están relacionadas con el enlace Si-O-Si, en las regiones 618.02, 780.81, 1040.25 cm⁻¹ del método hidrotermal a una temperatura de 200 °C y en las regiones 692.22, 796.93, 1007.36 cm⁻¹ concernientes al método hidrotermal a una temperatura de 180 °C que pueden ser clasificadas por el tipo de movimiento y vibraciones del átomo de oxigeno respecto a los átomos de silicio en balanceo, flexión y elongación respectivamente, estas características de las bandas obtenidas son descritas por ⁷ como se muestran en la tabla 1.

Tabla 1: Asignación de vibraciones fundamentales de SiO₂ en la región 4000 a 550 cm⁻¹

Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación de vibraciones				
600 a 680	Vibraciones del Si-O				
750 a 810	Flexión del Si-O				
900 a 1043	Grupos silanos y estiramiento Si-O-Si				
1050 a 1115	Estiramientos asimétricos de Si-O				
1510 a 1680	Deformación (Tijereteo y aleteo) del H del alcohol				
Figura 1: Anális método de hidro	sis infrarrojo de Silicato de sodio (Na ₂ SiO ₃) a diferentes temperaturas por e otermal.				
3750	Silanoles libres en la superficie				

Los picos característicos del óxido de silicio cristalino deberán aparecer a 1084, 812 y 458 cm⁻¹ respectivamente resultado de un exitoso método de acuerdo a ⁷, sin embargo los resultados obtenidos experimentalmente están fuera de estos límites establecidos, dichos resultados pueden deberse a factores como la temperatura y el tiempo de la síntesis hidrotermal, así entonces de acuerdo a ¹¹, el resultado del experimento es la formación de silicio amorfo por las vibraciones en donde se encuentran los picos.

CONCLUSIONES

- Se implementó un método hidrotermal para la obtención de sílice amorfo a condiciones de 200 °C, 12 horas y pH de 11, parámetros que deben ser controlados ya que representan un factor relevante debido a dos circunstancias importantes, la primera que es difícil la incorporación de los elementos al ser procesados disminuyendo las variables considerablemente y la segunda que aparecen lecturas de más de 3 picos, lo que se describe en bibliografía como una no conformación del óxido de silicio.
- El método hidrotermal empleado representa una técnica muy versátil y barata debido a las condiciones y reactivos empleados.

 El análisis infrarrojo identifico la presencia de óxido de silicio (SiO₂) y de acuerdo a los resultados obtenidos existe la presencia de este en carácter amorfo sin embargo sería necesario emplear una técnica utilizando un precursor y así obtener sílice en forma cristalina que sería más adecuado de acuerdo a alta tasa de zonas porosas.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Andrade, A. Análisis de las reacciones de hidrólisis y condensación en muestras de sílica xerogeles usando espectroscopía infrarroja. Rev. Mex. Fís. 46 (2000). Páginas, 593.
- 2. Beck, J. S.; Vartuli, J. C.; Roth, W. J.; Leonowicz, M. E.; Kresge, C. T.; Schmitt, K D.; Chu, C. T. W.; Olson, D. H.; Sheppard, E. W.; McCullen, S. B.; Higgins, J. B.; Schlenker, J. L. J *Hydrothermal synthesis of mesoporous sílica MCM-41 using commercial sodium silicate* Am. Chem. Soc.114, .(1992). 10834-10843.
- 3. Chen, Y.; Shi, X.; Han, B.; Qin, H.; Li, Z.; Lu, Y.; Wang, J.; Kong, Y. J.. *Hydrothermal synthesis of mesoporous sílica MCM-41 using commercial sodium silicate. Nanosci. Nanotechnol.* 12, (2012), 7239-7249.
- 4. Goldberg M, Langer R, Jia X. Nanostructured materials for applications in drug delivery and tissue engineering. J Biomat Sci.; (2007) 18:241-68.
- Jaramillo Natalia, Paucar Carlos, García Claudia. Nanopartículas de sílice: Encapsulación de fármacos y tratamiento de enfermedades. Revista colombiana de materiales N.5 Edición especial artículos cortos. Grupo de Cerámicos y Vítreos. Universidad Nacional de Colombia. (2011).PP.74-83.
- Jomekian, A.; Mansoori, S. A. A.; Bazooyar, B.; Moradian, A. J. *Porous Mater.*, (2012).19, 979-988.
- 7. Katumba, G., M. B.W, and T.R. Mothibinyane, *FTIR and Raman Spectroscopy of Carbon Nanoparticles in SiO2, ZnO and NiO Matrices.* Nanoscale Research Letters. 3(11) (2011). páginas, 421-426.
- 8. Kierys, A.; Buda, W.; Goworek, J. J. Porous Mater. *Hydrothermal synthesis of mesoporous sílica MCM-41 using commercial sodium silicate.* (2012).17, 669-676.
- 9. Kresge C.T., Leonowicz M.E., Roth W.J., Vartuli J.C., Beck J.S. *Hydrothermal synthesis of mesoporous sílica MCM-41 using commercial sodium silicate*. Nature (1992). 351, 710-712.
- 10. Meléndez-Ortiz, H. I., Mercado-Silva, A., García-Cerda, L. A., Castruita, G., & Perera-Mercado, Y. A. *Hydrothermal synthesis of mesoporous silica MCM-41 using commercial sodium silicate.* Journal of the Mexican Chemical Society, (2013).57(2), 73-79.
- 11. R.J. Bell, N.F. Bird, P. Dean, J. Phys. (1968). C, 1, 299
- 12. Wu, Y.; Zhang, Y.; Cheng, J.; Li, Z.; Wang, H.; Sun, Q.; Han, B.; Kong, Y. *Hydrothermal synthesis of mesoporous sílica MCM-41 using commercial sodium silicate. Micro. Meso. Mater*, (2012). 162, 51-59.
- 13. Yoo, W. C.; Stein, A. Hydrothermal synthesis of mesoporous sílica MCM-41 using commercial sodium silicate Chem. Mater., (2011). 23, 1761-1767.

DESARROLLO DE UN PROCESO DE PRECIPITACIÓN QUÍMICA A UN SISTEMA DE BIOTRANSFORMACIÓN DE LIXIVIADOS RICOS EN Cr (VI)

Mariana Oropeza Segura, Arodí Bernal Martínez y Germán Cuevas Rodríguez

Universidad de Guanajuato, División de Ingenierías. Departamento de Ingeniería Civil. Av. Juárez #77 Col Centro CP 3600. Guanajuato, Guanajuato.

RESUMEN

Debido al mal manejo de los residuos peligrosos de algunas industrias químicas, se presentan problemáticas con los lixiviados generados; como son riesgos a la salud de las poblaciones vecinas, riesgos de contaminación del suelo, aire y pozos de agua cercanos. Algunos compuestos tóxicos pueden ser encontrados en este tipo de lixiviados como es el Cr (VI).

Existen diferentes procesos para la remoción de Cr (VI) como son los procesos físico - químicos y los biológicos o la combinación de los mismos. Para la remoción de Cr (VI) el lixiviado se sometió a un proceso de Coagulación – Floculación como pretratamiento para introducirlo a un reactor biológico para la reducción total de Cr (VI), posteriormente se desarrolló un proceso de precipitación química para la remoción de Cr (III).

El objetivo de este trabajo fue aplicar el proceso de precipitación química como post-tratamiento de un lixiviado industrial para la remoción de Cr (III). En primer lugar, se llevo a cabo la caracterización fisicoquímica del lixiviado industrial, posteriormente el proceso de coagulación – floculación, enseguida la introducción del lixiviado al reactor biológico y, por último el proceso de precipitación química, para lo cual se utilizaron dos precipitantes (NaOH y Ca(OH)2). El mejor precipitan fue e Ca(OH)2 con una dosis de 1 g/L.

INTRODUCCIÓN

Química Central de México, S.A. de C.V., es una empresa manufacturera de sales de cromo, que fue clausurada en el 2014, sin embargo ha generado lixiviados altamente toxicos debido al mal manejo de sus residuos peligroso que ocasionan un foco de contaminación. El problema radica en que estos residuos permanecen en el sitio, sin contar con una correcta disposición. Lo cual, conlleva a una problemática para el medio ambiente y la salud de las poblaciones cercanas a este tipo de sitios.

Los compuestos de cromo son considerados como sustancias cancerígenas para el ser humano, comprobados por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) y clasificados en el Grupo I¹.

Asimismo, ingerir pequeñas cantidades de cromo (VI) no causa problemas; sin embargo, tragar cantidades más altas ha producido malestar estomacal, úlceras, convulsiones, daño del hígado, el riñón y aun la muerte.

Ciertas personas son extremadamente sensibles al cromo (VI) o al cromo (III). En estas personas se han observado reacciones alérgicas que se manifiestan en serio enrojecimiento e hinchazón de la piel². Es por esto, que se ha recurrido al tratamiento de los lixiviados industriales con alto contenido de Cr (VI), dentro de estos tratamientos tenemos los biológicos y los físico-químicos, en los primeros encontramos los reactores biológicos anaerobios en los cuales los microorganismos reducen el cromo, en los últimos encontramos la coagulación-floculación, el cual tiene ventajas ante otros métodos, por ejemplo: una menor cantidad de condiciones especificas y un menor

tiempo para lograr el tratamientos de los lixiviados, dentro de estos procesos también encontramos la precipitación química.

La precipitación química consiste en la formación del hidróxido metálico correspondiente mediante el ajuste del pH a través de la adición de compuestos básicos como hidróxido sódico NaOH, hidróxido cálcico Ca(OH)₂ o cal CaO, y es el método más ampliamente utilizado para la eliminación de metales disueltos³.

Con estudios realizados se ha podido observar que el proceso precipitación química es una opción para la remoción de Cr (III). El presente trabajo, se centra en la aplicación del proceso de precipitación química con hidróxidos en un lixiviado proveniente de una industria química que fue tratado previamente por un proceso de biotransformación.

TEORÍA

Para una correcta precipitación de los metales se recomienda la aplicación de una mezcla rápida al inicio de la operación seguida de una disminución de la velocidad de agitación que favorezca la floculación. Como consecuencia de la precipitación, se forma un lodo con elevadas concentraciones de metal que debe retirarse y gestionarse adecuadamente como residuo peligroso. La relación entre la solubilidad del metal y el pH de la disolución depende del tipo de metal que se considere³.

La precipitación es una de las técnicas más utilizada en los procesos industriales ya que es relativamente sencilla de operar, económica y selectiva, aunque su mantenimiento si es costoso debido a la alta generación de lodos⁴. Mediante este tratamiento se obtienen mejoras en la eliminación del color, contenidos en sólidos en suspensión, amonio y eliminación de algunos cationes pesados⁵.

El cromo es un metal con características anfotéricas. Según estudios las especies más importantes son Cr³+, Cr(OH)₃ 0 y Cr(OH)₄. En la figura 1 muestra el Eh-pH para las especies del cromo en solución acuosa, aquí se observa que la forma predominante del cromo trivalente a un pH menor que 3 es Cr³+. La especie Cr(OH)²+ se forma en un intervalo muy estrecho de pH, entre 6.27 y 6.84. Entre pH 7 y 11, la forma predominante es Cr(OH)₃ y la solubilidad del hidróxido es mínima. A mayores valores de pH se forma Cr(OH)₄ y aumenta la solubilidad del cromo 6.

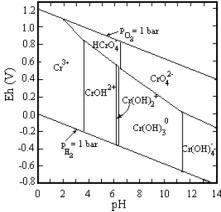


Figura 1. Diagrama Eh-pH para las especies del Cr en solución acuosa.

PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo se dividió en 4 etapas, la primera fue la caracterización del lixiviado industrial, la segunda etapa en la aplicación del proceso coagulación – floculación como pre tratamiento, en la tercera etapa la implementación de un proceso biológico y como última etapa el proceso de precipitación química.

El objetivo de la cuarta etapa fue la precipitación de Cr (III) de un efluente que proviene de un reactor biológico que reduce el Cr (VI) del lixiviado industrial.

La precipitación se hizo mediante la comparación de dos precipitantes que fueron: el NaOH y el Ca (OH)₂.

En primer lugar se prepararon dos estándares de cada uno de los precipitantes a una concentración de 50 g/L.

Para estas pruebas se utilizó el equipo tradicional de jarras, en donde en cada prueba se colocaron 300 mL de efluente con Cr (III). Se agregó el precipitante variando su concentración de 0.5 a 1.83 g/L, esto para alcanzar un pH entre 7 y 10, ya que en este intervalo se favorece la precipitación.

Inmediatamente después de agregar el precipitante se aplicó una agitación rápida de 150 rpm durante 10 minutos, y después una agitación lenta de 50 rpm durante 30 minutos. Se dejo reposar durante 24 h y posteriormente se separo el clarificado del precipitado, y se procedió a caracterizarlo tomando en cuenta los siguientes parámetros: pH _{inicial,} pH _{final,} Cr^{Total}, Cr^{6+,} Cr^{3+,} DQO_t ST, SST, Volumen de lodos, y ST de los lodos.

RESULTADOS

Durante la caracterización fisicoquímica el lixiviado industrial presento un pH de 13.63, una conductividad de 86.7 mS/cm, una concentración de Cr⁶⁺ de 4500 mg/L, con 3480 mg/L de sólidos suspendidos.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica del Lixiviado Industrial.

Parámetro	Valor
рН	13.63
Conductividad	86.7 mS/cm
Cr (VI)	4500 mg/L
SST	3480 mg/L

Coagulación – Floculación

Se realizó una serie de pruebas usando como coagulante sulfato ferroso (Fe₂(SO)₄). Se tomaron tres diluciones (1:10, 1:7, 1:5), ajustando a pH 6, 7 y 8. La mejor dosis fue la de 2 g/L de FeSO₄ • H2O g/L a pH 6 con dilución 1:5. Siendo la dosis que mejor se adapta a las condiciones para introducir el lixiviado al reactor biológico, teniendo un porcentaje de remoción de Cr (VI) de 85.11%.

Concentración mg/L	pH Conductividad Cr6+ mg/l			Lodos ml/L	SST	SSV	SSF	ST Lodos
		mS/cm	mg/L					
2	5.58	21840	670	220	2420	280	2140	30083.3

Biotransformación

Los resultados de las pruebas biológicas se presentan en la figura 2, donde se observa la reducción de Cr (VI) hasta llegar a 1 mg/L de Cr (VI). Teniendo una concentración inicial de 250 mg/L de Cr (VI), sin embargo al añadir la fuente de carbono se da una precipitación química.

Las pruebas con microorganismos redujeron en los mismos días que los controles. Teniendo un comportamiento muy parecido las pruebas con el consorcio y las pruebas con el consorcio esterilizado, sin embargo las pruebas con el consorcio filtrado se observa que la reducción es más lenta, pero al llegar al día 5 tienen la misma reducción las pruebas con el consorcio y con el consorcio esterilizado.

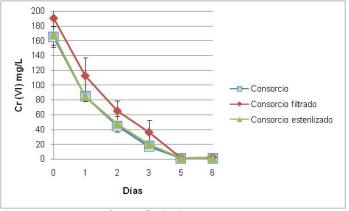


Figura 2. Reducción de Cr (VI) por el consorcio microbiano

Pruebas de precipitación química

Se realizaron las pruebas correspondiente con los dos precipitantes, teniendo como resultado que el que remueve mayor conncentración de Cr (III) fue el Ca(OH)₂.

Al realizar las pruebas con el Ca(OH)₂ la concentración inicial de Cr (III) fue de 471.64 mg/L. Al realizar las pruebas de precipitación química, se observa que al aumentar la concentración de precipitante existe una menor remoción de Cr (III). La que tuvo mayor remoción fue la dosis de 1 g/L de Ca(OH)₂, reduciendo la concentración a 2.4 mg/L de Cr (III), teniendo así mismo la menor formación de lodos. En la tabla 3, se presentan los resultados de precipitación química.

Tabla 3. Resultados de las pruebas con precipitación con Ca(OH)₂

Ca(OH)	pH inicial	pH final	Cr ^{Total}	Cr ⁶⁺ (mg/L)	Cr³⁺(mg/L)	DQO(mg/ L)	Vol Lodos ml/L	SST	ST
g/L									
0	4.95	4.97	471.6 4	1	470.6393	11835.5	0	135 0	-
1	6.93	6.54	2.90	0.5	2.401639	13751.5	16.66	840	1309 5
1.167	7.54	7.32	11.10	0.5	10.59836	10214	60	820	1313 0
1.333	8.11	7.05	37.82	0	37.81967	9150	66.67	770	1306 5
1.5	9.37	9.23	32.74	0.5	32.2377	10120.5	126.67	855	1295 0

1.667	8.83	8.76	50.61	0	50.60656	10826	126.67	805	1294 5
1.833	10.15	9.59	54.54	1	53.54098	10074	80	700	1298 5

En la figura 3. Se muestran los porcentajes de remoción con las diferentes dosis de Ca(OH)₂, en la que se observa nuevamente que el que tuvo mayor remoción fue la de 1g/L de Ca (OH)₂.

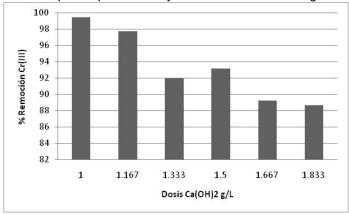


Figura 3. Porcentajes de remoción de Cr (III) con Ca(OH)₂

CONCLUSIONES

- ✓ El proceso coagulación floculación funciona como pre-tratamiento para lixiviados con alto contenido de Cr (VI), teniendo porcentajes de remoción altos.
- ✓ La reducción de Cr (VI) por medio de la biotransformación es posible, sin embargo también existe una reducción química.
- ✓ La reducción de 250 mg/L de Cr (VI) por medio de la biotransformación se lleva a cabo en 6 días.
- ✓ Los dos precipitantes tuvieron altos porcentajes de remoción, con NaOH 83.85% y con Ca(OH)₂ un 99.49 %.
- Con 1 g/L de Ca(OH)₂, remueve el 99.49% de Cr (III) del efluente que sale del proceso de biotransformación.

BIBLIOGRAFÍA

- Yepes, M. M. (2009). "Aislamiento de cepas nativas bacterianas a partir e biopelícula obtenida de un sitio de vertimiento de aguas residuales con alto contenido de cromo". Tesis de Grado para optar al título de Magíster en Biotecnología. Universidad nacional de Colombia, Sede Medellín.
- 2. ATSDR (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades). (2000). División de Toxicología y Medicina Ambiental. *Resumen de salud pública*. pp. 1-13.
- 3. Izquierdo, M. (2010). "Eliminación del metales pesados en aguas mediante bioadsorción., Valencia, España,), pp. 22.
- 4. Caviedes, D. I. (2015). "Tratamientos para la Remoción de Metales Pesados Comúnmente Presentes en Aguas Residuales Industriales".78.
- 5. Corena, M. J. (2008). "Sistemas de tratamientos para lixiviados generados en rellenos sanitarios". pp. 55.

TERMOGRAFÍA EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE ENFERMEDADES PODALES EN BOVINOS LECHEROS

Vázquez-Flores, S, Lucio Roriguez, C

EBI Tecnológico de Monterrey Campus Querétaro, Querétaro, Qro.

RESUMEN

El diagnóstico clínico de problemas locomotores en bovinos de leche debe realizarse antes de observar claudicación favoreciendo en todo momento el bienestar animal. La intención de este proyecto es utilizar termografía en la sala de ordeña para la detección temprana de lesiones en los miembros y permitir un tratamiento oportuno. Se mapeó la suela en 14 zonas (Sp1-Sp14) caracterizando las diferentes áreas vulnerables a daño podal. Se captaron las imágenes de los miembros posteriores de 37 vacas lecheras con más de 150 días en leche por medio de la cámara termográfica FLIR-E4. Se correlacionaron las imágenes con diagnóstico clínico posteriormente ser analizadas por la temperatura que irradiaban mediante el software del sistema, generándose un mapeo termográfico de la suela. Para el análisis de la pezuña posterior izquierda se identificó que el punto Sp14, con una media de 29.5 °C, correlacionándose con la presencia de úlcera (p <0.05). En la pezuña posterior derecha se identificaron los puntos Sp3, correspondiente a la unión abaxial (temperatura media de 22.9 °C) con presencia de ulcera (p <0.05); el punto Sp6 correspondiente al talón (temperatura media de 21.2°C) en presencia de ulcera (p <0.05); y el punto Sp14 con una temperatura de 18.8 °C, correlacionándose con la presencia de úlcera (p <0.05). Se estratificó por longevidad de las vacas, donde en la lactancia 2 se encontraron los mayores locomotores. Para una detección temprana de problemas locomotores se pueden usar los puntos Sp6 y Sp14 que corresponden a la parte posterior de los miembros caudales determinando que temperaturas iguales o superiores a 21.2°C indican presencia de úlcera. Estas imágenes termográficas permiten un diagnóstico temprano mientras la vaca lechera es ordeñada y así tomar medidas preventivas oportunas.

INTRODUCCIÓN

La evaluación clínica o recorte de pezuñas implica métodos restrictivos y varias horas manteniendo a las vacas sin agua o alimentación mientras esperan su turno para pasar al potro hidráulico. Este sistema es traumático para vacas de gran volúmen, particularmente aquellas con condiciones corporales superiores o iguales a 3.5 y aquellas en estado de gestación avanzado. El bienestar animal de las vacas es de suma importancia en todos los aspectos, uno de éstos es el cuidado adecuado de la pezuña con la menor manipulación para ellas (Amstel, S., y Shearer, J., 2008).

El sistema diagnóstico debe ser encaminado a la prevención, es por eso que la intención de este proyecto es utilizar termografía en la sala de ordeña para detección temprana de lesiones en los miembros y permitir un tratamiento oportuno. Dado que los problemas en los miembos locomotores son frecuentes en hatos lecheros, el impacto mayor está en las pérdidas de producción láctea e ineficiencia reproductiva. Si el problema está relacionado a cambios metabólicos, la disminución de grasa en la leche es notoria.

TEORÍA

Las lesiones podales más frecuentes están caracerizadas en la Tabla 1, en donde se describen condicines nutricionales, situaciones que alteran a la vaca generándole estrés, problemas con las instalaciones , particularmente pisos en mal estado y situaciones relacionadas con el recorte de pezuñas que realiza el personal.

Tabla 1. Principales padecimientos podales.

Condición	Descripción	Factores de riesgo	Imagen
Laminitis	Inflamación de la lámina, existe una predisposición durante la primera lactación y en los primeros 30 días de la lactación.	Estrés Dietas inadecuadas Áreas húmedas y sucias. Manejo e instalaciones inadecuadas.	
Úlceras	Cuando se expone el corion debido a una suela delgada o una ruptura en la epidermis se presentan ulceras. Éstas pueden aparecer en la suela, punta o tacón.	Hemorragias en la suela Laminitis Línea blanca Recorte retrasado Guijarros	
Línea blanca	Cuando la capa que conecta la pared y la suela se separa, diversas partículas pueden entrar e infectar dicha región.	Dietas inadecuadas. Acidosis ruminal Laminitis Estrés Suelos húmedos Instalaciones inadecuadas Dedo largo	
Dermatitis Interdigital	El espacio interdigital sufre un proceso inflamatorio.	Instalaciones inadecuadas. Recorte retrasado	
Dermatitis frontal	La piel localizada arriba de la banda coronaria presenta irritación e inflamación.	Pisos sucios Exceso de humedad	
Dermatitis digital	La piel localizada en la parte posterior de la almohadilla digital.	Humedad Temperatura del piso Pisos sucios Tipo de piso Mal recorte en la parte frontal de la pezuña	41

Una forma de acercamiento clìnico (Tabla 2) es la clasificación de las suela por zonas, lo que permite identificar las áreas con las lesiones más frecuentes y correlacionarlas con el origen del problema (basado en Shearer J *et al.*, 2011; Alsaaod, M. *et al.*, 2014)).

Código del área	Eje medio	Suela
Sp1	Lateral	Línea blanca parte interdigital
Sp2	Lateral	Línea blanca
Sp3	Lateral	Unión abaxial
Sp4	Lateral	Unión suela-talón
Sp5	Lateral	Punta suela
Sp6	Lateral	Talón
Sp7	Lateral	Espacio interdigital
Sp8	Lateral	Hendidura Interdigital plantar
Sp9	Medio	Línea blanca parte interdigital
Sp10	Medio	Línea blanca
Sp11	Medio	Unión abaxial
Sp12	Medio	Unión suela-talón
Sp13	Medio	Punta suela
Sp14	Medio	Talón

Tabla 2. Mapeo del análisis termográfico por áreas de la suela de la pezuña del bovino.

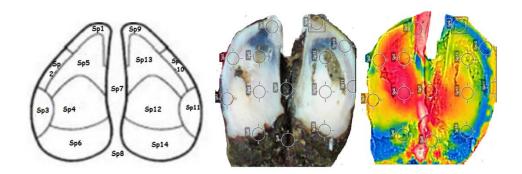


Imagen 1. Correlación de las áreas de la suela de la pezuña del bovino con imágenes termográficas (basado en Shearer J *et al.*, 2011)

OBJETIVO

El objetivo del estudio fue la detección de cambios de temperatura en los miembros posteriores de las vacas mediante la captura de imágenes termográficas de la suela para la identificación de lesiones.

PARTE EXPERIMENTAL.

El estudio se llevó a cabo en un establo lechero situado en Querétaro, México; el cual cuenta con 1100 vacas en producción de la raza Holstein-Friesian. Durante 2016 se registró un promedio de 33.5 kg de leche por lactación; las vacas ingresan a la sala de ordeña tres veces al día y se mantienen paradas una hora en cada ordeña. Las instalaciones están conformadas por corrales abiertos con camas profundas de arena, la construcción cuenta con techos altos y ventilación; los animales caminan en pasillos de concreto y asoleaderos de tierra para recibir la luz del sol. En estudios anteriores no se detectó estrés calórico en este establo. Stockes et al, 2012 utilizaron un sistema de infrarrojo en el área de la suela de la pezuña para la detección de dermatitis digital utilizando como temperatura límite 27°C y de esta forma validaron el sistema.

Se obtuvieron y analizaron imágenes de las patas posteriores de 37 vacas, las cuales se encontraban después de los 150 días en leche (DEL) y vacas gestantes que fueron revisadas durante su recorte trianual. Las imágenes termográficas se tomaron con una cámara termográfica FLIR-E4 y posteriormente se analizaron con FLIR software, permitiendo la detección de temperaturas en puntos específicos; por lo tanto se realizó un mapeo en las 14 zonas (FLIR Systems, Inc.). El software permite al usuario crear un reporte personalizado, tomando en cuenta todas las áreas en un análisis que únicamente lleva unos segundos realizarlo. Todas las imágenes fueron tomadas durante la misma sesión para evitar interferencia climática y la temperatura ambiental más alta fue de 23°C. Las imágenes de pezuñas sucias y recortadas fueron virtualmente igual. La producción diaria de leche y el contenido de grasa en leche registrados en Noviembre de 2016 a Enero de 2017 fueron analizados con el sistema Afilab de Afimilk, el cual se calibra todos los viernes. Una comparación entre el diagnóstico clínico de cada área y las temperaturas obtenidas fue elaborado con el software estadístico JMP versión 11.1 (SAS Institute Inc.), usando las pruebas Tukey y Wilcoxon.

RESULTADOS

El análisis de la pezuña posterior izquierda identifico el código Sp14 (talón) con una temperatura promedio de 29.5°C altamente correlacionada con la presencia de úlcera de suela (valor P<0.05). En la pezuña posterior derecha tres áreas se identificaron con una diferencia significativa, la primera Sp3 (unión abaxial) con un promedio de temperatura de 22.9°C y presencia de ulcera de suela (valor P<0.05); la zona de talón medio Sp14 y lateral Sp6 fueron analizados, mostrando una temperatura promedio de 21.2°C y 18.8°C relacionados con ulcera de suela (valor P<0.05). Todas las vacas presentaron problemas podales desde una dermatitis ligera en ambas extremidades donde el 49% de los casos fueron de la pezuña izquierda; seguida de dermatitis en la pezuña posterior izquierda (14.5%) y 7.3% ulcera de suela. 7.3% de las pezuñas mostraron blandura en la pezuña posterior izquierda y 5.5% en la pezuña posterior derecha, medidas por la misma persona.

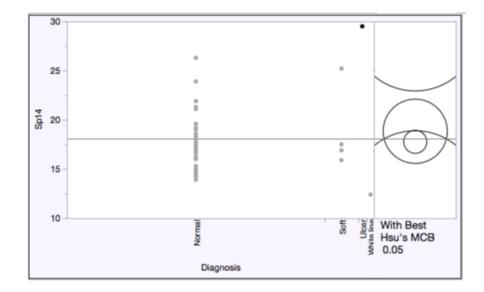


Gráfico 1. Punto Sp14 que corresponde al talón y diagnóstico de úlcera en el miembro podal izquierdo (valor P = 0.0005).

El análisis de leche indica un promedio de 31.8 L en Noviembre de 2016, 29.6 L en Diciembre y 34.3 L en Enero, éste último con 21.7 a 48.6 L y contenido de grasa de 3.3 a 4.2 g. El grupo con mayor producción fue el de cuarta lactación sin problemas podales. Vacas de segunda y tercera lactación mostraron producción media de leche menor al grupo promedio.

		Producción de leche	Grasa Diciembre	Producción de	Grasa Enero	Producción de leche
# Lactación	Grasa Noviembre 2016	Nov 16	2016	leche Dic 16	2017	Enero 17
1	3.99 ± 0.13	34.11 ± 2.21	4.05 ± 0.13	32.75 ± 1.75	4.15 ± 0.14	29.22 ± 2.25
2	3.95 ± 0.09	31.18 ± 2.26	4.08 ± 0.11	25.46 ± 1.91	4.21 ± 0.12	21.70 ± 2.17
3	4.21 ± 0.17	29.98 ± 2.60	4.16 ± 0.17	27.16 ± 2.44	4.13 ± 0.17	21.92 ± 6.93
	3.94 ± 0.19	39.71 ± 5.68	3.78 ± 0,20	38.91 ± 8.64	3.54 ± 0.09	48.62 ± 1.27

4.12 ± 0.11

 4 ± 07

32.95 ± 4.51

23.9 ± 2.7

4.22 ± 0.16

 4.8 ± 0

29.52 ± 6.03

 20.5 ± 0

33.87 ± 7.50

24.3 ± 1.97

4.17 ± 0.12

 3.95 ± 0.65

Tabla 3. Producción de leche en relación a lactación y periodo de estudio.

Temperaturas mayores de 21.2°C hasta 29.5°C en el talón indican la presencia de ulcera de suela. Áreas Sp6 y Sp14 son fáciles de alcanzar durante la ordeña sin causar estrés en las vacas, además la termografía infrarroja es un sistema no invasivo que sirve para identificar elevaciones de temperaturas en puntos específicas y tomar las medidas adecuadas (Alsaaod et al; 2014). Al tomar una imagen esta técnica permite identificar dermatitis debido al cambio de color e inflamación del talón. El siguiente paso del estudio es incrementar el número de vacas analizadas en la sala de ordeña durante los días de recorte y seguir validando el sistema. Para el bienestar animal es necesario buscar formas menos invasivas de diagnóstico y métodos rápidos, sustituyendo una revisión completa en el potro hidráulico por el análisis de temperaturas elevadas en zonas específicas (Wood et al., 2015).

CONCLUSIONES

Para el bienestar animal es necesario buscar formas menos invasivas de diagnóstico y métodos rápidos, sustituyendo una revisión completa en el potro hidráulico por el análisis de temperaturas elevadas en zonas específicas.

Temperaturas mayores de 21.2°C hasta 29.5°C en el talón indican la presencia de ulcera de suela. Áreas Sp6 y Sp14 son fáciles de alcanzar durante la ordeña sin causar estrés en las vacas, además la termografía infrarroja es un sistema no invasivo que sirve para identificar elevaciones de temperaturas en puntos específicas y tomar las medidas adecuadas.

Al tomar una imagen esta técnica permite identificar dermatitis debido al cambio de color e inflamación del talón. El siguiente paso del estudio es incrementar el número de vacas analizadas en la sala de ordeña durante los días de recorte y seguir validando el sistema.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Alsaaod, M., Syring, C., Dietrich, J., Doherr, M. G., Gujan, T., & Steiner, A. (2014). A field trial of infrared thermography as a non-invasive diagnostic tool for early detection of digital dermatitis in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 199(2), 281-285.
- 2. Hulsen, J. (2012). Hoof Signals. Cow Signals. Bayer HealthCare.
- 3. Rodríguez, A. (2014). Uso de Termografía infrarroja y biomarcadores sanguíneos para la evaluación y dolor en vacas con cojeras. [tesis]. Chile: Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Agrarias.
- 4. Shearer J, Amstel S. Lameness in Dairy Cattle. (2011). En: Risco A, Meléndez P, editores. Dairy Production Medicine. UK: WILEY-BLACKWELL. p 233-251.
- 5. Wood, S., Lin, Y., Knowles, T. G., & Main, D. C. (2015). Infrared thermometry for lesion monitoring in cattle lameness. *Vet. Rec*, *176*, 308-311.

DINÁMICA DEL INICIO DE LA SEGMENTACIÓN EN EMBRIONES CLONES DE OVINO DOMÉSTICO

José Roberto Vazquez Avendaño, Sarahí Hernández Martinez, Demetrio Ambriz García, María del Carmen Navarro Maldonado

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Correo electrónico: robertmizer@gmail.com

RESUMEN

El comienzo y patrón de la segmentación en embriones de mamíferos está bien caracterizado, sin embargo, se sabe poco de la dinámica de la segmentación en embriones de ovino doméstico obtenidos por transferencia nuclear de células somáticas. Por esta razón el objetivo del presente trabajo fue determinar el momento del inicio de la segmentación en embriones clones de ovino doméstico (*Ovis aries*) y la dinámica de desarrollo temprano. Se generaron 117 embriones clones y

45 embriones partenogenéticos como grupo control. A las 13 horas postactivación, 101 embriones clones de *O. aries* segmentaron (13.7%) vs. 35 embriones partenogenéticos (22.2%). Los estadios de segmentación encontrados a este tiempo en embriones clones fueron: 2-3 blastómeros (6.8%), 4-5 blastómeros (2.6%), 6 blastómeros (1.7%) y embriones fragmentados (2.6%). Mientras que para los embriones partenogenéticos, a las 13h postactivación se encontraron embriones de 2-3 blastómeros (22.2%). A las 24 horas se observó la división de 109 (93.1%) y 39 (86.7%) embriones clones y partenogenéticos, respectivamente. A este tiempo los embriones clones alcanzaron estadios de 2-3 (24.8%), 4-5 (32.4%), 6-7 (14.5%), 8-10 (6%) células y fragmentados (16.2%). Para el caso de los embriones partenogenéticos se desarrollaron en etapas de 2-3 (68.8%), 4-5 (32.4%) células y fragmentados (4.4%). Se concluye que la mayoría de los embriones iniciaron el proceso de segmentación entre las 12 y 24 horas después de inducir la activación en ambos grupos y el patrón de segmentación de los embriones clones fue más heterogéneo en comparación con los embriones partenogenéticos.

INTRODUCCIÓN

Una vez que el ovocito es fecundado por el espermatozoide, se completa la segunda división meiótica induciendo la extrusión del primer cuerpo polar y la formación de los pronúcleos materno y paterno. Posteriormente estos pronúcleos desaparecen y los cromosomas de ambos progenitores se unen y forman el núcleo embrionario. El embrión de una célula se denomina cigoto, que al dividirse por mitosis genera dos células de la mitad de su tamaño original, conforme avanzan las divisiones se producen células cada vez más pequeñas. A este proceso se le conoce como segmentación y las células resultantes en cada ciclo de división se le denominan blastómeros (Hyttel et al., 2010).

Los embriones de mamíferos se caracterizan por presentar una segmentación tipo rotacional, por lo que la primera división del cigoto será meridional para dar lugar a los dos primeros blastómeros. Estas nuevas células continuarán dividiéndose pero con un patrón diferente al inicial, es decir, un blastómero llevará acabo la segunda división de forma meridional y el otro será de forma ecuatorial. La segmentación de estos embriones es asincrónica desde las primeras divisiones, lo cual significa que no todos los blastómeros dividen al mismo tiempo, por lo cual se pueden

encontrar embriones con blastómeros impares, a diferencia de otras especies donde la segmentación es sincrónica y exponencial (2, 4, 8 y 16 blastómeros) como es el caso de los anfibios (Gilbert, 2010).

Las primeras divisiones del embrión están controladas por proteínas y transcritos maternos que se encuentran acumulados en el citoplasma del ovocito y que pasan a formar directamente parte del cigoto. Estos transcritos y proteínas se van a encargar de remodelar la cromatina del espermatozoide para que vuelva a ser activo transcripcionalmente durante el desarrollo embrionario (Hyttel et al., 2010). Sin embargo, en la técnica de Transferencia Nuclear de Células Somáticas (TNCS) se ha demostrado que el potencial de estos componentes celulares va más allá, al poder remodelar la cromatina de una célula somática y reprogramarla a un estado totipotencial. Todo esto, con la finalidad de producir un embrión que te nga la capacidad de desarrollar a un individuo fenotípicamente similar a otro del cual obtuvo la célula somática (Eilertsen et al., 2007).

Por medio de la TNCS se han obtenido animales clones de diferentes especies domésticas de alto valor genético y especies silvestres en peligro de extinción con la finalidad de conservarlas (Meissner y Jaenisch, 2006). Sin embargo, hasta la fecha la eficiencia de la clonación de mamíferos por esta técnica continua siendo baja (<6%) debido a diferentes factores, entre los que se encuentra una inadecuada o incompleta reprogramación del núcleo somático que pueden detectarse desde etapas tempranas del desarrollo embrionario (Rodriguez-Osorio *et al.*, 2012).

En embriones producidos por Fecundación *in vitro* (FIV) se ha reportado que aquellos embriones que inician con una segmentación temprana tiene mayor capacidad de alcanzar la etapa de blastocisto que aquellos embriones que iniciaron una segmentación tardía (Lechniak *et al.*, 2008). En clonación existen pocos trabajos que investiguen la relación entre la segmentación temprana del embrión y su desarrollo a blastocisto, aunado a esto, en estos trabajo no se considera la dinámica particular que siguen los embriones clonados durante las primeras divisiones celulares (Isom *et al.*, 2011; Kaith *et al.*, 2015). Por lo que el objetivo del presente trabajo es determinar el inicio y la dinámica de la segmentación en los embriones clones de *Ovis aries* y embriones partenogenéticos.

PARTE EXPERIMENTAL

A menos que se diga lo contrario todas las incubaciones se realizaron a 38 °C, 5% de CO₂ y humedad a saturación.

Deriva y cultivo de células somáticas

Se derivaron fibroblastos a partir de una biopsia de piel de un nonato hembra de 5 meses de ovino doméstico (*Ovis aries*) que se obtuvo de un rastro local del Estado de México. Los fibroblastos se cultivaron en una caja de Petri de 35 mm con 3 mL de DMEM-S (Dubelcco's Modified Eagle Medium- Suplementado con 2% de antibióticos-antimicóticos, 2.6% de bicarbonato de sodio y 10% de suero fetal bovino) y se incubaron durante 7 días. Cuando las células alcanzaron a cubrir toda la base de la caja de cultivo (confluencia celular) se realizó un pasaje celular, para lo cual se retiró el DMEM-S de la caja de cultivo y se realizaron dos lavados con DPBS (Dubelcco's Phosphate Buffered Saline) sin Ca⁺² ni Mg⁺² suplementado con antibiótico y antimicótico En seguida se agregaron 700 µL de tripsina-verseno (0.05%, en DPBS) y se incubó la caja durante 5 min. Cuando los fibroblastos se desprendieron de la base de la caja de cultivo, la acción de la tripsina se inactivó adicionando 2 mL de DMEM-S. La solución en donde se encontraban los fibroblastos se recuperó y centrifugó a 150 x g durante 4 min. El sobrenadante se deshecho y la población celular se dividió en dos cajas de Petri de 35 mm y se continuó con su cultivo hasta alcanzar el 5° pasaje celular (Navarro *et al.*, 2015).

Aspiración y maduración in vitro de ovocitos

Los ovarios se obtuvieron de borregas recién sacrificadas de un rastro del Estado de México. Los cuales fueron transportados en solución salina (0.9% NaCl y 10% de Antibióticos-Antimicóticos) a 30 °C en un tiempo no mayor a una hora. En el laboratorio los ovarios fueron lavados

isotérmicamente en solución salina. Siguiendo la metodología de Robledo-Verduzco *et al.* (2009), la obtención de los complejos ovocito-cúmulo (COC) se realizó mediante la aspiración de folículos de entre 2 a 8 mm de diámetro, con una jeringa de 10 mL de capacidad y una aguja hipodérmica de calibre 20 mm, el medio de aspiración empleado fue TCM-199 (Tissue Culture Medium) con Hepes, suplementado con 100 UI/ml de heparina. El líquido folicular obtenido se colocó en una caja de Petri de 55 mm y se seleccionaron los ovocitos con mejores características morfológicas (ovocitos con al menos tres capas de células de la granulosa, con citoplasma íntegro de color homogéneo y sin granulación).

Los ovocitos seleccionados fueron lavados en medio de maduración *in vitro* (MIV) (83% de TCM-199, 1% de factor de crecimiento epidermal, 5 μ g/mL de FSH, 5 UI/mL de hCG, 15% de suero fetal bovino, 65 μ L/100x de antibac-antifun, 3.05 mM de glucosa, 0.908 mM de ácido pirúvico, 0.553 mM de cisteína y 1 mg/mL de polivinil alcohol). En una caja de cuatro pozos (Nunc) con 400 μ L de medio MIV y cubiertos con aceite mineral, se colocaron grupos de 50 COC por cada celda y se incubaron de 20 a 24 horas.

Preparación de citoplastos

Para la clonación de embriones se siguió la técnica descrita por Vajta *et al.* (2001). Una vez completado el tiempo de MIV, los COC fueron denudados de las células de la granulosa con 500 µL de hialuronidasa (0.5 mg/mL en TCM-199), para ello fueron resuspendidos varias veces con ayuda de una micropipeta. Posteriormente se seleccionaron los ovocitos que presentaron extrusión del 1^{er} cuerpo polar y que indica que se encuentran en metafase II (MII) de la meiosis. Éstos ovocitos se incubaron en una solución de demecolcina (0.5 µg/ mL) durante una hora. Posteriormente los ovocitos se colocaron en una solución de pronasa (2 mg/mL de pronasa en T10, es decir, en TCM-199 suplementado con 10% de suero fetal bovino) hasta que la zona pelúcida se digirió por completo. Los ovocitos libres de zona pelúcida se colocaron en T20 (TCM-199 suplementado con 20% de suero fetal bovino) para inactivar la acción de la pronasa. Los ovocitos libres de zona pelúcida se colocaron en T10 y se prosiguió con su enucleación. Con ayuda de una micronavaja, se retiró la porción de citoplasma que contenía la placa metafásica, la cual formaba una protuberancia a nivel de membrana plasmática junto al 1^{er} cuerpo polar. Los ovocitos enucleados (citoplastos) se colectaron en medio T20.

Formación y fusión de tripletes

Los citoplastos se tomaron uno por uno y se depositaron en una solución de fitohemaglutinina (5 mg/mL en TCM-199 con Hepes) por 4 seg, enseguida se transfirieron en medio T2 con una baja densidad de fibroblastos (carioplastos) y se formó un triplete, colocando un carioplasto entre dos citoplastos. Los tripletes formados se equilibraron en medio de fusión (0.3 M de d-mannitol y 1 mg /mL de polivinil alcohol) y se transfirieron a una cámara de fusión (BTX microslide, 0.5 mm de apertura, modelo 450). Se dejó pasar una corriente de 4 V de corriente alterna (AC) para alinear los tripletes a uno de los electrodos, después se incrementó la AC a 9 V y se aplicó un solo pulso de 100 V de corriente directa por 9 µseg. Los tripletes se depositaron en T20 y el procedimiento se repitió con los citoplastos y carioplastos restantes. Una vez que los tripletes se fusionaron y formaron una sola célula, se incubaron por 3 horas para llevar a cabo la reprogramación nuclear en medio de desarrollo embrionario (Cleavage, Cook Medical).

Grupo control:

El grupo control fueron ovocitos madurados in vitro, en condición de MII, estos fueron denudados de las células de la granulosa y se les digirió la zona pelúcida. Posteriormente se reservaron para el proceso de la activación.

Activación

Las células obtenidas por electrofusión y los ovocitos en MII (grupo control) fueron activados, para lo cual se colocaron en una solución a base de T2 con 8 μ M ionóforo de Ca²+ por 5 minutos, posteriomente se lavaron 3 veces en T20 y se transfirieron de manera individual en microgotas de medio Cleavage (suplementado con 5% de SFB) con 2 mM de 6-dimetilaminopurina (6-DMAP), incubándolos durante 4 horas. Al término, se lavaron tres veces en medio Cleavage con 5% de SFB.

Cultivo embrionario

Las células obtenidas por electrofusión y los ovocitos activados partenogenéticamente se cultivaron en el sistema WOW o de micropozos, que consistió en hacer micropozos en cada celda de una caja de cuatro pozos. A cada celda se le agregaron 200 µL de medio Cleavage y fueron cubiertas con aceite mineral. Se dejó equilibrar el medio por 4 horas. Finalmente las células obtenidas por electrofusión y los ovocitos activados partenogenéticamente se transfirieron cuidadosamente a cada uno de estos micropozos y se dejaron en incubación por 7 días, con revisiones cada 12 y 24 Horas.

Análisis Estadístico

La comparación entre los diferentes grupos de embriones clonados y partenogenéticos en relación a la etapa de desarrollo embrionario observadas a las 13 y 24 horas de cultivo *in vitro*, se realizó aplicando un análisis de chi-cuadrada utilizando el paquete estadístico NCSS versión 07.1.21. Las diferencias fueron consideradas significativas a una P<0.05.

RESULTADOS

Se realizaron 6 experimentos donde se produjeron 45 embriones partenogenéticos y 117 embriones clones de *Ovis* aries. El desarrollo de los embriones clonados y partenogenéticos se evaluó a las 13 horas de cultivo *in vitro*. Los embriones se clasificaron en grupos de 1 célula, 2 a 3 células, 4 a 5 células, 6 células y fragmentados (Tabla 1).

Tabla 1. Desarrollo de embriones clones y partenogenéticos a las 13 horas de cultivo in vitro.

		Etapa de desarrollo embrionario						
Grupo	N	1 célula n (%)	2-3 células n (%)	4-5 células n (%)	6 células n (%)	Fragmentados n (%)		
Partenogenético	45	35 (77.8) ^a	10 (22.2) ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a		
Clones	117	101 (86.3) ^a	8 (6.8) ^a	3 (2.6) ^a	2 (1.7) ^a	3 (2.6) ^a		

Literales diferentes en la misma columna son estadísticamente significativos (Chi-cuadrada, P<0.05).

A las 13 horas de cultivo, en ambos grupos la mayor parte de los embriones no dividieron, 35 (77.8%) embriones partenogenéticos y 101 (86.3%) embriones clonados se encontraban en etapa de 1 célula. En el grupo partenogenético, 10 (22.2%) embriones dividieron alcanzando las etapas de 2 a 3 células, mientras que en el grupo de clones 8 (6.8%) embriones dividieron a las etapas de 2 a 3 células, 3 (2.6%) embriones alcanzaron las etapas de 4 a 5 células, 2 (1.7%) embriones alcanzaron la etapa de 6 células y 3 embriones presentaron fragmentación (2.6%) (Figura 1).

El mayor porcentaje de embriones no divididos se presentó en el grupo de clones (86.3%) con respeto al grupo partenogenético (77.8%). El grupo de partenogenéticos tuvo un mayor porcentaje de embriones en etapa de 1 a 3 células (22.2%) con respecto al grupo de clones (6.8%). No obstante, las diferencias no fueron estadísticamente significativas (P>0.05).

A las 24 horas de cultivo *in vitro*, se evaluó nuevamente el desarrollo de los embriones clones y partenogenéticos, y se clasificaron en grupos de 1 célula, 2 a 3 células, 4 a 5 células, 6 a 7 células, 8 a 10 células y fragmentados (Tabla 2).

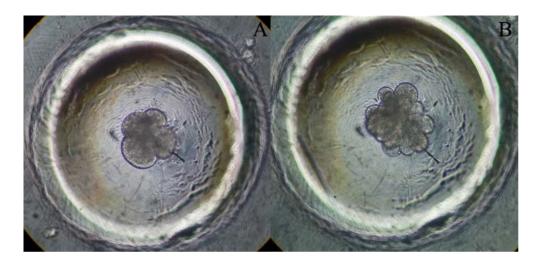


Figura 1. Embriones clones de *Ovis aries* en sistema WOW. A) Embrión de cuatro células a las 13 horas de cultivo *in vitro*. B) Embrión fragmentado a las 24 horas de cultivo. Aumento a 40x.

Tabla 2. Desarrollo de embriones clones y partenogenéticos a las 24 horas de cultivo in vitro.

	Etapa de desarrollo embrionario									
Grupo	n	1 célula n (%)	2-3 células n (%)	4-5 células n (%)	6-7 células n (%)	8-10 células n (%)	Fragmentados n (%)			
Partenogenético	45	6 (13.3) ^a	31 (68.9) ^a	6 (13.3) ^a	0 ^a	0 ^a	2 (4.4) ^a			
Clones	117	7 (6) ^b	29 (24.8) ^b	38 (32.5) ^b	17 (14.5) ^b	7 (6) ^b	19 (16.2) ^b			

Literales diferentes en la misma columna son estadísticamente significativos (Chi-cuadrada, P<0.05).

En el grupo de embriones clones, 29 (24.8%) embriones dividieron en 2 a 3 células, 38 (32.5%) embriones dividieron en 4 a 5 células, 17 (14.5%) embriones dividieron en 6 a 7 células, 7 (6%) embriones dividieron en 8 a 10 células y 19 (16.2%) embriones presentaron fragmentación del citoplasma (Figura 1). En la segunda evaluación, solamente 6 (13.3%) embriones partenogenéticos y 7 (6%) embriones clones se encontraban aun en etapa de 1 célula. En el grupo de embriones partenogenéticos, 31 (68.9%) embriones dividieron en 2 a 3 células, 6 (13.3%) embriones dividieron en 4 a 5 células y 2 (4.4%) embriones presentaron fragmentación citoplasmática (Figura 2).

A las 24 horas de cultivo, los embriones clonados alcanzaron estadios de desarrollo más avanzados que los embriones partenogenéticos, al comparar el porcentaje de embriones divididos en etapa de 4 a 5 células (32.5 vs 13.3%), 6 a 7 células (14.5 vs 0%), 8 a 10 células (6 vs 0%) y embriones fragmentados (16.2 vs 4.4%) entre los dos grupos. Se obtuvo un mayor porcentaje de estas etapas en el grupo de clones con respeto al grupo partenogenético, estas diferencias fueron estadísticamente significativas (P<0.05).

En la figura 3 se puede observar el comportamiento del desarrollo de los embriones clonados a las 13 y 24 horas de cultivo *in vitro*. En la primera evaluación se observa un alto porcentaje de embriones no segmentados (86.3%), mientras que en la segunda evaluación el mayor porcentaje de embriones clonados se encuentra en las etapas de 4 a 5 células (32.4%) y 2 a 3 células (24.8%).

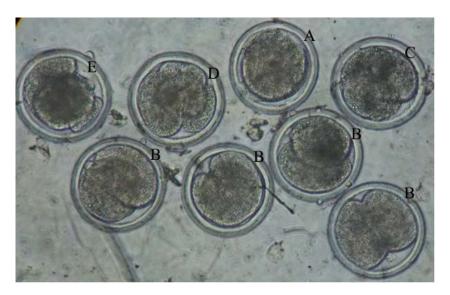


Figura 2. Embriones partenogenéticos en diferentes etapas del desarrollo a las 24 horas de cultivo *in vitro*. A) 1 célula, B) 2 células, C) 3 células, D) 4 células, E) Fragmentado. Aumento a 40x.

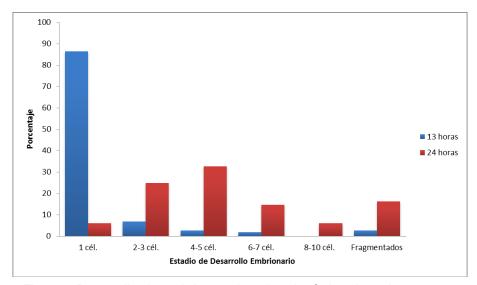


Figura 3.Desarrollo de embriones clonados de *Ovis aries* a las 13 y 24 horas de cultivo *in vitro*.

En la figura 4 se puede observar el comportamiento del desarrollo de los embriones partenogenéticos a las 13 y 14 horas de cultivo *in vitro*. En la primera evaluación hay un alto porcentaje de embriones no segmentados (77.8%) mientras que en la segunda evaluación el mayor porcentaje de embriones partenogenéticos se encuentra en etapa de 2 a 3 células (68.8%).

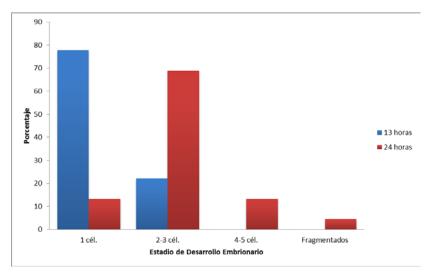


Figura 4. Desarrollo de embriones partenigenéticos a las 13 y 24 horas de cultivo *in vitro*.

DISCUSIÓN

En el grupo de embriones clonados se observó que el 93.1% de éstos dividió antes de las 24 horas, lo cual difiere de los reportado en otras especies, por ejemplo, Kaith *et al.*, (2015) produjeron embriones clonados de búfalo y reportaron 54% de embriones segmentados a las 24 horas de cultivo *in vitro*. Por otra parte, en embriones clonados de cerdo se reporta un 43.7% (Isom *et al.*, 2011) y 72.3% (Jeon *et al.*, 2011) de embriones segmentados a las 24 horas de cultivo. Estas diferencias se pueden deber a las características particulares de cada especie y el método de clonación empleado (clonación manual o por micromanipuladores).

En el caso de los embriones partenogenéticos, el 86.7% de ellos había iniciado la segmentación antes de las 24 horas de cultivo, lo cual difiere de lo reportado en embriones partenogenéticos de cerdo 31.9% (Isom *et al.*, 2011). Sin embargo, en el presente estudio al comparar el porcentaje de segmentación entre los embriones clonados de ovino (93.1%) y partenogenéticos (86.7%) antes de las 24 horas de cultivo es muy similar entre ambos grupos, al igual que lo reportado por Isom *et al.* (2011) en embriones clonados de cerdo (43.7%) y partenogenéticos (31.9%). Lo cual indica que las diferencias en el inicio de la segmentación entre los dos estudios se deben a características específicas de cada especie.

Los resultados obtenidos de embriones clones de ovino segmentados (93.1%) antes de las 24 horas, difieren de lo reportado en fertilización *in vitro* de ovocitos de ovejas adultas, donde el 69.2% de los embriones comienza la segmentación antes de las 26 horas cultivo después de la fertilización, mientras que en la fertilización *in vitro* de ovocitos de ovejas prepúberes, el 40.8% de los embriones dividieron a las 26 horas de cultivo (Leoni *et al.*, 2005). Las diferencias en el inicio de la segmentación entre embriones producidos por FIV y clonación se pueden atribuir a los diferentes eventos que ocurren durante el desarrollo embrionario para cada tipo de embrión. En el caso de los embriones producidos por FIV, se lleva a cabo la descondensación del núcleo espermático, la formación de los pronúcleos paterno y materno y finalmente la singamia (Hyttel *et al.*, 2010). Estos eventos no se presentan en los embriones producidos por clonación debido a que se utiliza una célula somática que posee un número diploide de cromosomas y el ADN está asociado a histonas.

En el presente trabajo se observó que el 79.4% de los embriones clonados de *Ovis aries* y el 64.5% de los embriones partenogenéticos iniciaron la segmentación entre las 13 y 24 horas de cultivo *in vitro*, por lo que el desarrollo embrionario de los clones es más acelerado que el de los embriones partenogenéticos. Posiblemente esto se relacioné con los eventos que ocurren una vez que la célula somática se incorpora al citoplasma del ovocito como: la ruptura de la envoltura

nuclear, la condensación prematura de los cromosomas y su disposición por el huso mitótico para iniciar la migración de los cromosomas hacia los polos (Kim *et al.*, 2004).

CONCLUSIONES

El inicio de la segmentación en embriones clones de *Ovis aries* y partenogenéticos ocurre en mayor porcentaje entre las 13 y 24 horas de cultivo *in vitro*. Los embriones clonados presentaron una dinámica de desarrollo más acelerada que los embriones partenogenéticos por lo cual alcanzaron etapas más avanzadas de desarrollo a las 24 horas de cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. K. J. Eilertsen, R. A. Power, L. L. Harkins, P. Misica. Targeting cellular memory to reprogram the epigenome, restore potential, and improve somatic cell nuclear transfer, Animal Reproduction Science, Vol. 98, No. 1-2, 2007, pp 129-146.
- 2. S. F. Gilbert. Developmental Biology, Sinauer Associated, Massachusetts, 2010, pp. 300-301.
- 3. P. Hyttel, F. Sinowatz, M. Vejlsted. Essentials of Domestic Animal Embryology, Saunders Elsevier, China, 2010, pp.13-24.
- C. S. Isom, R. F. Li, K. M. Whitworth, R. S. Prather. Timing of first embryonic cleavage is a
 positive indicator of the in vitro developmental potential of porcine embryos derived from in
 vitro fertilization, somatic cell nuclear transfer and parthenogenesis, *Molecular Reproduction & Development*, Vol. 79, No. 3, 2011, pp197-207.
- 5. Y. Jeon, S. H. Jeong, D. Biswas, E. M. Jung, E. B. Jeung, E. S. Lee, S. H. Hyun. Clevage pattern and surviving expression in porcine embryos by somatic cell nuclear transfer, *Theriogenology*, vol. 76, No. 7, 2011, pp 1187-1196.
- 6. S. Kaith, M. Saini, A, K. Raja, A. Sahare, B. Jyotsana, P. Madheshiya, P. Palta, M. S. Chauhan, R. S. Manik, S. K. Sigla. Early cleavage of Handmade cloned Buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos is an indicator of their developmental competence and quality, *Reproduction in Domestic Animals*, Vol. 50, No. 2, 2015, pp 214-220.
- 7. N. H. Kim, X. S. Cui, Y. M. Han. Epigenetic reprogramming in cloned embryos, *IEEE* engineering in medicine and biology magazine: the quarterly magazine of the Engineering in Medicne & Biology Society, Vol. 23, No. 2, 2004, pp 47-51.
- 8. D. Lechniak, E. Pers-Kamczyc, P. Pawlak. Timing of the first zygotic cleavage as a marker of developmental potential of mammalian embryos, *Reproductive Biology*, Vol. 8, No. 1, 2008, pp 23-42.
- 9. G. G. Leoni, S. Succu, F. Berlinguer, I. Rosati, D. Bebbere, L. Bogliolo, S. Ledda, S. Naita. Delay on the *in vitro* kinetic development of prepubertal ovine embryos, *Animal Reproduction Science*, vol. 92, No. 3-4, 2005, pp 373-383.
- 10. A. Meissner, R. Jaenisch. Mammalian nuclear transfer, Developmental Dynamics, Vol. 235, No. 9, 2006, pp 2460-2469.
- 11. M. Navarro-Maldonado, S. Hérnandez-Martínez, J. Vázquez-Avendaño, J. Martínez-Ibarra, N. Zavala-Vega, B. Vargas-Miranda, A. Rivera-Rebolledo, D. Ambríz-García. Deriva de células epiteliales de tejido de piel descongelado de Ovis canadensis mexicana para la formación de un banco de germoplasma, Acta Zoológica Mexicana, Vol. 31 No. 2, 2015, pp 275-282.
- J. M. Robledo-Verduzco, J. Herrera-Camacho, M. Cajero-Juárez, M. Navarro-Maldonado, A. García-Valladares. Evaluación de dos medios de maduración *in vitro* para la producción de embriones ovinos, *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, Vol. 10, No. 2009, 2009 pp 95-99.
- 13. G. Vajta, T. Peura, P. Holm, A. Páldi, T. Greve, A. O. Trounson, H. Callesen. New method for culture of zona-included or zona-free embryos: The well of the well (WOW) system, *Molecular Reproduction and Development*, Vol. 55, No. 3, 2000, pp 256-264.

MANEJO DE LAS EXCRETAS EN LA INDUSTRIA LECHERA A PEQUEÑA ESCALA

Cordero, Jáuregui, R. I., Orozco, Hernández. J. R., Rodríguez, Carrillo, J. A., Valdivia, Dávila, M. A.

Departamento de Ciencias Pecuarias y Agrícolas, División de Ciencias Agropecuarias, Centro Universitario de los Altos, Universidad de Guadalajara.

RESUMEN

Los pequeños productores de la industria láctea de la región de los altos de Jalisco generan el 60% y 14% de la leche distribuida a nivel estatal y nacional, respectivamente. Lo cual logran con animales con producción 17±2 kg leche/día, peso de 550±30 kg y genera 6±2 kg excretas / día. Generalmente estas (15-18% de material seca) se conservan a cielo abierto previo a su uso como fertilizante, durante lo cual se pierden nutrimentos por lixiviado. Sin embargo, a nivel de la región se desconoce su valor nutrimental, lo que limita su posible uso. El objetivo del presente estudio fue conocer el destino de los nutrimentos residuales de las heces de los rumiantes de lecherías a pequeña escala. Por lo tanto, a muestras de excretas se les determinó; nitrógeno (n), y minerales (O, K, Na, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, y Mn). Las heces contenían (promedio ± desviación estándar); 1.7±0.4% de N, 0.6±0.2% de P, 1.3±0.5% de K, 0.3±0.1% de Na, 0.6 ± 0.1% de Mg, así como 0.9±0.8% de Ca. También se encontraron concentraciones (ppm) de; 457.7 ± 214.5 de Mn, 155.9 ± 72.9 de Zn, 30.1 ± 9.4 de Cu además de 11,745.7 ± 8,586.6 del Fe. Al determinar el pH se encontraron valores de 8 ± 0.7 , y una conductividad eléctrica de 6 ± 2.7 . Por lo tanto, los hallazgos indican que los pequeños productores de leche pueden sustituir los fertilizantes químicos por excretas generadas por sus semovientes o hacer composta con ellas, mostrando que cuenta con un sistema sustentable para su deposición.

INTRODUCCIÓN

El estado de Jalisco es una entidad de importancia en la producción pecuaria a nivel nacional ocupando en el subsector lechero el primer lugar con el 17.3% de la producción (1). Con la región de los Altos la más importante pues aporta aproximadamente 47% de la producción estatal (11), lo que representa cerca del 10% a nivel nacional (1).

El sistema productivo de leche es dominante en la región donde su característica es son de corte familiar y semi-especializado, y atendidas principalmente por los integrantes de la familia, disminuyendo así la mano de obra externa, observándose además que la vivienda del productor, y su familia, está ubicada en el predio. La alimentación de los animales se basa en el aprovechamiento de recursos agrícolas conservados como el ensilado de maíz y esquilmos de cosecha. Las instalaciones productivas son generalmente rústicas y limitadas en tecnología, donde el manejo de los animales y sus desechos es deficiente. Además, la calidad de la leche producida es cuestionable y se comercializa través de intermediarios, centros de acopio, venta líquida a transformadores (queseros) locales, e incluso directamente al consumidor (5, 11, 12).

La problemática ambiental causada por la intensificación de las actividades ha incrementado el número de animales empleados, teniendo la región de los Altos de Jalisco aproximadamente 264,762 bovinos productores de leche, con un peso en promedio 450 kilogramos quienes excretan aproximadamente 1% de este en forma de materia seca (**MS**), lo que representa 1'191,429 kg/día de estiércol, aplicando de 1-5 kg/m² de este insumo como fuente de nitrógeno (**N**) y fósforo (**P**) el cual es aprovechable por los vegetales (10).

Sin embargo, la producción anual (un poco menos de medio millón de toneladas) aunado con la necesidad de espacio para su uso como fertilizante natural (10-50 toneladas de estiércol / hectárea) requiere que parte de este sea almacenad para su posterior uso de estos nutrientes en cultivos. Lo que provoca contaminación del suelo, agua y aire, generando preocupación pública por la calidad y el cuidado del ambiente aledaño (3, 7).

Estudios realizados para estimar la producción de nutrientes, N y P en el estiércol de la ganadería, mostraron que es mayor a lo requerido por las superficie cultivable de 15 municipios. En la región de los Altos de Jalisco el municipio de Tepatitlán de Morelos, Jalisco, mostró que la producción pecuaria genera 3.20% y 6.13% más N y P, de lo que requieren los cultivos (FAO 2002). Por lo que, conocer la composición química del estiércol de bovino y su manejo en las explotaciones lecheras es de suma importancia, ya es punto de partida para hacer recomendaciones sobre su uso como fertilizante orgánico.

PARTE EXPERIMENTAL

El estudio se realizó en 46 explotaciones lecheras con un promedio de 20 a 100 vacas en producción lechera, ubicadas en 10 municipios localizados en la región de los Altos de Jalisco. El criterio de selección fue primordialmente el empleo de <u>mano de obra familiar</u>.



Se diseñó una encuesta de ocho preguntas, para determinar las variables: periodo de recolección, destino, cultivos a los que son utilizados. Además se colectaron seis sub-muestras de estiércol (1 kg) directamente del piso de los corrales y las pilas de acumulo utilizando 5 puntos de toma: superior izquierdo, superior derecho, medio o central, inferior izquierdo, inferior derecho. Posteriormente se mezclaron para obtener una muestra compuesta por establo.

A muestras secas de heces se les determinó: N total (Kjeldhal), e inorgánico (amonio + nitratos) por el método de destilación, con titulación automática, fósforo (método de Olsen en un espectrómetro, colorimétrico) y los minerales; Na, K, Ca, Mg, Fe, Co, Zn y Mn, empleando un espectrofotómetro de absorción atómica. En una dilución estiércol: agua de 1:2, se midió el pH y conductividad eléctrica a dos puntos (4.0 y 7.0) usando un potenciómetro.

RESULTADOS

En el presente estudio, el cuadro uno se muestra el intervalo (días) de limpieza, acumulación del estiércol en los corrales, y uso final del mismo. Esto indica que las instalaciones se mantienen limpias más aun no se ha concientizado lo importante del tiempo que el estiércol pasa en los corrales después de ser excretado, ya que a menor frecuencia de limpieza mayores serán las pérdidas de N, principalmente el amoniacal por volatilización. Además de que en tiempo de lluvias se puede arrastrar parte del estiércol a los cuerpos de agua provocando contaminación.

Un estudio realizado por Moreira y Satter (8) reportaron que la pérdida de N por volatilización bajo distintas frecuencias de limpieza de corrales de vacas en lactación era poco afectada, cuando se incrementaba la frecuencia de limpieza de 2 a 6 veces. También observaron que la temperatura ambiental incrementaba de 40 al 50% del N excretado durante el verano y menos del 20% del excretado durante el invierno puede perderse por volatilización.

Cuadro 1. Intervalo (días) de limpieza de corrales y de acumulación del estiércol en las explotaciones.

Variables	Promedio	DE	Máximo	Mínimo
Intervalo de limpieza de corrales (días)	44.4	71.0	365	1
Tiempo de acumulación del estiércol (días)	170.4	91.9	365	0

En el cuadro siguiente, del total de las explotaciones lechera del estudio, solo el 30% no aplica el estiércol como fertilizante a los cultivos, y el resto sí. En la frecuencia anual, se encontró que 43.5% lo aplica anualmente, el 8.7% bianual, el 6.5% lo realiza 2 a 3 veces, en cambio existen los que emplean este fertilizante mensualmente (4.3%) en más ocasiones (6.5%) al mes.

Uso de estiércol como fertilizante para cultivos en las granjas lecheras.

Frecuencia de aplicación	Granjas	%
No	14	30.4

Aplica;		
1 vez por año	20	43.5
2 vez por año	4	8.7
3 a 4 veces por año	3	6.5
1 vez por mes	2	4.3
Aplica más de una vez por mes	3	6.5
Total	46	100

Solo 28 empresas agropecuarias productoras de leche encuestadas, con diversos cultivos, aplican estiércol (cuadro siguiente, siendo el maíz el principal receptor (62.5%, n=20), seguido por los pastos de agostaderos (15.6%, n=5) y por ultimo otros cultivos (9.4%, n=3). Esto indica que la mayor superficie de siembra en las unidades de producción de leche en la región sur y norte de los Altos de Jalisco, es el cultivo de maíz, con 62.5% de los casos encuestados. En el cuadro se observa que las muestras tenían 33.86% (CV = 54.98%) de MS, su pH promedió 8.01 (máximo de 9.40 y mínimo de 5.66), así como la conductividad eléctrica (**CE**) de 6.07 (máxima 15.10 y mínimo 2.90). Relacionándose la concentración de MS con el almacenamiento y el tiempo que pasa el estiércol en las explotaciones lecheras antes de su uso.

El pH, con promedio 8.01, max. (9.40), min. (5.66), del Pino *et al.* (2), evaluó tres tipo de estiércol pollo, gallina y vaca en este último encontró pH de 7.7. Salazar *et, al.* (13) de 4 muestras de estiércol bovino a diversas profundidades de 0-60 cm encontró pH de 8.09, 8.20, 8.27 y 8.04, también, Salazar *et, al.* (14), analizaron 2 muestras de estiércol con 10% de humedad, sus resultados de pH van desde 7.79 y 7.62. Rojas (10) reporta que un pH superior a 8 genera pérdida de N como NH₃. Además de reducir la disponibilidad de fósforo y todos los micronutrientes, a excepción de molibdeno (9). Haciendo una evaluación de los resultados del presente estudio se encuentra una ligera semejanza con el resultado de los autores Del Pino *et al.* (2).

La CE, fue en promedio 6.07 (C.V.=45%; máximo 15.10 y mínimo 2.90). En cambio los investigadores Salazar *et al.* (14), de su muestreo de estiércol con 10% de humedad encontró valores de 0.68 y 0.63. y a diferentes profundidades 6.87, 7.72, 7.76, y 5.52. Medina (6), revisó resultados de varios autores encontrando para bovino lechero; 1.4 a 29.6 dS m⁻¹ de CE, mientras que sus resultados van desde 1.5 a 16.33. Los resultados en la presente investigación indican que la concentración de sales en el estiércol es amplia y está relacionada con el manejo nutricional.

Cuadro 3. Materia seca, pH y conductividad eléctrica (dS m⁻¹) del estiércol de establos.

Estadístico	MS (%)	рН	C.E. (dS cm ⁻¹)
Media	33.86	8.01	6.07
D.E. (s)	18.62	0.76	2.74

C. V. (%)	54.98	9.54	45.09
Máx.	91.38	9.40	15.10
Mín.	15.46	5.66	2.90

El carbono, oxígeno e hidrógeno son esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas a su vez los macro (N, P, K, S, Ca y Mg) y micro nutrientes (Fe, Cu, Mn, Zn, molibdeno, boro, Cl y Ni). Cuando el suelo carece de estos elementos es necesario aplicar algún producto químico o fertilizante. Por lo tanto, el análisis (base seca) de minerales es de importancia pues permite conocer la concentración de esenciales y la posible dosis de estiércol a aplicar. El siguiente cuadro se muestra las concentraciones y variación de nutrimentos encontrada en heces y en el cuadro 5 las variaciones con respecto a la profundidad de la toma de muestra.

Cuadro 4. Concentración de compuestos nitrogenados, fósforo y potasio en el estiércol.

Estadístico	N total (%)	N inorgánico (mg kg ⁻¹)	P (%)	K (%)
Media (x)	1.77	180.53	0.65	1.32
DE (s)	0.44	377.49	0.26	0.55
CV (%)	24.89	209.11	39.44	41.29
Máximo	2.56	2089.82	1.26	2.98
Mínimo	0.44	16.41	0.29	0.52

Salazar *et al.* (13), realizaron cuatro muestreos de estiércol bovino a diferentes profundidades donde, al cual le determinaron N total, P y K (1.367, 0.355 y 3.323, respectivamente), mostrando la variación de las concentraciones sobre todo en el primero de ellos, la cual disminuía a medida que aumentaba la profundidad del muestro. Valores similares a los encontrados en este estudio. En cambio Figueroa *et al.* (4) con composta y estiércol bovino del mismo establo analizado en tres años seguido encontraron un incremento en la cantidad de N con el año. Observación que es ratificada por Moreira y Satter (8), quienes lo relacionan con el tiempo de almacenamiento.

Pero la concentración de P del actual estudio tiene una similitud con los datos reportados por estos autores. Los resultados del presente estudio muestran que el estiércol de esta región aporta en promedio 17.7 kg ton $^{-1}$ de N y 6.5 kg ton $^{-1}$ de P (igual a 14.9 kg ton $^{-1}$ de P $_2O_5$, que es la forma equivalente a unidades de fertilizante). Una dosis promedio de 15 ton de estiércol / ha- 1 se aplica en la región la que aportaría 265 kg de N (45% disponible durante el primer año de aplicación), y 223 kg ha-1 de P $_2O_5$ (80% disponible durante el primer año). Las cantidades de N y P que aporta el estiércol reducirá pro lo tanto costos de producción de los cultivos y disminuirá el impacto ambiental de la producción de leche.

Los micro-elementos, son importancia para el crecimiento, desarrollo y obtención de rendimientos, de las plantas, cuando hay deficiencias de estos, se convierten en factores limitantes, aunque pudiera haber cantidades óptimas de los otros nutrientes. El cuadro siguiente muestra la concentración de los minerales.

Concentración (%) de Ca, Na y Mg en el estiércol de las explotaciones muestreadas.

Estadístico	Na	Mg	Ca
Media	0.35	0.60	0.91
DE	0.14	0.19	0.83
CV (%)	39.55	31.73	90.56
Máximo	0.68	1.09	3.31
Mínimo	0.19	0.26	0.01

En cambio en el próximo cuadro se presentan los resultados de Ca, Mg, y Na de los autores Salazar *et al.* (13) obtuvieron a través del muestreo de estiércol bovino tomados a diferentes profundidades

٠	Muestras	Prof. (cm)	Ca (%)	Mg (%)	Na (%)
	1	0-15	3.38	0.71	0.97
	2	15-30	3.47	0.76	1.02
	3	30-45	3.41	0.72	1.07
	4	45-60	3.31	0.71	0.98

Salazar et al. (14), en un estudio realizado en la Región de la Lagunera donde muestrearon estiércol de bovino (10%, humedad) obteniendo concentraciones de Na, Mg, y Ca. A su vez Figueroa et, al. (4), analizaron composta y estiércol bovino del mismo establo 3 años seguido, encontraron valores de Ca y Mg similares. El sodio muestró un promedio de 0.35%, comparándose con los resultados de Salazar (14) y por debajo de lo reportado en el 2003 (13). El Mg, muestra un promedio de 0.60%, está estrechamente relacionado con los parámetros de Salazar et al. (13), y con un incremento del doble en los reportado por el mismo autor en el 2009 (14), comparado a Figueroa et al. (4) observaron un porcentaje bajo. Un alto contenido de este nutriente en el suelo no causa toxicidad, sin embardo desequilibrio reduce el crecimiento de la planta (9).

El Ca, muestra un promedio de 0.91%, comparando los resultados de Salazar *et al.* (13, 14), y Figueroa *et al.* (4), encontrándose valores por debajo a lo esperado. En el suelo existe como catión Ca²⁺, con pH > 8.0 se presenta como CaCO₃ y CaSO₄. Desempeña funciones de integridad celular, permeabilidad de la membrana, aumenta la germinación, el crecimiento del polen, activa la mitosis celular, síntesis de proteínas y la trasferencia de carbohidratos; además elimina metales pesados, síntomas por exceso de este nutriente en las plantas son: baja concentración de Mg o K debido a que el Ca interfiere con su absorción (9).

El cuadro siguiente presenta los micronutrientes: Mg, Zn, Cu, Fe, con valores medio de 457.70 ppm, 155.97 ppm, 30.10 ppm, y 11745.70 ppm, respectivamente. El rango óptimo de Mn, es de 200 ppm, es esencial en el proceso de oxidación y reducción, del sistema de transporte de electrones fotosintéticos y la fotolisis que actúa como un puente de ATP del complejo enzimático fosfoquinasa, activando la oxidasa del ácido indolacético. Un exceso causa manchas circulares color café en las hojas de la planta (9).

Concentración de minerales en el estiércol de las explotaciones en estudio.

	Mn (ppm)	Zn (ppm)	Cu (ppm)	Fe (ppm)
Media (x)	457.70	155.97	30.10	11,745.70
DE (S)	214.59	72.98	9.46	8586.65
CV (%)	46.88	46.79	31.41	73.10
Max.	1098.34	409.67	53.36	29994.00
Min.	81.37	78.98	14.19	1190.67

El rango óptimo de Zn, es de 15 a 50 ppm, es esencial en las funciones enzimáticas al igual que el Mn y Mg. De esta manera, el exceso de Zn en las plantas particularmente sensible al Fe se manifiesta en una clorosis (9). Salazar *et al.* (13) realizaron muestreo de estiércol bovino a diferentes profundidades donde, determinando; Mn, Zn, Cu y Fe.

Muestras	Profundidad (cm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)	Cu (ppm)	Fe (ppm)
1	0-15	560	198	45	10,96
2	15-30	590	198	47	11,25
3	30-45	600	200	49	11,2
4	45-60	620	206	53	12,3

El Cu, en las plantas se concentra en las raíces y juega un papel importante en el metabolismo del nitrógeno, el exceso de cobre puede causar toxicidad (9). El Fe, encontrado tiene un incrementó debido a que los suelos de la región de los Altos contiene un exceso de este elemento. Este elemento está presente en catión férrico (Fe3+), y ferroso (Fe2*), esta última es aprovechado por las plantas, el rango optimo es 10 a 10000 ppm, y tiene una interacción con el P, K y N. Comparando los resultados de Salazar *et al.* (13), y los obtenidos fueron por debajo de la media, pero con rangos algo elevados para el desarrollo óptimo de las plantas.

CONCLUSIONES

Como conclusión, todos los parámetro desde limpieza y acumulación del estiércol en los corrales son inadecuados, perdiéndose los nutrientes por medio de volatilización (N) y lixiviación (P, y K), el pH, C.E., son dos factores que lo determinara la humedad y temperatura al igual que los macro y micro nutrientes, la aplicación del estiércol a los cultivos es variable, ya que el exceso de este supera las superficies de suelo para los cultivos. Acumulándose el estiércol, haciendo un mal manejo del estiércol en todas las explotaciones estudiadas por falta de información, recursos, alternativas para mejor esta situación es el uso de compostas, digestores para generar electricidad, o conociendo la normatividad mexicana (NOM), para ayudar al medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Agenda para el Desarrollo de la región Altos Norte. 2002. Comité de planeación para el Desarrollo del Estado Dirección General del Desarrollo Técnico Metodológico. www.jalisco.gob.mx/wps/wcm/connect. Consultado el 1 de abril de 2017.
- 2. Del Pino, A.; Repetto, C.; Mori, C.; Perdomo, C. 2008. Patrones de descomposición de estiércoles en el suelo. Universidad Autónoma Chapingo, México.
- FAO. 2002. Los fertilizantes y uso. Cuarta edición. Organización de las naciones unidas para la agricultura y alimentación asociación internacional de la industria de los fertilizantes. Roma.
- Figueroa. V.U.; Cueto-Wong, J.A.; Delgado, J.A.; Núñez, H.G.; Reta-Sánchez, D.G.; Faz-Contretas, R.; Marquez-López, J.L. 2010. Estiércol de bovino lechero sobre el rendimiento y recuperación aparente de nitrógeno en maíz forrajero. Sociedad mexicana de la ciencia del suelo, A.C. Chapingo, México.
- Gasque, G.R., y O.M. Blanco. 2004. Sistema de producción animal I. Volumen 1: Bovinos. Segunda edición. México. División Sistema Universidad Abierta y Educación a Distancia. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
- Medina, L.S. 2010. Situación actual de producción y manejo del estiércol en el municipio de Texcoco. Tesis.
- 7. Meyer, D. 2000. Dairying and the environment. J. Dairy Sci. 83:1419-1427.
- 8. Moreira, V.R. y Satter, L.D. 2006. Effect of scraping frequency in a freestall barn on volatile nitrogen loss dairy manure. J. Dairy Sci. 89:2579-2587.
- 9. Rodríguez, H. y Rodríguez J. 2002. Métodos de análisis de suelos y plantas: Criterios de interpretación. Primera edición, México, Editorial Trillas, 32 a 37, 40 a 55, 58 a 63, 69, 111 a 113, 124, 168 a 171, 173 a 176 y 181 a 185 pp.
- 10. Rojas, G.M. 1993. Fisiología vegetal aplicada. 4ª Ed, Interamericana McGraw-Hill, México, pp 122-123.

- 11. SAGARPA. 2000. Situación actual y perspectivas de la producción de leche de ganado bovino en México 1990-2000. Dirección de Ganadería. México, México. www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/sitlech99.pdf. Consultado el 31 de marzo 2017.
- 12. SAGARPA. 2004. Situación actual de la producción de leche de bovino en México 2004. Coordinación General de Ganadería. In: http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg. Consultado el 1 de abril de 2017).
- 13. Salazar. S.E., López. M.J.D., Zúñiga. T.R., Vázquez. V.C., Fórtiz. H.M., Vital. S.J. 2003. Uso y aprovechamiento del estiércol como alternativa nutricional en invernadero. 5to. simposio de horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). 25 al 28 de octubre.
- 14. Salazar-Sosa, E.; Trejo-Escareño, H.I.; Vázquez-Vázquez, C.; López-Martínez, J.D.; Fortis-Hernández, M.; Zuñiga-Tarango, R.; Amado-Álvarez, J.P. 2009. Distribución de nitrógeno disponible en suelo abonado con estiércol bovino en maíz forrajero. Universidad Autónoma Chapingo, México.

ELABORACIÓN DE UN LICOR ENDULZADO CON Stevia rebaudiana B.

Ada María Ríos Cortés, Jorge Sánchez Ibarra, Luis Manuel Loaiza, Pedro Ramírez Legorreta, Javier Carbajal Avalos, Minerva Rosas Morales, Miriam Vázquez Galicia

Instituto Politécnico Nacional - Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada
Instituto Politécnico Nacional - Centro de Desarrollo de Productos Bióticos
Universidad Interserrana del Estado de Puebla, Ahuacatlán.

RESUMEN

La producción de licores data de tiempos remotos, es una bebida alcohólica destilada dulce o seca, a menudo con sabor a frutas, hierbas o especias y algunas veces con sabor a crema. Su elaboración puede realizarse por maceración de maderas, frutas, flores, en agua o alcohol, con la incorporación de azúcar, esta última obviamente responsable de provocar el sabor dulce característico de esta bebida. Por lo que con el fin de generar un licor de bajas calorías que pueda comercializarse en el mercado regional de Zacatlán, Puebla en este trabajo se formuló un licor a base de Stevia la cual es una planta originaria de Paraguay usada como un edulcorante con cero calorías y que posee diversas propiedades terapéuticas. Para realizar esta bebida se determinó el método de obtención del extracto, posteriormente se realizó la formulación del licor y se llevaron a cabo pruebas hedónicas para determinar si es aceptable por el consumidor a comparación con un licor con azúcar. Los licores obtenidos se clasificaron como licor 1 con edulcorante stevia y licor 2 como azúcar, con tres diferentes sabores. Posteriormente se realizaron pruebas de degustación evaluando color, olor, sabor, textura y contenido de alcohol.

INTRODUCCIÓN

Zacatlán es uno de los municipios ubicado al noroeste del Estado de Puebla, este lugar es comúnmente llamado Zacatlán de las manzanas ya que destaca la producción de este fruto así como la elaboración de sidras y licores que representan una importante fuente de ingresos para los habitantes de esta región. En los licores además de las frutas o esencias uno de los ingredientes principales son los edulcorantes calóricos los cuales como bien es conocido el abuso excesivo han provocado diversos padecimientos como sindrome metabólico y diabetes. En los últimos años se ha introducido en el mercado mundial edulcorantes artificiales, bajos en calorías los cuales surgieron para satisfacer las necesidades de personas con limitaciones respecto al consumo de azúcar y calorías en su dieta. Asi mismo, se han explorado otras alternativas como son los edulcorantes naturales cuyo dulzor es similar a los de los edulcorantes artificiales, pero con el valor agregado de no causar efectos nocivos en la salud tal es el caso de Stevia, planta originaria de Paraguay cuyas hojas son 30 veces más dulces que el azúcar y el extracto hasta 300 veces. El extracto está mayormente compuesto por glucósidos derivados del esteviol como el esteviósido y rebaudiósido A, es éste último el que posee una capacidad edulcorante de hasta 450 veces más

que el azúcar. Su introducción a México y otros países es reciente por lo que no se han desarrollado productos como edulcorante principal, si no por lo regular se ha combinado con edulcorantes calóricos o no calóricos lo que hace menguar sus propiedades. Uno de los inconvenientes y su difícil aceptación en el mercado ha sido el sabor amargo que deja en el paladar esto debido a la alta concentración de dichos glucósidos diterpénicos. Debido a esto, en el presente trabajo se desarrolló un jarabe a base de *Stevia* con el que se logró erradicar el sabor amargo y se mantuvo el poder edulcorante característico. Con este se formuló un licor con la intención de generar una nueva bebida con bajo índice calórico que pueda comercializarse en el mercado regional de Zacatlán, Puebla, municipio reconocido a nivel nacional por la elaboración de vinos y licores.

PARTE EXPERIMENTAL

Selección y acondicionamiento de la materia prima

El material obtenido fueron hojas variedad morita II, la cuales se secaron por exposición al sol dentro de un domo de plástico. Se seleccionaron hojas sanas, verdes, libres de manchas. Una vez seleccionadas, se pulverizaron en un mortero, el polvo se tamizó y almacenó a temperatura ambiente en bolsas de sellado hermético.

Proceso de extracción de edulcorante a base de stevia

Se colocó en un recipiente de acero inoxidable 100 g de hojas secas de Stevia rebaudiana Bertoni molida y tamizada de 1mm de tamaño de partícula aproximadamente, 5 gr de Carbonato de Calcio y 700 ml de agua potable cuya densidad a 25°C es de 1.0 g/cm³ se procedió a mezclar y se dejó reposar durante 24 horas y se sometió a calentamiento la mezcla a una temperatura de 70°C durante media hora. Se dejó enfriar y se colocó la mezcla en un tamiz (colador) para la primera clarificación, la fase líquida es pasada por un filtro. Se agregan 10 g de Hidróxido logrando un precipitado en donde se encuentran los compuestos orgánicos, bases orgánicas, sales inorgánicas, fenol, sustancias derivadas de la fotosíntesis, proteínas, aminoácidos, entre otros. Se adicionó ácido cítrico en pequeñas cantidades para conseguir un pH aproximado en un rango de 7.0, posteriormente se dejó por 48 horas la fase líquida para sedimentar los compuestos orgánicos, la fase sólida obtenida en la filtración se puede llevar al horno y se deja secar para ser utilizada como abono orgánico. La fase concentrada se llevó a la centrífuga por 20 minutos a una velocidad de 4,500 RPM para aumentar el rendimiento del extracto, pasados los 20 minutos se recogieron los livianos se mezcla con la primera fase liviana y se toma una muestra para llevarla al refractómetro para medir los grados °Brix que debe de encontrarse un extracto entre 6-8 °Brix, en seguida se midió el pH que debe encontrarse entre los 6.5-7.5. La densidad, y aspectos organolépticos como el olor, sabor, color. Al culminar la preparación del jarabe se midieron los °Brix.

Proceso de elaboración de licor

La preparación del licor se realizó de acuerdo a la formulación empleada para obtener el licor tradicional. En una parrilla de agitación se colocó un vaso de precipitados añadiendo 100 ml de agua purificada, en la cual se pesó 0.3 gr de espesante, se añadieron 12 ml del jarabe obtenido a base de hojas de *Stevia* con agitación para tener un mejor mezclado y aumentar el dulzor, después se prosiguió con el saborizante que ya contenía el color y aroma, se añadió el alcohol al 18% de acuerdo a la norma, de ahí se envaso y se midió la vida de anaquel del producto, ya que esta fórmula fue la que mejor características tenia. Ya en este proceso de elaboración se realizó lo mismo para los diferentes sabores que fueron elaborados con las mismas concentraciones tanto de espesantes, colorantes, cantidad de edulcorante, y alcohol. Para la preparación del licor se

utilizó la formula anterior solo que para esta se realizó con azúcar no con el edulcorante natural para esto se utilizó un recipiente con 150 ml de agua y se le agrego 0.3 gr de C.M.C. con una agitación constante para poder disolver todos los grumos que se hacen a la hora de añadirla con el agua después se le agregaron 12 gr de azúcar así mismo con agitación y de ahí se le agrego el saborizante que ya contiene color y olor, se prosigue con la mezcla ya obteniendo la mezcla se le añade el alcohol al 18% de acuerda a la norma de ahí se envaso en botellas de vidrio y observar su vida de anaquel.

EVALUACIÓN SENSORIAL DE LOS LICORES.

Pruebas discriminativas

Con el fin de dar una caracterización más completa se evaluaron sensorialmente.

Las pruebas se realizaron a un población de 20 personas de diferentes tipos de sexo y de edad diferente (18-49 años) empleando un formato por cada prueba que se realizó, a cada persona se le hizo una prueba de los tres diferentes licores obtenidos y se llenó un formato por cada prueba. Esto con el fin de obtener información sobre el color, olor, sabor, textura y contenido de alcohol y así poder determinar la formulación más acertada en un siguiente planteamiento.

Para cada característica que se va evaluar se determinó cada del producto:

- Olor: característico y que no haya una mezcla de olores desagradables.
- Color: el color debe ser característico del producto ya se de los diferentes licores que se da a cada persona para su evaluación.
- Sabor: debe ser característico de cada fruta o saborizante utilizado.
- Viscosidad: observar si tiene cuerpo característico del producto.
- Contenido de alcohol: se midió si su grado de alcohol es aceptable para el consumidor.

De acuerdo a estos puntos a evaluar se realizara un análisis para determinar si nuestro producto es aceptable o no por los consumidores.

RESULTADOS

Selección y acondicionamiento de la materia prima

El método de secado a sol empleado en este trabajo para las hojas de *S. rebaudiana* mediante el uso de un domo tuvo un buen desempeño ya que se alcanzó una deshidratación del 97% y tuvo un tiempo de secado de 2 días preservando el sabor característico de *Stevia*.

Proceso de extracción de edulcorante a base de stevia

Se logró obtener el extracto con las características deseadas los aditivos empleados para la extracción tuvieron un gran aporte porque ayudaron en la eliminación del de sabor amargo, aportando a ello la determinación de solubilidad del líquido en agua manteniendo sus características organolépticas de iniciación y permanecer con los grados ° Brix iniciales.

Mediante la metodología empleada por Méndez F & Sarabia R. en la cual ellas describen la mejora para la obtención de jarabe a partir de *Stevia rebaudiana* B. se afirma la eficiencia del proceso para la extracción.

Proceso de elaboración de licor

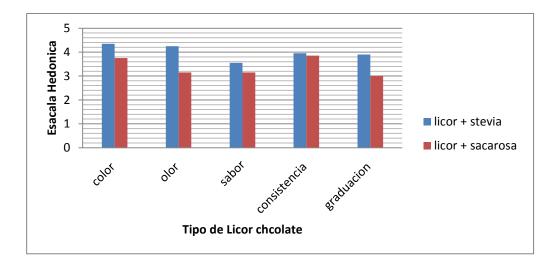
En la elaboración se observó que el jarabe no pierde sus características en cuanto al dulzor y se puede realizar la mezcla con varios saborizantes y colorantes para hacer distintas muestras de diferentes sabores.

Evaluación sensorial de los licores.

Para el proceso de la molienda, de la planta se obtuvo principalmente las hojas para poder realizarla primero se obtuvo un buen secado y de ahí comenzar con el proceso de pulverización que se tiene del tamaño de una articula para así utilizarlo para la elaboración de jarabe pasándolo por un tamiz un polvo muy fino y así poder hacerle la aplicación.

Mediante la metodología empleada por Méndez F & Sarabia R. en la cual ellas describen la mejora para la obtención de jarabe a partir de *Stevia rebaudiana* B. se afirma la eficiencia del proceso para la extracción, los aditivos empleados para la extracción tuvieron un gran aporte porque ayudaron en la eliminación del de sabor amargo, aportando a ello la determinación de solubilidad del líquido en agua manteniendo sus características organolépticas de iniciación y permanecer con los grados ° Brix iniciales. En la elaboración del licor se observó que el jarabe no pierde sus características en cuanto al dulzor y se puede realizar la mezcla con varios saborizantes y colorantes para hacer distintas muestras de diferentes sabores. De las formulaciones empleadas se realizó una prueba hedónica; para el licor de chocolate, café y uva en donde las características importantes como color, olor, sabor, textura y contenido de alcohol fueron las principales evaluadas hacia el producto final.

Los resultados obtenidos indican que el licor con mejores características sensoriales fue el de chocolate el cual resultó más aceptable a diferencia a de los licores de café y de uva como se puede apreciar en la figura 1.



En la tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: en un componente de cada grupo. El color es la que indica su aceptabilidad o su rechazo por el consumidor, para estos casos el color juega un papel muy importante para que haya variantes y se tenga una significancia mínima.

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	8	4	2	3.95833333	0.0051443	2.46749362
Dentro de los grupos	48	95	0.50526316			
Total	56	99				

De acuerdo a la hipótesis aceptada

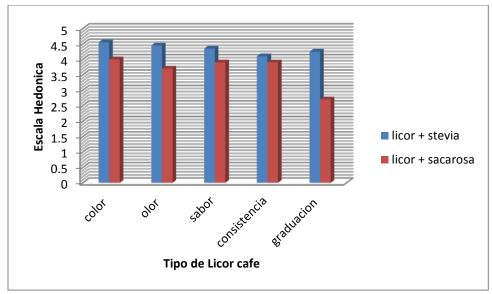
Hc: El licor de chocolate tiene una mejor aceptabilidad por el consumidor

Ho: El licor de chocolate no tiene una mejor aceptabilidad por el consumidor

El licor de chocolate endulzado con *Stevia* tiene una mayor aceptación el que esta endulzado con sacarosa.

De acuerdo a la gráfica y el anova realizado la hipótesis es alternativa ya que el consumidor prefiere el licor endulzado con *Stevia* que el que es endulzado con sacarosa como se muestra en la gráfica de la figura 1 y ANOVA de figura 2.

De los resultados que se evaluaron en café uno como el que mejor fue aceptado por sus características como: color, olor, sabor, contenido de alcohol. Ya que la textura no tiene valores muy bajos de acuerdo con los demás y estas fueron evaluadas por el catador dichos resultados se muestran en la siguiente gráfica.



Efecto del tipo de endulzante sobre la aceptabilidad de un licor de café.

En la tabla ANOVA se descomponen la varianza en dos componentes y estos uno de cada grupo. En este se puede observar que el color tiene una mayor aceptabilidad que los demás o su rechazo para estos casos el café juega con un papel muy importante para que haya una menor significancia entre ellos.

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las	Suma de	Grados de	Promedio de los			Valor crítico
variaciones	cuadrados	libertad	cuadrados	F	Probabilidad	para F

Entre grupos	2.44	4	0.61	1.525	0.20111771	2.46749362
Dentro de los grupos	38	95	0.4			
Total	40.44	99				

Hipótesis aceptada

Hc: El licor de café tiene una mayor aceptabilidad con el consumidor.

Ho: El licor de café no tiene una aceptabilidad por el consumidor.

El licor de café endulzado con *Stevia* tiene mayor aceptabilidad por el consumidor con respecto al que esta endulzado con sacarosa.

De acuerdo a la gráfica y el ANOVA realizado dice que el licor aceptado es el que esta endulzado con *Stevia* analizando la F calculada con respecto a la F de tablas.

De los resultados que se obtuvieron la uva dos fue la que mejor tiene características a comparación de la uva uno ya que o tiene las mismas características que fueron evaluadas por el catador ya que fueron evaluados por su color olor, sabor, textura. Dichos resultados se muestran en las gráfica siguiente.

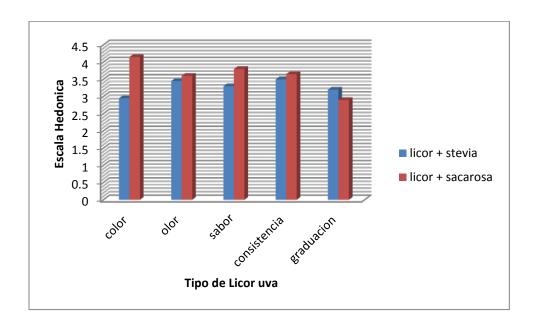


Figura comparación de los dos licores de acuerdo a su prueba hedónica

En la tabla ANOVA se descompone la varianza en dos componentes y estos uno en cada grupo. En este caso se puede observar que el color tiene una mayor aceptabilidad que los demás, en este caso la uva dos juega un papel muy importante para que haya una menor significancia.

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	16.66	4	4.165	3.44364665	0.01129414	2.46749362
Dentro de los grupos	114.9	95	1.20947368			
Total	131.56	99				

Hipótesis aceptada

Hc: El licor de uva endulzado con sacarosa tiene una mejor aceptación.

Ho: El licor de café endulzado con sacarosa no tiene una aceptación.

El licor de café endulzado con sacarosa tiene una mejor aceptación con respecto al que esta endulzado con *Stevia*

De acuerdo a los resultados obtenidos se dice que tiene mayor aceptabilidad el chocolate uno y café uno por sus características de acuerdo a la prueba hedónica realizada, ya que fue la fórmula con mayor aceptación en los catadores no profesionales los que aceptaron sus características organolépticas. En el licor de chocolate se obtuvieron resultados similares a los del café su aceptabilidad fue la formulación número uno a comparación de los dos que se realizaron y el licor de uva tiene una mejor aceptabilidad el dos ya que este no fue aceptado por el color principalmente.

CONCLUSIONES

Se obtuvo un jarabe con sabor no amargo, dulce, los °Brix obtenidos por el jarabe fueron de 6.3 y sus características con un color obscuro y un pH de 7.5.

De acuerdo a las características de nuestras pruebas hedónicas aplicadas se observaron que los licores con el jarabe de S*tevia rebaudiana* tienen mayor aceptación que las elaboradas con sacarosa. Se debe mejorar la formulación para que exista una mejor aceptación en cuanto a la consistencia y sabor.

Los autores agradecemos el apoyo otorgado por el Instituto Politécnico Nacional y a la UIEPA para la elaboración de este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Blanco, I. Estudio del tratamiento térmico de las virutas de robles en la elaboración de extractos para la producción de rones. Tesis en opción al grado académico de Master en Ingeniería Alimentaria.La Habana: CUJAE, 2004.
- 2. Aleixandre, J. Licores. En: Vinos y bebidas alcohólicas. Dpto. de tecnología de alimento. Univ. Politécnica de Valencia, España. Servicios de publicaciones, 1999.
- 3. Pérez, J.; Delgado, R. Bebidas alcohólicas destiladas y añejadas. [CD-ROM] LaHabana: Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. 2007.
- 4. Iglesias, P. 2006. Historia del aguardiente.
- 5. Álvarez-García, R., J. Torres-Valencia, L. Román, J. Hernández, C. Cerda-García-Rojas y P. Joseph-Nathan. 2005. Absolute configuration of the a-methylbutyryl residue in longipinene derivatives from Stevia pilosa. Phytochem. 66, 639-642.
- 6. Badui D. S (1997). Química de los alimentos. Tercera edición, quinta reimpresión. Logman de México Editores, S.A de C.V Alhambra Mexicana México, D.F. págs. 45-117
- 7. Gabriela Noriega, licenciada en nutrición y ciencias de los alimentos, certificada por el Colegio Mexicano de Nutriólogos Nutrióloga Georgina del Ángel Cabrera, presidenta de la Sociedad de Nutriología, A. C. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria para quedar como Norma Oficial Mexicana NOM-015- SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes Diario Oficial de la Federación del 15 de diciembre de 1999 www.clia.org.mx
- 8. Cáceda, Q. C. y Rodríguez, E. Y. 2003. Producción de licor a partir de sacarosa suplementadocon cascara de naranja (Citrus auriantus) Maca (Lepiduim mellen Walp.) mediante el procesofermentativo utilizando Saccaromyces cereviciae L. Universidad Nacional Jorge BasadreGrohmann. Tacna, Perú. 22 p.
- López, S. 2004. Curso de cocina y alimentación. Bebidas. Licores y cocteles. http://www.mailxmail.com/curso-licores-cocteles/historia-licores (Fecha de consulta marzo de 2010).
- Vargas, C. A. 2001. Elaboración de licor del fruto de pitayo (Stenocereus queretaroensis) y su análisis sensorial descriptivo. Tesis licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. México. 62 p
- 11. Hearn, L.K. y P.P. Subedi. 2008. Determining levels of steviol glycosides in the leaves of Stevia rebaudiana by near infrared reflectance spectroscopy. J. Food Comp. Anal. 22(2), 165-168.
- 12. Álvarez-García, R., J. Torres-Valencia, L. Román, J. Hernández, C. Cerda-García-Rojas y P. Joseph-Nathan. 2005. Absolute configuration of the a-methylbutyryl residue in longipinene derivatives from Stevia pilosa. Phytochem. 66, 639-642.
- 13. Hsieh, M., P. Chan, Y. Sue, J. Liu, T. Liang, T. Huang, B. Tomlinson, M. Chow, P. Kao e Y. Chen. 2003. Efficacy and tolerability of oral stevioside in patients with mild essential hypertension: a two-year, randomized, placebo-controlled study. Clinical Therapeutics 25(11), 2797-2808.
- 14. Geuns, J.M. 2003. Stevioside. Phytochem. 64, 913-921
- 15. Liu, J., L. Jin-wei y T. Jian. 2010. Ultrasonically assisted extraction of total carbohydrates from Stevia rebaudiana Bertoni and identification of extracts. Food Bioprod. Process. 88(2-3), 215-221.
- 16. Tadhani, M., V. Patel y S. Rema. 2007. In vitro antioxidant activi- In vitro antioxidant activities of Stevia rebaudiana leaves and callus. J. Food Compos. Anal. 20, 323-329.

- 17. I. Kimura 2009. Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness. Pag.41-54.
- 18. López, S. 2004. Curso de cocina y alimentación. Bebidas. Licores y cocteles. http://www.mailxmail.com/curso-licores-cocteles/historia-licores (Fecha de consulta marzo de2010).
- 19. Vargas, C. A. 2001. Elaboración de licor del fruto de pitayo (*Stenocereus queretaroensis*) y su análisis sensorial descriptivo. Tesis licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DEL HONGO PRODUCTOR DE AMILASA A PARTIR DEL JITOMATE

D.F. Victoria Alfaro, D. J. Hernández Melchor, J. Fuentes Hernández, P. Solís Vences

Universidad Tecnológica de Tecámac

RESUMEN

El proceso de putrefacción no controlado de los alimentos genera niveles importantes de contaminación debido a la presencia de moléculas de difícil degradación como los polisacáridos; sin embargo, existen microorganismos que gracias a su capacidad de producir enzimas extracelulares permiten contrarrestar el efecto dañino en el medio ambiente al degradar estos compuestos. De acuerdo a lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo aislar el hongo productor de amilasas a partir de residuos vegetales para la producción de azucares fermentables; para ello se realizaron una serie de experimentos los cuales se dividieron en tres fases: en la primera incluyo el aislamiento de los hongos haciéndolos crecer en PDA por picadura a 30 °C durante 72 horas; en la segunda fase se realizó una prueba tamiz en la cual se hizo crecer a los hongos aislados en agar enriquecido con almidón e incubados a la misma temperatura y tiempo, después se identificaron los hongos productores de amilasas por tinción con lugol al 1%; posteriormente se caracterizó al hongo productor de amilasas mediante morfología colonial y microscópica con azul de metileno y por último se llevó a cabo la fermentación para la producción de amilasas, en un medio de almidón obtenido del arroz con una concentración de 0.1, 1 y 2 mg/mL a pH de 5, 37 °C durante 72 horas, al término se midió la actividad enzimática por el método de DNS. De lo anterior se encontró que el hongo aislado del jitomate productor de amilasas fue Fusarium oxysporum cuyo extracto amilolítico obtenido de la fermentación mostro mayor actividad a una concentración de 1 mg/mL de almidón de arroz.

Palabras clave: microorganismo, hongo, amilasa, enzimas, jitomate.

INTRODUCCIÓN

Los residuos orgánicos generados por frutas, verduras, cascarones, restos de alimentos, huesos, papel, entre otros, tienen efectos contaminantes en el medio ambiente principalmente en el aire; cuando se pudren o se descomponen dichos residuos llegan a desprender gases tipo invernadero, entre ellos están: Metano, Óxido nitroso y Dióxido de carbono. De acuerdo a lo anterior, se requieren buscar técnicas que permitan aprovechar los mencionados residuos con la finalidad de disminuir el daño al medio ambiente. Por otro lado, la biotecnología microbiana utiliza diversas herramientas metodológicas para explorar y explotar la biodiversidad natural de los microorganismos y sus enormes capacidades metabólicas. Esta disciplina incluye en su área de estudio la aplicación de los mismos para mejorar el medio ambiente (Thieman, 2010). Cabe mencionar, que los microorganismos con características enzimáticas brindan una opción en la obtención de metabolitos que puedan ser usados a nivel industrial, aprovechando procesos de biodegradación de los polisacáridos como el almidón que se encuentran de manera abundante en la naturaleza. Los microorganismos amilolíticos utilizan enzimas reductoras para producir azúcares fermentables (Wainwright, 2012). Debido a ello, se propone el estudio de la actividad enzimática del hongo del fruto del tomate como residuo agroindustrial, para la obtención de amilasas, utilizando como sustratos para la fermentación: cascara de papa y aqua de arroz. Con lo anterior se busca la generación de nuevos bioproductos, que contribuyan con la reducción de residuos agroindustriales y la contaminación del medio ambiente.

TEORÍA

Residuos del Jitomate.

El cultivo del jitomate es un sistema productivo hortícola que genera grandes cantidades de residuos agrícolas, compuestos por residuos orgánicos e inorgánicos. Los residuos orgánicos pueden ser reutilizados a través de la incorporación directamente al suelo o a través de procesos como el compostaje, lombricultura o ensilaje. Los inorgánicos en cambio, tales como plásticos y envases de agroquímicos demandan de un cuidado especial ya que pueden ser considerados como residuos potencialmente peligrosos (Saval, 2012).

Esta práctica de incorporación de materia orgánica estabilizada en la agricultura, es una de las mejores alternativas para enfrentar graves problemas como la contaminación y el empobrecimiento de los suelos, ya que la materia orgánica necesita ser reemplazada una vez que ha sido extraída. Dicha práctica permite mantener las poblaciones de microorganismos que favorecen la estabilización y equilibrio de la rizósfera, sin embargo los tiempos de degradación son muy extensos, motivos por los cuales no se genera un aprovechamiento completo de la materia prima y esta es llevada así a la etapa de pudrición rápidamente, llegando a dañar los suelos e incluso mantos acuíferos así como la atmosfera al emitir gases por las grandes cantidades de residuos agroindustriales (Negrillete, 2011).

Los hongos.

Los hongos constituyen un grupo muy numeroso de microorganismos que presentan una amplia distribución en la naturaleza; actualmente se encuentran 72 000 especies, pero se calcula que existen más de 1.5 millones. Tienen una infinidad de formas y tamaños y pueden encontrarse en las condiciones ambientales más variadas. Aprovechan los nutrientes más simples contribuyendo a la descomposición de la materia orgánica y participando en los ciclos biológicos. Los hongos obtienen los nutrientes por absorción y tienen un metabolismo quimio heterótrofo, ya que obtiene la energía y el carbono de compuestos orgánicos. Los hongos en la naturaleza se encuentran asociados con la materia orgánica en descomposición, participando en los ciclos naturales del reciclado del carbono y otros elementos naturales o como patógenos oportunistas de los animales y plantas. Los hongos pueden degradar una gran cantidad de componentes, para lo que disponen de potentes exoenzimas que en algunos casos pueden servirles como factores de virulencia en el hospedador (Frioni, 2011)

Enzimas.

Todos los procesos de la vida, ya sea vegetal, animal o microbiana, dependen para el crecimiento y mantenimiento celular de una compleja red de reacciones químicas catalizadas por enzimas. Las enzimas, son sustancias de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas en los sistemas biológicos siempre que sea termodinámicamente posible, por lo cual, también son conocidas como biocatalizadores. Estas disminuyen la energía de activación de las reacciones que catalizan, de forma que se acelera la tasa de reacción (Elicer, 2003). Las enzimas se han utilizado extensamente como catalizadores industriales y la tendencia actual es su uso en procesos de la denominada industria verde en la que se refleja la necesidad de disponer de estrategias que ayuden a conseguir el desarrollo sostenible y a reconducir los patrones actuales de consumo y producción hacia vías más sostenibles a largo plazo, respetando al mismo tiempo las restricciones de los recursos y sin perder de vista los límites de capacidad (Arellano, y Olmos, 1999).

Amilasa

La amilasa, es una enzima hidrolasa que tiene la función de catalizar la reacción de hidrólisis de los enlaces 1-4 del componente α -amilasa al digerir el glucógeno y el almidón para formar azúcares simples. Se produce principalmente en las glándulas salivales (sobre todo en las

glándulas parótidas) y en el páncreas. Tiene actividad enzimática a un pH de 7. Fue la primera enzima en ser identificada y aislada por Anselme Payen en 1833, quien en un principio la bautizó con el nombre de "diastasa" (Thieman, 2010).

METODOLOGÍA

Aislamiento e identificación delo hongo productor de amilasas

Aislamiento

Se tomó con el asa bacteriológica pequeñas partes del hongo presente en las muestras de jitomate en estado de putrefacción recolectadas y se sembró en agar papa dextrosa e incubó a 30° C por 48 horas, transcurrido este tiempo se eligieron las diferentes colonias y se resembraron por separado en función de las características morfológicas

Prueba Tamiz para la identificación del hongo productor de amilasas

Se preparó medio de cultivo enriquecido al 0.1 % de almidón en el cual se hicieron crecer por separado los diferentes hongos aislados previamente a 30°C durante 48 horas, enseguida se adicionó 5 ml de lugol concentrado a cada una de las cajas con crecimiento fúngico dejando e incubaron por 4 días.

Al término del tiempo indicado se observó la aparición de alos blancos alrededor de las colonias, lo que indico actividad amilolítica. Enseguida se realizó morfología colonial y microscópica.

Producción cuantitativa amilasas

3.3.1 Preparación de la solución madre de almidón

A 200g de arroz se le agregaron 200 mL de agua dejándolo reposar durante 24 horas al finalizar se separó el arroz del líquido, a este último se le determino la concentración de almidón mediante la técnica de fenol-sulfúrico a una longitud de onda de 490 nm.

3.3.2 Preparación del inoculo

Las esporas del hongo productor de amilasas previamente identificado se recolectaron en solución salina y cuantificaron bajo la técnica de Neubauer.

3.3.3 Producción amilolítica en Fermentación Sumergida

Se prepararon diferentes medios de cultivo con tres concentraciones de almidón de arroz (0.1, 1 y 2 mg/mL); solución basal con 0.002 g/mL de K₂HPO₄, 0.002 g/mL de KH₂PO₄ y 0.005 g/mL de (NH₄)₂SO₄, se ajustó el pH a 5 y esterilizó, enseguida se inoculo con 1x10⁶ esporas/mL e incubo a 30 °C durante 48 horas al término de este tiempo se filtró para obtener el líquido rico en enzimas y libre de micelio, se refrigero hasta su posterior uso.

3.3.4 Actividad cualitativa del extracto amilolítico

Se colocaron 0.5 mL de una solución de almidón, 0.4 mL de buffer de acetatos ambos a pH 5, enseguida se incubo a 45°C durante 5 min, posteriormente se adiciono 0.1 ml del filtrado enzimático y se dejó reaccionar durante 20 minutos a la misma temperatura, pasado el tiempo se detuvo la reacción adicionando 2 mL de DNS, se sometió a ebullición por 5 minutos enseguida se agregaron 5 mL de agua, se agito, dejo enfriar y leyó a 575 nm (técnica de azucares reductores por DNS).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento

En el presente estudio se evaluaron 5 muestras de jitomate (Solanum lycopersicum L.) obtenidas durante el año 2016 en el estados de México, provenientes de un invernadero proveedor de la central de abastos en venta de carpió, Ecatepec lugar de donde se llevó a cabo el muestreo, cada una con características diferentes como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Reporte del estado físico y características de las 5 muestras de jitomate.

Muestra	Ilustración	Descripción Descripción
1		Estado de descomposición media, presencia de esporas blancas grisosas en la corona del fruto y manchas verdosas.
2	3	Estado de descomposición medio, presencia de moho y manchas negras, esporas blancas con verde y coloración amarillenta.
3	To sale	Estado de descomposición avanzado, flacidez, coloración intensa, arrugamiento en la primera capa y esporas blancas y amarillas en la parte superior.
4		Estado de descomposición avanzado, succión en su estructura, coloración rojo claro y amarillento, esporas verdes, cafés y blancas con pequeños orificios de moho negro.
5		Estado medio de descomposición, coloración media, ablandamiento de sus capas y con pequeños puntos de moho blanco

4.2. Identificación del hongo productor de amilasas

Del muestreo que se realizó se obtuvieron cuatro cepas diferentes de las cuales sólo una mostró actividad amilolítitica debido a la presencia de a los blancos alrededor de las colonias fúngicas teñidas con lugol como se muestra en la figura 1.



Figura 1. Actividad enzimática amilolitica cualitativa en agar almidón con control positivo *F. oxysporum.*

Estos resultados se dieron a partir del día 2 de incubación, mostrando alos de aproximadamente 0.1 y 0.5 cm y para el día 4 aumento de 1 y 1.3 cm.

En función de lo anterior como resultado de la prueba tamiz para la identificación del hongo productor de amilasas, se realizó la caracterización del hongo para determinar el género del mismo a partir de su morfología colonial y microscópica mediante la tinción del mismo de lo que se obtuvo el resultado mostrado en las figuras 1 y 2

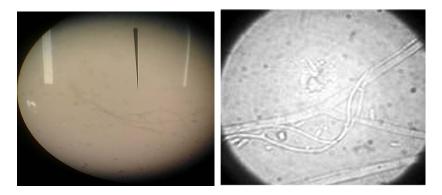


Figura 1. Comparación de hifas a 40X de *Fusarium oxysporum* de lado izquierdo aislado del hongo de jitomate y de lado derecho referencia bibliográfica de (Mendoza, 2011).



Figura 2. Comparación morfológica de cepas de *Fusarium oxysporum* de lado izquierdo aislamiento del hongo de jitomate y de lado derecho referencia bibliográfica obtenida de (Mendoza, 2011).

Con respecto a la comparación realizada con imágenes reportadas por Mendoza (2011), se deduce que el hongo aislado es *Fusarium oxysporum* es un género de hongos filamentosos, ampliamente distribuida en el suelo y en asociación con las plantas, identificados como hongo de jitomate, por lo que es el responsable de presentar en plantas acortamiento de raíz, coloración opaca en tallo y hojas amarillentas, en frutos estimula la generación de esporas de coloración amarillentas claras y acelera su descomposición manifestando cambios de coloración en corteza, ablandamientos en su estado físico y olor desagradable con gran presencia de agua (Agrios, 2013).

4.3 Actividad cuantitativa del extracto amilasas

De la fermentación en sumergido utilizando almidón de arroz a concentración de 0.1, 1 y 2 mg/mL se obtuvieron los filtrados enzimáticos a los que se les determinaron la actividad enzimática.

Tabla 2. Actividad del extracto amilolítico obtenido a diferentes concentraciones de almidón de arroz

annaon ao anoz		
Concentración de almidón (mg/mL)	U/mL	Desvest
0.1	28.03	0.49
1	39.79	0.49
2	14.88	0.48

Como se puede observar en los resultados mostrados en la tabla 2 el extracto enzimático que tuvo mayor actividad fue el producido en 1 mg/mL de almidón de arroz y menor en al de 2 mg/mL, lo cual indica una posible represión en la producción enzimática por producto.

CONCLUSIONES

De las muestras tomadas del jitomate en estado de putrefacción se aislaron 4 cepas de las cuales solo una presento actividad amilolítica, el hongo fue identificado como *Fusarium oxysporum* a partir de morfología macro y microscópica.

Fusarium oxysporum mayor producción amilolitica a una concentración de 1 mg/mL de almidón de arroz en condicione de fermentación de a 30 °C durante 72 horas, obteniendo actividades de 39.79 U/mL y la menor producción en 2 mg/mL con actividad de 14.88 U/mL.

En general se puede indicar que el agua de arroz que sea manejado como un desecho y contaminante debido a que no se le da un tratamiento a partir de los resultados obtenidos muestra ser un sustrato potencial para la producción de extractos amiloliticos ofreciendo así una alternativa para su uso a nivel industrial.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. F. Arellano y J. Olmos, "Enzimas aminolíticas microbianas", Biotecnología 115, Vol. 4, No. 3 1999
- 2. G. Agrios (2013). Enfermedades del tomate y otros vegetales. México; facultad de agronomía: Limusa.
- 3. J. Eliécer, "Producción y Aplicación de enzimas industriales", Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial., Vol. II, 2003. Artículo pdf.
- J. L. Mendoza; M. I. Sánchez; J. García. (2011). Caracterización molecular y agronómica de aislados de Trichoderma spp nativos del noreste de México. Revista Colombiana de Biotecnología, Vol. 13, Núm. 2 (2011)
- 5. L. Frioni, "Hongos, mohos y levaduras en frutos y raiz". Ciencia y tecnologia, Vol. 3, 2011.
- 6. M. Wainwright, "Introducción a la Biotecnología de los Hongos" (Acribia Editorial, España, 2012) pp. 88-87.

- 7. S. Saval, "Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales:Pasado, presente y futuro", *BioTecnología, Vol. 16, No. 2, 2012*, pp. 2-3.
- 8. T. Negrillete, "Contaminacion de suelos y mantos acuiferos por residuos agroindustriales en México", *Revista Iberoamericana de Microbiologia*, Vo. IX, 2011, pp. 5-7.
- 9. W. J. Thieman, "Introduccion a la biotecnologia", (Person, México, 2010), pp. 127-129.

AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE LEVADURAS ANTAGONISTAS DE COLLETOTRICHIUM GLOEOSPORIOIDES CAUSANTE DE ANTRACNOSIS EN EL LIMÓN

Karla Nallely Rivera Hernández, Miguel Angel Plascencia Espinosa, María del Sugeyrol Villa Ramírez.

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional. Carretera Estatal Km. 1.5 Santa Inés Tecuexcomac, Tepetitla de Lardizabal, Tlaxcala. CP. 90700 karlanallely@hotmail.com

RESUMEN

Los cítricos figuran entre las especies frutícolas más importantes a nivel mundial, en México ocupan el primer lugar nacional en volumen total de producción. Dentro de los problemas bióticos que afectan la producción de cítricos, se encuentran en primer lugar las enfermedades causadas por hongos de diferentes especies. Actualmente, el control de enfermedades postcosecha se lleva a cabo mediante el uso de fungicidas químicos, sin embargo, debido al desarrollo de resistencia de patógenos, la presencia de residuos químicos en los productos y el impacto ambiental de estos compuestos, existe un gran interés en utilizar productos alternos a fungicidas químicos, con efectividad. Una alternativa es el control biológico, mediante el uso de microorganismos antagonistas, como levaduras epifitas de hojas y frutos. En este trabajo se realizó, el aislamiento de 33 levaduras de la superficie de diferentes hojas y frutos. Mediante pruebas de antagonismo in vitro por confrontación antagonista-patógeno, se seleccionaron 4 cepas (ChF-L8, ChF-L10, y CaH-L5, y CiF-L4) que inhibieron en un 100% el crecimiento radial de C. gloeosporioides. En pruebas in vivo para reducir el crecimiento de Colletotrichum gloeosporioides empleando limones como modelo de prueba, mediante dos métodos de inoculación (M₁ y M₂) del antagonista y del patógeno, las cepas ChF-L10, CiF-L4, y Candida oelophila (control positivo) solo permitieron crecimiento micelial de C. gloeosporioides en la herida (M₁). En M₂, las cepas ChF-L10 y C. oelophila mostraron resultados similares a los obtenidos en M₁; la cepa CiF-L4 inhibió en mayor medida el crecimiento micelial de C. gloeosporioides, sin embargo, la cepa CaH-L5 evidenció ser la mejor al no permitir el crecimiento de C. gloeosporioides. En conclusión las cepas de levaduras que presentaron mayor efecto de inhibición en ensayos in vivo fueron CiF-L4 y CaH-L5 ya que no permitiern el crecimiento y proliferación de C. gloeosporioides cuando se inocularon antes que.el patógeno. El presente trabajo representa la base de futuros desarollos biotecnológicos basados en el empleo de los microorganismos seleccionados.

INTRODUCCIÓN

La citricultura es una actividad agrícola de gran relevancia (Ochoa y Ortega, 2005), ya que supera en volumen a cultivos de importancia tales como el plátano, uva y manzana, por lo que los cítricos se destacan como las especies frutícolas más importantes a nivel mundial, teniendo a Brasil como el principal productor a nivel mundial y México se ubica como el cuarto productor de cítricos, aportando el 15% de la producción total mundial y productor número uno del limón mexicano *Citrus aurantifolia* y segundo lugar en limón persa *Citrus latifolia* (Ochoa y Ortega, 2005).

A nivel mundial, las perdidas post-cosecha se estiman alrededor del 50% de la producción total, y la mayoría de estas se deben a enfermedades causadas por hongos y bacterias (El-Gaouth, 1997). En frutos, las pérdidas por enfermedades pueden ser del 5 al 20% en países desarrollados y hasta del 50% en países en desarrollo. Esta diferencia se debe a que los países subdesarrollados no cuentan con la infraestructura necesaria para una adecuada manipulación, almacenamiento y procesamiento de los productos (Janisiewicz y Korsten, 2002).

La gran variedad de los patógenos de cítricos que existen está ligada tanto a cuestiones ambientales y de manejo. Los cítricos son los frutales que probablemente albergan la mayor cantidad de enfermedades y la mayoría de éstas son causadas por hongos fitopatógenos, los cuales pueden presentarse tanto en campo, o bien cuando los frutos son cosechados, procesados y almacenados (Sampaio-Passos, 2005).

Las pérdidas post-cosecha han sido reducidas principalmente por el uso de fungicidas, sin embargo, la utilización de los fungicidas químicos debe reducirse debido a que representan un riesgo ya que muchos de ellos son tóxicos para el ambiente y para la salud humana, aunado a que los hongos fitopatógenos pueden volverse resistentes a los fungicidas, por lo tanto en los últimos 20 años el control biológico ha surgido como una alternativa eficaz para combatir las pérdidas de frutas de post-cosecha.

El control biológico de hongos fitopatógenos se basa en la utilización de microorganismos antagonistas o de sus productos biológicamente activos, tales como las toxinas y/o enzimas. Los microorganismos antagonistas ejercen su acción de biocontrol por diferentes mecanismos, como son: a) competencia por espacio, b) competencia por nutrientes, c) micoparasitismo, d) antibiosis y e) la inducción de resistencia. (Janisiewicz y Korsten 2002). A este respecto, las levaduras epifitas nativas de frutos y hojas figuran como potenciales agentes de biocontrol de hongos

Una de las enfermedades más comunes y que mayor cantidad de pérdidas de cítricos postcosecha ocasiona, es la antracnosis, causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, penetra en el fruto cuando aún está en el huerto, pero los síntomas se presentan conforme el fruto va madurando después de la cosecha (Barkai-Golan, 2001), generalmente ocurre en el almacenamiento (Ronquillo, 2007), reduciendo directamente la cantidad y calidad del producto cosechado (Orozco-Santos *et al.*, 2008).

METODOLOGÍA

Colecta de muestras

Se realizaron 5 muestreos cerca de las localidades de San Nicolás de los Ranchos y Nealticán del estado de Puebla con las siguientes coordenadas N 19° 03.942'; W 98° 28.504': 19° 03.349'; W 98° 27.817': N 19° 03.185'; WO 98° 27.258': N 19° 03.344'; WO 98° 25.277': N 19° 06.343'; WO 98° 24.773'. Las muestras fueron tomadas de los siguientes frutos: pera, ciruela, durazno, capulín, chabacano, limón y manzana y aguacate. Por otro lado se obtuvieron 6 diferentes muestras de frutos de distribuidores locales, los cuales fueron chicozapote, ciruela, manzana, naranja, guayaba y mango.

Aislamiento de levaduras de la superficie de hojas y frutas

Los aislamientos de levaduras fueron obtenidos de la superficie de hojas (filoplano) y de la superficie de frutos (fructoplano). Se realizaron 2 métodos de aislamiento. El primer método fue el aislamiento de levaduras a partir de hojas, fue mediante el procedimiento de Buck (2002), se tomó la muestra de una hoja y se sumergió en tubos de 50 ml con 25 ml de agua destilada estéril y solución de Tween 20 al 0.05% durante 60 minutos, se vortexeo por 30 segundos, se tomó una alícuota de 100 µl y se dispersó en placas de Agar Papa Dextrosa (PDA) con Cloroanfenicol 500 mg/L, incubándose a 29 ± 1 ° C durante 48-72 hrs, se seleccionaron colonias de acuerdo a sus características morfológicas, fueron purificadas por siembra en medio YPGA hasta obtener cepas puras. El segundo método de aislamiento de levaduras a partir de frutos fue por medio del procedimiento de Abraham et al. (2010) con algunas modificaciones, las seis muestra de frutas fueron cortadas en 10 a 15 piezas con un peso total de 50 grs, agregándolas en matraces Elenmeyer de 250 ml con 100 ml de agua destilada estéril y solución de Tween 20 al 0.05%, los matraces se incubaron durante 120 minutos a 29 ± 1 ° C con agitación constante (125 rpm), se realizaron diluciones seriales en placas de Agar Papa Dextrosa (PDA) con Cloranfenicol 500 mg/L, incubándose a 29 ± 1 ° C durante 48-72 hr, se seleccionaron colonias de acuerdo a sus características morfológicas.

Microorganismos utilizados

Se utilizaron las levaduras *Pichia guillermondii* (Y-18314); *Candida oelophila* (Y-18846); *Candida oelophila* (Y-18845); *Candida saitoana* (Y-17316) y *Candida sake* (Y-1622), pertenecientes a la colección Microbial Genomics & Bioprocessing del National Center for Agricultural Utilization Research USDA, las levaduras se reactivaron en medio YPGA.

El hongo fitopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides* (CDBB-H-1340), perteneciente a la Colección Nacional de Cepas Microbianas y Cultivos Celulares del CINVESTAV – IPN, el cual se cultivó en medio PDA.

Determinación del antagonismo de levaduras in vitro

Se realizó una evaluación preliminar de *C. gloeosporioides* en los medios utilizados (YPDA; YMGA; YPGA y PDA pH 7.2, donde la placa que contenía *C. Gloeosporioides* se corto en cuadros de 4 mm de diámetro por 5 mm de altura y se colocaron en el centro de las placas con los diferentes medios de cultivo, se incubaron a 29 ± 1 ° C, y diariamente se midió el diámetro radial.

La capacidad de las levaduras para ejercer un efecto antagónico fue determinado usando cuatro diferentes medios de cultivo YPDA; YMGA; YPGA y PDA, en los cuales se sembró 2 levaduras en cada uno de los dos puntos equidistantes de la placa a una concentración de 1X10 8 UFC/mL, donde se manejaron tres tiempos de crecimiento de las levaduras: 0 (T_0), 48 (T_{48}) y 96 (T_{96}) hr a 29 ± 1 $^\circ$ C. Por otra parte se reactivó en PDA el hongo *C. gloeosporioides*, para la prueba de antagonismo la placa que contenía al hongo se le hizo horadaciones cilíndricas (4 mm de diámetro por 5mm de altura), y se colocó en el centro de la placa petri que contenía a las levaduras con 0 (T_0), 48 (T_{48}) y 96 (T_{96}) hr de crecimiento, se incubaron a 29 ± 1 $^\circ$ C. A lo largo de 7 días se observó si las levaduras eran o no capaces de ejercer un efecto antagónico, al formar un halo de inhibición, se comparó con la colonia del hongo que crecía en los diferentes medios sin la presencia del antagonista. Las levaduras de colección (*Pichia guillermondii*, *Candida oelophila*, *Candida saitoana* y *Candida sake*), se realizó el mismo procedimiento para determinar si ejercían un efecto antagónico a *C. gloeosporioides*.

De las levaduras aisladas y que formaron un halo de inhibición se seleccionaron y se tomaron 25 μ L a una concentración de 1X10⁸ UFC/mL de cada una de las levaduras y se dispersaron en placas que contenían los medios utilizados (YPGA, YMGA, YPDA Y PDA), se incubaron a 29 \pm 1 °C por cuatro días. Por otra parte *C. gloeosporioides* se creció de forma individual, en PDA, se le hizo horadaciones cilíndricas 4mm de diámetro por 5mm de altura, y se colocó en el centro de la placa petri que contenía a las levaduras con cuatro días de crecimiento en los diferentes medios. A lo largo de 10 días se observó si el fitopatógeno era o no capaz de crecer sobre el antagonista, y se midió el radio final de la colonia del hongo, comparándose el valor con el de una colonia que crecía en los diferentes medios sin la presencia del antagonista.

Acción antagónica in vivo de levaduras seleccionadas en limones (Citrus aurantifolia)

Para los bioensayos *in vivo* sobre frutos se emplearon 72 limones (*C. aurantifolia*), se lavaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1.5% durante 1 min, se enjuagaron con agua destilada estéril, se dejaron secar en campana de flujo laminar por 10 min. En la zona ecuatorial de la superficie de los frutos se hizo una perforación con una navaja estéril en forma de cubo (5 mm por lado), con una profundidad de 9 mm.

Se manejaron dos diferentes métodos de inoculación de las levaduras y el hongo (C. gloeosporioides); en el primer método (M_1) se siguió el procedimiento propuesto por Abraham et al. (2010) y Sánchez et al. (2008) con algunas modificaciones, el cual se describe brevemente a continuación: en la herida se depositaron 20 μ L de caldo nutritivo se dejó secar, se agregaron 25 μ L de la suspensión de la levadura (1X10 8 UFC/ml) y se dejó secar durante 3 hr, posteriormente se inocularon 20 μ L de la suspensión del hongo (1x10 4 UFC/ml) en la herida, los frutos se colocaron en placas petri de vidrio estériles, las cuales se pusieron en palanganas desinfectadas y se incubaron a 29 \pm 1 $^{\circ}$ C; se determinó el diámetro de la lesión después de 4,8, 12, 16, 20 y 24 días de incubación. En el segundo método (M_2), en la herida se depositaron 20 μ L de caldo nutritivo se dejó secar, posteriormente se inocularon 25 μ L de la suspensión de la levadura (1X10 8 UFC/mL) y se dejó secar, se incubó durante 5 días a 29 \pm 1 $^{\circ}$ C, posteriormente se inocularon 20

 μ L de la suspensión del hongo (1x10⁴ UFC/mL) en la herida, los frutos se colocaron en placas petri de vidrio estériles, las cuales se pusieron en palanganas desinfectadas y se incubaron a 29 ± 1 ° C; se determinó el diámetro de la lesión después de 4,8, 12, 16, 20 y 24 días de incubación.

RESULTADOS

Aislamiento y purificación de levaduras de la superficie de hojas y frutas.

Un total de 33 levaduras se aislaron, de las cuales 14 levaduras fueron aisladas de hojas y 19 levaduras aisladas de frutos (tabla 1), en las hojas de Capulín fue donde se logró aislar más levaduras (figura 1), mientras que las hojas de chabacano y aguacate no se logró aislar levaduras; en los frutos se aislaron 19 levaduras de las cuales 10 corresponden a el chicozapote, 8 a frutos de ciruela y una a frutos de capulín (se colecto junto con las hojas), en los frutos: manzana, naranja.

Tabla 1. Levaduras aisladadas de superficie diferentes frutos y hojas

Levaduras aisladas de la superficie de Frutos	Levaduras aisladas de la superficie de Hojas
ChF-L1 ChF-L2 ChF-L3 ChF-L4 ChF-L5 ChF-L6 ChF-L7 ChF-L8 ChF-L9 ChF-L10 CiF-L1 CiF-L2 CiF-L3 CiF-L3 CiF-L4 CiF-L5 CiF-L6 CiF-L5 CiF-L6 CiF-L7 CiF-L8 CaF-L1	CaH-L1 CaH-L2 CaH-L3 CaH-L4 CaH-L5 CaH-L6 CiH-L1 CiH-L2 DH-L1 PH-L2 PH-L3 RH-L1 BgCO B7

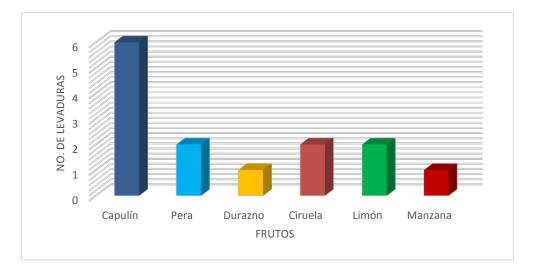


Figura 1. Total de levaduras aisladas de la superficie de hojas de diferentes frutos.

Influencia de los medios en el crecimiento de Colletotrichum gloeosporioides.

Las pruebas preliminares demuestran que los medios no afectaron el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* (Tabla 2).

Días	Medio YPDA	Medio YPGA	Medio PDA	Medio YMGA
1	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
2	5 mm	5 mm	4 mm	4 mm
3	1.5 mm	1.5 mm	1.4 mm	1.4 mm
4	2.8 cm	2.8 cm	2.7 cm	2.7 cm
5	4 2 cm	4.2 cm	4.1 cm	4.1 cm

Tabla 2. Crecimiento de Colletotrichum gloeosporioides en los cuatro medios utilizados

Pruebas cuantitativas de antagonismo de levaduras in Vitro

Los aislamientos elegidos fueron las levaduras denominadas ChF-L10, ChF-L8, Cif-L4 y CaH-L5 y la levadura *Candida oelophila* (Y-18845), ya que son las levaduras que fueron capaces de formaron halos de inhibición con respecto a *C. gloeosporioides*. Sin embargo, la cepa que siempre mostró los mejores resultados tanto en los tres tiempos de crecimiento y en los cuatro medios utilizados fue la cepa denominada CaH-L5, las cepas ChF-L10, ChF-L8, Cif-L4, el mejor tiempo fue T_{96} ya que mostraron mayor inhibición de *C. gloeosporioides* en los medios PDA, YPGA y YMGA, mientras que la cepa de *Candida oelophila* en el tiempo T_{96} es donde se observa mejor la formación de pequeños halos de inhibición en los cuatro medios utilizados a diferencia de los tiempos T_0 y T_{48} donde el hongo casi invade a las levaduras después de siete días de incubación.

El porcentaje de inhibición se calculó determinando la diferencia en porcentaje del área cubierta por *C. gloeosporioides* en ausencia y en presencia de la levadura. Así, un 0% es cuando la levadura no afecta la tasa de crecimiento del hongo, mientras que un 100% de inhibición significa que la levadura impide totalmente la extensión radial del hongo. Los resultados cuantitativos se muestran en la figura 4.

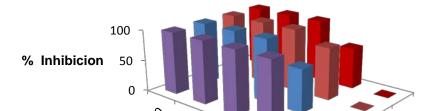


Figura 4. Efecto de las levaduras ChF-L10, ChF-L8, Cif-L4 y CaH-L5 en el porcentaje de inhibición *in vitro* de *C. gloeosporioides*.

A pesar de las de que las cuatro cepas de levaduras aisladas demostraron ser efectivas en el control de *C. gloeosporioides*, como lo podemos observar en la figura 4, los aislamientos ChF-L10, ChF-L8 y CaH-L5 mostraron los mejores resultados al inhibir al 100% en los cuatro medios, mientras que Cif-L4 el mejor medio fue PDA donde inhibió al 100%.

Efecto de los antagonistas en el desarrollo de la antracnosis en limón (*Citrus aurantifolia*). La capacidad de reducir el crecimiento de *C. gloeosporioides* de cinco cepas de levaduras demostrada en pruebas *in vitro* en frutos de limón, se confirmó mediante ensayos *in vivo*. En la figura 5 se muestra el efecto de la inoculación de *C. gloeosporioides* a heridas causadas en limones después de 22 días de haber inoculado el patógeno.



Figura 5. Desarrollo de la lesión causada por *C. gloeosporioides* en heridas de limones (*Citrus aurantifolia*) después de 22 días de incubación

También se puedo demostrar en el primer método de inoculación del antagonista y del fitopatógeno (M₁), las cepas que mostraron mejores resultados fueron: ChF-L10, CiF-L4, y *Candida oelophila*, sin embargo, la cepa ChF-L10 es la que presenta mayor inhibición en el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides*, a diferencia de las cepas CiF-L4 y *Candida oelophila* donde el crecimiento de *C. gloeosporioides* es mayor, aunque no presentan lesiones causadas por *C. gloeosporioides* como

en el caso de las cepas ChF-L8 donde es posible observar lesiones con 3 a 5 cm de diámetro y CaH-L5 con lesiones de 1 a 3 cm de diámetro.

En el segundo método de inoculación del antagonista y del fitopatógeno (M_2) , la cepa ChF-L10 demuestro resultados similares a los obtenidos M_1 , la cepa CiF-L4 manifiesta menor crecimiento micelial de C. gloeosporioides a diferencia del M_1 , sin embargo, la cepa CaH-L5 evidencio ser la mejor al no permitir el crecimiento micelial de C. gloeosporioides en comparación con el M_1 (Figura 6) donde es posible observar la lesión causada por el patógeno, en la cepa ChF-L8 el diámetro de la lesión fue 1 a 3 cm en comparación con el M_1 , mientras que C andida C oelophila mostró el mismo resultado que en C0.

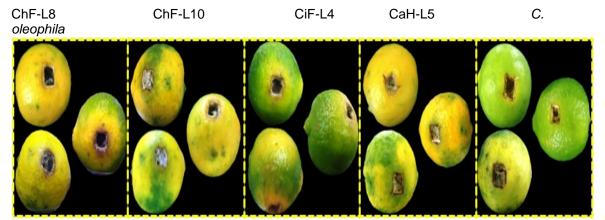


Figura 6. Ensayos *in vivo* del efecto antagónico de levaduras seleccionadas sobre el crecimiento y proliferacion de *C. gloeosporioides*

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se realizó el aislamiento de levaduras de diferentes hojas y frutos formando una colección de 38 cepas de las cuales 5 pertenecen a cepas de colección de Microbial Genomics & Bioprocessing del National Center for Agricultural Utilization Research USDA, 14 provenían de la superficie de diferentes hojas y 19 de la superficie de frutos. Toda esta colección se agrupo en base a su capacidad para utilizar los nutrimentos disponibles en los diferentes medios utilizados, resultando en la elección final 5 aislamientos, 3 de los cuales pertenecen a levaduras aisladas de la superficie de frutos, una de la superficie de hojas y una de colección.

Las cepas de levaduras que ejercieron mayor efecto de inhibición en ensayos *in vivo* en limones (*C. aurantifolia*) sobre el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* fueron ChF-L10, CiF-L4 y CaH-L5, sin embargo, la cepas CiF-L4 y CaH-L5 mostraron mayor inhibición cuando se inocularon 120 hrs antes que *C. gloeosporioides*

En conclusión, se aislaron, evaluaron de manera exitosa en ensayos *in vitro* e *in vivo* levaduras de la superficie de diferentes hojas y frutos, con alta capacidad antagónica contra *C. gloeosporioides*, es el primer paso en la selección de cepas de manera racional para el control biológico de la antracnosis post-cosecha de cítricos, un cultivo de importancia económica en nuestro país.

BIBLIOGRAFIA

- 1. Abraham A., D. Laing, J. Bower. (2010). Isolation and *in vivo* screening of yeast and *Bacillus* antagonists for the control of *Penicillium digitatum* of citrus fruit. Biological Control 53:32-38
- 2. Amiri A., G. Bompeix.(2005). Diversity and population dynamics of *Penicillium* spp. On apples in pre-and postharvest environments: Consequences for decay development. Plant Pathology 54: 74-81.

- 3. Andrews J. (1992). Biological control in the phyllosphere. Annual Review of Phytopathology 30:603-635.
- 4. Arras G. (1996). Modo of action of an isolate *Candida famata* in biological control of *Penicillim digitatum* in oranges fruits. Postharvest Biology and Technology 8:191-198.
- 5. Barkai-Golan R. (2001). Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables. Elsevier Science B.V. The Netherlands. 634 pp.
- Hernández- Lauzardo A., S. Bautista-Baños, M. Velázquez-del Valle, A. Hernández-Rodriguez. (2007). Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades post-cosecha en frutos. Revista Mexicana de Fitopatología 25:66-74
- 7. Janisiewicz W. y L. Korsten. (2002). Biological control of postharvest diseases of fruits. Annual Review of Phytopathology 40: 411-441
- 8. Ochoa J., L. Hernández-Montiel, H. Latisnere-Barragán, J. León de La Luz, C. Larralde-Corona. (2007). Aislamiento e identificación de hongos patógenos de naranja citrus sinensis I. osbeck cultivada en baja california sur, México. Ciencia y Tecnologia Alimentaria. 5(5) 352-359.
- 9. Ochoa R. y C. Ortega. (2005). La producción de cítricos en México y su competitividad en el mercado internacional. Revista Claridades Agropecuarias. ASERCA.159:36-51
- 10. Orozco-Santos M. (2001). Enfermedades presentes y potenciales de los cítricos en México. Universidad Autónoma Chapingo. Primera Reimpresión. México. 150 p.
- Orozco-Santos M., M. Robles-González, J. Vázquez-Jiménez, L. Timmer. (2008). Biología y manejo integrado de la antracnosis de los cítricos en México. 2ª Semana Internacional de la Citricultura.
- 12. Ronquillo E. (2007). Evaluación del potencial antimicrobiano de películas comestibles con aceites esenciales *in vitro* e *in situ*. Especialización en biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana División CBS Unidad Iztapalapa.

AGRICULTURA DE CONSERVACIÓN UNA ALTERNATIVA PARA DETENER LA DEGRADACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES E IMPACTOS AMBIENTALES

Sinhai Silva Najar, David García Hernández, Fernando Bahena Juárez

Universidad Tecnológica de Morelia UTM.

Instituto Nacional de Investigación Forestal Agrícola y Pecuarias INIFAP, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo UMSNH.

RESUMEN

La agricultura convencional es la más utilizada por lo que es común ver algún cultivo bajo esta técnica, sin embargo esta agricultura a largo plazo ocasiona degradación del suelo, erosión, perdida de materia orgánica entre otros. Hay varias personas que les preocupa este desgaste que existe en el suelo por lo que se han dado a la tarea de buscar técnicas para disminuir la degradación. Una de las técnicas que se ha estado implementando para detener el deterioro del suelo es la de conservación o agricultura de conservación, ya que disminuye los problemas derivados de la agricultura convencional, y fomenta lo mismos recursos naturales para detener la degradación del suelo, al mismo tiempo hay un aumentando de humedad, materia orgánica, organismos como por ejemplo Enquiteidos, Lumbricidos, entre otros. En este trabajo se compararon las características físicas químicas y bilógicas de una agricultura manejada con el sistema de conservación y otra bajo el sistema convencional. El lugar de estudio está ubicado en el Valle de Morelia-Queréndaro, en el municipio de Queréndaro, Mich., este trabajo se realizó en la temporada de Primavera-Verano, la siembra se realizó en el mes de marzo y la cosecha se realizó a mediados de julio, se trabajó con cultivo de trigo en caso de la agricultura de conservación que lleva 8 años implementando esta técnica, mientras que en la agricultura convencional fue de garbanzo. Las muestras tomadas fueron a tres profundidades diferentes, 0-10,10-20 y 20-30 cm; los parámetros que se midieron fueron físicos; resistencia a la penetración, humedad, cantidad de residuos vegetales y estabilidad de microagregados; biológicos; abundancia y riqueza de la fauna edafícola, al igual que microflora edafícola; hongos entomopatógenos; químicos; materia orgánica, los resultados obtenidos muestran una diferencia entre las dos parcelas al igual que la degradación que existe en la agricultura convencional, por el contrario la agricultura de conservación se ha mantenido estable, y en buenas condiciones para el desarrollo del cultivo, mientras que en la agricultura convencional nos muestra un desgaste existente en el suelo.

INTRODUCCIÓN

La agricultura es muy importante a nivel mundial, ya que con ella se producen diferentes tipos de alimentos para el hombre por ejemplo, frutas, hortalizas, cereales, al igual que es una fuente de trabajo para los ciudadanos.

La pérdida de fertilidad y erosión de los suelos, contaminación de los recursos naturales y del ambiente y la pérdida de la calidad natural de los alimentos, son algunos de los principales problemas que existen a causa de uso exhibo de los recursos.

En la actualidad existe un desgaste en el suelo a causa del abuso de los recursos al igual que a su mal manejo. Uno de los recursos que se a vuelto una problemática es el gasto excesivo del agua, por lo que la agricultura ocupa de este recurso para la producción de alimento. Según la FAO (1993). A medida que las poblaciones se expandan y las economías crezcan, la competencia por este escaso recurso se intensificará, y con ella, también los conflictos entre los usuarios del agua. Es por ello que la agricultura de conservación es una alternativa para detener este tipo de desgastes en el suelo, ya que esta abarca: una cobertura de suelo, que ayuda a mantener la humedad en el suelo, la rotación de cultivos, perturbación mínima de suelo. De acuerdo con Velázquez et al (2011) La Agricultura de Conservación es un sistema de prácticas agrarias basadas en la menor alteración posible del suelo y en el mantenimiento de una cobertura de restos vegetales. "La Agricultura de Conservación comprende una serie de técnicas que tienen como objetivo fundamental conservar, mejorar y hacer un uso más eficiente de los recursos naturales, mediante un manejo integrado del suelo, agua, agentes biológicos e insumos externos".

Objetivo general

• Contrastar las propiedades físicas, químicas y biológicas en un suelo manejado convencionalmente contra otro bajo agricultura de conservación. Para la recuperación de la calidad del suelo, midiendo los indicadores físicos, químicos y biológicos.

Objetivo específico

- Realizar determinaciones físicas, químicas y biológicas. En los físicos; resistencia a la penetración, humedad, densidad aparente, densidad real, porosidad, cantidad de residuos vegetales, porcentaje de residuos vegetales y estabilidad de microagregados; biológicos; abundancia y riqueza de la fauna edafícola, al igual que microflora edafícola; hongos entomopatógenos; químicos; materia orgánica.
- Realizar comparaciones físicas químicas y biológicas en un suelo bajo agricultura de conservación y agricultura convencional.

TEORÍA

Agricultura de conservación.

Los estudios sobre agricultura de conservación, indican que ésta práctica reduce los costos de producción por menor consumo de energía y tiene efectos benéficos sobre los nutrientes del suelo, el estado físico, la actividad biológica y el manejo del cultivo. Además de estos beneficios, en la región de estudio se ha logrado disminuir las quemas de los residuos de cosecha.

El objetivo de la Agricultura de Conservación (AC) es lograr una agricultura sostenible y rentable y en consecuencia dirigida al mejoramiento del sustento de los agricultores mediante la aplicación de los tres principios de la agricultura de conservación. (FAO 2015).

Agricultura convencional.

A principios de la Segunda Guerra Mundial, el movimiento agrícola conocido como revolución verde, ha promovido el desarrollo de una agricultura más que convencional, como se suele denominar, podríamos llamar industrializada. Esto último responde fundamentalmente, al empleo de abonos químicos y pesticidas, a la producción de nuevas variedades y a la progresiva mecanización de la forma de cultivo más practicada.

Todo lo dicho inicialmente dio lugar a un incremento de los rendimientos por unidad de superficie, lo cual el sector agrícola creyó que en las futuras generaciones se produciría el mismo efecto. Pero el efecto más inmediato fue la necesidad de intensificar el abonado químico y el empleo de productos fitosanitarios, lo que lleva al progresivo enriquecimiento de las industrias dedicadas a la fabricación de los productos químicos y a la inevitable degradación del ecosistema (Suana, 2012).

PARTE EXPERIMENTAL

Indicadores físicos

Resistencia a la penetración realizada con penetrómetro.

Humedad del suelo realizada con una termo-balanza.

Estabilidad de microagregados. Esta técnica se realizó de acuerdo a lo descrito por Kemper & Rosenau (1996).

Indicadores biológicos.

Cuantificación e Identificación de hongos, este trabajo se realizó en el laboratorio de agroecosistemas del CIEco, UNAM campus Morelia.

Indicadores químicos

Materia orgánica, realizada bajo la técnica de la Norma Oficial Mexicana-021-SEMARNAT-2000.

RESULTADOS

Indicadores físicos

Resistencia a la penetración

Como podemos observar en la ilustración 1 existe una diferencia notable entre ambas agriculturas, los datos registrados varían según la profundidad, donde hubo más resistencia a la penetración fue en la agricultura convencional rebasando los 3 MPa. De acuerdo con Warren (1985) la resistencia de penetración mientras más elevada sea afecta proporcionalmente la penetración de las raíces en el suelo y funcionan como un factor de crecimiento radical.

La agricultura convencional tiene una resistencia de penetración muy elevada como se puede observar después de los 20 cm la resistencia aumenta, sin embargo en la agricultura de conservación la resistencia es menos por lo tanto no afecta las raíces y el cultivo crece de manera favorable.

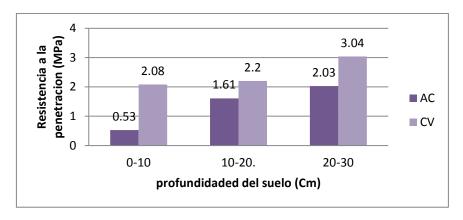


Ilustración 1. Resistencia a la penetración (MPa).

Humedad del suelo

El porcentaje de humedad en la agricultura de conservación (AC) va de 12 a 17%, en cuanto a la agricultura convencional (CV) va de 9 a 11%. Podemos observar en la tabla 1 los porcentajes de humedad que existen en los estratos de 0-10, 10-20, 20-30, los valores más alto de humedad son en el estrato de 0-10. En agricultura de conservación (AC) podemos observar que el mayor porcentaje de humedad es de 0-10 y de 20-30 mientras que el porcentaje mínimo se encuentra en el estrato 10-20 cm. En la agricultura convencional (CV) podemos observar en la tabla los estratos de humedad más altos son de 0-10 y 10-20, mientras que el porcentaje minio se encuentra en el estrato más profundo de 20-30cm.

La humedad es fundamental en el comportamiento de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. El agua transporta sustancias a través del perfil de este. El régimen de humedad de un suelo determina los tipos de plantas que crecerán en este, afectando la forma en que se distribuyen las raíces. De acuerdo con Warren 1985. El contenido de humedad de los suelos típicamente se encuentra en un rango de 5 a 50 % cuando se encuentran en su máxima capacidad de retención.

Tabla1. Porcentajes de humedad en el suelo. En las tres profundidades.

Porcentaje de humedad en el suelo (%

Profundidad (Cm)	0-10		10-2	20	20-30		
Manejo	AC	CV	AC	CV	AC	CV	
Promedio	15.90	11.07	13.71	10.79	12.70	9.39	
Máximo	17.36	13.68	13.55	12.67	14.99	11.13	
Mínimo	12.69	5.99	11.4	9.35	8.37	5.99	

La cobertura vegetal juega un papel importante en la humedad ya que esta influye a la retención de agua y por consecuencia hay presencia de humedad, mientras más cantidad de cobertura existe en un cultivo más alto es el porcentaje de humedad, por lo que cabe mencionar que la agricultura de conservación tiene un porcentaje mayor de humedad que la agricultura convencional ya que en esta no existe una cantidad de cobertura vegetal.

Estabilidad de microagregados

Agua

La agregación del suelo es considerada una excelente herramienta para evaluar la calidad del suelo porque integra propiedades edáficas (físicas, químicas y biológicas), es fácil de medir, sensible a variaciones del clima, manejo, y detecta cambios en el suelo como resultado de la degradación antropogénica. Hoy en día, es de importancia conocer el comportamiento de la agregación del suelo en situaciones climáticas y topográficas típicas del ecosistema BTC, porque está relacionado con la capacidad de amortiguamiento del suelo ante el cambio de uso y con los procesos de erosión. (Martínez 2007). Podemos observar en la ilustración 3 la estabilidad de agregados con agua, la agricultura de conservación conforme a la profundidad del suelo, el estrato de 0-10 cm es mayor que el estrato de 20-30 cm. En caso de la agricultura convencional es mucho menor el porcentaje de estabilidad de agregados con agua que la agricultura de conservación, podemos decir que el suelo es más estable en la agricultura de conservación

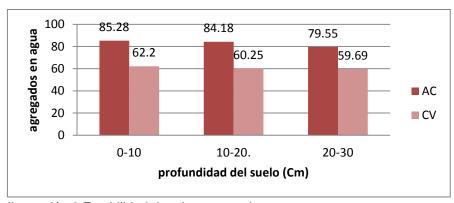
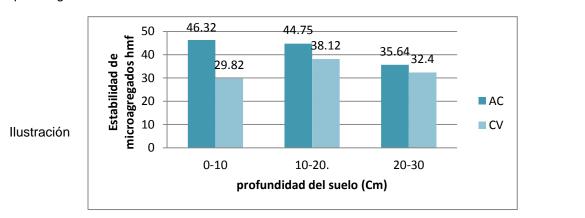


Ilustración 3. Estabilidad de microagregados en agua.

Hexametafosfato de sodio (HMF)

La agregación del suelo es el proceso mediante el cual sus partículas primarias, arena, limo y arcilla, se unen formando unidades secundarias, agregados, debido a la acción de fuerzas naturales y a sustancias derivadas de exudados de las raíces y provenientes también de la actividad microbiana. Así, la estabilidad de agregados del suelo, por ser una característica edáfica dinámica, es considerada un indicador sensible de tendencias a la recuperación o degradación de los suelos. (Adrián Gabioud 2011). La estabilidad de microagregados con Hexametafosfato en agricultura de conservación es mayor que en la agricultura convencional como lo podemos ver en la ilustración 4. En la agricultura de conservación (AC) el porcentaje va disminuyendo de la profundidad de 0-10 cm a la 20-30 cm, manteniéndose mayor a la agricultura convencional. Por el contrario la agricultura convencional tiene un bajo porcentaje en la profundidad de 0-10 cm, aumentando en la profundidad de 10-20 cm pero disminuyendo en la profundidad de 20-30 cm.Por lo que existe una notable diferencia, y el suelo de la agricultura de conservación es más estable que la agricultura convencional.



.Estabilidad de microagregados en hexametafosfato.

Indicadores biológicos

Cuantificación e identificación de hongos.

Los hongos entomopatógenos, son microorganismos que viven a expensas de insectos de diferentes órdenes en forma natural, no causan daño al hombre, animales ni plantas. Requieren una adecuada humedad, pH y temperatura para su natural dispersión e infección, dependiendo de cada especie de hongo. Los hongos entomopatógenos actúan por contacto en los diferentes estadios de los insectos plaga. (Miguel 2011). Este procedimiento se realizó específicamente para obtener hongos entomopatogenos. Dentro de los resultados que se obtuvieron se encontraron dos hongos entomopatogenos que corresponden a las descripciones de *Metarhizium anisopliae y Paecilomyces fumosoroseus*. Se encontraron 15 colonias de las cuales en la tabla 10 se describe su morfología de cada uno de los cultivos, con las diluciones de 10⁻¹ - 10⁻⁴ al igual que el promedio. Solo dos características de hongos entomopatogenos se encontraron los cuales fueron *Metahrizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus d*onde la presencia fue calculada en U.F.C/ g de suelo seco (tabla 2)

Tabla 2. U.F.C/ g de suelo seco de los hongos de interés, entomopatogenos,

		= 6,,
Parcela	Hongo de interés	U.F.C/ promedio/G de suelo

4

		seco
Agricultura de conservación	Metarhizium anisopliae	3.2E+01
Agricultura convencional.	Paecilomyces fumosoroseus	0.1E+01

Indicadores Químicos

La cantidad de materia orgánica en la agricultura de conservación el mas alto porcentaje es de 11.1%. En la agricultura convencional el porcentaje de materia orgánica más alto es de 6.1%. En la tabla 4 podemos observar los porcentajes mínimo, máximo y promedio de cada profundidad, tanto en la agricultura de conservación (AC) como en el agricultura convencional (CV). En el primer estrato de 0-10 cm podemos notar un porcentaje de materia orgánica mayor en la agricultura de conservación sin embargo esta disminuye en el tercer estrato, en la agricultura convencional se nota el mismo incremento al igual que disminuye en el tercer estrato, sin embargo existe una diferencia entre una agricultura con otra teniendo el mayor porcentaje de materia orgánica la agricultura de conservación.

Tabla 4.Porcentaje de materia orgánica en el suelo.

Porcentaje de materia orgánica en el suelo (%)

Profundidad (Cm) 0-10		·10	10-	20-30		
Manejo	AC	CV	AC	CV	AC	CV
Promedio	7.66	5.24	5.66	3.9	6.45	4.6
Máximo	11.2	6.1	7.6	6.9	6.9	6.1
Mínimo	5.3	3.7	4.2	3	5.3	2.8

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana-021-SEMARNAT-2000, la agricultura de conservación (AC) está en un porcentaje de materia orgánica muy alto en el promedio y en el máximo del primer estrato en el segundo estrato se encuentra alto en el promedio mientras que en el máximo se encuentra muy alto, al igual que en el tercer estrato el promedio y el máximo se encuentran muy altos, manteniéndose en los dos estratos en el mínimo. En la agricultura convencional CV) en el promedio y en el máximo se mantiene en alto, en el segundo estrato en promedio se encuentra alto, al igual que el tercer estrato, mas sin embrago en mínimo el porcentaje de materia orgánica se encuentra medio disminuyendo conforme a la profundidad de 0-10cm a 20-30 cm

CONCLUSIONES

La resistencia a la penetración en el sistema convencional presenta una mayor resistencia por lo que este es un problema ya que las raíces del cultivo no crecen evitando, por el contrario con el sistema de conservación este presenta una menor resistencia por lo que es favorable para el cultivo el desarrollo de las raíces. .

La humedad del suelo en el sistema de conservación es más alta que en el sistema convencional ya que la cantidad y porcentaje de cobertura que existe influye mucho, en el caso del sistema de conservación ayuda a mantener la humedad en el suelo esto disminuye el uso de agua en el riego, en cambio en el sistema de agricultura convencional este no cuenta con cantidad de cobertura vegetal elevado es por ello que el porcentaje de humedad es bajo.

En caso de la Estabilidad de agregados con agua si se tubo diferencias significativas, en caso de la agricultura de conservación tiene un porcentaje arriba de 80 lo que lo hace un suelo estable, y no es susceptible a la erosión del suelo, por lo contrario con la agricultura convencional, este tiene un porcentaje de 60 por lo que lo hace un suelo menos estable y está expuesto a la erosión del suelo y a su vez a la degradación ya que no está protegida.

En la microflora edaficola se describieron 15 colonias y levaduras de ambas agriculturas, sin embargo solo se encontraron dos hongos entomopatogenos, en la agricultura de conservación se encontraron varias colonias de *Metarhizium snisopliae* y en la agricultura convencional solo se encontró una colonia de *Paecilomyces fumosoroseus*

La cantidad de materia orgánica encontrada en la agricultura de conservación fueron muy altos en el primer estrato disminuyendo conforme a la profundidad del suelo, en el último estrato tiene un valores medio, por lo contrario con la agricultura convencional esta se mantiene en alto en el primer estrato, y en el último estrato se tiene un valor bajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Velázquez García Jaime de Jesús, Fernando Bahena Juárez Aurelio Báez Pérez Luis Enrique Fregoso Tirado Folleto Núm. 29 "la labranza de conservación y los indicadores de calidad de suelo en el valle de Morelia- Querendaro Michoacán". 2011
- 2. Norma oficial mexicana 021-SEMARNAT-2000
- 3. Agricultura de conservación Disponible en la world wide web www.agriculturadeconservacion.org
- Agricultura de conservación y transferencia de tecnología para productores del valle de Morelia-Querendaro, Michoacán vía asistencia técnica e investigación loca. Fundación produce Michoacán A.C.
- 5. Suaza Doris Elena ing. Agrónoma Especialista .De la agricultura convencional a la agricultura ecológica una transformación necesaria. 2011
- 6. Insectos benéficos, miguel B. Nájera Rincón y Brígida Souza noviembre 210
- 7. Dr. Fernando Bahena Juárez Dr. Jaime de Jesús Velázquez García. La agricultura de conservación de riego en el valle de Morelia Querendaro folleto núm. 31 agosto 2012
- 8. Ficha tecnica CB-08 control microbial de mosca pinta Aeneolamia spp. Con Metarhizium anisopliae
- 9. Nematodos Disponible en la world wide web http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/nematodos-generalidades.html#
- Fabio Germán Cupul-Magaña, Guía para la determinación de las familias de ciempiés (Myriapoda: Chilopoda) de México Interciencia, vol. 36, núm. 11, noviembre, 2011, pp. 853-859. Asociación Interciencia
- 11. Estadios inmaduros de insectos de los ordenes coleotera, díptera y lepidotera, manual de reconocimiento, Daniel Cot. A. centro agrónomo tropical de investigaciones y enseñanzas.
- 12. The Genus *Ceraeochrysa* (Neuroptera: Chrysopidae) of America North of Mexico: Larvae, Adults, and Comparative Biology CATHERINE A. TAUBER,1 TERESA DE LEO´N, NORMAN D. PENNY,2 AND MAURICE J. TAUBER.
- 13. Niveles de materia orgánica y pH en suelos agrícolas la región de pampeana y extrapampeana argentina. Hernán Sainz rozas, Hernán E. y Hernán Angelini
- 14. Artículo científico Estimación de la resistencia a la penetración de suelos usando redes neuronales artificiales Prediction of the soils penetration strength using artificial neural networks Nidia Johana Valdés Holguín¹, Luis Octavio González Salcedo², y Adrián L. E. Will³
- 15. Departamento de Ingeniería, Grupo de Investigación en Materiales y Medio Ambiente, Facultad de Ingeniería y Administración, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Profesor Adjunto, Departamento de Matemática, Universidad Nacional de Tucumán, Avenida Independencia 1800, Miguel. 2011

CALIDAD FÍSICA Y FISIOLÓGICA EN SEMILLAS DE AMARANTO PARA SU ESTABLECIMIENTO EN EL VALLE DEL MEZQUITAL

Callejas Hernández Judith, Hernández Guzmán Filogonio de Jesús, Medina González Berenice Monserrat, Pérez Estrada Itzel.

Ingeniería en Agrotecnología, Universidad Politécnica de Francisco I. Madero Ingeniería en Producción Animal

Universidad Politécnica de Francisco I. Madero. Domicilio Conocido S/N, Tepatepec. Municipio de Francisco I Madero, Hidalgo. México. C.P. 42660. *Autor de correspondencia. judith_callejas@yahoo.com.mx, jcallejas@upfim.edu.mx

RESUMEN

El amaranto es uno de los alimentos más antiguos entre los conocidos, se han descrito distintos tipos que representan buena adaptación a diferentes condiciones ambientales y culturales. La calidad de grano es alta, ya que tiene 17% de proteína con un buen balance de aminoácidos esenciales. En el trabajo se realizó la caracterización física y fisiológica de dos variedades de amaranto Nutrisol y Revancha para su posterior establecimiento en campo. El material consistió en 500 g de cada una; para la caracterización física se realizó: pureza, humedad, peso volumétrico, peso por semilla y en las pruebas fisiológicas: conductividad eléctrica, viabilidad, germinación y envejecimiento acelerado. Para la germinación la variedad Nutrisol mostro los mejores porcentajes (95%), en prueba de viabilidad (90%) que califica como semilla de alto vigor, mientras que la variedad Revancha presenta (80%) de germinación y (68%) de viabilidad, porcentaje bajo que indica que esta variedad es preferible utilizarla para consumo humano y como grano en la dieta de animales. Las dos variedades no mostraron diferencia significativa en pureza, peso volumétrico, peso individual. Las pruebas bajo condiciones de estrés (temperatura y tiempo de exposición) no afectan la tasa de germinación en ambas variedades por lo que la variedad Nutrisol es recomendable para poder establecerla en campo al mostrar alto porcentaje de germinación y valores aceptables de CE.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de *Amaranthus spp.*, mejor conocido como amaranto, es uno de los cultivos más antiguos de mesoamérica, los aztecas, mayas, incas, pueblos recolectores y cazadores lo consumían en igual importancia que el maíz y el fríjol, (Asociación Mexicana del Amaranto, 2010).

Entre los aztecas, el amaranto se ofrecía como tributo a los dioses, se consumía en forma de atole porque se consideraba que aportaba fortaleza física, sin embargo a la llegada de los españoles su cultivo y consumo fue prohibido. Solamente sobrevivió en pequeñas áreas de cultivo esparcidas en zonas montañosas de México y los Andes (Asociación Mexicana del Amaranto, 2010; Franco, 2010).

Actualmente se cultiva y consume en Puebla, Estado de México, Morelos, Tlaxcala, Distrito Federal, Jalisco y Oaxaca y en menor importancia se cultiva en Michoacán, Chihuahua, Durango, Hidalgo, Nayarit y Nuevo León (SAGARPA-SIAP, 2010).

La familia *Amaranthaceae*, está compuesta de 60 géneros y alrededor de 800 especies. Hunziker (1991) estima que en el mundo existe poco menos de 90 especies del género *Amaranthus*, sumando a las 17 del viejo mundo, 14 australianas y 56 de América, éstas últimas incluyen 10 especies dioicas, entre EE. UU. y México, lo cual son 29 especies (Espitia *et al.*, 2010).

En México para los años 80's este cultivo fue revalorado por la sociedad, por ser uno de los cereales más ricos en proteínas y minerales esenciales para el hombre, entre ellos lisina (Moreno et al., 2005). La caracterización física y fisiológica en semillas de amaranto permite planear de mejor manera la emergencia en campo y de éste modo, tener la cantidad recomendable de plantas por hectárea, también es útil para conservar en buen estado la semilla durante el almacenamiento, tomando en cuenta la pureza, humedad, peso volumétrico, número de semillas y tamaño,

indicativos importantes en el proceso de producción que indicaran la adaptabilidad de la semilla a diferentes condiciones ambientales y culturales además de su rendimiento. Es por ello que se realizó la caracterización física y fisiológica de dos variedades de amaranto (Nutrisol y Revancha) para su establecimiento en campo.

PARTE EXPERIMENTAL

El material consistió en 500 g de dos variedades de semilla de amaranto, Nutrisol y Revancha adquiridas en el Colegio de Postgraduados campus Montecillo, estado de México. Se realizó la caracterización física y fisiológica mediante las siguientes pruebas:

Evaluación de tamaño de semilla: se realizó una homogenización para determinar el tamaño uniforme de las dos variedades de amaranto, se midió largo, ancho y grosor de semilla. Posteriormente se colocaron 200 g en un agitador mecánico durante 5 min, para homogenizar el tamaño.

Para la pureza se pesaron 3 g de muestra y se separó en tres componentes: semilla de la especie, otras semillas y material inerte (piedras, partículas de suelo y fragmentos de plantas). Se consideran semillas normales o intactas, de tamaño inferior al normal, arrugadas, enfermas o germinadas, siempre que puedan ser identificadas como pertenecientes a la especie analizada (ISTA 1996).

Humedad: se utilizó el método directo de estufa, se colocaron 2 g en la estufa a una temperatura de 103 °C durante 5 h, obteniendo así el contenido de humedad mediante diferencia de peso de semilla antes y posterior al secado (Moreno, 1996).

Peso volumétrico: se llenó una probeta de 50 ml, posteriormente se determinó el peso de la semilla con una balanza analítica.

Número de semillas en 1 g: se pesó 1 g y se contó la cantidad de semillas. De igual manera se registró el peso de 1000 semillas, contando ocho repeticiones de 100 semillas tomadas al azar a partir de la muestra de trabajo, registrando el peso de cada una.

Viabilidad de semilla: se preparó la solución al 1% de tetrazolio, se muestrearon al azar 120 semillas, previamente remojadas (24 h), posteriormente, se disectaron lateralmente para exponer las estructuras embrionarias a la solución de tetrazolio (cloruro de 2,3,5 trifenil tetrazolio). Los cortes se colocaron en cajas petri y permanecieron sumergidos por 10 h en la solución a temperatura ambiente y en condiciones de oscuridad, la solución se decantó y las semillas se lavaron con agua destilada colocándolas en papel filtro húmedo. Para evaluar la viabilidad se estimó la intensidad de la tinción, de rojo intenso a rosa fuerte: se clasificó como semillas viables, de rosa pálido a blanco, como no viables (ISTA, 1996), clasificándolas en un nivel de viabilidad, respecto al porcentaje de germinación.

Prueba de vigor: para la prueba de conductividad eléctrica (CE) se utilizaron las muestras tratadas en la prueba de humedad. Las semillas previamente se pesaron y posteriormente fueron colocadas para embeber en 50 ml de agua desionizada durante 24 h, a 25 ° C. Después de colocar las semillas en frascos se registró el valor de la CE a diferentes tiempos: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 24 horas, el valor de cada lectura de conductividad eléctrica fue dividido por el respectivo peso de la muestra y los resultados fueron expresados µS cm⁻¹ g⁻¹ de semilla (Fachini *et al.*, 2004).

El análisis estadístico para cada tratamiento y sus respectivas réplicas fue realizado mediante un análisis de varianza en el programa estadístico SAS 9.0 y se realizaron pruebas de comparación de medias de Tukey. Para minimizar el error en cada prueba se llevó a cabo por triplicado, lo que indica que las determinaciones guardan un grado de confiabilidad aceptable.

RESULTADOS

En este estudio conocer el vigor de las semillas así como el contenido de sus reservas, para el crecimiento de la plántula en las etapas postgerminativas, es importante, ya que permite establecer la respuesta de estas a las condiciones del medio (Bewley *et al.*, 2013). Algunos autores reportan que el tamaño de la semilla está relacionado directamente con las condiciones ambientales bajo las cuales se desarrollaron, si las semillas se desarrollaron bajo estrés hídrico serán más pequeñas y menos vigorosas (Mc Donald, 1994; Li *et al.*, 1996; Bewley *et al.*, 2013) y como consecuencia tendrán materiales de reserva limitados que se agotarán rápidamente tras iniciarse la germinación, lo cual es crucial cuando se trata de semillas pequeñas como es el caso del amaranto, las cuales son más sensibles a cambios ambientales en comparación con especies de mayor tamaño. El tamaño de semilla, en muchas especies es indicativo de la calidad fisiológica, en estos casos las de mayor peso y tamaño presentan mayor porcentaje de germinación y mayor vigor (Popinigis, 1985).

En la distribución de tamaño de las semillas, el análisis mostró diferencias, siendo la variedad Revancha la que presenta mayor tamaño (largo, ancho y grosor) y menor variedad entre el tamaño de semillas. De acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE INEN 2646:2012) las variedades se pueden clasificar en el grado 2 (0.87 a 1.13 mm) para revancha y 3 (< 0,87) para nutrisol, la prueba muestra que el tamaño tiene una relación con el número de semillas en 1 g y por lo tanto el posible número de plantas.

Se evaluó la pureza y materia inerte de las semillas, contemplando como impurezas los restos de materia orgánica, presencia de insectos y semillas de otros cultivos o malezas, semillas quebradas e infestadas. Los resultados son favorables para las variedades (P>0.05), ya que se registró que no existe diferencia significativa, figura 1. De acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE INEN 2646:2012) se considera un amaranto limpio aquel que presenta impurezas por debajo del 5%, por lo que únicamente la variedad nutrisol cumple con esa especificación.

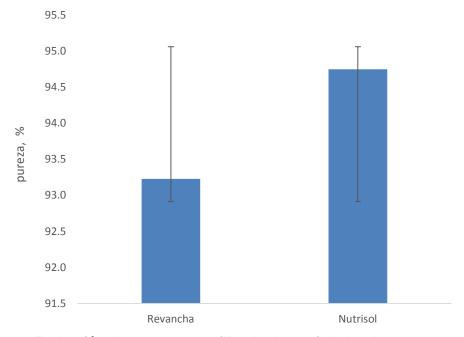


Figura 1. Evaluación de pureza en semillas de dos variedades de amaranto, no hay diferencia entre las variedades en estudio.

En la prueba de peso volumétrico, peso individual y en el porcentaje de humedad (P>0.05), no se observó diferencia sin embargo en el peso de mil semillas las dos variedades son estadísticamente diferentes (P<0.01). La humedad es un factor importante para el manejo poscosecha, es indispensable que la humedad sea inferior al 14%, condición que cumplen, ya que la humedad de las dos variedades se encuentra entre el 11.3 y 11.5 %, esto con la finalidad de evitar pérdidas

innecesarias o el deterioro prematuro del grano (fermentación, formación de mohos, ataque de insectos y pudrición del mismo) (Ramírez, 2010). En características fisiológicas se encontró diferencia significativa en la conductividad eléctrica para ambas variedades. Respecto a viabilidad son estadísticamente diferentes (P<0.01). La variedad Nutrisol presentó la menor conductividad eléctrica y mayor porcentaje de viabilidad, lo cual indica que esta variedad de semillas presenta mayor calidad, y que se ve reflejada en altos porcentajes de germinación en pruebas de laboratorio, cercanos al 95% y en pruebas de viabilidad un 90%. Cuando se presentan valores de CE por encima de 45 y hasta 85 µS cm-1 q-1 las semillas son clasificadas como semillas de alto vigor, de acuerdo a lo reportado por Facchini y colaboradores, (2004) para la soja; de esta manera puede decirse que la variedad Nutrisol es una semilla de alto vigor. En condiciones de almacenamiento esta variedad puede permanecer durante mayor tiempo y después ser utilizada para la siembra en campo y competir contra malezas y sobrepasar seguía intraestival en terrenos de temporal (Hernández-Guzmán et al., 2015). La variedad Revancha presenta un porcentaje considerablemente alto de germinación, 80-85%. Respecto a los resultados de CE se obtuvo 87 µS cm-1 q-1, que clasifica a la semilla de vigor medio (Facchini et al., 2004), no obstante los resultados de viabilidad corresponden a los más bajos (68%). Las pruebas estadísticas muestran diferencias significativas, esto puede corroborarse mediante pruebas de envejecimiento acelerado, donde se observó que los tratamientos aplicados no inciden con los porcentajes de germinación, por lo que las dos variedades de semillas son consideradas de alto vigor.

CONCLUSIONES

Las dos variedades de semillas estudiadas no mostraron diferencia en pureza, peso volumétrico y peso individual. Las semillas con porcentajes de germinación mayores al 90% son clasificadas como semillas de alto vigor, hecho que se corrobora mediante pruebas de CE, las cuales presentan valores entre 45-85 µS cm-1 g-1, que corresponde a los valores encontrados con la variedad Nutrisol. Semillas con CE por arriba de 85 µS cm-1 g-1 son consideradas de vigor medio y presentan germinación por encima del 80% y menor al 90% (Revancha). De esta manera se deduce que las condiciones de estrés (temperatura y el tiempo de exposición) no afectan la tasa de germinación en las dos variedades estudiadas; ya que la calidad de las semillas está determinada por tres factores de gran importancia, como el estado del embrión (indica la viabilidad y vigor de la semilla), la humedad y sanidad. Por lo que la variedad Nutrisol es recomendable para poder establecerla en campo al mostrar alto porcentaje de germinación y valores aceptables de CE, mientras la variedad Revancha es preferible utilizarla para consumo humano y como grano en la dieta de animales.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Bewley, D. J., K. J. Bradford., H. W. M. Hilhorst, and H. Nonogaki. Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy. 3rd ed. Springer Science. 2013. 399 p.
- 2. Espitia, R. E., Mapes, S. C., Núñes, C. C. A. y Escobedo, L. D. Distribución geográfica de las especies cultivadas de Amaranthus y de sus parientes silvestres en México. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 1(3). 2010. 427-437pp.
- 3. Faccini, D. y Puricelli, E. Efecto de la temperatura y de la luz sobre la germinación de Nicotiana longiflora Cavaniles y Oenothera indecora Camb. Agríscientia. 22. 2006. 15-21pp
- 4. Fachini C. J. C., Daiton V. R. y Sandro D. A. Electrical conductivity and soybean seedling emergence. Sci. Agric. 2004. 386-391.
- 5. International Seed Testing Association (ISTA). International rules for seed testing. Seed Sci. and Tech. 24 (suppl). 1996. 243p.
- 6. Popinigis, F. Fisiología da Sementes. 2 ed. Brasilia, Editora Grafica e Fotolito. 1985. 289p.
- 7. SIAP (Servicios de Información Agroalimentaria y Pesquera). Cierre de la producción agrícola por cultivo. SAGARPA. 2014. México.
- 8. Ramírez, V. M L. Calidad física y fisiológica en la semilla e industrial en el grano de *Amaranthus. Hypochondriacus* en la fertilización y densidad de población. Tesis de Doctorado en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 2010. 90 p.

TÉCNICAS BÁSICAS PARA LA EVALUACIÓN DEL SEMEN DE TRUCHA Oncorhynchus mykiss

Cortés - García Araceli, Bustamante-González Jesús D., Rodríguez Gutiérrez Martha y Renteria - González, Mariela

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C.P. 04960, Ciudad de México e- mail: acortes@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

La evaluación sobre las características del semen en peces es esencial en la acuicultura, con el objetivo de optimizar la eficiencia reproductiva principalmente de especies de interés comerciales, para incrementar la producción y comercialización. La calidad espermática está relacionada con el volumen, la concentración, la viabilidad, la motilidad y la morfología. Sin espermatozoides viables, no habría fertilización de los óvulos y la producción de embriones, por lo que es necesario contar con técnicas para su evaluación. En el caso de los óvulos se ha considerado que después de la extracción hasta pasando ocho horas es viable, solo considerando que no estén expuestos a la luz y que estén en un lugar fresco sin tener contacto con el agua, debido a que ambos gametos se activan. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es describir las técnicas empleadas por el Laboratorio de Reproducción, Genética y Sanidad Acuícola que ayudan a la evaluación de la espermática en peces de interés comerciales.

Palabras clave: esperma de calidad, concentración, viabilidad, motilidad y morfología.

INTRODUCCION

La acuacultura es una actividad que actualmente se instituye como alternativa para la producción, de organismos acuáticos, debido a que aportan un alto aporte nutricional para la población. En la reproducción artificial de muchas especies de peces el principal objetivo es incrementar las tasas de viables de los gametos en tanto que existen técnicas diversas que ayudan a determinar si las características del semen y óvulos son aptos para la fecundación.

En México, la actividad acuícola se encuentra en crecimiento, sin embargo, se carece de protocolos de operación estándar y técnicas que faciliten el análisis y evaluación de los procesos de producción imposibilitando contar con indicadores de rendimientos (Rodríguez *et al.,* 2007)

Las características que se consideran para evaluar la calidad espermática pueden ser cualitativos y cuantitativos, como es la producción de volumen, concentración de espermas/mL, pH, la duración del movimiento del espermatozoide que es motilidad, densidad, consistencia, color, poder fecundante descrito como viabilidad y morfología del esperma, en tanto en los óvulos se determina el tamaño, color, presencia o ausencia de fluido ovárico, pH del fluido ovárico, (Rurangwa et al., 2004, Hajirezaee et al., 2010), siendo que el volumen, concentración y motilidad determinar las tasas de fecundación (Cabrita et al., 2014).

TEÓRIA

Las gónadas de los peces en general son pareadas su tamaño y color dependerán del estadio de madurez sexual, siendo de color ámbar a anaranjado los ovarios, mientras que los testículos serán de color transparente a blanco (Rodríguez, 1992).

El testículo de la trucha arco iris está formado por dos sacos lobulares, alargados de color blanco, suspendidos en la cavidad celómica localizados ventro-lateralmente a la vejiga hidrostática, se fusionan hacia la región caudal, dando origen al conducto deferente corto que llega hasta el poro urogenital. Están unidos entre sí por una lámina de tejido conectivo que los mantiene unidos a la vejiga hidrostática; cuando inmaduros son de color blanco transparentes, delgados, cilíndricos y simétricos (Salas y López, 2012).

Billard y Cosson (1989); Cosson (2008); Alavi *et al.* (2008) reportan que el volumen del semen refleja el rendimiento y la concentración espermática, siendo este último quien influyen en las tasas de fertilización por lo cual, es de suma importancia contar con estos indicadores.

Los parámetros cualitativos del semen depende de la composición del líquido seminal, volumen de semen, densidad espermática y la motilidad del esperma (Rurangwa *et al.*, 2004). El semen tiene composición única en cuanto a la presencia de componentes orgánicos e inorgánicos que soportan la viabilidad de los espermatozoides (Hajirezaee *et al.*, 2010) el número y capacidad fecundante del espermatozoides, motilidad y la densidad espermática determinar la tasa de fecundación.

PARTE EXPERIMENTAL

Dentro de las características cuantitativas se registra el volumen que se lleva a cabo directamente de tubos graduados y que se deben resguardar las muestras en una hielera, no expuestas a la luz. El pH comúnmente se utiliza un potenciómetro que hay de diferentes características y lo interesante es contar con el modelo HANNA HI900 que contiene un electrodo fino que hace que no retenga muestra en sus paredes y esto sea desventaja para las muestras pequeñas.

El volumen se obtiene mediante ligera presión abdominal en dirección opérculo-caudal, se colecta en tubos graduados con capacidad de 50 mL y se asegura que las muestras no se contaminaran con orina, heces, sangre y agua (Rodríguez *et al.*, 2007; 2012; Nynca *et al.*, 2012).

Para el conteo de espermatozoides/mL se utiliza la técnica Coffin (1959) citado por Rodríguez (1992) y Bustamante (2016) utilizando muestra madre que es fijar en 950

Vicone ellonpoiste si ormente ta especie y 50 🗌

se cargan muestras previamente diluida y homogeneizada en la cámara de Neubauer, con una micropipeta se obtienen 10 µL, y por capilaridad se llenan ambos lados, y dejar reposar durante 5 minutos, para su posterior conteo con el Software Image-Pro Versión 5.1, seleccionando el cuadrante e indicando las células a contar. Con los resultados se aplica la siguiente fórmula: No. espermatozoides = $\Sigma(5)(5x10^4)(30)(D)$ Donde: $\Sigma(5)$ = sumatoria de los cuadrantes contados. (5 x 10^4) = volumen de la cámara Neubauer; (30) = veces de dilución madre y (D) = dilución. La densidad (g) se evaluó a partir del cociente del peso entre el volumen del semen. Con la micropipeta se tomó un mililitro de semen y se obtuvo el peso (g) mediante una balanza analítica

Para calcular la densidad del semen se utilizó la siguiente fórmula (Rodríguez, 1992).

$$D = \frac{w}{V}$$

En donde: D= densidad, W= peso del semen (g) y V= volumen del semen (mL).

marca: OHAUS Adventur con tres repeticiones.

La motilidad se lleva a cabo con la observación en el Microscopio óptico Olympus, en donde en un portaobjetos se coloca una microgota de semen, dándole el enfoque a 40x y en seguida se asuma una microgota de agua salina al 0.1% para la activación al movimiento y cuando este termina se registra la duración del movimiento flagelar, que para los expertos puede ser clasificada en tiempo vigoroso, decrece y termino. Este se recomienda hacer por triplicada la muestra y casi enseguida de la extracción del semen.

Para las características cualitativas del semen se consideran el color (blanco/amarillo/rosado) en donde se obtiene al momento de su extracción.

La consistencia (lechoso/cremoso/acuoso) (Navarro et al., 2004). Es un parámetro que ayuda a predeterminar la presencia del flujo seminal presente en la muestra.

RESULTADOS

El laboratorio de Reproducción, Genética y Sanidad Acuícola ha aplicado las técnicas para la evaluación en especies de peces de interés comercial como es la carpa y la trucha, donde se presentan los resultados.

Tabla 1. Determinación del volumen y número de espermas/ml.

Edad (meses)	n	Volumen promedio de semen (ml)	Volumen ml/kg	No. espermatozoides /ml. (10 ⁹)
19	18	5.04±2.90	4.38±19.04	25.13±7.38
29	27	11.05±5.96	5.07± 2.79	21.59±7.09



Tabla 2. Motilidad de los espermatozoides en el periodo reproductivo.

n	Mes	Motilidad (s)
17	Septiembre	32.71 8.45
9	Octubre	42.61 6.02
6	Noviembre	61.06 12.27
7	Diciembre	88.79 10.65
5	Enero	65.50 3.83
5	Febrero	38.67 2.99
	Promedio	49.96 22.85

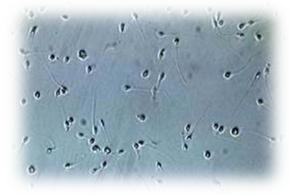


Tabla 3. Color y pH de la muestra de semen.

No. organismo	Lote	рН	Consistencia/color
1	HN	7.36	Lech/Blan
2	HN	7.47	Lech/Blan
3	HN	7.27	Acuo/Blan Orin.
4	HN	7.33	Acuo/Blan.
5	MICH	7.84	Acuo/Blan.
6	MICH	7.8	Acuo/Blan. Sang.

7	MICH	7.92	Lech/Blan.
8	MICH	7.89	Acuo/Blan. Orin.





CONCLUSIONES

Las técnicas de evaluación espermática determinar su calidad y aseguran la viabilidad del espermatozoide para la fecundación y con ello incrementar las tasas de fertilización.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Alavi S.M.H., Psenicka M., Rodina M., Policar T. and Linhart O. (2008) Changes of sperm morphology, volume, density and motility and seminal plasma composition in *Barbus barbus* (Teleostei: Cyprinidae) during the reproductive season. Aquatic Living Resource, 21: 75-80.
- 2. Billard R. and Cosson M.P. (1989) Measurement of sperm motility in trout and carp. Aquaculture, 132: 499-503.
- 3. Bustamante, G. J. D. 2016. Methodologies for spermatic evaluation in teleost. International Journal of Aquatic Science. 7(2): 95-106.
- 4. Hajirezaee, S., Amiri, B.M. y Miruaghefi, A. 2010. Fish milt quality an major factors influencing the milt quality parameters: A review. *African Journal of Biotechnology*. 9(59): 9148-9159.
- 5. Cabrita E., Martínez P.S., Gavaia P.J., Riesco M.F., Valcare D.G., Saeasquete C., Herráez M.P. and Robles V. (2014) Factors enhancing fish sperm quality and emerging tools for sperm analysis. *Aguaculture*, 432: 389-401.
- Coffin, L. 1959. Laboratorios clínicos en medicina veterinaria. La prensa Médica Mexicana. Mèxico. 334 p.
- 7. Cosson, J.J. 2008. Methods to Analyse the Movements of Fish Spermatozoa and their Flagella. En: Mohammad, H.A.S., Cosson, J.J., Coward, K. y Rafiee, G (eds.). *Fish spermatology*. Alpha Sience, Oxford, pp 64-102.
- 8. Navarro, O.J., Velasco, S.Y.M., Cruz, C.P.E. 2004. Evaluación de cinco protectores para la crioconservación de semen de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). *Rev Col Cienc Pec.* 17, 53-59.
- 9. Nynca, J., Dietrich, G.J., Kuzminski, H., Dobosz, S. y Ciereszko, A. 2012. Motility activation of rainbow trout spermatozoa at pH 6.5 is directly related to contamination of milt with urine. *Aguaculture*. 300: 185-188.
- Rodríguez, G.M., García, C.D., Rodríguez V.A.K., Cortes, G.A. y Hernández, R.H. 2007. Evaluación de la reproducción inducida en ciprínidos. En: Ayala, P.L., Gío, A.R. y Trigo, B.N (Eds). Contribuciones Metodológicas al Conocimiento de los Recursos Naturales, pp 115-126.
- 11. Rodríguez, G.M. 1992. Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces. A.G.T Editor. México, D. F. 79 p.

- 12. Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollevier, F. y Nash, J.P. 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in culture fish. *Aquaculture*. 234: 1-28.
- 13. Salas, B.J. y Nelson. L.M.J. 2012. Evaluación de la ginogénesis de trucha arco iris (*O. mykiss*), utilizando choque térmico de 27°C a diferentes periodos de exposición, en el centro ambiental guairapungo (Nariño). *Veterinaria y Zootecnia*. 6(2): 32-44.

EVALUACIÓN DE LA POSIBLE CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS EM MEZCAL DE LA REGIÓN CIÉNEGA DE MICHOACÁN

Fernández Rivera Elizabeth, Rodríguez González Norma Cristina, González Córdova Sergio

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional- Unidad Michoacán Instituto Tecnológico de Jiquilpan

RESUMEN

El mezcal es una bebida alcohólica destilada a partir de la planta de agave, la cual se cultiva en diversas regiones del país y cuya historia se remonta desde hace 400 años. Michoacán fue el último de los estados en incorporarse a la denominación de origen. Tratando de dar un impulso al mercado y cuidado de las normas de seguridad para el cuidado de la salud, el objetivo del presente trabajo fue identificar la calidad del mezcal de la región Ciénega de Michoacán para su consumo. se realizaron análisis de dichos productos, obteniendo información relacionada con los factores de contaminación por metales pesados Cobre (Cu) y Plomo (Pb), mediante metodologías establecidas en la NOM-117-SSA1-1994, con el lineamiento en las NOM-SSA1-142-1995 Y NOM-SSA1-142-2014; donde la concentración de Cu fue determinada con base a la ecuación y = 0.0967x + 0.0028, con un coeficiente de determinación múltiple (R2) del 0.9981. Así como el Pb fue determinado en la ecuación de la recta y= 0.0294x + 0.0004, con un coeficiente de determinación múltiple (R²) del 0.9964; Lo cual permitió, dar un paso agigantado para seguir la persecución de la calidad de los mezcales de la región. Debido a que los materiales con que se emplea el proceso del mezcal artesanal son factores influyentes en la concentración de los metales, es necesario hacer algunas correcciones en ello. El Cu resultó con concentraciones arriba de lo antes permitido, sin embargo, para el caso del Pb los mezcales analizados resultaron por debajo de los límites permisibles. Es importante, que la producción del mezcal se realice mediante procesos sustentables lo cual exige grandes cambios en la cadena productiva y la adopción de nuevas innovaciones científicas y tecnológicas.

INTRODUCCIÓN

En México, desde la época prehispánica, diversos recursos naturales han sido empleados para diferentes fines dentro de los cuales, la formulación de alimentos y bebidas juega un papel sumamente importante debido al incremento de la población. De las diversas fuentes naturales con gran potencial de aplicaciones industriales se encuentra el maguey pulquero también conocido como Agave, que es una planta que pertenece a la familia *Agavaceae* y de la cual se derivan una serie de subproductos tales como el tequila, mezcal, jarabes fructosados, aguamiel, pulque, bagazos empleados como fibra dietética o para la elaboración de artesanías típicas mexicanas (López y Mancilla, 2007). El Mezcal es una bebida alcohólica mexicana, 100% de maguey, obtenida por destilación de jugos fermentados con levadura, espontáneas o cultivadas, extraídos de cabezas maduras de magueyes cocidos, cosechados en el territorio comprendido en la Resolución correspondiente (DOF, 1994). Elaborándose de manera artesanal, en tres campos sociales el primero, con trabajo preferentemente familiar, dirigido al autoconsumo; la segunda con

producción creciente al trabajo asalariado con producto destinado al mercado; y la tercera forma, es la producción industrial, en la cual se incorpora maquinaria diseñada para la producción del mismo con una visión internacional. El creciente consumo de mezcal debido a su carácter artesanal y su variedad de presentaciones lo han convertido en una bebida altamente demandada en el mercado nacional e internacional.

En México se cuenta con el organismo de certificación de producto denominado Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal, A.C. (COMERCAM), dicho organismo se encarga de evaluar el cumplimiento de la NOM-070-SCFI-1994, Bebidas Alcohólicas-Mezcal-Especificaciones y asegurar la calidad del producto elaborado en cualquiera de las entidades federativas, municipios y regiones señaladas en la Declaración General de Protección a la Denominación de Origen Mezcal, vigente, realizando visitas periódicas a las empresas productoras para certificar sus lotes y realizar los análisis físico-químicos correspondientes al mezcal, así como el encargado de establecer los requisitos necesarios para la elaboración y venta del mezcal, vigilar los procesos de elaboración y regular el cumplimiento de las demás normas aplicables a la elaboración del producto y su comercialización (Arellano, et al., 2014).

En la región Ciénega de Michoacán específicamente en la zona Jiquilpan-Sahuayo la gran mayoría de la producción del mezcal se realiza mediante el proceso artesanal y aun no se cuenta con la certificación del COMERCAM, para garantiza el desarrollo de la actividad de manera formal y la obtención de productos confiables y de calidad, y así ampliar la posibilidad de incursionar y ser competitivos en los mercados nacional e internacional de bebidas (Arellano, et al., 2014) Por lo que el objetivo del presente trajo es determinar la calidad de algunos mezcales de la región con el análisis de metales pesados como son el Cu y Pb. Actualmente 29 de los 113 municipios de Michoacán cuentan con la denominación de origen, encontrándose en distintas zonas biogeografías, lo que deriva una amplia gama de destilados (Arellano, et al., 2014) La producción artesanal de mezcal en Michoacán se describe principalmente de las etapas de Corte o jima, horneado, molienda y destilación siendo en este último donde se pude tener contaminación de metales pesados como el Cu debido a los materias por lo que puedan estar hechos tanto los alambiques como los destiladores.

Por lo anterior se vio conveniente realizar el análisis del contenido de Cu en los mezcales muestra y compara el resultado con los límites máximos de la NOM-SSA1-142-1995, que aunque ya no es vigente fue referencia del cumplimiento de la cantidad de Cu en bebidas alcohólicas en México. También es cierto que el cobre es un metal que ocurre naturalmente en el ambiente, en plantas y en animales siendo esencial para la salud, pero la ingesta en concentraciones altas, el cobre puede producir efectos nocivos como por ejemplo irritación de la nariz, la boca y los ojos, vómitos, diarrea, calambres estomacales, náusea y aun la muerte. El cobre se ha encontrado en por lo menos 906 de los 1,647 sitios de la Lista de Prioridades Nacionales identificados por la (EPA, por sus siglas en inglés) (Agencia para sustancias toxicas, 2004). La normatividad garantiza que las bebidas alcohólicas puedan ser consumidas de manera segura y bajo la responsabilidad del consumidor. Sin embargo, cuando el consumo de alcohol es excesivo, la normatividad no es suficiente para prevenir los daños a la salud de los individuos que la consumen. En varios países se ha modificado la normatividad para disminuir los riesgos a la salud y se han diseñado estrategias de prevención de los riesgos (Zoecklein et al. 2001).

PARTE EXPERIMENTAL Identificación de los mezcales

Se visitaron productores de mezcal artesana de la región Ciénega de Michoacán para la obtención de muestra de mezcal, donde se obtuvieron datos del productor así como una numeración para la identificación del mezcal para su posterior análisis observándose en la tabla 1.

Tabla 1. Datos de los productores a los cuales fueron sometidos sus mezcales para el análisis

Productor	Lugar de elaboración	Identificación de Mezcales
Lourdes Montes	El Güirio, Sahuayo	МІ
Delfino Magaña Cabezas	El Moral, Sahuayo	ΜII
Miguel Valdovinos	Chamacuero	M III
Daniel Mandujano Avalos	Abadiano, Jiquilpan	MIV
Roberto Avalos	El Güirio, Sahuay.	ΜV
Arturo Valdovinos	Abadiano, Jiquilpan	M VI

Determinación de cobre y plomo en mezcales de la Región Ciénega de Michoacán

Mediante alícuotas de los destilados antes mencionados, se realizó su determinación por la técnica de espectrometría de absorción atómica por flama, con base a lo delineado en la NOM-117-SSA1-1994.bienes y servicios. Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, fierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica.

RESULTADOS

Para obtener la concentración de Cobre en las muestras de mezcal donde se utilizó y = 0.0937x + 0.0028, con un coeficiente de determinación múltiple (R2) del 0.9991.

Es importante resaltar que el plomo Pb es otro metal que se encuentra en algunas ocasiones en las bebidas alcohólicas, debido a una contaminación por el mismo. El Pb fue determinado en la ecuación de la recta y=0.0294x+0.0004, con un coeficiente de determinación múltiple (R^2) del 0.9964.

Tabla 2. Concentración de Cobre y Plomo contenidos en Mezcales de la Región Ciénega de Michoacán comprado con los limites permisible en Normas Mexicanas

Mezcal	Concentración de Cu mg/L	Concentración de Pb Mg/L		
El Güirio, Sahuayo	9.7 B	1.6 ^{***} A		
El Moral, Sahuayo	6.1 E	0.6 B		
Chamacuero	4.1 F	0.2 B		
Abadiano, Jiquilpan	8.4 C	0.2 B		
El Güirio, Sahuayo	10.8 ***A	0.3 B		
Abadiano, Jiquilpan	6.6 D	0.3 B		
Límite Max. permisible	2.0	0.5		
Límite Max. permisible	NR	0.5		

(NOM-SSA1-142-1995), (NOM-SSA1-142-2014), (DMS 0.1295, P=0.05) (DMS= 0.3593, P=0.05) **NR**= No Reportado.

De acuerdo a los resultados obtenidos, en la tabla 2 se pude observar que la cantidad de cobre de todos las muestras analizadas están por arriba de los límites máximos que marcaba la NOM-SSA1-142-1995, debido a la presencia de este elemento puede llevar a la teoría de varios orígenes, ya que el equipo utilizado en el proceso de elaboración es la principal fuente. El Cu es uno de los elencos que de acuerdo con Carreon et al., (2008) deberían ser estrictamente regulados por los efectos negativos que proporciona a las bebidas alcohólicas y por los daños que provoca a la salud humana. Es de mencionar que la Región Ciénega de Michoacán, se sigue produciendo el mezcal artesanal con instrumentos contenidos de este metal, siendo esta una fuente de contaminación potencial para el producto final. Sin embargo la concentración de Pb en los mezcales antes descritos, se encuentra por debajo de los límites máximos permisibles que marca la norma NOM-SSA1-142-2014.

CONCLUSIONES

El proceso artesanal para elaboración del mezcal es de mucha tradición en el Estado de Michoacán, aún se elabora el mezcal para el consumo solo de familiares, amigos o los pobladores de la miasma entidad. Muchos de estos productores no tiene la visión de comercializar a gran escala su producto por lo que no se han interesado en cumplir con los lineamientos establecidos por la COMERCAM, lo que ha tenido como consecuencia que se sigan utilizando materias primas y/o herramientas que puedan influir en la contaminación del producto. Sin embargo es importante concientizar a los productores de mezcal artesanal que se realicen procesos sustentables, haciendo cambios en su cadena productiva y adoptar nuevas innovaciones científicas y tecnológicas, para su elaboración prácticas que llegan a ser redituables para ellos así como la introducción de su producto en un mercado estable, y por lo tanto sin dañar la salud del consumidor. Es importante, realizar una investigación sobre el nivel de daño al organismo, si se consume esta bebida alcohólica con las concentraciones de Cu contenidas.

BIBLIOGRAFÍA

- Agencia para sustancias toxicas y el registro de enfermedades división toxicológica.(2004).
 Recuperado de http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts132.pdf.
- 2. Arellano P, M., Estarrón E, M., Gallardo V, J. Gschaedler M,A., López R, J. Navarro H, A., Prado R, R. y Ramírez R, E. (2014). "Manual para la estandarización de los procesos de producción del mezcal Guerrerense". Jalisco, México. CIATEJ.
- 3. Ávila, R.J. 2010. "Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del mezcal de Durango para el desarrollo de un Indice de calidad". Tesis Doctoral. Instituto Politecnico Nacional Unidad Interdisciplinaria de Biotecnología. México.
- 4. Carreón A, A., Casillas, G., Ibañez, F., Hernández, R., Prado, M., Bárcena, S. y Gomez, S. (2008). "Determination of Cu in Tequila By anodic stripping voltametry". Analytical Letters 41:469-477
- 5. López, M. G. y N. A. Mancilla. 2007. "The nature of fructooligosaccharides in Agave plants". Recent Advances in Fructoologosaccharides Research. 2: 47-67.
- 6. Zoecklein B W, Fugelsang B H, Nury F S. 2001. "Análisis y producción del vino". Editorial Acribia S.A. Madrid.

FORMULACIÓN Y DESARROLLO DE PELÍCULAS A PARTIR DE MUCILAGO DE CAFÉ (Coffea arabica)

Minerva Rosas Morales, Ada María Ríos Cortés y Victoriano Ramírez Romualdo

Instituto Politécnico Nacional; Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada-Tlaxcala Universidad Interserrana del estado de Puebla.
mormin@hotmail.com

RESUMEN

La agroindustria del café genera una gran cantidad de desechos durante el proceso de beneficiado donde solo es aprovechado un 9.5% del grano para producir la bebida, el 90.5% queda como residuo: pulpa (39.4%), mucilago (21.6%), cascarilla o pergamino (10.4%), estos son desechados causando alteraciones a la flora y fauna, el más importante por su impacto en la contaminación de aguas, es el mucilago que representa el 28% de la contaminación, el vertido de este a los ríos (120000 ppm DQO) agota el oxígeno (anaerobiosis), destruyendo por asfixia la fauna y flora acuáticas: peces, cangrejos, microorganismos y plantas diversas. El objetivo de este trabajo fue formular y elaborar películas a partir de pectina extraída del mucilago de café, la pectina fue extraída siguiendo el método usado por García Palma en 2009. Las películas plásticas fueron elaboradas a partir de pectina de mucilago de café, almidón de maíz modificado (Fabpsa) y glicerol (J.T. Backer, New Jersey, USA), aquellas con mejores características se acondicionaron en un desecador a 27 °C con una humedad relativa del 12%. Se obtuvieron películas a concentraciones 1.8, 2.0, 2.2, 2.4 y 2.6 gramos de pectina en una solución filmogénica, fueron analizadas por espectroscopia FT-IR para identificar sus componentes. La utilización de pectinas extraídas del mucilago de café en la solución filmogénica de las películas representa una alternativa para su aprovechamiento en la industria del café, contribuyendo a la reducción del impacto ambiental.

INTRODUCCIÓN

Desde hace varias décadas los residuos agroindustriales han sido un foco de atención para varios investigadores a nivel mundial, debido a que parte de sus constituyentes pueden ser materia prima para generar diversos productos de interés, esta situación sigue prevaleciendo en la actualidad y se prevé que continuará en el futuro. (Saval, 2012).

Para el caso de la industria del café, solamente se utiliza el 9.5% del peso del fruto fresco en la elabora ración de la bebida, el 90.5% queda en forma de residuo (Rodriguez, 1999).

El mucilago de café es un subproducto residual, extraído en la etapa del desmucilaginado, se genera en forma discontinua, en cantidades que dependen de la producción de café, en cada época y zona cafetera. Así mismo, las cantidades de mucílago en los frutos y granos de café varían con la madurez del fruto, es así como los frutos maduros y frescos contienen en promedio 10,4% (entre 1,1% y 27,3%) en peso de mucílago y los granos despulpados un 18,8%. En consecuencia, por cada tonelada de café cereza que se procese en la finca pueden obtenerse entre 80 y 140 kilogramos de mucílago, según la madurez y la cantidad de agua usada en el desmucilaginado mecánico (Puerta-Ríos, 2011).

Sin embargo, en la producción y procesamiento del café son generadas grandes cantidades de subproductos que no se utilizan y contaminan el agua y el suelo: aproximadamente, 82 000 toneladas de mucílago de café, son vertidas anualmente a arroyos, ríos u otras fuentes de agua, en lo que hasta la fecha se tiene poco registro acerca del aprovechamiento del mucílago (Pinto, et al 2014).

El incremento acelerado en la generación de residuos plásticos derivados del petróleo y el aumento en el precio de este recurso no renovable demandan nuevas alternativas de tratamiento y tecnología, entre las cuales surge una tendencia en sustituir tales polímeros por bioplásticos.

El aprovechar los recursos naturales como fuente de conservación y reciclaje se convierte en una excelente opción e innovación en el desarrollo de nuevos productos biodegradables. Su total biodegradación en productos como CO2, agua y posteriormente en abono orgánico es una gran ventaja frente a los sintéticos (Villada, Acosta, Velasco, 2007).

TEORÍA

El café es la bebida natural más rica en cafeína, la sustancia más conocida del café y la que le confiere las propiedades estimulantes y parte de su sabor amargo. Contiene ácidos orgánicos influyentes en el sabor, olor y aroma del café y son responsables de su acidez; así como minerales (potasio, magnesio, calcio, cromo) y vitaminas (niacina), aunque su valor nutritivo es casi nulo, dada la poca cantidad necesaria para elaborar una taza de café. Es la bebida de mayor consumo mundial después del agua. 320 millones de toneladas, 400 mil millones de tazas al año. Dicha bebida se obtiene de la infusión de los granos procesados de la planta Caffea sp. Existen un total de 70 especies de café los más comunes en México son 2 principales: Caffea arábiga y Caffea robusta (Palomares, 2012)

Beneficio húmedo

En la transformación del café cereza en café pergamino, hay dos métodos para beneficiar el café: la vía seca y la vía húmeda. En la vía seca no se utiliza aqua, consiste en secar los frutos maduros o cerezas al sol para obtener el café bola o capulín. En la vía húmeda el café cereza es despulpado, fermentado, oreado y secado, hasta obtener café pergamino, con 12% de humedad, que se pueda almacenar. Una vez efectuado el corte del café, con una madurez idealmente homogénea, se procede a separar los granos "vanos" o defectuosos de los "buenos". Posteriormente se procede a efectuar el beneficio húmedo, donde la cereza es colocada en tolvas "sifones" llenas de agua, con el fin de evitar fermentaciones prematuras o mermas en el peso. El café colocado en las tolvas es pasado a una máquina en el cual el grano es liberado de la cáscara y pulpa que lo cubre. Esta práctica consiste en friccionar el fruto entre dos discos de metal para separar la cáscara y pulpa del grano, usando agua para facilitar la tarea, a esta operación se le conoce con el nombre de despulpado y debe realizarse inmediatamente después de la recepción de la cereza, evitando que ésta se fermente. El resultado del beneficiado húmedo es el café pergamino, nombre dado por la película o mucílago insoluble en aqua que todavía lo envuelve, para ello debe fermentarse durante 24 horas en tanques de agua. En seguida es sometido el grano a un oreador o presecado, el cual puede realizarse en patios de cemento tendiendo el café por un período de cinco días aproximadamente, durante los cuales son movidos a intervalos regulares para evitar un secado desigual o recurrir a maguinas secadoras, que por medio de aire caliente, eliminan cierta cantidad de humedad contenida en el grano. El empleo de las oreadoras reduce el tiempo de secado, además las condiciones climatológicas no influyen en dicho proceso (Ortega, 2010).

Mucilago de café

El mucilago de café es una capa de aproximadamente 0.5 a 0.2 mm de espesor que está fuertemente adherida a la cascara del grano. Desde el punto de vista físico el mucilago es un sistema coloidal líquido, liofílico, siendo por lo tanto un hidrogel. Químicamente el mucilago de este aromático contiene: agua, pectinas, azucares y ácidos orgánicos. Durante la maduración del grano de café el pectato de calcio, localizado en la laminilla media y la protopectina de la pared celular, son convertidos en pectinas. Esta transformación o hidrolisis de las protopectinas resulta en la desintegración de la pared celular, dejando un plasma celular libre. En este plasma además de pectinas, se encuentran azucares y ácidos orgánicos derivados del metabolismo y la conversión del almidón (Garcia, 2009).

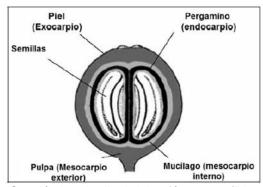


Figura 1: Sección longitudinal del café cerezo (Rivas, 2006).

La materia seca del mucilago de café está conformado por proteínas, lípidos, carbohidratos, sales minerales, ácidos y alcoholes. Las cenizas representan en promedio el 0.43% del peso del mucilago húmedo fresco y están compuestas de K, Ca, Cu, y otros elementos químicos (Cenicafé, 2012).

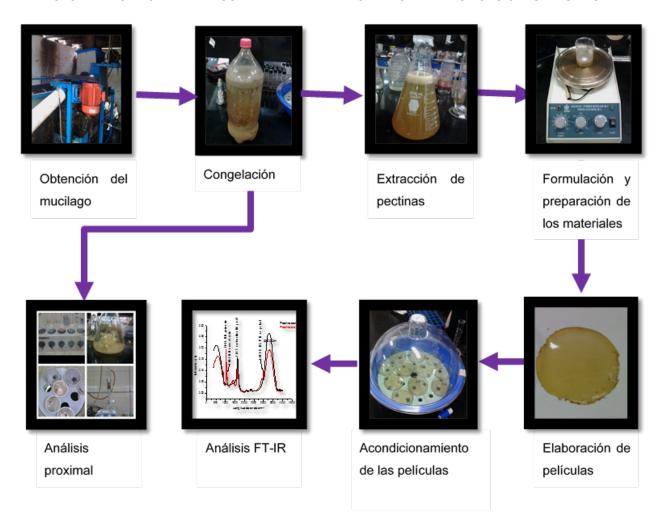
Pectinas

Las pectinas son un grupo complejo de heteropolisacáridos cuya estructura básica está integrada por moléculas de ácido D-galacturónico, unidas por enlaces glucosídicos α -D-(1,4), en la cual algunos de los carboxilos pueden estar esterificados con metilos o en forma de sal. Estos compuestos están presentes en las paredes celulares primarias y en la laminilla media de las células parenquimáticas de muchas plantas, donde están frecuentemente asociadas con otros componentes de la pared celular, tales como la celulosa, hemicelulosa y la lignina, y son responsables de la firmeza de algunos productos (Mendoza, 2016). Las pectinas desempeñan un papel muy importante en la industrialización de las frutas, como la elaboración de jaleas (manufacturadas con pectinas de bajo grado de esterificación), gelatinas (con pectinas de alta esterificación) o geles similares73, 98, 108 y, sobre todo, en lo relacionado con la elaboración de bebidas. (Badui, 2006).

Usos y aplicaciones de las pectinas

La principal aplicación de las pectinas en la industria de alimentos es la fabricación de compotas y mermeladas; se utiliza también como agente gelificante en pudines, estabilizante de emulsiones y suspensiones, agente viscosante en bebidas, agente estabilizante en helados y postres fríos, y en soluciones para recubrir salchichas y carnes enlatadas. En el campo farmacéutico las pectinas se emplean por su acción protectora y reguladora del sistema gastrointestinal, su acción desintoxicante, anticolesterol, inmunológica, antihemorrágica, anticancerígena y cicatrizante; prolonga la acción terapéutica al aumentar los tiempos de liberación de los principios activos. Se usan también en la formación de películas para recubrir papel y dar características de suavidad en el papel de envoltura, como vehículo en la preparación de suspensiones de sulfato de bario para aplicar en las radiografías por rayos X, en la fabricación de películas biodegradables en forma de mezclas de pectina y alcohol polivinílico como reemplazantes de derivados del petróleo; estas películas son biodegradables, reciclables y permitidas para formas farmacéuticas de liberación prolongada y como protectores o adhesivos en preparaciones farmacéuticas para la piel (Badui, 2006).

PARTE EXPERIMENTAL



RESULTADOS

Obtención del mucilago de café

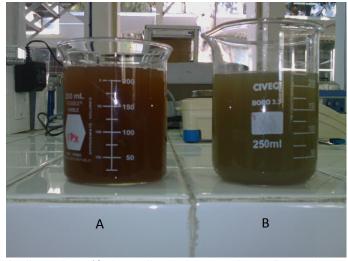


Figura 2: Mucilago de café: A mucilago sin tratamiento, B mucilago con sulfito.

Resultados generales del análisis proximal del mucilago de café, de muestras con sulfito y sin sulfito

T 11 4	,							16.4
i ahia: 1	composición	AD.	mucilado	മെ	Cate	COD	v ein	CHITITO
i abia. i	CONTIDUCTION	uc	muchago	uc	oaic	COLL	y 3111	Julilo

COMPONENTE	M.SULFITO	M. SIN SILFITO
HUMEDAD	95.2276	96.8508
CENIZAS	1.2853	0.7971
PROTEINAS	9.1593	13.2416
GRASAS	4.8984	3.857
FDT	29.25	29.36

Extracción de pectinas del mucilago del café

El método propuesto por García P. J. I en el 2009, fue el procedimiento utilizado para la extracción de las pectinas presentes en el mucilago de café, este conjunto de técnicas fueron aplicadas usando los parámetros óptimos reportados por este investigador.

En el mucilago de café primero se redujo el pH con ácido clorhídrico caliente, posteriormente se precipito la pectina con etanol, y el metanol fue utilizado como un último lavado a la pectina. Se extrajo pectina de las muestras de mucilago de café obteniendo un promedio de 38.5 g de

pectina en fresco por cada litro de mucilago libre de solidos gruesos.





Figura 3: a) Extracción de pectina con etanol b) separación de la pectina

Elaboración de la película

Se diseñó un arreglo experimental de acuerdo a una matriz para la elaboración de las películas, de las cuales seis mostraron propiedades físicas apropiadas y fueron seleccionadas para su posterior análisis en el espectro FT-IR, las demás presentaron problemas relacionados a la adherencia a la placa y al secado.

Las películas con mejores características fueron aquellas que poseían concentraciones de pectina del 1.8, 2.0, 2.2, 2.4, 2.6 g, posteriormente se colocaron en un desecador a una temperatura de 27°C y una humedad relativa del 12%.

Tabla 2: Efecto de la variación en la concentración de pectina para la obtención de las películas

Concentració	Concentración de pectina						
n de glicerol	1.8	2.0	2.2	2.4	2.6		
0.2	Textura lisa, baja elasticida d, opaca.	Opaca, lisa, elasticidad regula.	Opaco, más flexible, más resistente	Opaco, resistente, poco flexible	Opaca, lisa, baja elasticidad , brillosa		

Las películas mostradas en la tabla 2, son las que tuvieron características aceptables y se pueden apreciar en la figura 4, el tiempo de secado fue de 12 horas.



Figura 4: Películas a diferentes concentraciones de pectina

Caracterización en microscopio

Película testigo

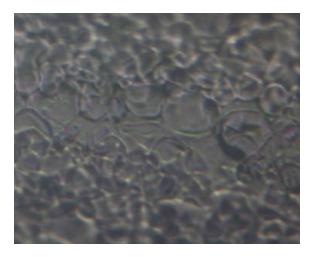


Figura 5: Película testigo (almidón y glicerol)

En la película se observan los gránulos de almidón gelificados de una coloración blancotransparente

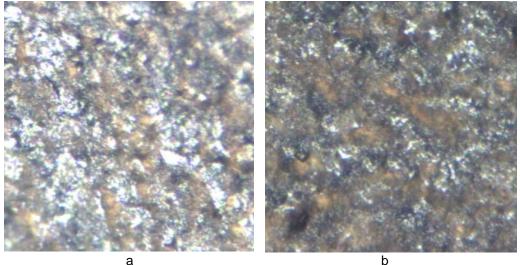


Figura 6: película 2.2 a diferente intensidad de luz

Espectroscopia FT-IR

Espectro de la pectina

En la figura 7 se muestra el espectro FT-IR de la pectina comercial (negro) y la pectina extraída del mucilago (rojo), Addosio et al, 2005 y Arrollo et al, 2008 coinciden que las bandas características de las pectinas aparece en 1650 donde se manifiestan los grupos carboxílicos libres y esterificados. En la muestra de pectina de mucilago de café, solo se manifiesta el pico en el 1645 cm-1.

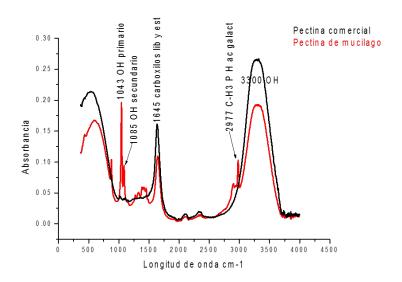


Figura 7: Espectro FT-IR de pectina comercial y pectina del mucilago de café

Espectro de la película

En la figura 8 se presenta el espectro FT-IR de una película elaborada con almidón de maíz, pectina y glicerol, manifestando una serie de picos en su mayoría pertenecientes a dos o tres componentes. En la banda 3260 cm-1 se produjo por la tensión del enlace OH, es típica de los tres materiales formadores de la película. El punto 2881 cm-1 exhibe el estiramiento del C-H perteneciente a la pectina y al glicerol. El estiramiento del ácido carboxílico (C=O) en la longitud de onda 1748 cm-1 pertenece a la película, ningún componente de la solución filmogénica muestra alguna vibración en esta longitud de onda. Otro de los picos en el cual los componentes se sobreponen con la película es en el 1623 cm-1 en la cual C=C cis, disustituído emite señales de estiramiento y de flexión en el plano 1415 cm-1. Las señales de 1025-1103 cm-1 corresponden al glicerol.

En el espectro las bandas de la pectina aparecen debajo de las de la película, y se sobreponen en tres partes del espectro, en 1415, 1623 y 2881 cm-1,

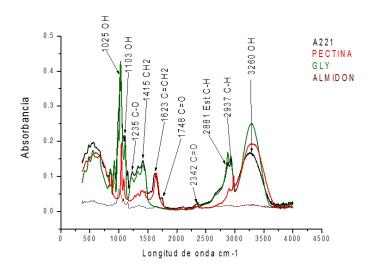


Figura 8: Espectros FT-IR de películas elaboradas a partir de pectina de mucilago de café, almidón y glicerol.

CONCLUSIONES

El mucilago con sulfito (a 300 ppm aproximadamente), tuvo una coloración amarillenta a café claro con un aroma agradable en comparación al mucilago sin tratamiento que presento un aroma desagradable y una coloración obscura.

El mucilago con sulfito de sodio (MS) presento una humedad del 95.22%, 1.28% de cenizas, 9.15% de proteínas, 4.89% de grasas y un 29.25% de fibra diétaria.

Para el caso de mucilago sin tratamiento (MN) en su composición se encontró un 96.85% de humedad, 0.79% de cenizas, 13.24% de proteínas, 3.85% de grasas y 29.36% de fibra dietaría.

En la extracción de pectina hubo un rendimiento promedio de 38.5 g de pectina por litro de mucilago de café, siguiendo el método propuesto por García Palma en 2009.

Se obtuvieron películas con buenas características a concentraciones mayores de 1.8 gramos de pectina de mucilago de café, utilizando el método de dispersión continua (casting).

En el análisis FT-IR no se observaron variaciones en las películas desarrolladas, debido a que los componentes individuales comparten vibraciones de grupos funcionales similares, las bandas

BIBLIOGRAFIA

- 1. Badui D. S., Química de los alimentos, Cuarta edición, PEARSON EDUCACIÓN, México, 2006
- 2. CENICAFE, 2012, Factores, procesos, y controles en la fermentación del café, boletín informativo.
- 3. D´Addosio, R, Páez, G, Marín, M, Mármol, Z, & Ferrer, J. (2005). Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de parchita (Passiflora edulis f. flavicarpa Degener). Revista de la Facultad de Agronomía, 22(3), 241-251. Recuperado en 04 de julio de 2016, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182005000300004&Ing=es&tlng=es
- 4. García P. M. A., La Habana, 2008, Películas y cubiertas de quitosana en la conservación de vegetales, revista: ciencia y tecnología de alimentos, Vol. 18, N°:1

- 5. Ortega P M T, 2010, Creación de un beneficio de café, en la congregación de El Tronconal, Veracruz, para comercializarlo en café pergamino, Universidad Veracruzana Intercultural
- 6. Palomares R J A, González S J D, Mireles R S C, 2012, Investigación: Café orgánico en México, Universidad Nacional Autónoma de México,
- 7. Pinto, R.R.; Medina, J.A.; Medina, F.J.; Guevara, F.; Gómez, H.; Ley, A. y Carmona, J, 2014, Sustitución de melaza por mucílago de café (coffea arabica I.) En bloques nutricionales para rumiantes, Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad Autónoma de Chiapas.
- 8. Puerta Q. G. I., Ríos-A. S., 2011, Composición química del mucílago de café, según el tiempo de fermentación y refrigeración. Cenicafé.
- 9. Villada H. S., Acosta H.A. y Velasco R.J. Biopolímeros naturales usados en empaques Biodegradables, temas agrarios vol. 12:(2), julio diciembre 2007 (5-13)
- 10. Villaflores. Chiapas. México y El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). San Cristóbal de las Casas. Chiapas. México.

AISLAMIENTO MICROBIOLÓGICO DE LECHE DE VACAS CON MASTITIS CLINICA Y SUBCLÍNICA DE LOS ESTADOS DE VERACRUZ Y JALISCO

Martha Alicia Castañeda Vazquez, Erika Patricia Salas Castañeda, Hugo Castañeda Vazquez Diana Pamela Bonilla Sessler, Leticia Ávila Figueroa, Carlos Bedolla Cedeño.

Laboratorio de Mastitis y Diagnóstico Molecular, CUCBA Universidad de Guadalaiara.

Laboratorio de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Veracruzana.

Universidad Michoacana, San Nicolás de Hidalgo.

RESUMEN

La leche de vaca es un buen alimento de consumo humano por sus propiedades nutricionales, pero puede servir como medio de conservación y transmisión de microorganismos que ocasionan enfermedades en las personas. Con el objetivo de identificar y comparar los principales agentes patógenos causantes de mastitis clínica y subclínica en bovinos en los estados de Veracruz y Jalisco se analizaron 6 unidades de producción lechera (3 por estado). Se obtuvieron 502 muestras de leche de vacas, 184 en el estado de Veracruz y 318 de Jalisco. Realizándose la prueba de California (CMT) a cada cuarto muestreado. Las muestras positivas en la CMT fueron cultivadas en agar sangre e identificadas según su morfología colonial, microscopía y pruebas bioquímicas en el Laboratorio de Bacteriología y Virología de la FMVZ, Universidad Veracruzana y el Laboratorio de Mastitis y Diagnóstico Molecular del CUCBA de la Universidad de Guadalajara. Del total de las muestras positivas en 26.7% se aisló al menos un patógeno. El género bacteriano identificado con mayor frecuencia en ambos estados fue el Staphylococcus spp. en un 13% de los casos, en Jalisco con ordeño de tipo mecánico y en Veracruz con ordeño manual y el mismo género en el 24% para el estado de Veracruz con ordeño mecánico. Concluyendo que el género bacteriano aislado (Staphylococcus spp.) en ambos estados se presenta con la misma frecuencia independientemente del tipo de ordeño, representando un riesgo significativo para la salud pública, por ser un patógeno de trasmisión zoonótica.

INTRODUCCIÓN

La leche al poseer un alto contenido en agua y nutrientes, así como el pH cercano a la neutralidad, es un excelente medio de cultivo para el desarrollo de diferentes microorganismos, lo que constituye un alto riesgo, ya que el consumidor pudiera estar expuesto a ingerir leche contaminada con agentes patógenos o sus toxinas (Cepero *et al.*, 2006).

La reproducción de las bacterias depende principalmente de la temperatura, número de microorganismos y sus factores de patogenicidad (toxinas y enzimas).

La multiplicación de microorganismos en la leche se favorece por temperatura de almacenamiento >10°C, actividad acuosa > 0.86 y pH mayor a 5.

La calidad de la leche es afectada cuando no se llevan a cabo los estándares de higiene determinados por las malas prácticas durante el ordeño o por contaminación medioambiental.

La contaminación de la leche se da a partir de vacas con mastitis. La mastitis es una reacción inflamatoria de la glándula mamaria como respuesta a cualquier daño ya sea físico o infeccioso. La forma más común se inicia por la penetración de una bacteria patógena a través del orificio del pezón al interior de la glándula mamaria. La severidad de la inflamación dependerá hasta cierto punto de la naturaleza del microorganismo, resistencia de la vaca, practica de ordeño y factores ambientales (Wolter *et al.*, 2004).

Existe una gran variedad de enfermedades que son transmisibles al humano a través de la leche, en el cuadro 1 se mencionan algunos ejemplos:

Cuadro 1. ENFERMEDADES TRANSMISIBLES AL HOMBRE A TRAVÉS DE LA LECHE

INFECCIONES BACTERIANAS	VIRUS
Ántrax	Adenovirus
Botulismo	Virus de la fiebre aftosa
Brucelosis	Virus de hepatitis infecciosa
Cólera	Virus de la encefalitis (garrapatas)
Intoxicación Alimentaria por E. coli	
Intoxicación por enterotoxinas de Staphylococcus	ENFERMEDADES POR RICKETTSIAS
Gastroenteritis por Estreptococos	Fiebre Q
Tuberculosis	
Tifoidea	PROTOZOOS
Listeriosis	Amibas
Leptospirosis	Toxoplasmas
Intoxicación por Clostridium perfringens	
Difteria	
Paratifoidea	
Shigelosis	
Salmonelosis	
Campilobacteriosis	

La infección de la glándula mamaria ocurre a través del conducto del pezón a partir de dos fuentes principales de contaminación: la ubre infectada y el medio ambiente.

La contaminación de las manos de los ordeñadores, paños de lavado y copas de aparatos de ordeño pueden diseminar con rapidez la infección a los pezones de otros animales por la leche procedente de cuarterones infectados (Radostits *et al.*, 2002; Castañeda, 2011).

Dependiendo del mecanismo de contagio, los microorganismos son clasificados de la siguiente manera (Cuadro 2):

	Patógenos Mayores Patógenos principales asociados a la ubre (Contagiosos)	Patógenos Menores Patógenos principales asociados al medio ambiente	Patógenos Menores Agentes patógenos secundarios (Contagiosos)
Agente Patógeno	Streptococcus agalactiae Staphylococcus aureus Streptococcus disgalactiae G - Streptococcus L - Streptococcus	-Estreptococos esculina positivos -Estafilococos coagulasa negativos -Cepas coliformes	-Estafilococos coagulasa positivos -Corynebacterium
Reservorio	La ubre	Medio ambiente. Piel de la ubre	Piel de la ubre. Canal lineal del pezón
Transmisión	Al ordeño	En cualquier tiempo	En cualquier tiempo
Profilaxis	Higiene al ordeño	Aumentar las defensas Disminuir número de bacterias	Aumentar las defensas

(Wolter et al., 2004).

La mastitis se puede presentar de manera clínica y subclínica (Bedolla, 2007). En la mastitis clínica se observa tumefacción o dolor de la ubre y la leche con apariencia anormal, en algunos casos, aumento en la temperatura corporal del animal, letargo, anorexia e incluso la muerte.

La mastitis subclínica, se caracteriza por la presencia de uno o varios microorganismos, conteo elevado de células somáticas y sin cambios aparentes en la ubre o en la leche (Serratos, 2009), ocasionando una considerable reducción en la producción diaria de la misma y cambios importantes en su composición.

Las células somáticas son células del propio organismo (leucocitos y células del tejido), estas pasan a la leche procedente de la sangre y del tejido glandular. El contenido de células somáticas en la leche nos permite conocer el estado de salud de la glándula mamaria (Philpot, 2001, Wolter et al., 2004). La Prueba de California para Mastitis (CMT) es la prueba más utilizada a nivel de campo para el diagnóstico de mastitis subclínica en el ganado bovino lechero, valora en un aproximado el recuento de células somáticas de la leche. No proporciona un resultado numérico, siendo solo un indicador de si el recuento es elevado o bajo, por lo que todo resultado por encima de una reacción vestigial (trazas) se considera sospechoso (Bedolla *et al.*, 2007).

Los daños causados a través de la mastitis subclínica son mucho mayores, ya que esa forma de mastitis es unas 20 a 50 veces más frecuente que la mastitis clínica (Castañeda, 2004).

La mastitis es una enfermedad altamente prevalente en el ganado lechero, y es una de las enfermedades más importantes que afecta mundialmente la industria lechera, pues ocasiona grandes pérdidas económicas debido a la disminución en la producción de leche, a un aumento en

el número de tratamientos y al desecho temprano de vacas. Por lo que se ha reconocido como la enfermedad más costosa en los hatos lecheros.

A nivel mundial en el 2015 México ocupó la posición 9 en la producción de leche. Dos de cada cien litros que se producen en el mundo son de origen mexicano (SAGARPA 2015). En el año 2015, la producción total fue de 11,394,663 litros de leche, siendo el estado de Jalisco el mayor productor lechero del país, seguido de Coahuila, Durango, Chihuahua, Guanajuato y Veracruz (SIAP).

PARTE EXPERIMENTAL

Con el objetivo de Identificar cuáles son los principales agentes patógenos causantes de mastitis clínica y subclínica en los estados de Jalisco y Veracruz en unidades de producción lechera de bovinos, el estudio se llevó a cabo en un total de seis ranchos, tres en cada estado. Los ranchos muestreados mostraron diferencias en el tipo de ordeño, teniendo así muestras provenientes de ordeño mecánico y muestras de ordeño manual.

El procesamiento y análisis de las muestras se realizó en el Laboratorio de Bacteriología y Virología de la FMVZ de la Universidad Veracruzana y el Laboratorio de Mastitis y Diagnóstico Molecular del CUCBA de la Universidad de Guadalajara.

Los ranchos muestreados, fueron elegidos al azar. Se realizó la prueba de California (CMT) a todas las vacas en ordeña. Las muestras se seleccionaron en base al resultado de la prueba de California, recolectando muestras a partir de T= trazas como posible infección en dicha prueba. La toma de muestra para el análisis bacteriológico se realizó en base a los parámetros recomendados por el National Mastitis Council de los EE.UU. (Bramley *et al.*, 1996). Se colectaron de 4 a 5 ml de leche en tubos de plástico estériles previamente marcados con el cuarto correspondiente y el número de identificación del arete de la vaca.

Las muestras se mantuvieron en refrigeración entre 4 y 5°C, transportándose en hieleras con refrigerantes a los laboratorios correspondientes para su procesamiento e identificación.

Cultivo e identificación de bacterias: Se inocularon las muestras de leche en agar sangre y se incubaron a 37°C por 24 horas. Posteriormente se identificó el género bacteriano en base a la morfología de las colonias y tinción de Gram, para la identificación de especie se realizaron pruebas bioquímicas (MIO, Urea, MRVP, Citrato de Simmons, LIA, OF, TSI) de 30 colonias al azar en cada laboratorio.

Se realizó un análisis de los resultados para obtener el porcentaje estimado de cada género y especie bacteriana, y se realizaron evaluaciones comparativas de los resultados.

Analizando las proporciones de muestras positivas a la prueba de California, el 53% de las 502 muestras resultaron positivas a cualquiera de los grados de gelificación (T, 1, 2, 3, MC); y de éstas se observó que el 27.4 % corresponden al tipo de ordeño manual (OM) y para el ordeño mecánico (OME) el 72.6%.

En la evaluación de los resultados del crecimiento bacteriano del total de muestras de leche positivas en la prueba de California se obtuvieron 368 negativas, 226 en el estado de Jalisco y 142 en el estado de Veracruz. En total se obtuvo un 73.3% de muestras negativas a crecimiento bacteriano y solo en el 26.7% de las muestras se pudo aislar al menos un patógeno (Cuadro 3).

Cuadro 3. Géneros bacterianos identificados a partir de muestras de leche por estado y tipo de ordeño.

ESTADO	T. O.	Bacilos	Entero.	Lev.	Neg.	Estaf.	Estrept.
Jalisco	Mec.	0	29	0	226	42	21

Veracruz	Man.	4	1	1	90	14	2
Veracruz	Mec.	0	3	0	52	20	9

T.O.=Tipo de ordeño, Man.= manual, Mec= mecánico, Entero.= Enterobacterias, Lev.= Levaduras, Neg.= Negativos, Estaf.= Estafilococos, Estrept.= Estreptococos.

El género bacteriano identificado con mayor frecuencia en ambos estados fue el *Staphylococcus spp.*, 13% para Jalisco con tipo de ordeño mecánico y en Veracruz con tipo de ordeño manual. Encontrando el 24% de ocurrencia el mismo género bacteriano en el estado de Veracruz con tipo de ordeño mecánico (Cuadro 4).

Cuadro 4. Porcentaje de géneros bacterianos identificados a partir de muestras de leche por Estado y tipo de ordeño.

ESTADO	T. O.	Bacilos%	Entero.%	Lev.%	Neg.%	Estaf.%	Estrept.%
Jalisco	Mec	0	9	0	71	13	7
Veracruz	Man	3	1	1	80	13	2
Veracruz	Mec	0	3	0	62	24	11

T.O.= Tipo de ordeño, Man.= manual, Mec.= mecánico, Entero.= Enterobacterias, Lev= Levaduras, Neg.= Negativos, Estaf.= Estafilococos, Estrept.= Estreptococos.

Dentro de cada tipo de ordeño, el género *Staphylococcus* fue identificado en un 12 y 15 % para el sistema manual y el mecánico respectivamente (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de géneros bacterianos identificados a partir de muestras de leche por tipo de ordeño.

T. O.	Bacilos%	Entero.%	Lev.%	Neg.%	Estaf.%	Estrept.%
Manual	4	1	1	80	12	2
Mecánico	0	8	0	69	15	8

T.O.= Tipo de ordeño, Man.= manual, Mec.= mecánico, Entero.= Enterobacterias, Lev= Levaduras, Neg.= Negativos, Estaf.= Estafilococos, Estrept.= Estreptococos.

CONCLUSIÓN

Staphylococcus spp. fue el género bacteriano aislado en ambos estados con la misma frecuencia independientemente del tipo de ordeño. Otros de los patógenos aislados en la ordeña mecánica fue la familia Enterobacteriaceae y el género Streptococcus spp. representando un riesgo significativo para la salud pública por ser patógenos de trasmisión zoonótica, entre ellos podemos encontrar Staphylococcus aureus responsable en gran medida de las intoxicaciones alimentarias al igual que Escherichia coli y Streptococcus agalactiae.

Tomando en consideración la ocurrencia de dichos patógenos en la leche y su mecanismo de contagio es posible promover el fortalecimiento de los sistemas de inocuidad de los alimentos, previniendo la contaminación de la ubre y como consecuencia de la leche con buenas prácticas en la manipulación de los animales y del ordeño independientemente del sistema utilizado, sea manual o mecánico.

Por ello es esencial que se cuente con programas de prevención, manejo y control de la mastitis, para garantizar que las ubres de las vacas estén en buen estado y que la leche que se obtenga sea de buena calidad y que no presente ningún riesgo para la salud de quienes la consumen.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Bedolla C. C., Castañeda V. H. y Wolter W., Métodos de Detección de la Mastitis Bovina. REDVET, Vol. XII, 2007.
- 2. Bedolla C. C. y Ponce L., Pérdidad económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. REDVET, Vol. IX, 2007.
- 3. Bonilla Sessler D. P., Identificación de los genes SED y SEI de Staphylococcus aureus para el diagnostico de mastitis bovina. Tesis de Maestría, 2011.
- 4. Bramley A.J., J.S. Cullor, R.J., Erskine, L.K. Fox, R.J. Harmon, J.S. Hogan, S.C. Nickerson, S.P. Oliver, K.L. Smith, L.M. Sordillo. Current Concepts of Bovine Mastitis. National Mastitis Council, 4th ed., Madison, Wisconsin, USA. 1966.
- 5. Castañeda H., La Prevención de la Mastitis. 6° Seminario Internacional en Reproducción Animal y Producción de Leche y Carne, Mazatlán, Sinaloa, México, 2010.
- 6. Castañeda H., et al., 2011. Genotyping of Staphylococcus aureus isolated from dairy herds in Mexico. Revista Científica, FCV Luz / vol. XXI, nº 4, 2011, pp. 308 316.
- 7. http://www.sagarpa.gob.mx/ Panorama de la lechería en México, Dic. 2015.
- 8. http://www.siap.gob.mx/.
- Philpot W. N., Importancia de la cuenta de celulas somáticas y los factores que la afectan.
 III Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la leche. León, Guanajuato, México, 2001.
- Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C. and Hinchcliff K.W., Medicina Veterinaria; Tratado de las Enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. 9^a ed. Vol. 1. Ed. McGraw – Hill Interamericana. Madrid, España, 2002, pp. 711-718.
- 11. Serratos J, Castañeda H., Bedolla C., Castañeda M.A., Mastitis ambiental, Editorial Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México, 2009.
- 12. Wolter W., Castañeda, V. H., Kloppert, B. y Zschöck, M., Mastitis Bovina, Prevención, Diagnóstico y Tratamiento. Editorial Universitaria. Primera Edición. Guadalajara, Jalisco, México, 2004.

EL VANADIO AFECTA DIFERENCIALMENTE LA GERMINACIÓN EN TRES VARIEDADES DE CHILE

María de la Luz Buendía-Valverde, Tarsicio Corona-Torres, Víctor H. Aguilar-Rincón, Ma. Guadalupe Peralta-Sánchez, Libia I. Trejo-Téllez

Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo. e-mail: luzmaria_buendia@hotmail.com; tcoronat@colpos.mx; aheber@colpos.mx; mgperalta@colpos.mx; tlibia@colpos.mx

RESUMEN

El vanadio (V) es un metal de transición clasificado como elemento benéfico para plantas superiores. En diversas especies se ha reportado que el tratamiento con bajas concentraciones de V promueve el crecimiento; no obstante, también se han reportado efectos tóxicos de este elemento aún a bajas concentraciones. En esta investigación se trataron semillas de tres variedades de chile (Jalapeño, Poblano y Serrano) con 0, 25 y 50 μ M de metavanadato de amonio. Después de 15 días de incubación de las semillas a 32 °C, se determinó el porcentaje de germinación y el coeficiente de velocidad de germinación en cada variedad. Si bien el porcentaje de germinación no fue afectado por los tratamientos; en las variedades Jalapeño y Poblano, se observa que el tratamiento con V reduce la germinación. El coeficiente de velocidad de germinación fue influenciado de manera diferencial por el V en las variedades Jalapeño y Serrano. En Serrano, el 25 y 50 μ M V reducen el coeficiente de velocidad de germinación en 8.6 y 13.9% respectivamente, comparado con el testigo; mientras que en Jalapeño, 50 μ M V incrementa el coeficiente de velocidad de germinación en 13%, respecto con el testigo.

INTRODUCCIÓN

El vanadio (V) es un metal de transición ampliamente distribuido en la naturaleza, del cual aproximadamente 60 mil toneladas son dispersadas al ambiente a través de la combustión de productos fósiles. Así mismo, estas concentraciones dan como resultado una concentración elevada de V en los suelos, principalmente en lugares cercanos a refinerías de petróleo, a instalaciones con combustible y en las urbes, donde el uso de los automóviles aumenta su acumulación (Aller et al., 1990; Carlson et al., 1991).

El V ha sido clasificado como elemento benéfico para plantas superiores (Olness *et al.*, 2002), ha sido detectado como constituyente en un gran número de plantas, en especial en aquellas que crecen en suelos donde se encuentra este elemento. Las concentraciones oscilan de 1 mg kg⁻¹ de peso seco, en los diferentes órganos de la planta. En los nódulos de las leguminosas se han encontrado valores entre 3 y 4 mg kg⁻¹ (Navarro-Blaya y Navarro-García, 2003). En la mayoría de los cultivos se registran concentraciones trazas de V, debido a que pequeñas concentraciones estimulan el crecimiento de las plantas y actúan como catalizador para la fijación de nitrógeno;

entre plantas superiores las concentraciones de V más altas se encuentran en leguminosas (Yang *et al.*, 2011).

Existen muchos estudios de los efectos tóxicos de V en plantas y esa toxicidad es debida a la similitud estructural entre iones vanadato (H₂VO₄²) y fosfato (H₂PO₄). Bowman (1983) reporta que en *Neurospora crassa*, la absorción de P se inhibe conforme incrementa la concentración de V; asimismo, la absorción de V decrece a medida que incrementa la concentración de P. El P y el V compiten entre sí por el mismo sistema de transporte de membrana celular (Olness *et al.*, 2002).

Vachirapatama *et al.* (2005) manifiestan que algunos fertilizantes fosfatados están contaminados con altas concentraciones de V (90-180 mg kg⁻¹), como consecuencia el uso de esos fertilizantes hace que el V se difunda en suelos, agua y plantas (Akoumianaki *et al.* 2016). Asimismo, la toxicidad de V en plantas se ha estudiado principalmente en soluciones nutritivas con concentraciones de V entre 1 y 5 mg L⁻¹ en especies más sensibles (Akoumianaki *et al.*, 2015).

Por otra parte, se han observado efectos positivos del V en plantas de lechuga y tomate cuando está en bajas concentraciones en tejido, alrededor de 2 ng g⁻¹ de biomasa seca (Wang y Liu, 1999). Antal *et al.* (2009) evaluaron 56 especies de plantas medicinales, identificándose el V en todas ellas, en concentraciones que oscilan de 13 μg kg⁻¹ de biomasa seca en frutos espinosos a 76.3 mg kg⁻¹ en tomillo silvestre. En la parte aérea en floración se registraron concentraciones promedio de 763 μg kg⁻¹, seguido de las hojas con 682 μg kg⁻¹, raíces con 600 μg kg⁻¹, flores con 352 μg kg⁻¹ y frutos con 112 μg kg⁻¹. La especie *Thymus pulegionides* tiene una mayor capacidad de acumular V, también destacan otras especies como *Geum urbanum*, *Urtica dioica*, *Hypericum perforatum y Valeriana officinalis*.

Semillas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. Contender al ser tratadas con concentraciones crecientes de V (0, 160, 240, 320 y 400 μ M) a partir de VOSO₄ 5H₂O, se encontró que bajas concentraciones de V (160 y 240 μ M) incrementan la longitud y área de raíz, biomasa fresca y seca de raíz y hoja, así como la longitud y ancho en hoja. Con respecto a la concentración de V en raíces y hojas, ésta se incrementó al aumentar la dosis de V, siendo más abundante en hojas (1544.0 μ g g⁻¹) de plantas tratadas con 320 μ M de V (Saco *et al.*, 2013).

En plantas superiores, existe evidencia de la biotransformación del vanadio; el vanadato (VO₃) se reduce vanadilo (VO⁺²) durante el proceso de absorción en plantas superiores (Morrell *et al.*, 1986). Por otra parte, la reducción celular interna de H₂VO₄ a VO²⁺ ha llevado a especular sobre la posibilidad de interacciones del V con otros elemento esenciales como el calcio (Ca²⁺) y el magnesio (Mg²⁺) en soya (Olness *et al.*, 2002).

Kasai *et al.* (1999) estudiaron el metabolismo de la germinación de semillas de centeno (*Secale cereale* L. cv. Elbon) y trigo (*Triticum aestivum* L. cv. Koyuki) con tratamientos con V (con y sin vanadato), agregado en la solución nutritiva. Los efectos del vanadato en el crecimiento y metabolismo de las plantas no fueron significativos en ambas especies. Asimismo, Lepp (1977) reporta que los tratamientos con VOSO₄, no muestran diferencias significativas en la germinación de lechuga comparado con el testigo; sin embargo, durante el desarrollo de las plántulas se observó inhibición en el crecimiento de brotes, raíz y peso fresco. Además, Tham (2001) reporta que concentraciones de 10 a 100 μg mL⁻¹ de VCl₃ disminuyen el porcentaje de germinación en arroz, soya, trigo y cebada, además de que se reduce de manera severa el desarrollo de brotes, raíces primarias y pelos radiculares.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron semillas híbridas de chile (*Capsicum annuum* L.) de tres variedades: Jalapeño "Emperador", Poblano "Capulín" y Serrano "Coloso". Para evitar la presencia de patógenos, las semillas se desinfestaron en una solución de hipoclorito de sodio al 6% (0.33 mL^{L-1}) durante 15 min, posteriormente se hicieron 6 enjuagues con agua destilada.

Se condujeron tres experimentos independientes, uno por variedad de chile, donde se evaluó el efecto de tres concentraciones de V (0, 25 y 50 μ M) a partir de metavanadato de amonio (NH $_4$ VO $_3$, CAS 7803-55-6, Alfa Aesar), preparadas con agua desionizada. Para lo anterior, las semillas desinfectadas se colocaron en cajas Petri en grupos de 10, siendo éstas las unidades experimentales distribuidas en un diseño completamente al azar. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones. Las cajas Petri se incubaron dentro de una cámara de germinación a 32 °C donde se mantuvieron debidamente hidratadas con la solución con su respectiva concentración de V.

Después de 15 días de incubación se evaluó el porcentaje de germinación (PG) y el coeficiente de velocidad de germinación (CVG). El porcentaje de germinación (PG) se calculó de la siguiente formula:

PG=Porcentaje real de todas las semillas que han germinado durante el ensayo El coeficiente de velocidad de germinación (CVG), se calculó empleando la fórmula:

CVG=Número total de semillas germinadas por caja Petri/A1T1+A2T2+AxTx

Dónde: A es el número de semillas emergidas en un número de días (T) en particular, los números 1, 2,....x son el número respectivo de semillas germinadas por cada respectivo día después del inicio de la incubación.

Los resultados obtenidos en cada variedad se analizaron de manera independiente, mediante análisis de varianza y pruebas de comparación de medias con el procedimiento LSD ($P \le 0.05$), usando el software SAS (SAS, 2011).

RESULTADOS

Porcentaje de germinación (PG)

Los resultados muestran que las concentraciones de V evaluadas no tuvieron efectos significativos en el porcentaje de germinación de las tres variedades de chile, en comparación con los testigos respectivos. Si bien las diferencias no son significativas, se advierten reducciones en el porcentaje de germinación de mayor proporción, con la dosis baja de V en las variedades Jalapeño y Serrano (**Figura 1**).

Los estudios del efecto del V en la germinación son escasos y los existentes se han realizado en gran medida en cereales. En centeno y trigo se demostró que el tratamiento con $0.1~\mu M$ de vanadato tuvo efectos leves en la germinación de semillas (Kasai et al., 1999). Por el contrario, Zhao et al. (2007) señalan que en dos tipos de arroz (*Oryza sativa* L.), el V a bajas concentraciones aceleró la germinación; mientras que la inhibió a una concentración alta. Así mismo, las semillas de garbanzo incubadas durante 6 días con soluciones de NaVO $_3$ en el intervalo de 410 a 1640 μM , presentaron un porcentaje de germinación superior al 99% (Zhang et al., 2012).

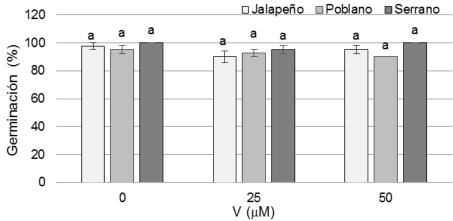


Figura 1. Porcentaje de germinación de semillas de tres variedades de chile tratadas con V. Medias \pm DE con letras distintas en cada variedad indican que existen diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \le 0.05$).

Coeficiente de velocidad de germinación (CVG)

Los resultados muestran que el vanadio influyó el coeficiente de velocidad de germinación de manera diferencial entre especies (**Figura 2**).

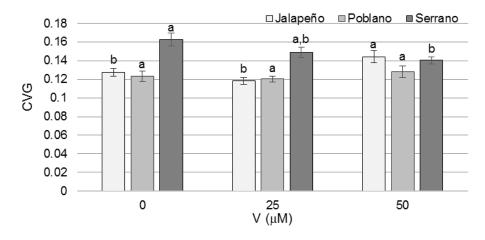


Figura 2. Coeficiente de velocidad de germinación (CVG) de tres variedades de semillas de chile tratadas con V. Medias \pm DE con letras distintas en cada variedad indican que existen diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \le 0.05$).

El V no afectó el CVG en la variedad Poblano; mientras que, en la variedad Serrano, el tratamiento con V en concentraciones de 25 y 50 μ M V reduce este coeficiente en 8.6 y 13.9% respectivamente, comparado con el testigo. Contrario a lo observado en la variedad Serrano, en la variedad Jalapeño el tratamiento de V a una concentración de 50 μ M, incrementa el coeficiente de velocidad de germinación en 13%, respecto con el testigo (**Figura 2**).

CONCLUSIONES

Las concentraciones de V evaluadas no disminuyen el porcentaje de germinación en las tres variedades de chile evaluadas. Destaca que la concentración de V de 50 μ M provoca un incremento en el CVG en la variedad Jalapeño.

BIBLIOGRAFÍA

- 50.A. Akoumianaki-loannidou, P.E. Barouchas, A. Kyramariou, E. Ilia, N.K. Moustakas, "Effect of vanadium on dry matter and nutrient concentration in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.)", Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture, Vol. 72, 2, 2015 pp. 294-298.
- 51.A. Akoumianaki-loannidou, P.E. Barouchas, E. Ilia, A. Kyramariou, N.K. Moustakas, "Effect of vanadium on dry matter and nutrient concentration in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.)", Australian J. Crop Sci., Vol. 10, 2, 2016, pp. 199-206.
- 52.A.J. Aller, J.L. Bernal, M. Nozal, L. Deban, "Effects of selected trace elements on plant growth", J. Sci. Food Agric., Vol. 51, 4, 1990, pp. 447-479.
- 53.A. Olness, D.W. Archer, R.W. Gesch, J. Rinke, "Resin-extractable phosphorus, vanadium, calcium and Magnesium as factors in maize (*Zea mays* L.) yield", J. Agron. Crop Sci., Vol. 188, 2002, pp. 94-101.
- 54.B.G. Morrel, N.W. Lepp, D.A. Phipps, "Vanadium uptake by higher plants: Some recent developments", Environ. Geochem. Health, Vol. 8, 1, 1986, pp. 14-18.
- 55.B.J. Bowman, "Vanadate uptake in *Neurospora crassa* occurs via phosphate transport system II", J. Bacteriol., Vol. 153, 1, 1983, pp. 286-291.
- 56.C.L. Carlson, D.C. Adriano, K.S. Sajwan, S.L. Abels, D.P. Thoma, J.T. Driver, "Effects of selected trace metals on germinating seeds of six plant species", Water, Air, Soil Poll., Vol. 59, 3, 1991, pp. 231-240.
- 57.D. Saco, S. Martín, P. San José, "Vanadium distribution in roots and leaves of *Phaseolus vulgaris*: morphological and ultrastructural effects", Biología Plantarum, Vol. 57, 1, 2013, pp. 128-132.
- 58.D.S. Antal, C.A. Dehelean, C.M. Canciu, M. Anke, "Vanadium in medicinal plants: new data on the occurrence of an element both essential and toxic to plants and man", Analele Universitâtii din Oradea, Fascicula Biologie, Tom. XVI, 2, 2009, pp. 5-10.
- 59.J.F. Wang, Z. Liu, "Effect of vanadium on the growth of soybean seedlings", Plant Soil, Vol. 216, 1999, pp. 47-51.
- 60.J. Yang, Y. Teng, J. Wang, J. Li, "Vanadium uptake by alfalfa grown in V-Cd-contaminated soil by pot experiment", Biol. Trace Elem. Res., Vol. 142, 2011, pp. 787-795.
- 61.L.X. Tham, N. Nagasawa, S. Matsuhashi, N.S. Ishioka, T. Ito, T. Kume, "Effect of radiation-degraded chitosan on plants stressed with vanadium", Radiation Physics and Chemistry, Vol. 61, 2, 2001, pp. 171-175.
- 62.L. Zhang, X. Mao, Z. Xia, "Effects of sodium metavanadate and germination on the sprouting of chickpeas and its content of vanadium, formononetin and biochanin a in the sprouts", J. Dietary Supplements, Vol. 9, 1, 2012, pp. 34-44.
- 63.M. Kasai, J. Yamzaki, M. Kikuchi, M. Iwaya, S. Sawada, "Concentration of vanadium in soil water and its effect on growth and metabolism of rye and wheat plants", Comm. Soil Sci. Plants Anal., Vol. 30, 7-8, 1999, pp. 971-982.
- 64.N. Vachirapatama, Y. Jirakiattikul, G. Dicinoski, A.T. Townsed, P.R. Haddad, "On-line preconcentration and sample clean-up system for the determination of vanadium as 4-(2-pyridylazo) resorcinol-hydrogen peroxide ternary complex in plant tissues by ion-interaction high performance liquid chromatography", Analytica Chimica Acta, Vol. 543, 2005, pp. 70-76.
- 65.N.W. Lepp, M.J. Roberts, "Some effects of cadmium on growth of bryophytes", Bryologist, Vol. 80, 3, 1977, pp. 533-536.
- 66.S. Navarro-Blaya, G. Navarro-García, "Química Agrícola", (Ed. Mundi Prensa México, S.A. de C.V. 2ª ed., México, D.F.), 2003, 419 p.
- 67.SAS. SAS Institute Inc., SAS/STAT Users Guide. Version 9.3", (SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA), 2011.

68.T. Zhao, B.-q. Tie, S.-w. Yang, "Effect of vanadium on seed germination and seedling growth", Environ. Sci. Technol., Vol. 30, 5, 2007, pp. 3-5.

EVALUACIÓN DE TRES ABONOS ORGÁNICOS: BOCASHI, COMPOST Y VERMICOMPOST EN LAS VARIABLES FENOLÓGICAS DEL CULTIVO DE ESPINACA (Spinacia oleracea).

Arely Villegas, Myrna Solís, Rigoberto Castro, Erik Ocaranza, Laura Barrera, Lilia Tapia, Herminia I. Pérez

Instituto Tecnológico de Tehuacán, Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco

RESUMEN

En la actualidad los suelos agrícolas muestran un marcado grado de erosión, ocasionado por las prácticas agrícolas como son el monocultivo, uso de tractores y el uso excesivo de fertilizantes químicos; esto ha repercutido en una reducción de la producción agrícola que es insuficiente para hacer frente a la creciente demanda de alimentos. Una alternativa es el uso de abonos orgánicos. Entre los abonos los más usado están la composta, la vermicomposta y el bocashi, estos pueden ser preparados a partir de cualquier tipo de residuos orgánico no tóxico, por lo que además la práctica de estas técnicas permite el uso de residuos reduciendo la contaminación por la inadecuada disposición de estos. En este trabajo se prepararon los tres abonos orgánicos, composta, bocashi y vermicomposta con residuos de frutas y verduras. Se determinó su índice de germinación como indicador de su madurez, asimismo se cuantificó contenido de materia orgánica, NPK, conductividad y pH. Finalmente se usaron en mezclas al 20% con suelo agrícola para el cultivo de espinaca. Las plantas donde se aplicó el bocashi mostraron el mismo desarrollo que con el fertilizante químico, la altura, peso aéreo fresco y seco, así como su área foliar fueron estadísticamente iguales. Esto se puede explicar porque el bocashi mostró mayor contenido de N y K, que son de los requerimientos más importantes para espinaca. Le siguió la composta y finalmente la vermicomposta. Es importante resaltar que con los tres abonos se incrementó el desarrollo de las plantas comparado con el control donde solo se usó suelo agrícola.

INTRODUCCION

El mantenimiento de la capacidad productiva del suelo requiere integrar prácticas de nutrición vegetal y de mejoramiento del suelo, que permitan un manejo adecuado de los nutrimentos para evitar su deficiencia o perdidas por lixiviación, para ello es necesario aplicar prácticas agroecológicas y generar información de sus efectos en las plantas y en suelo (Alvarez-Solís *et al.* 2010).

Dentro de las prácticas agroecológicas podemos mencionar al compost, vermicompost y el bocashi. El primero permite la estabilización y saneamiento de residuos orgánicos a través de la descomposición microbiana aeróbica, bajo condiciones controladas (Martínez-Blanco *et al.*, 2013), el proceso tarda de 4 a 6 meses. Mientras que el vermicompost se diferencia del primero, ya que es un proceso de descomposición que permite la conversión de los residuos orgánicos por la acción de lombrices y microrganismos (Malińska *et al.*, 2016). Finalmente, la preparación del bocashi se diferencia de los demás porque resulta de la fermentación aeróbica, en la cual se agrega melaza y levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) para llevar a cabo dicho proceso; este tipo de abono se obtiene de 15 a 20 días (Ramos y Terry, 2014). Dependiendo de los residuos que se utilicen, así como las condiciones bajo las cuales se lleven a cabo estos procesos, serán diferentes las propiedades de dichos productos y el tiempo de obtención del abono. Este tipo de abonos no sólo aporta nutrimentos y materia orgánica al suelo o sustrato donde se aplican, sino que también aportan hormonas y promotores de crecimiento que influyen en la mayor altura, desarrollo y producción de los cultivos en los que se aplican (Arancon *et al.*, 2004).

Por otro lado, la problemática actual que se presenta en la generación de los residuos orgánicos es una constante de estos tiempos y en todos lados, por lo que las acciones de reciclamiento y reducción mediante procesos físicos y químicos resultan costosas; una alternativa son los procesos de descomposición microbianos que se llevan a cabo de manera aeróbica, como son el

compostaje, vermicompostaje y bocashi. Al emplear éstas técnicas se reducen los costos de producción de fertilizantes para los cultivos (Del Aguila *et al.*, 2011) y se hace uso de los residuos orgánicos.

TEORIA

Son numerosos los reportes donde han destacado el beneficio que trae a los cultivos el uso de compost, vermicompost y bocashi, como es el caso de Bautista-Cruz et al. (2015), quienes al evaluar la adición de bocashi en el cultivo de maíz, solo y asociado con fertilizantes químicos y de lenta liberación, concluyeron que este tipo de estrategias permiten un mayor rendimiento de grano, ya que hay una mayor disponibilidad del fósforo, lo que permite una mejor estrategia de fertilización, pero va a depender del tipo de suelo donde se utilice.

Campos y Flores, (2013), al evaluar albahaca en sustratos con el 25, 50 y 100% de vermicompost, reportaron que en el sustrato con el 50% obtuvieron mayor área foliar (36 cm²), número de hojas (24 por planta), peso seco de hoja (97 mg) y extracción de nitrógeno (2 mg / hoja), y concluyeron que este sustrato fue el mejor porque tiene propiedades físicas apropiadas para la circulación de aire y agua.

Por otro lado, las transmisiones de enfermedades por microorganismos del suelo a la planta son responsables de los daños en los cultivos, resultando en pérdidas económicas. La incorporación de compost controla y reduce este tipo de daños, por los mecanismos y modo de acción de las comunidades microbianas presente en las raíces, que reducen la actividad de algunos agentes patógenos (Mehta *et al.*, 2014).

PARTE EXPERIMENTAL

El presente estudio se realizó de mayo - junio de 2016, en el invernadero y laboratorio del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA-IPN), ubicado geográficamente a19°16 53.55" N, 98° 21' 57.29" O, a 2221 msnm. En la localidad de Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala México.

Materiales

La vermicomposta (VC) fue adquirida en la comunidad con el productor Ivan Rojas quien se dedica al vermicompostaje de estiércol de vaca; la composta (C) fue adquirida en el jardín botánico de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Para la elaboración del bocashi (B) se utilizaron: pasto (150 kg), salvado (30 kg), paja de avena (25 kg), estiércol de vaca (100 kg), estiércol de borrego (50 kg), aserrín (10 kg), ceniza de madera (5 kg), carbón (2 kg), levadura de pan (120 g) y melaza (2 litros); estos se mezclaron en un tonel y se agregaron aproximadamente 100 litros de agua. El suelo se obtuvo de una parcela con historial agrícola aledaña al CIBA-IPN.

Los sustratos para el cultivo se prepararon mezclando los fertilizantes orgánicos (composta, vermi composta y bocashi) con el suelo en una proporción de 1:3, posteriormente fueron tamizados en una malla de 5 mm de apertura. La unidad experimental y repetición fueron bolsas de plástico con un kilogramo de sustrato. Para el tratamiento testigo, se utilizó el suelo tamizado, mientras que para el tratamiento químico, se adicionaron 0.4 g de urea, 0.17 g de superfosfato triple con el 46% de P_2O_5 , y 0.21 g cloruro de potasio con 60% de K_2O , para cada planta (Dosis recomendada y uso local).

A las muestras de compost, vermicompost y bocashi, se les calculó el índice de germinación para determinar madurez y fitotoxicidad mediante el procedimiento que describe NADF-020-AMBT-2011.

$$IG = \frac{GR*ER}{100}$$
....(1)

Donde:

$$GR = \frac{\text{\# Semillas germinadas en extracto}}{\text{\# Semillas germinadas en testigo}} * 100 \dots (2)$$

$$ER = \frac{Elongación\ radiculas\ en\ extracto}{Elongación\ radiculas\ en\ testigo} * 100 \dots (3)$$

Cultivo de espinaca

Se llevó a cabo en bolsas de plástico con un kilogramo de sustrato, se utilizaron 20 bolsas por cada tratamiento: Composta + suelo (C), Vermicomposta + suelo (VE), Bocashi más suelo (B); como testigos se utilizaron fertilizante químico (Q) y suelo sin ninguna adición (S). Se colocó una semilla de espinaca en cada bolsa, estas se mantuvieron en invernadero durante 45 días, con riego semanal.

Análisis al cultivo de espinaca

Para obtener el rendimiento de materia seca, el material vegetal cosechado se depositó en bolsas de papel previamente identificadas, se lavó y se pesó en fresco, posteriormente se secó en una estufa de aire forzado a 55 °C, durante 72 h, hasta un peso constante.

La altura de planta se registró semanalmente con una regla graduada de 30 cm de longitud y una precisión de 1 mm, con la regla colocada completamente vertical desde la base del tallo hasta el tejido vegetal más alto.

En la cosecha final, las plantas se separaron en sus componentes morfológicos (tallos, hojas, inflorescencia y material muerto) y se pesó cada componente en fresco y en base seca y se determinó el área foliar con un integrador foliar (LI-COR, LI-3100C USA).

La relación hoja: tallo se obtuvo dividiendo el rendimiento por corte del componente morfológico hoja entre el rendimiento por corte del tallo.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar. Los valores agrupados de cada tratamiento se analizaron con el análisis Anova de un factor, Post hoc, Duncan, a un nivel de significancia de 0.05, mediante el del Software estadístico IBM SPSS versión 20® para IOS.

RESULTADOS

El índice de germinación (IG) es una medida que permite predecir si el material orgánico está maduro y por ende no presenta compuestos fitotóxicos. El IG fue mayor al 80% en los tres materiales evaluados para su uso como fertilizantes: la composta, la vermicomposta y el bocashi; lo cual indica según Zucconi (1987) que no hay efectos de fitotoxicidad, por lo que se pueden usar para la siembra. El IG mayor se reportó en la composta C (92%), superando en 3 y 12 unidades porcentuales a la vermicomposta y al bocashi VM y B respectivamente.

Fenología de la espinaca

Altura de planta. Con respecto a la altura de la espinaca los resultados sugieren que al final del experimento a excepción del testigo (suelo), no se registraron diferencias (P > 0.05) entre usar los fertilizantes orgánicos y el fertilizante inorgánico; las plantas de los tratamientos fertilizados superaron la altura promedio de las plantas de S (Tabla 1), en 34.7%, 13%, 30.4% y 21% considerando los tratamientos C, VM, B y Q respectivamente. Así también, se observa en la figura 1B que las plantas del tratamiento B al inicio del experimento (semana 1 - 3) registraron los valores más bajos en altura, pero a partir de la semana cuatro - cinco crecieron lo suficiente hasta alcanzar el tamaño de las plantas del tratamiento C, éstas últimas a partir de la semana tres fueron las que presentaron las mayores alturas de planta hasta el final del experimento. Las plantas crecidas con la VC en la semana dos tuvieron la mayor elongación, pero a partir de la semana tres sus alturas estuvieron debajo de las reportadas en B (Figura 1B). Las plantas fertilizadas químicamente sólo en la semana 1 mostraron la mayor altura promedio, posteriormente fueron superadas por las adicionadas con fertilizante orgánico.

Hay reportes donde indican que este tipo de fertilizantes incrementan la altura de las plantas, como Fortis-Hernández et al (2012), reportaron que las mayores alturas de planta en pimiento morrón, a los 30 días de crecimiento, correspondieron a las fertilizadas con vermicompost en comparación al biocompost y al testigo. Gómez-Álvarez et al., (2008), al evaluar la producción de frijol y rábano, adicionando composta, reportaron que los rendimientos incrementan en 50 y 149%, respectivamente; destacando estos resultados en la altura de plantas, además de en el número de vainas y ancho de hoja. Beltrán-Morales et al. (2016), mencionan que las mayores alturas de planta y diámetro del tallo en el cultivo de chile jalapeño, tanto a cielo abierto como en invernadero, se registraron cuando se aplicó vermicompost en comparación con estiércol de vacuno solarizado y el suelo sin fertilizar. López-Baltazar et al. (2013) reportaron qué en plántulas de chile bajo condiciones de invernadero, las plantas cultivadas en vermicompost más bagazo mezcalero (50:50), presentaron la mayor altura además del mayor diámetro de tallo.

Número de hojas por planta. El número de hojas por planta mostró que con el fertilizante químico y la composta tuvieron los valores más altos desde el inicio hasta el final del experimento, mientras con la aplicación del bocashi y la vermicomposta tuvieron valores similares entre sí, pero inferiores a las plantas fertilizadas químicamente y donde se aplicó composta; finalmente el suelo solo fue donde se obtuvieron plantas con el que menor número de hojas (Figura 1A), debido a que en este sustrato el contenido de nutrientes fue menor y las plántulas no llegaron a su etapa reproductiva como en el resto de los sustratos.

Hay documentos donde también reportan que los fertilizantes orgánicos inciden sobre el número de hojas, un ejemplo es López-Baltazar et al. (2013) qué en plántulas de chile cultivadas en vermicomposta obtuvieron el mayor número de hojas promedio en comparación al tratamiento con turba comercial. En la variable de número de hojas por planta, la composta a partir de gallinaza y estiércol tuvieron resultados similares al fertilizante orgánico (16 hojas en promedio).

En todas las variables fenológicas medidas a las plantas (tabla 1) y de acuerdo al análisis estadístico el mejor tratamiento fue el bocashi, seguido de la fertilización química, la composta y por último la vermicomposta; en todos los casos las plantas se desarrollaron más que con el control suelo. En la altura de planta los máximos valores promedio se alcanzaron con la composta y el bocashi (P< 0.05), seguido del tratamiento químico y la vermicomposta, con estos últimos la altura fue similar entre ellos y mayor al control suelo. En la longitud de raíz el mayor valor se obtuvo con la composta, después la vermicomposta, con bocashi y aplicando fertilizante químico el desarrollo radicular fue similar entre ellos e igual al control suelo. En la longitud del tallo se obtuvo el mayor valor con el tratamiento químico, seguido de composta y bocashi, que reportaron valores similares, después con la vermicomposta y la menor longitud de tallo fue con el control suelo. El peso de raíz fue mayor con la composta, seguido de ambos bocashi y químico, les siguió la vermicomposta y el control suelo, estos últimos con valores iguales entre ellos. El mayor peso de hojas se encontró con el bocashi y el químico, seguido de la composta y después la vermicomposta, el menor valor correspondió al control suelo. Para el peso de tallo el mejor tratamiento fue con fertilizante químico, seguido de la composta, el peso de los demás tratamientos fue inferior a estos peros semejantes entre ellos e igual que el control suelo. El peso total fresco fue mayor con el bocashi y el químico, después la composta y al final la vermicomposta junto con el control suelo. El área foliar y la relación área foliar/hoja fueron mayores con el bocashi, seguido de los otros tres tratamientos que no tuvieron diferencia entre ellos pero superaron al control suelo. El bocashi dio mejores resultados ya que este es el que mostró mayor conductividad, que es una medida que se relaciona con las sales; así mismo tuvo el mayor contenido de nutrientes, tanto materia orgánica, P y K y alto contenido de N. El contenido nutrimental de la composta y la vermicomposta fueron similares entre ellas.

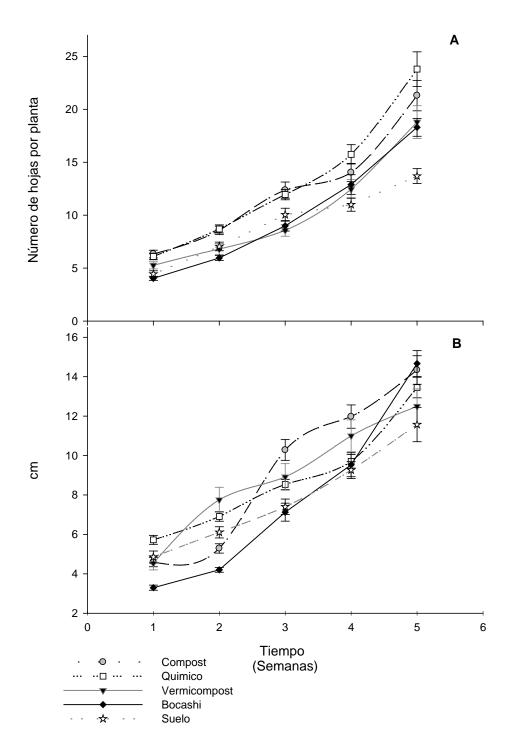


Figura 1. Numero de hojas por planta (A) y altura (B) en un periodo de crecimiento de cinco semanas de cultivo de espinaca en diferentes sustratos

Tabla 1. Variables fenológicas en Espinaca en diferentes sustratos, durante un ciclo de crecimiento.

Valores promedio	Tratamiento					
valores promedio	Composta	Vermicomposta	Bocashi	Químico	Suelo	
Altura Planta (cm)	15.5 a	13 ab	15 a	13.9 ab	11.5 b	
Longitud raíz (cm)	30.87 a	24.3 ab	19.8 b	20.5 b	17.6 b	
Longitud tallo (cm)	19.8 ab	17.5 b	20.5 ab	22.5 a	13 c	
Peso raíz (g)	3.61 a	2.0 b	2.4 ab	2.2 ab	1.53 b	
Peso hojas (g)	17.1 ab	11.7 bc	22.6 a	20.1 a	4.8 c	
Peso tallo (g)	2.6 ab	2.0 b	2.24 b	3.8 a	1.53 b	
Peso total fresco (g)	25 ab	16.2 b	27.24 a	26.93 a	7.93 b	
Área foliar (cm²)	275 ab	326 ab	408 a	332 ab	112 b	
Área foliar / hoja (cm²)	14.5 ab	16.2 ab	23.2 a	16.7 ab	7.8 b	

Medias con literales diferentes en hileras son estadísticamente diferentes (Tukey P > 0.05).

Algunos trabajos han comparado la aplicación de estos esquemas de fertilización, como en pimientos, donde el rendimiento en dosis bajas de fertilización incrementó 3.8, 12.7 y 11.5% con composta, bocashi y humus de lombriz; mientras que con dosis altas fue de 17.7, 21.9 y 30.5%, respectivamente (Arancon et al., 2004). Daiss et al, (2008), al evaluar la calidad de acelga, fertilizada con bocashi, menciona que las hojas defoliadas al final del periodo de cosecha, tenían niveles más altos de materia seca, azúcares, proteínas y ácido ascórbico que las acelgas testigo.

Citak y Sonmez, (2010), al evaluar la fertilización química y la orgánica proveniente de diferentes residuos orgánicos (residuos de granja, galliza y harina se sangre), reportaron que estos pueden ser usados con efectividad en el cultivo de espinaca y promueven crecimiento de las plantas, especialmente en la época de otoño. Sin embargo, los niveles de producción fueron bajos 40% inferiores, en comparación con la fertilización nitrógenada, pero en el contenido de proteína C, en las hojas fue mayor.

CONCLUSIONES

El bocashi resultó ser el fertilizante orgánico que superó al fertilizante químico, a pesar de que al inicio registró los valores más bajos en las variables de altura de planta y número de hojas con respecto a todos los tratamientos, por lo que utilizar este tipo de fertilizante tendría efectos positivos en cultivo de la espinaca. Los fertilizantes orgánicos son buenas alternativas al uso de agroquímicos, en especial para el cultivo de espinaca, el bocashi tuvo los elementos nutritivos que permitieron su mejor desarrollo aún comparado con los fertilizantes orgánicos.

El compost es otra alternativa viable para evitar el uso de productos químicos, los resultados fueron similares a los obtenidos con los productos químicos y esto es importante señalarlo ya que es más económico preparar composta, considerando los insumo, que preparar bocashi.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología así como al Instituto Nacional de las Mujeres por el apoyo brindado al proyecto titulado "Productos verdes para el empoderamiento de mujeres en comunidades rurales de Puebla y Tlaxcala".

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Álvarez-Solís J., Gomez-Velasco A., León-Martínez N. S., Gutiérrez-Miceli F. A. "Manejo Integrado de fertilizantes y abonos orgánicos en el cultivo de maíz". Agrociencia 2010; 44(5): 575-586.
- 2. Arancon N. Q., Edwards C. A., Atiyeh R., Metzger J. D. "Effects of vermicompost produced from food waste on the growth and yields of greenhouse peppers". Biores. Tech. 2004; (93): 139-144.

- 3. Beltrán-Morales F. A., García-Hernández J. L., Ruiz-Espinoza F. H., Valdez-Cepeda D., Preciado-Rangel P., Fortis-Hernández M., Gonzáles-Zamora A. "Efecto de sustratos orgánicos en el crecimiento de seis variedades de chile jalapeño (Capsicum annuum L.)". Eco. Rec. Agrop.; 2016, 3(7): 143-149.
- 4. Citak S., Sonmez S. "Efectos of conventional and organic fertilization on spinach (*Spinacea oleracea* L.) growth, yield, vitamin C and nitrate concentration during two successive seasons". Scientia Hort; 2010, (126): 415-420.
- 5. Daiss N., Lobo M.G., Gonzáles M. "Changes in postharverst quality of swisschard grown using 3 organic preharvest treatments". J Food Sci; 2008, 73(6): 314-320.
- Del Aguila J. P., Lugo F. J., Vaca P. R. "Vermicomposting as a process to stabilize organic waste and sewage sludge as an aplication for soil". Trop Subtr Agroec; 2011, (14): 949-963.
- 7. Fortis-Hernández M., Preciado-Rangel P., García-Hernández J. L., Navarro B. A., Antonio-González J., Omaña S. J. M. "Sustratos orgánicos en la producción de chile pimiento morrón". Rev Mex Cienc Agric; 2012; 3(6): 1203-1216.
- 8. Gómez-Álvarez R., Lázaro-Jerónimo G., León-Nájera J. A. "Producción de frijol (Phaseolus vulgaris L.) y rábano (Rabanus sativus L.) en huertos biointensivos en el trópico húmedo de Tabasco". Univ. Cienc. Trp. Hum. 2008; 24(1): 11-20.
- 9. López-Baltazar J., Méndez-Matias A., Pliego-Marin L., Aragón-Robles E., Robles-Martínez M. L. "Evaluación agronómica de sustratos en plántulas de chile 'onza' (*Capsicum annuum*) en invernadero". Rev Mex Cienc Agric; 2013, (6): 1139-1150
- 10. Malińska K., Zabochnicka-Świątek M., Cáceres R., Marfà O. "The effect of precomposted sewage sludge mixture amended with biochar on the growth and reproduction of Eisenia fetida during laboratory vermicomposting". Ecol Eng., 2016 (90): 35-41.
- 11. Martínez-Blanco J., Lazcano C., Christensen T. H., Muñoz P., Rieradevall J., Møller J., Boldrin A. "Compost benefits for agriculture evaluated by life cycle assessment. A review2. Agron sust develop; 2013, 33(4): 721-732.
- 12. Ramos D. A., Terry E. A. "Generalidades de los abonos orgánicos: Importancia del Bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas". Cult trop; 2014, 35(4): 52-59.

DESPOLIMERIZACIÓN DE LA LIGNINA RESIDUAL DE PAJA DE TRIGO Y SU CONVERSIÓN EN SUSTANCIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL

Zoila Torres Valencia, Liliana Márquez-Benavides, Vanessa Ruby García-Ortíz y Juan Manuel Sánchez-Yáñez

Laboratorio de Microbiología Ambiental Instituto de Investigaciones Químico Biológicas Instituto de Investigaciones Agrícolas Pecuarias y Forestales Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

RESUMEN

La lignina residual de paja de trigo (LIREPATO) incinerada causa contaminación ambiental. Los objetivos de este trabajo fueron: a) despolimerización de LIREPATO por *Aspergillus fumigatus*, b) conversión de aromáticos (ARO) de LIREPATO mediante *Micromonospora echinospora* en sustancias promotoras de crecimiento vegetal (SUPOCEVE) y c) evaluar efectos de las SUPOCEVE de *M. echinospora* en *Zea mays*. La LIREPATO se degradó con *A. fumigatus* que *M. echinospora* convirtió los ARO en SUPOCEVE. Se evaluó el porciento de germinación, la fenología altura de planta (AP) y longitud radical (LR) y la biomasa: peso fresco aéreo (PFA)/peso fresco radical (PFR) y peso seco aéreo (PSA)/peso seco radical (PSR). Los datos fueron analizados por Anova-tukey. El efecto de la SUPOCEVE generada por la doble acción de fermentación mediante *A. fumigatus* y *M. echinospora* a partir de la conversión de LIREPATO sobre *Z. mays* expresó un PFA de 0.7 g y 0.9 g de PFR a dosis de 50 µl; valores superiores al CR, donde el PFA fue de 0.6 g y 0.4 g de PFR. Lo anterior confirma que la LIREPATO es una fuente potencial de conversión en SUPOCEVE empleando doble fermentación con *A. fumigatus* y *M. echinospora*.

Palabras clave: LIREPATO, A. fumigatus, aromático, M. echinospora, fitohormonas.

INTRODUCCIÓN

Entre la variedad de cultivos agrícolas, el *Triticum aestivum* (trigo) es de los más importantes respecto a la cantidad sembrada, por lo que su cultivo genera una cantidad de paja residual (Arora *et al.*, 2011). La lignina residual de paja de trigo (LIREPATO) es aprovechable si se degrada, pero no por métodos químicos que son de alto costo y sus subproductos que contaminan el ambiente; una alternativa menos explorada son los hongos mitospóricos ligninolíticos del tipo *Aspergillus fumigatus* y *Penicillium chrysogenum* que tienen la capacidad de degradar con enzimas extracelulares principalmente la lacasa (Lac); bajo condiciones nutricionales sencillas en un tiempo relativamente corto, que comparado con géneros de los basidiomicetos, la degradación es de mayor tiempo (Safari *et al.*, 2005; Zeng *et al.*, 2006; Chang *et al.*, 2012; Bonilla *et al.*, 2013).

Algunos géneros bacterianos como Azotobacter beijerinckii y Micromonospora echinospora tienen la capacidad para transformar los aromáticos (ARO) en sustancias promotoras de crecimiento vegetal (SUPOCEVE). Esto implica que al aumentar el número y tamaño de los pelos radiculares; así como el peso de la raíz incrementan la absorción de nutrientes y agua (Nelson & Radwan 2004); aspectos relacionados con el crecimiento de las plantas son controlados por las SUPOCEVE (Debi et al., 2005). Cabe mencionar que las bacterias promotoras de crecimiento vegeal (BAPOCEVE) producen varios tipos de SUPOCEVE como son las auxinas, citoquininas y las giberelinas que mantienen cierta estabilidad de crecimiento en la planta (Yanni et al., 2001; Steenhoudt et al., 2000). Debido a las diferentes acciones que cumplen las SUPOCEVE se han estudiado que algunos mecanismos con mayor amplitud es la producción de auxinas,

específicamente el ácido indol acético (AIA), elemento esencial en el crecimiento de las plantas (Hernández et al., 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se consideró a A. fumigatus de la colección del Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la UMSNH. Se extrajo la LIREPATO seca, se molió y posteriormente se tamizó en malla de 0.0841 mm; para eliminar una parte de la celulosa y las hemicelulosas con ácido acético (CH₃-COOH) al 10% (v/v) por 30 min en proporción 1:2 (p/v), después se neutralizó con NaOH al 10% (p/v), enseguida se lavó con agua destilada, se esterilizó a 120 °C /60 min y se secó en horno a 70 °C por 24 h. Para la activación de A. fumigatus se realizó en medio hueso de aguacate (AHA). El micelio del AHA de A. fumigatus se removió de la caja petri con 15.0 ml de (solución salina detergente) estéril 12 ml NaCl 0.85% (p/v) y 3.0 ml detergente (RomaMR) 0.01% (p/v), posteriormente se extrajo con asa y se recuperó con pipeta de 5 mL; luego 12.5 mL del recuperado de A. fumigatus se inoculó en matraces Erlenmeyer de 500 mL con 250 mL de caldo. El CLIREPATO DEPO, transformado por A. fumigatus, se centrifugó a 8000 rpm por 15min y se agregó peptona de caseína 4g L-1 (Bioxon), extracto de levadura (Bioxon) 2.0 g L-1, glucosa 2.0 g L⁻¹ y CuSO₄ 5H₂O 160 ppm se ajustó pH a 6.8-7.0. Se activó M. echinospora en AHA y se removió de la caja petri con 15 mL de (solución salina detergente) estéril 12 mL NaCl 0.85% (p/v) y 3.0 mL detergente (RomaMR) 0.01% (p/v), posteriormente se extrajo con pipeta de 5 mL; luego en el sobrenadante del CLIREPATO se inoculó 12.5 mL de M. echinospora por 16 días a 30°C a 150 rpm; se tomaron muestras los días 9, 12 y 16 (Sánchez-Yáñez, 2007).. El LIREPATO transformado por M. echinospora en SUPOCEVE se centrifugó a 10,000 a 8°C/20 rpm/20 min, el sobrenadante se recuperó en tubos de ensaye estériles y se congelaron para realizar el bioensayo correspondiente en semilla de Z. mays. La semilla de Z. mays se desinfectaron con alcohol diluido al 70 % y se lavaron seis veces con agua destilada estéril, enseguida se desinfectaron con cloro diluido al 6% y posteriormente se lavaron seis veces con agua destilada estéril. Las semillas se trataron con los sobrenadantes de los transformados por M. echinospora a tres dosis de 50 µL, 100 μL y 150 μL. En cajas de Petri estériles se colocaron las semillas sobre una cama de algodón con agua destilada estéril como soporte, se cubrieron con un papel filtro estéril; de acuerdo al diseño experimental, las semillas como CA fueron irrigadas sólo con agua destilada estéril y las otras semillas como CR se alimentaron con solución mineral. Las cajas con las semillas se dejaron en solárium en la obscuridad por 3 días y 15 días después se midió su fenología: AP/LR; y su biomasa: PFA/PFR, finalmente se secó la parte aérea y radical a 80 °C por 24h en horno, para obtener el peso seco aéreo y peso seco radical (González et al., 2014). Los datos experimentales fueron analizados por Tukey con un nivel de significancia α de 0.05 mediante el programa Statgraphics Centurion 16.103 ® (Nishida & Fukuzumi, 1978; Rahouti et al., 1989).

RESULTADOS

En la tabla 1, se muestra el porcentaje de germinación de la semilla de *Zea mays*, tratada con la SUPOCEVE a dosis de 50 μL que fue de 100%, en tanto que *Z. mays* con 150 μL de la SUPOCEVE alcanzó un 94.44% de germinación; mientras que *Z. mays* tratada con la giberelina comercial a dosis de 50 μL registró un 83.33% de germinación, por su parte, *Z. mays* tratada con 150 μL de giberelina comercial reportó un 100% de germinación que, comparados estos resultados con el control absoluto, semilla irrigada sólo con agua y con el control relativo, semilla alimentada

con solución mineral, mostró 100% de germinación para ambos controles, resultados estadícamente diferentes.

Tabla 1. Efecto de sustancias promotoras de crecimiento vegetal a partir de lignina residual de paja de trigo (LIREPATO) por Micromonospora echinospora en el porciento de germinación y días a emergencia de Zea mays. Porcentaje de germinación Zea mays tratada con la SUPOCEVE Agua (control absoluto) 100^{a*}± 0 100^{a*}± 0 Solución mineral (control relativo) 100^{a*}± 0 Convertido o SUPOCEVE de M. echinospora a dosis de 50 µL Convertido o SUPOCEVE de M. echinospora M. echinospora a 94.44^b± 0.57 dosis de 150 µL $83.33^{c} \pm 1.0$ Giberelina comercial a dosis de 50 µL Giberelina comercial 150 µL 100^{a*}± 0

Tabla 2. Efecto de la SUPOCEVE de *M. echinospora* generada por la conversión de LIREPATO en la fenología y biomasa de *Zea mays*.

Dosis	50 μL	Fenc	otipia	Dosis 150 μL	Bior	nasa	Dosis 50 µL	Bio	masa
Tratar	miento	Altura de planta (cm)	Longitud de raíz (cm)	Tratamiento	Peso seco aéreo (g)	Peso seco radical (g)	Tratamiento	Peso fresco aéreo (g)	Peso fresco radical (g)

^{*}Las letras iguales indican una diferencia estadística significativa al 5.0 % según el Software de Statgraphics Centurion 16.103.

Control absoluto (CA)	9.9 ^b ±3.36	13.6°±4.06	Control absoluto (CA)	0.04 ^d ±0.02	0.05°±0.02	Control absoluto (CA)	0.4°±0.23	0.3°±0.14
Control relativo (CR)	12.3ª±3.36	17.9 ^a ±5.67	Control relativo (CR)	0.06 ^a ±0.01	0.07 ^b ±0.01	Control relativo (CR)	0.6 ^b ±0.28	0.4 ^b ±0.12
Convertido o SUPOCEVE de M. echinospora	12.0 ^a ±5.03	18.1 ^{a*} ±7.50	Convertido o SUPOCEVE de M. echinospora	0.07 ^{a*} ±0.01	0.08 ^{a*} ±0.01	Convertido o SUPOCEVE de M. echinospora	0.7 ^{a*} ±0.33	0.9 ^{a*} ±0.042
Giberelina comercial	12.6 ^{a*} ±6.20	17.1 ^b ±8.79	Giberelina comercial	0.05°±0.02	0.08 ^{a*} ±0.02	Giberelina comercial	0.6 ^b ±0.29	0.4 ^b ±0.25

*Las letras iguales indican una diferencia estadística significativa al 5.0 % según el Software de Statgraphics Centurion 16.103.

Los resultados obtenidos en la tabla 2 indican una respuesta positiva en la fenotipia de *Z. mays*, con un valor de AP de 12.0 cm y una LR de 18.1 cm tratada a dosis de 50 µl de las SUPOCEVE de *M. echinospora* generada por la conversión de los ARO de la LIREPATO mediante *A. fumigatus*; detectándose diferencia estadística significativa con la giberelina comercial a la misma dosis de 50 µL con 12.6 cm de la AP y 17.1 cm de la LR, que comparando estos resultados con el control relativo (CR), semilla alimentada con solución mineral; fueron estadísticamente iguales, donde la AP fue de 12.3 cm y una LR de 17.9 cm.; mientras que los valores reportados para el control absoluto (CA), semilla irrigada sólo con agua; se reportó una AP de 9.9 cm y una LR de 13.6 cm; valores estadísticamente diferentes comparados con *Z. mays* tratada con las SUPOCEVE a dosis de 50 µl y el CR. Estos resultados mostraron una respuesta favorable para la semilla de *Z. mays* tratada con las SUPOCEVE a dosis de 50 µl.

Donde también se observó un efecto positivo de la SUPOCEVE convertida por *M. echinospora* mediante los ARO de la LIREPATO transformados por *A. fumigatus* sobre la semilla de *Z. mays* fue a la dosis de 150 µL sobre la biomasa PSA/PSR; donde el PSA fue de 0.07 g y el PSR de 0.08 g valores estadísticamente superiors contra el tratamiento de la giberelina commercial, donde presenta resultados en el PSA de 0.05 g y 0.08 g para el PSR; mientras que los valores registrados para el CR, semilla alimentada con una solución mineral fueron de 0.06 g en el PSA y 0.07 g en el PSR que comparada la respuesta con la semilla CA, semilla irrigada sólo con agua, se observa una diferencia estadística con un valor menor del PSA de 0.04 g y 0.05 g para el PSR.

Los valores que se muestran para la dosis de 50 μ L en cuanto al PFA y PFR indican un efecto positivo de la SUPOCEVE transformada por *M. echinospora* a partir de los ARO de la LIREPATO

mediante *A. fumigatus*, donde los valores del PFA fueron de 0.7 g y 0.9 del PFR g a dosis de 50 μL; en tanto que la semilla tratada con la giberelina comercial a dosis de 50 μL se reportaron valores inferiores estadísticamente significativos, mostrándose un PFA de 0.6 g y un PFR de 0.4 g; comparados estos tratamientos que corresponden a la semilla tratada con el convertido por *M. echinospora* y la giberelina comercial son estadísticamente diferentes con el CR, donde *Z. mays* alimentada con solución mineral se observan valores de 0.6 g del PFA y 0.4 g del PFR. Los datos obtenidos del CA, semilla irrigada sólo con agua, señalándose valores para el PFA de 0.4 g y 0.03 g para el PFR, valores estadísticamente diferentes o inferiores comparados con *Z. mays* tratada con las SUPOCEVE producida por *M. echinospora* apartir de la DEPO de la LIREPATO por *A. fumigatus* a dosis de 50 μL y comparados con el CR. Estos resultados mostraron que las SUPOCEVE producida por *M. echinospora* tienden a mejorar la germinación de las semillas y por ello aumentar la biomasa de la parte área y raíz.

CONCLUSION

Lo anterior concluye que la LIREPATO despolimerizada por *A. fumigatus* genera ARO que *M. echinospora* convierte en SUPOCEVE tipo giberelina, por ello daría a la LIREPATO un valor biotecnológico.

Se agradece el apoyo otorgados por la Coordinación de la Investigación Científica: 2.7 (2017) UMSNH, Morelia, Mich; a BIONUTRA S.A. C.V., Maravatío Mich., México por el apoyo.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Arora, D. S., Sharma, R. K., & Chandra, P. 2011. Biodelignification of wheat straw and its effect on in vitro digestibility and antioxidant properties. International Biodeterioration & Biodegradation. 65: 352-358.
- 2. Bonilla, F. S., Márquez-Benavides, L., & Sánchez-Yáñez, J. M. 2013. Aprovechamiento de residuos lignocelulósicos de trigo de una biorrefinería: pretratamiento. Laboratorio de Residuos Sólidos y Medio Ambiente, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Forestales. V Congreso Interamericano de Residuos Sólidos. Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental con su División Técnica-DIRSA y la Asociación Peruana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Lima Perú.
- 3. Chang, A. J., Fan, J., & Wen, X. 2012. Screening of fungi capable of highly selective degradation of lignin in rice straw. International Biodeterioration & Biodegradation. 72: 26-30.
- 4. Debi, B. R., Chhun, T., Taketa, S., Tsurumi, S., Xia, K., Miyao, A., & Ichii, M. 2005. Defects in root development and gravity response in the aem1 mutant of rice are associated with reduced auxin efflux. Journal of Plant Physiology. 162: 678-685.
- 5. Hernández, Annia; Acebo, Yanelis; Rives, Narovis. 2007. "Bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo del arroz (Oryza sativa L.). Perspectivas de su uso en Cuba". Cultivos Tropicales. 28: 29-38.
- 6. Nelson, L. M. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Prospects for new inoculants. 3: 0-0.
- 7. Nishida, A., & Fukuzumi, T. 1978. Formation of coniferyl alcohol from ferulic acid by the white rot fungus *Trametes*. Phytochemistry. 17: 417-419.
- 8. Nishida, A., & Fukuzumi, T. 1978. Formation of coniferyl alcohol from ferulic acid by the white rot fungus *Trametes*. Phytochemistry. 17: 417-419.

- Radwan, T. E. S. E. D., Mohamed, Z. K., & Reis, V. M. 2004. Efeito da inoculação de Azospirillum e Herbaspirillum na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. 39: 987-994.
- 10. Rahouti, M., Seigle-Murandi, F., Steiman, R., & Eriksson, K. E. 1989. Metabolism of ferulic acid by *Paecilomyces variotii* and *Pestalotia palmarum*. Applied and Environmental Microbiology. 55: 2391-2398.
- 11. Safari, A. A., Emtiazi, G., Hajrasuliha, S., & Shariatmadari, H. 2005. Biodegradation of some agricultural residues by fungi in agitated submerged cultures. African Journal of Biotechnology. 4: 1058-1061.
- 12. Sánchez-Yáñez, J. M. 2007. Breve Tratado De Microbiología Agrícola, Teoría y Práctica. Instituto de Investigaciones Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, CONSUSTENTA, SA de CV, Centro de Investigación y Desarrollo del Estado de Michoacán, Morelia, Mich. México. 130-133.
- 13. Steenhoudt, O., & Vanderleyden, J. 2000. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. FEMS Microbiology Reviews. 24: 487-506.
- 14. Yanni, Y. G., Rizk, R. Y., El-Fattah, F. K. A., Squartini, A., Corich, V., Giacomini, A., & Vega-Hernandez, M. 2001. The beneficial plant growth-promoting association of *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii with rice roots. Functional Plant Biology. 28: 845-870.
- 15. Zeng, G. M., Yu, H. Y., Huang, H. L., Huang, D. L., Chen, Y. N., Huang, G. H., & Li, J. B. 2006. Laccase activities of a soil fungus *Penicillium simplicissimum* in relation to lignin degradation. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 22: 317-324.

TAMAÑO DE PLANTA EN EL CRECIMIENTO DE BROTES VEGETATIVOS E INDUCCIÓN FLORAL DE LA ORQUÍDEA Laelia anceps subesp. anceps, EN AMBIENTE CONTROLADO

Héctor E. Sentíes-Herrera, Olga Tejeda-Sartorius, Libia Iris Trejo-Téllez, Yasbet Ríos Barreto.

Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, olgats@colpos.mx; tlibia@colpos.mx; hector.senties@colpos.mx
Universidad Autónoma Chapingo, yasisar.26@gmail.com

RESUMEN

Se investigó la influencia del tamaño de planta en la emergencia y crecimiento de nuevos brotes vegetativos de Laelia anceps subesp. anceps, con potencial inductivo a floración. Se seleccionaron plantas de cinco diferentes tamaños basados en el número de pseudobulbos (PSB), asignándose a los tratamientos: T1 (4-5 PSB) establecido como testigo porque es un tamaño mínimo considerado para inducción floral, T2 (6-7 PSB), T3 (8-9 PSB), T4 (10-11 PSB), T5 (12-13 PSB). Los tratamientos se sometieron a fotoperiodo y temperatura en ambiente controlado: 12/12 h, con temperatura diurna/nocturna 23°C/12° C ± 1°C, con iluminación LED con un FFF de 64 µmol m⁻² s⁻¹ 1. Las plantas de los tratamientos T1, T2 y T3 tienen mayor incremento porcentual en estructuras vegetativas totales (hojas y pseudobulbos) al final del ciclo experimental. La hoja de los nuevos brotes es más grande (largo y ancho) cuando se usan plantas con tamaños de los tratamientos T1, T2, T3 y T4. El pseudobulbo del nuevo brote es más grande con plantas de T1 y T2. En cuanto a floración, el porcentaje de plantas inducidas disminuye de manera directamente proporcional al número de pseudobulbos. Pero entre tratamientos, el mayor número de brotes vegetativos e inducciones florales corresponde a plantas con tamaño de 8-9 y 10-11 pseudobulbos (T3 y T4). Bajo las condiciones establecidas, conforme aumenta el tamaño de planta, disminuye el crecimiento de pseudobulbos, y entre más grande es la planta tiende a emitir más brotes vegetativos inductivos a floración.

INTRODUCCIÓN

Estudios ecológicos reportan la importancia del tamaño de planta en los eventos reproductivos de orquídeas, por ejemplo, la longitud de la inflorescencia para la atracción de polinizadores (Rodríguez-Robles *et al.*, 1992); así como para investigar las irregularidades en las rutas de floración, para la que se han sugerido efectos de costos asociados a la reproducción, herbivoría o factores externos como el clima (Pfeifer *et al.*, 2006). Sin embargo, por una parte, Kindlmann y Balounová (1999) reportaron que ni los costos de reproducción ni la herbivoría pueden explicar los raros eventos de la transición de floración en un año, a la esterilidad o ausencia de flor el siguiente año. Por su parte, Pfeifer *et al.* (2006) mencionan que la probabilidad de la floración estuvo fuertemente determinada por el tamaño de la planta y que el costo reproductivo disminuyó el tamaño de la planta, causando reducida probabilidad de floración de las plantas el año siguiente. Así mismo, concluyen que el clima es un factor determinante en la variabilidad de la floración.

Lo anterior conlleva a que si los intereses son hortícolas para la producción comercial de orquídeas, la investigación debe enfocarse a descubrir los mecanismos que disparan la floración, lo cual implica un camino largo. Para híbridos de *Phalaenopsis*, los eventos de floración están muy estudiados, pero aún se siguen investigando tantos procesos conforme tantos híbridos existan, porque cada uno puede responder de manera diferente. Cuando se desea manejar materiales

silvestres de orquídeas para producción comercial, el asunto se complica aún más, ya que obtener distintivos hortícolas deseables es complicado, precisamente por la irregularidad de la floración y la variabilidad genética, además de que la literatura disponible es muy escasa.

Se ha documentado que el tamaño de planta influye en la inducción y desarrollo de la floración. Para el casos de híbridos, por ejemplo, Paradiso y de Pascale (2014) investigaron efectos del tamaño de plantas, temperatura e intensidad lumínica en la floración de híbridos de *Phalaenopsis*, y reportaron que, comparado con el tamaño considerado óptimo para la floración, el tamaño más pequeño investigado al momento de inducir floración influyó en el desarrollo floral, al retrasar la emergencia del tallo floral y la antesis floral, y dañar otras características del tallo floral. Para el caso de orquídeas silvestres se ha observado que el tamaño de planta influye en la emisión de brotes vegetativos que darán origen al nuevo tallo floral. De manera común, se dice que el tamaño mínimo para que se desarrolle exitosamente después de un trasplante, la orquídea debe tener de 4 – 5 pseudobulbos. Para el caso de *Laelia anceps* subesp. *anceps*, al utilizar este tamaño se han obtenido floraciones en diferentes ciclos, pero la floración suele ser irregular, sobre todo después de un trasplante.

Con base en lo anterior, se planteó el objetivo de investigar la influencia del tamaño de planta de *Laelia anceps* subesp. *anceps*, basado en el número de pseudobulbos, en la emisión y crecimiento de brotes vegetativos con potencial inductivo a floración.

PARTE EXPERIMENTAL

Se seleccionaron plantas adultas de *Laelia anceps* subesp. *anceps*, de cinco diferentes tamaños (basado en número de pseudobulbos -PSB), previo a la emisión de brotes vegetativos. Las plantas fueron establecidas en macetas con corteza de pino, turba, perlita (60:20:20, v:v:v). Las plantas se sometieron a fotoperiodo y temperatura en ambiente controlado: 12/12 h, con temperatura diurna/nocturna 23° C/ 12° C \pm 1° C, con iluminación LED con un FFF de 64 µmol m⁻² s⁻¹. Se fertilizaron semanalmente con Peters[®] 30-10-10 para promover la emisión de brotes vegetativos. Cuando los brotes alcanzaron un tamaño de 10 cm, la fertilización cambió a Peters[®] 10-30-20.

Los diferentes tamaños de plantas se asignaron a los tratamientos como sigue: T1 (4-5 PSB) establecido como testigo porque es el tamaño mínimo considerado para inducción floral, T2 (6-7 PSB), T3 (8-9 PSB), T4 (10-11 PSB), T5 (12-13 PSB). Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar, utilizando 15 repeticiones cada uno.

Se midieron las variables de crecimiento al inicio y final del experimento: número de hojas y pseudobulbos. Al final del ciclo, se consideró el crecimiento del nuevo brote vegetativo: largo y ancho de hoja, largo y diámetro del PSB así como el número de brotes vegetativos. Asimismo, se contabilizó el número de inducciones florales.

Análisis estadístico. Los datos se evaluaron con análisis de varianza y prueba de comparación de medias con la prueba de LSD utilizando los procedimientos PROC ANOVA y PROC GLM. En las pruebas estadísticas aplicadas se utilizó un nivel de significancia de α=0.05, (SAS, 2011).

RESULTADOS

Los resultados mostraron un incremento porcentual mayor en el número total de hojas en el tratamiento con plantas de tamaño 6-7 PSB, en relación con las de 10-11 y 12-13 PSB. Asimismo, las plantas de los tres primeros tratamientos (T1/4-5, T2/6-7 y T3/8-9 PSB) tuvieron un mayor incremento porcentual en el número total de PSB, en comparación con plantas de los grupos con mayor número de PSB (T4/10-11 y T5/12-13 PSB), (**Figura 1**).

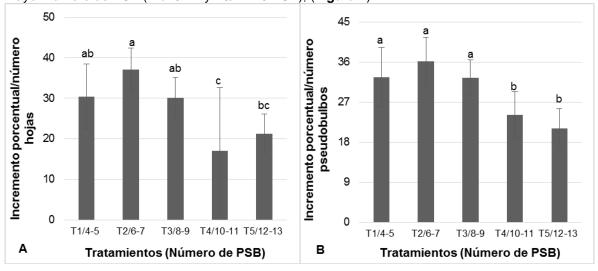


Figura 1. Incremento porcentual en: **A**) número de hojas, y **B**) número de pseudobulbos, entre el inicio y final de la etapa experimental, en plantas de *Laelia anceps* subesp. *anceps* con diferentes tamaños según número inicial de pseudobulbos (PSB). Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indica diferencias estadísticas (LSD al 5%).

Para las variables tomadas al final del experimento, se observó mayor crecimiento de los nuevos brotes vegetativos en cuanto a hoja (ancho y largo) en los tratamientos T1 al T4 en comparación con T5 (**Figuras 2A y 2B**).

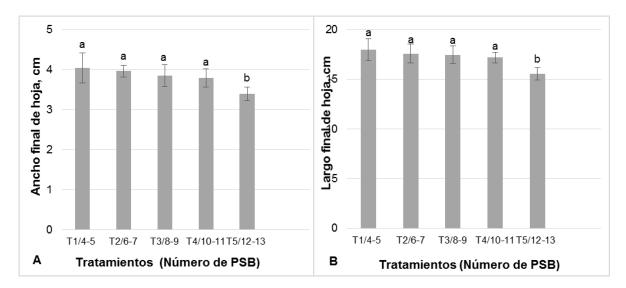


Figura 2. Crecimiento de hoja: **A**) ancho, y **B**) largo, al final de la etapa experimental, en plantas de *Laelia anceps* subesp. *anceps* con diferentes tamaños, según número inicial de pseudobulbos (PSB). Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indica diferencias estadísticas (LSD al 5%).

De la misma manera, para el crecimiento de PSB de los nuevos brotes vegetativos se observó que en T1 y T2 el largo y diámetro de dicha estructura fueron mayores en relación con T3, T4 y T5 (**Figura 3A y 3B**).

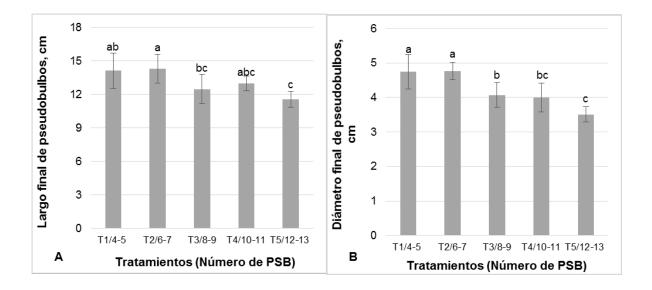


Figura 3. Crecimiento de pseudobulbo: **A**) largo, y **B**) diámetro, al final de la etapa experimental, en plantas de *Laelia anceps* subesp. *anceps* con diferentes tamaños según número inicial de pseudobulbos (PSB). Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indica diferencias estadísticas (LSD al 5%).

En cuanto a las características evaluadas de la floración, los resultados mostraron que conforme aumentó el tamaño de las plantas según tratamiento, el porcentaje de plantas inducidas a floración fue disminuyendo de manera proporcional (**Figura 4**).

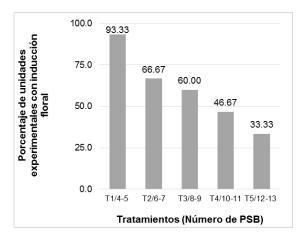


Figura 4. Porcentaje de unidades experimentales con inducciones florales en plantas de *Laelia anceps* subesp. *anceps* con diferentes tamaños según número inicial de pseudobulbos (PSB). Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indica diferencias estadísticas (LSD al 5%).

Los tratamientos con mayor número de brotes vegetativos y sus respectivas inducciones florales fueron T3 y T4. Es importante destacar que los resultados obtenidos en el número de brotes vegetativos y de inducciones florales muestran las mismas tendencias (**Figuras 5A y 5B**).

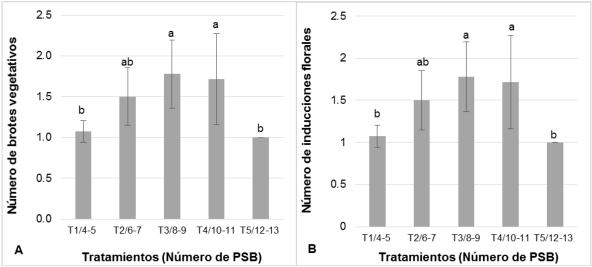


Figura 5. Promedio del número de brotes vegetativos (**A**) y del número de inducciones florales (**B**) en plantas de *Laelia anceps* subesp. *anceps* con diferentes tamaños según número inicial de pseudobulbos (PSB). Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indica diferencias estadísticas (LSD al 5%).

CONCLUSIONES

En general, bajo las condiciones ambientales establecidas, las plantas con tamaños iniciales de 4-5, 6-7 y 8-9 pseudobulbos (T1 a T3), tienen mayor incremento porcentual en estructuras vegetativas totales (hojas y pseudobulbos) al final del ciclo experimental. El tamaño de la hoja (largo y ancho) de los nuevos brotes, es mayor cuando se usan plantas con tamaños de 4-5, 6-7, 8-9 y 10-11 pseudobulbos (T1 a T4). El pseudobulbo del nuevo brote es más grande con tamaños de plantas de 4-5 y 6-7 pseudobulbos (T1 y T2). En cuanto a floración, el porcentaje de plantas inducidas disminuye de manera directamente proporcional al número de pseudobulbos. Pero entre tratamientos, el mayor número de brotes vegetativos e inducciones florales corresponde a plantas con tamaño de 8-9 y 10-11 pseudobulbos (T3 y T4).

Destaca el hecho de que mientras más grande es la planta, menor es el crecimiento del nuevo pseudobulbo, y entre más grande es la planta tiende a emitir más brotes vegetativos inductivos a floración, pero se sugiere que la intensidad de luz del ambiente controlado usado no fue suficiente para la formación de brotes vegetativos con sus respectivas inducciones, evento en lo que muy probablemente, el llenado del pseudobulbo es un factor determinante por la demanda energética que implica la floración.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. J.A. Rodríguez-Robles, E. J. Melendez, J.D. Ackerman, "Effects of display size, flowering phenology, and nectar availability on effective visitation frequency in *Comparettia falcata* (Orchidaceae)", Am. J. Bot., Vol. 79, 9, 1992, pp. 1009-1017.
- 2. M. Pfeifer, W. Heinrich, G. Jetschke, "Climate, size and flowering history determine flowering pattern of an orchid", Bot. J. Linn. Soc., 151, 2006, pp. 511-526.

- 3. P. Kindlmann, Z. Balounová. "Flowering regimes of terrestrial orchids: unpredictability or regularity?", J. Veg. Sci., 10, 1999, pp. 269-273.
- 4. R. Paradiso, S. de Pascale, "Effects of Plant Size, temperature, and light intensity on flowering of *Phalaenopsis* hybrids in Mediterranean greenhouses", The Scientific World Journal, Vol. 2014, 2014, pp. 1-9.
- 5. SAS Institute Inc., SAS/STAT Users Guide. Version 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA), 2011.

PRODUCCIÓN DE POLI-B-HIDROXIBUTIRATO MEDIANTE LA EXPRESIÓN DE LOS GENES PHBB, PHBA, PHBC EN E. COLI KO11 PGI

Catalán Figueroa Sofía J., Rodriguez Guevara Romalda, Navez Gonzalez Daysi, Martinez Ayala Itzel G., Huerta-Beristain Gerardo¹

Facultad de Ciencias Químico Biológicas – UAGro. Av. Lázaro Cárdenas S/N. Ciudad Universitaria. Chilpancingo, Guerrero. México

Unidad de Investigación Especializada en Microbiología – UAGro. Av. las colinas S/N. Petaquillas, Guerrero. México.

Email.: hbgerardo@gmail.com

Resumen

El polihidroxibutirato (PHB) es un biopoliéster sintetizado intracelularmente por algunos microorganismos como reserva de carbono y energía. Uno de los problemas para el desarrollo de los polímeros biodegradables es que no hay suficientes bacterias con el potencial de producción a escala industrial. Debido a esto, se han realizado modificaciones por ingeniería metabólica en algunos microorganismos con el fin de incrementar la productividad.

INTRODUCCIÓN

Los plásticos derivados del petróleo son esenciales para el desarrollo de la vida actual, por sus características físicas y químicas, como bajo peso, alta resistencia a la corrosión, a los agentes químicos y alta absorción de vibraciones. A nivel mundial la producción de plásticos sintéticos se ha incrementado dramáticamente con un incremento anual del 9%. De tal manera que el uso indiscriminado de estos plásticos sintéticos ha provocado serios problemas en el ambiente, por lo anterior, se han desarrollado estrategias para producir bioplásticos La asociación Europea de bioplásticos considera que los bioplásticos pueden ser clasificados como: 1) plásticos sintetizados a partir de fuentes renovables y 2) polímeros biodegradables que cumplen con todos los criterios de las normas científicas reconocidas de biodegradabilidad y compostaje de plásticos. Los biopolímeros son tipos de poliésteres ampliamente distribuidos en la naturaleza, que se acumulan intracelularmente en microorganismos en la forma de gránulos y que tienen características fisicoquímicas semejantes a los plásticos obtenidos de derivados del petróleo, y a diferencia de estos últimos son biodegradables, lo cual los hace muy interesantes desde el punto de vista ambiental la posición 3. Los PHAs tienen características físicas similares a las de los plásticos derivados del petróleo, y son biodegradables (pueden ser asimilados por microorganismos presentes en suelos, mares, lagos o aguas residuales) y son biocompatibles (no causan efectos tóxicos). De los cuales, el más importante y más estudiado ha sido el polihidroxibutirato (P3HB).

TEORÍA

Actualmente con el desarrollo de la ciencia y la tecnología, aunado a la demanda de productos derivados de los plásticos sintéticos derivados del petróleo, han generado la necesidad de obtener productos plásticos que sean biodegradables y favorables para el ambiente pero con propiedades mecánicas y fisicoquímicas similares derivados del petróleo. A nivel mundial la producción de plásticos sintéticos se ha aumentado dramáticamente con un incremento anual del 9%. De tal manera que el uso indiscriminado de estos plásticos sintéticos ha provocado serios problemas en el ambiente, entre los que destacan el requerimiento de grandes espacios para su disposición.

contaminación visual y muerte de animales que los ingieren accidentalmente, entre otros debido a que no se degradan fácilmente; es decir contaminantes de alta persistencia, (Chanprateep, 2010). Por lo anterior, surge la necesidad de utilizar biopolímeros, los cuales pueden ser producidos por ciertas bacterias y plantas. Por lo anterior, surge la necesidad de utilizar biopolímeros, los cuales pueden ser producidos por ciertas bacterias y plantas.

Biopolímeros

Los biopolímeros tienen propiedades fisicoquímicas y termoplásticas similares a las de los polímeros fabricados a partir de petróleo, con la diferencia que una vez desechados, son biodegradados. Los biopolímeros naturales provienen de cuatro fuentes: origen animal (colágeno/gelatina), origen marino (quitina/quitosán), origen agrícola (lípidos y grasas e hidrocoloides: proteínas y polisacáridos) y origen microbiano (ácido poliláctico (PLA) y polihidroxialcanoatos (PHA)) (Tharanathan, 2003).

Polihidroxialcanoatos (PHAs)

Dentro de los polímeros que pueden usarse como sustitutos de los plásticos petroquímicos están los polihidroxialcanoatos (PHAs), que son poliésteres formados por unidades de hidroxiacilos polimerizados en forma lineal. Todos los PHAs tienen propiedades interesantes para la industria: (1) Son termoplásticos y elastómeros que pueden ser utilizados para fabricar diferentes productos; (2) son insolubles en agua; (3) presentan un grado alto de polimerización llegando hasta los 4 millones de daltones; (4) no son toxicos; (5) son biocompatibles; (6) se producen a partir de recursos renovables como son los recursos renovables como son los carbohidratos; (7) todos los PHAs son biodegradables, ya que son hidrolizados por depolimerasas extracelulares, para ser utilizados como fuente de carbono y energía por muchas bacterias y hongos (Steinbuche, A. 2001).

Poli-β-hidroxibutirato (PHB).

De los PHAs, el poli-β-hidroxibutirato (PHB) es el más conocido y el más estudiado. El monómero del cual se conforma es el ácido 3-hidroxi-butirico (3HB), el cual tiene 4 átomos de carbono y un grupo hidroxilo en la posición 3 (Steinbüchel *et al.*, Valentín, 1995). Es un biopolímero sintetizado y catabolizado por numerosos microorganismos (Verlinden *et al.*, 2007). El PHB y sus copolímeros tienden a ser producidos industrialmente desde 1982 en sustitución a los plásticos a base de petróleo (Ojumu *et al.*, 2004).

Producción de PHB en Escherichia coli recombinante

Existen bacterias nativas que pueden acumular grandes cantidades de PHB, en algunos casos hasta el 80% de su peso seco (*Azotobacter vinelandii*); sin embargo, pocas bacterias tienen un potencial de producción que pueda ser llevado a escala industrial. Debido a esto existen diferentes investigaciones para modificar genéticamente algunas bacterias con el fin de maximizar la productividad, parámetros cinéticos y la capacidad de utilizar fuentes de carbono renovables. Esto se ha logrado mediante la inserción de genes provenientes desde cepas naturalmente productoras en cepas no productoras de PHB o mediante el bloqueo (interrupción) de genes de las cepas productoras enfocado en el incremento del rendimiento y de la productividad Sin embargo, no todas las cepas recombinantes han presentado potencial de aplicación industrial basado en los resultados observados a escala de laboratorio y piloto. Debido a estos inconvenientes, *Escherichia coli* surge como una atractiva alternativa, debido a que presenta varias ventajas sobre los productores naturales, ya que, al no tener la capacidad de sintetizar el polímero, tampoco posee la maguinaria enzimática necesaria para degradarlo *E. coli* es el microorganismo más conocido, su

genoma se encuentra totalmente secuenciado, y tanto su fisiología y comportamiento han sido estudiados con mucho detalle, por lo cual presenta una mayor facilidad para realizar manipulaciones genéticas con el fin de aumentar los rendimientos del polímero (Aldor y Keasling, 2003; Li, 2007) Aunado a lo anterior, en el presente trabajo se está utilizando una cepa de *E. coli* modificadas genéticamente en cultivos aerobios con glucosa para evaluar su potencial en producción de PHB

PARTE EXPERIMENTAL

Cepa bacteriana y plásmido

La cepa y el plásmido usados en este trabajo se describen en la tabla 1

Tabla 1. Cepa bacteriana y plásmido que se utilizaron en el presente trabajo.

Сера	Características o genotipo	Referencia
KO11 pgi-	E. coli W pfl::pdc adhB cat,∆frd,∆pgi	Huerta-Beristain, 2016.
Plásmido	Características	Referencia
pPHB _{Av}	Derivado de pTrc99A que contiene los genes	Centeno-Leija et al., 2014
	phbB, phbA y phbC de A. vinelandii bajo	
	regulación del promotor trc	

Medios de cultivo y condiciones de cultivo.

Los medios de cultivo empleados en este trabajo fueron: a) Luria Bertani (Beall y colaboradores, 1991; que contiene por litro: 10 g Bactotriptona; 5 g extracto de levadura y 5 g NaCl) sin y con ampicilina 100 μg/mL para realizar la propagación de las células bacterianas sin y con el plásmido, respectivamente; y b) medio mínimo mineral (Maniatis *et al.*, 1982) fue usado para la preparación de inóculos y los cultivos con las cepas transformantes y control. Cada litro de medio contiene: 6 g Na²HPO⁴; 3 g KH2PO⁴; 1 g NH⁴Cl; 0.5 g NaCl; 2 ml de MgSO⁴H₂O 1M; 0.1 mL de CaCl⁴ 0.1M; 0.1 mL de Tiamina 1 mg/mL (esterilizada por filtración); 20 g de glucosa como fuente de carbono; y ampicilina100 μg/mL (para mantener la presión de selección de los plásmidos) en donde se evaluó el crecimiento, consumo de azúcar y producción de PHB. Los cultivos se realizaron en matraces a temperatura de 37°C con medio M9 que contiene por litro: 6g Na²HPO⁴; 3g KH2PO4; 0,5g de NaCl; 1g de NH⁴Cl; MgSO⁴ 2 mM; CaCl2 0,1 mM; y 0,01 g de vitamina B1, suplementado con glucosa 10 g/L, Ampicilina 100 μg/mL, IPTG 0.1 mM.

Análisis del plásmido con enzimas de restricción.

El plásmido pPHBAv fue digerido con la enzima Sspl. La reacción consistió en un volumen de 20 μ L; añadiendo 7.5 μ L H2O, 2 μ L de buffer G, 10 μ L de ADN del plásmido pPHB_{Av}, 0.5 μ L de enzimas Sspl. Posteriormente la reacción se incubó 2 horas a 37 °C.

Determinación de biomasa celular

La concentración de biomasa celular fue medida espectrofotométricamente (Eppendorff AG, BioPhotometer 22331 Hamburgo) como DO600nm y convertida a peso seco celular utilizando una curva estándar (1 DO600= 0,37 gDCW/L) (Balderas Hernández *et al.*, 2011).

Determinación de azucares

La cinética de consumo de azucares durante el cultivo, fue determinada mediante la cuantificación de azúcares reductores por el método de DNS (ácido 3,5dinitrosalisilico) propuesto por Chaplin y Kennedy en el 1987.

Determinación de Proteínas

La determinación de proteínas se realizó por el método de Bradford (Bradford, 1976). A partir de los paquetes celulares cosechados en los diferentes tiempos de cultivo. El paquete celular fue lisado con cloroformo y vortex, dejando evaporar durante 10 min a temperatura ambiente. Finalmente el extracto celular fue resuspendido en 1000 µL de H2O libre de proteasas. El extracto celular fue usado para los ensayos de determinación de proteínas. El ensayo de Bradford se realizó como sigue: Se colocaron 100 µL del extracto proteico más 1000 µL de reactivo de Bradford (Azul de brillante de Coomasie 100 mg, 100 mL de ácido fosfórico al 85%, 50 mL etanol al 95% por cada 1000 mL). Posteriormente se leyó la absorbancia 595 nm de cada una de las muestras y se comparó con un blanco de reactivo. La concentración de proteínas se cuantificó con base a curvas estándar de concentración de albumina sérica bovina.

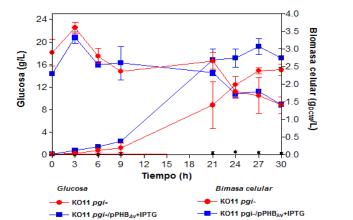
Determinación de PHB

La determinación de PHB se realizó a partir de paquetes celulares de las diferentes cepas analizadas. Los paquetes celulares fueron obtenidos por centrifugación de 10 mL de cultivo a 6.000 rpm durante 10 min. El paquete celular se lavó con 10 mL de solución salina y se volvió a centrifugar para obtener el paquete celular. El paquete celular se suspendió en 5 mL de hipoclorito de sodio (4% de cloro activo) y se incubó a 37 °C durante 10 min con agitación. Esta suspensión se centrifugó a 2000 rpm durante 20 minutos y los gránulos de PHB se lavaron con 10 mL de éter dietílico frío. El sedimento se centrifugó nuevamente a 2000 rpm para obtener PHB purificado y se secó hasta peso constante (105°C, 24 h) (Ceyhan y Ozdemir 2011).

RESULTADOS

Efecto de la expresión de los genes phbB, phbA y phbC en Escherichia coli KO11 pgi-

A) En el crecimiento celular La expresión de los genes phbA, phbB y phbC de A. vinelandii que codifican para las enzimas: a) β -cetotiolasa, que transforma acetil-CoA en acetoacetil-CoA; b) acetoacetil-CoA reductasa, que cataliza la conversión de acetoacetil-coA en D- β hidroxibutiril-CoA y c) PHB sintetasa encargada de convertir D- β -hidroxibutiril-CoA en poli- β -hidroxibutirato, respectivamente, fueron expresados bajo regulación del promotor trc inducible por IPTG (el cual se coloca al cultivo desde el inicio) en un plásmido derivado de pTrc99A (Pharmacia Biotech MR) en E.



coli KO11 pgi-. Los resultados mostraron que en cultivos en medio M9 suplementado con 10 g/L de glucosa, cuando los genes fueron inducidos con 0.1 mM de IPTG desde el inicio del cultivo, la cantidad de biomasa celular (DO600nm) fue mayor en KO11 *pgi*/pPHBAv en comparación a la cepa KO11*pgi*-.

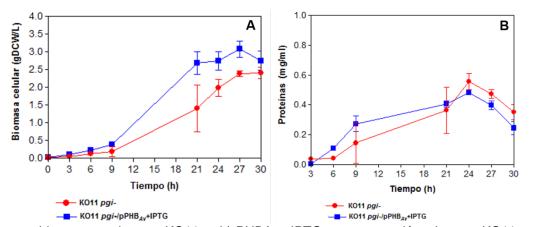
Cinética de crecimiento de las cepas KO11 pgi-, KO11 pgi-/pPHBAv y concentración de azúcares durante 30 horas de incubación.

Sobre el consumo de glucosa

Con respecto al consumo de glucosa la cepa KO11 pgi-/pPHB $_{Av}$ cultivada en el medio M9 con IPTG resultó con el mismo perfil de consumo de azúcar en comparación a la cepa KO11 pgi-. Sin embargo, debido al incremento en la biomasa celular en la KO11 pgi-/pPHB $_{Av}$ + IPTG con respecto a la cepa KO11 pgi- se evaluó la concentración de proteínas, con el fin de determinar si el incremento en la biomasa equivale a proteína celular o a la acumulación de PHB en el interior de la célula.

Sobre los niveles de proteínas

La concentración de proteínas totales a partir del paquete celular de los cultivos de las cepas KO11 *pgi*- y KO11 *pgi*-/pPHBAv + IPTG; fue determinada por el método de Bradford. Los resultados mostraron que la cepa KO11 *pgi*-/pPHB_{Av} + IPTG antes de la 24 h de cultivo mantiene una concentración de proteínas mayor a la cepa KO11 *pgi*-, Sin embargo este comportamiento se invierte después de ese tiempo (0.56 mg/mL para la cepa KO11 *pgi*- y 0.48 mg/mL KO11 *pgi*-/pPHBAv+ IPTG). Cabe mencionar que en la gráfica de producción de biomasa, se observa una

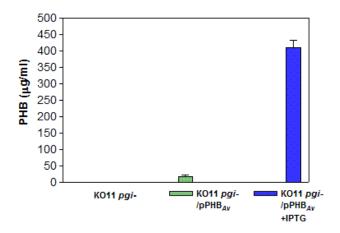


mayor biomasa con la cepa KO11 pgi-/pPHBAv+ IPTG en comparación a la cepa KO11 pgi-.

Comparación de la cinética del crecimiento con la concentración de proteínas durante 30 hrs de incubación del cultivo A. Cinética de crecimiento de las cepas KO11 *pgi*-, KO11 *pgi*-/pPHBAv B. Concentración de proteínas de las cepas KO11 *pgi*-, KO11 *pgi*-/pPHBAv.

Sobre la concentración de PHB

La extracción y determinación de PHB se realizó por el método de peso seco. La concentración de PHB a las 48 hrs de cultivo tanto para la cepa KO11 pgi-/pPHB $_{Av}$ sin y con IPTG fue 18.60 y 410.75 μ g/mL respectivamente. En la cepa KO11 pgi- no se detectó PHB.



Producción de PHB en cepas de *E. coli* KO11 *pgi-*/pPHBAv y E. coli KO11 pgi/pPHBAv + IPTG (como inductor) a las 48 horas de cultivo. KO11 *pgi-* se utilizó como control negativo.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluó la capacidad de producción de PHB en la cepa KO11 pgitransformada con el plásmido pPHB_{AV} que contiene los genes phbB, phbA, phbC de la vía de síntesis de PHB de Azotobacter vinelandii bajo regulación del promotor trc inducible por IPTG. Estos genes codifican para tres enzimas; la primera una β-cetotiolasa (PhbA) que lleva a cabo la condensación de dos moléculas de acetil-CoA a acetoacetil-CoA, este compuesto es reducido a 3hidroxibutiril-CoA (3HB-CoA) mediante la acción de la acetoacetil-coA reductasa dependiente de NADPH (PhbB); y la tercera donde cada monómero de 3- hidroxibutiril-CoA se polimeriza mediante una PHB sintasa (PhbC) para formar poli-3hidroxibutirato. En este sentido, se empleó una cepa KO11 pgi- (E. coli W pfl::pdc adhB cat, Δfrd, Δpgi) derivada de Escherichia coli W, la cual tiene inactivado el gen pgi que codifica para la enzima glucosa-6-P isomerasa, por tanto la vía glucolítica esta deleitada en consecuencia la cepa lleva a cabo su metabolismo a través de la vía de pentosas y eso genera una acumulación de NADPH, incapacidad de introducir glucosa por acumulación de G-6-P y finalmente una disminución en el rendimiento energético debido a que la cepa KO11 pgidirige todo su metabolismo a través de la vía de pentosas. El NADPH puede ser empleado por la enzima PhbB de la vía de síntesis de PHB En este trabajo donde se observa una velocidad específica de crecimiento (μ) en E. coli KO11 pgi- (0.14 h⁻¹) en medio M9 con 10 g/L de glucosa en condiciones aeróbicas durante el crecimiento en fase exponencial, la cual fue ligeramente mayor en comparación con *E. coli* KO11 *pgi*-/pPHB_{Av} + IPTG (0.12 h⁻¹).

Por otro lado, con respecto a la velocidad especifica de consumo de azúcar, en la cepa KO11 pgi- $(q_S = 14.15 g_{Glc}/g_{DCW} h^{-1})$ fue ligeramente menor en comparación con la cepa KO11 pgi- $pPHB_{Av} + IPTG (q_S = 16.32 g_{Glc}/g_{DCW} h^{-1})$ en condiciones aerobias.

Con el fin de establecer la relación entre la biomasa celular de la cepa transformante en cultivos con inducción por IPTG y el contenido de PHB, se determinó la concentración de proteínas por el método de Bradford, los resultados mostraron que la cepa KO11 *pgi*-/pPHB_{Av} + IPTG contiene 0.48 mg/mL de proteínas y en la cepa control 0.56 mg/mL de proteínas, a las 21 h de cultivo. Este indica

que la cantidad de proteína a partir de las 21 h de cultivo disminuye en la cepa transformante debido que el metabolismo es desviado hacia síntesis de PHB.

CONCLUSIÓN

La biomasa celular en la cepa KO11pgi-/pPHB $_{Av}$ + IPTG fue mayor que en la cepa KO11pgi- a partir de las 21 h de cultivo usando glucosa como fuente de carbono y aeriación. Sin embargo, en el consumo de azucares, no hubo diferencias significativas en ambas cepas.

La cepa KO11 pgi-/pPHBAv + IPTG produjo 410.72 µg/mL de PHB

En KO11 pgi-/pPHBAv + IPTG la mayor producción de PHB se obtuvo después de las 21h de cultivo, cuando la concentración de proteínas totales disminuye en comparación con la cepa KO11 pgi-

BIBLIOGRAFÍA

- Aldor, I.S., Kim, S.W., Prather, K.L. and Keasling, J.D. (2002). Metabolic engineering of a novel propionate-independent pathway for the production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3hydroxyvalerate) in recombinant Salmonella enterica serovar typhimurium. Appl Environ Microbiol 68, 3848–385
- 2. Chanprateep S. 2010. Current trends in biodegradable polyhydroxyalcanoates. J. Bios. Bioen. 110:621-632.
- 3. Steinbüchel, A., Lütke-Eversloh, T. (2010). Metabolic engineering and pathway construction for biotechnological production of relevant polyhydroxyalkanoates in microorganism. Biochem Eng. 01: 81-96
- 4. Steinbüchel, A., Valentin, H. (1995). Diversity of bacterial polyhydroxyalkanoic acids. FEMS Microbiol. Lett. 128: 219-228.
- 5. Tharanathan, R. 2003. Biodegradable films and composite coatings; past, present and future.food science and technology. 14: 71-78

RNA-SEQ PARA ANÁLISIS DEL TRANSCRIPTOMA DEL GARBANZO EN ESTRÉS BIÓTICO

Licea-De-Anda Eva Marcela, Moreno-Contreras María Guadalupe, Medina Haro Azael, Herrera-Flores Teresa Susana.

Universidad Politécnica de Pénjamo, Carretera Irapuato-La Piedad, km44 Predio "el Derramadero" C.P. 36921 Tel.014696926000. Pénjamo, Guanajuato. *elicea@uppenajmo.edu.mx

RESUMEN

El desarrollo de técnicas de secuenciación de DNAc, mediante tecnologías de nueva generación (NGS)(Riascos, et al. 2015), permite el análisis eficiente del transcriptoma de un organismo, bajo diferentes condiciones. El objetivo del presente trabajo fue analizar el transcriptoma mediante la técnica de RNA-seq, de una variedad comercial de garbanzo (Cicer arietinum L), inoculada con Fusarium oxysporum. La condición control consistió en plantas de tres semanas sin inocular de la variedad Costa-2004, la condición tratado plantas de Costa-2004 inoculadas, con dos réplicas cada uno. El tiempo de interacción con el fitopatógeno fue de 48 horas, posteriormente se congeló el tejido para hacer la extracción del RNA de control y tratado. La secuenciación masiva se realizó con la plataforma Illumina. Se obtuvieron 8 bibliotecas paired-ends con más de 160 millones de lecturas. En el análisis bioinformático se empleó un procesador con entorno Linux. Las lecturas fueron normalizadas y se empleó el programa EdgeR (Robinson, et al. 2010), para el análisis estadístico, el cual utiliza la estimación empírica de Bayes y la distribución binomial negativa. Se identificaron genes diferencialmente expresados durante la interacción, los genes sobreexpresados fueron agrupados en diferentes clasificaciones funcionales. En el estudio se obtuvo información relevante que podrá ser utilizada en futuras investigaciones para comprender los mecanismos moleculares del estrés biótico del garbanzo así como de organismos relacionados.

Palabras clave: DNAc, NGS, RNA-seq, transcriptoma

INTRODUCCIÓN

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.), es la segunda leguminosa de grano en el mundo en importancia, se cultiva en clima templado, es una fuente importante de proteína en sustitución de la proteína animal. En Guanajuato se siembra tradicionalmente el garbanzo porquero (tipo desi) y la garbanza criolla (tipo kabuli), bajo condiciones de humedad residual. A nivel nacional el principal productor es Sinaloa y Guanajuato ocupa el noveno lugar (SIAP, 2015). El principal productor de éste cultivo en Guanajuato es el municipio de Pénjamo, sin embargo un problema fundamental para la producción, es la susceptibilidad de los genotipos cultivados, al ataque de patógenos presentes en el suelo, ocasionando la enfermedad conocida como "Rabia del Garbanzo", algunos de los hongos involucrados en dicha enfermedad, corresponden a los géneros, *Fusarium, Rhizoctonia, Sclerotium*, principalmente, provocando una disminución del 50 al 100% de la producción en las zonas afectadas, causando que los agricultores dejen de cultivar la leguminosa, debido a que tienen que aportar una gran inversión en la aplicación de fungicidas que pocas veces es efectivo.

El método más práctico y económico de lucha contra la enfermedad, es el empleo de cultivares resistentes. En los últimos años se han liberado genotipos resistentes a la "fusariosis vascular" como lo es la variedad COSTA 2004 liberada para la Costa de Hermosillo (Morales et al, 2005).

Cuando una planta se desarrolla en presencia de un fitopatógeno, se dice que se encuentra en estrés biótico. Estas no poseen un sistema inmune que le ayude defenderse del patógeno como en el caso de los animales, sin embargo tienen un complejo mecanismo de respuesta en el que se expresan diversos genes de acuerdo a su potencial genético, para la producción de diferentes metabolitos que le permitan defenderse y sobrevivir al estrés. Por lo cual el transcriptoma, en una planta sana y una planta en estrés es diferente. Mediante el análisis del transcriptoma es posible identificar cuáles son los genes que se expresan en una condición pero no en la otra.

Para el análisis del transcriptoma existen diferentes técnicas, la más novedosa es RNA-Seq, ésta se basa en el empleo de plataformas de secuenciación a gran escala denominadas "Next Generation Sequencing (NGS), con la cual es posible obtener mayor cantidad de información a un costo relativamente menor en comparación con otras técnicas. El desarrollo de diversos programas bioinformáticos ayudan a interpretar la información para obtener resultados confiables en tiempos más cortos.

TEORÍA

La Bioinformática es la investigación, desarrollo o aplicación de herramientas computacionales y propuestas científicas para extender y facilitar el uso de datos biológicos, incluyendo la adquisición, almacenamiento, organización, análisis y visualización de los mismos. Uno de los principales objetivos de la Bioinformática es el Genoma (completa colección de ADN de un organismo), el Transcriptoma (ARN generado a partir del ADN) y el Proteoma (las secuencias de proteínas). Estos millones de secuencias moleculares representan una gran oportunidad para aplicar algoritmos computacionales y bases de datos cuyo objetivo final será determinar la funcionalidad de ciertas células y las relaciones gen-proteína.

Cada organismo cambia a través de sus diferentes estados de desarrollo en diferentes órganos o tejidos. Los genes, lejos de ser entidades estáticas, son regulados dinámicamente en respuesta al paso del tiempo, la región y el estado fisiológico. La expresión genética varía en estados de enfermedad o en respuesta a una gran variedad de señales, tanto intrínsecas del propio organismo como ambientales. Muchas de las herramientas generadas por la Bioinformática son aplicadas a bases de datos que incluyen la expresión de una serie de genes, obtenida a partir de diferentes tejidos y condiciones en experimentos cuyos resultados se almacenan en chips capaces de albergar la expresión de cientos de genes en distintas condiciones (Baena, 2006).

Secuenciación. En la secuenciación del ADN, o determinación de la secuencia que lo compone, se empleó durante muchos años el sistema desarrollado por Sanger (1977), constituyendo un método muy robusto y fiable pero con diversas limitaciones para analizar genomas enteros que terminaron dando paso a la aparición de la tecnología NGS aproximadamente en el año 2002.

La posterior maduración de esta nueva tecnología permitió empezar a sustituir los antiguos secuenciadores, y la popularización de los nuevos instrumentos en los últimos años ha conllevado una disminución de costos que se ha traducido en un incremento de la cantidad de genomas secuenciados así como de los estudios a gran escala.

Una de las ventajas de los NGS es el gran volumen de información que son capaces de producir de forma económica, y que expande su utilidad más allá de determinar simplemente el orden de la

secuencia. Actualmente existen diferentes métodos que pueden agruparse en tres tipos principales: secuenciación por síntesis, secuenciación por ligación, y secuenciación de una sola molécula (Egan 2012). El sistema Illumina® el más utilizado.

Transcriptoma. El estudio y análisis del transcriptoma es esencial para el entendimiento de la función de genes. De manera general se puede establecer que si un gen se expresa en una condición o célula determinada es porque cumple allí una función. El estudio global del transcriptoma permite también establecer patrones de regulación génica coordinada, lo que contribuye no solo a dilucidar la función y agrupamiento de varios genes bajo un estímulo o condición específica, sino también a identificar elementos promotores comunes a varios genes. En la década de los noventa, los northern blots, los microarreglos de ADNc , los ADNc -AFLP y el análisis serial de expresión de genes SAGE, entre otras técnicas, permitieron el desarrollo y generación de conocimiento en transcriptómica, al estudiar la expresión de genes relacionados con respuestas a estímulos o a condiciones particulares, así como para determinar cambios en los patrones de expresión génica en tratamientos y cinéticas de expresión, sin embargo, estas estrategias resultan limitantes al estar basadas en hibridación, tienen baja cobertura, y en algunos casos se necesita algún conocimiento previo de la secuencia del genoma para su implementación. Sin embargo, debido a que estas técnicas son de bajo rendimiento, se requiere dirigir la secuenciación de forma específica para producir resultados precisos, elevando los costos significativamente. La tecnología NGS, ha permitido generar información con altos rendimientos y a bajo costo, además de abrir nuevos horizontes para el entendimiento detallado y global de procesos de expresión génica. La caracterización completa y el análisis global de la expresión génica en una célula o tejido, aun sin ninguna información genómica previa, es posible a través de la implementación de la secuenciación de ADNc, o secuenciación directa de ARN, tecnología conocida como RNA-seg (Peng, et al., 2012).

RNA-Seq. El principal objetivo de RNA-Seq es catalogar todos los transcritos expresados por una célula en una condición específica (Van Verk, et al., 2013). Esta técnica permiten obtener un panorama más global de los genes activados y/o reprimidos sin restringirse a genes previamente caracterizados (Soneson y Delorenzi, 2013). El protocolo de RNA-seq (Figura 1) consiste generalmente en los siguientes pasos: a) Selección de ARN mensajero y conversión a librería de fragmentos de ADNc, b) Secuenciación de cada molécula obteniendo secuencias cortas de 30-400 pb. c) Análisis bioinformático.

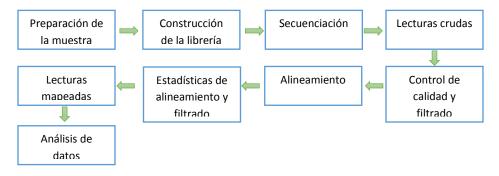


Figura 1. Protocolo de RNA-Seq

Los análisis transcriptómicos permiten caracterizar y entender la variación fenotípica, siendo uno de los usos más frecuentes la comparación de perfiles mediante la búsqueda de genes diferencialmente expresados, es decir, aquellos que presentan diferencias estadísticamente significativas en su nivel de expresión entre condiciones distintas. La detección de dichos genes requiere el empleo de herramientas bioinformáticas especializadas. La elección del método dependerá, entre otras cosas, del diseño experimental, comparaciones entre dos o varias poblaciones, series temporales, etc., o de la naturaleza de los datos. La gran mayoría de estas herramientas están implementadas en el lenguaje de programación R (Team, R.C, 2014).

Análisis Bioinformáticos. Después del proceso de secuenciación se obtienen los datos en forma de lecturas contenidos en archivos informáticos. Estos archivos pueden llegar a ser muy pesados; entre más grande sea el genoma del organismo estudiado mayor será el tamaño de los archivos, por lo cual se recomienda tener un clúster o un servidor para poder analizarlos de forma eficiente. Se recomienda tener, preferiblemente, un servidor con 16Gb de RAM o más; y una capacidad de almacenamiento superior al tamaño de las librerías debido a que los archivos resultantes del análisis bioinformático también suelen ser pesados (Van Verk, 2013). El sistema operativo recomendado debe ser basado en Unix (sea GNU/Linux o Mac OS X).

Expresión Diferencial. Una vez cuantificada la expresión de todos los transcritos de las diferentes muestras, se puede optar por realizar un análisis de expresión diferencial, que consiste en la identificación de aquellas isoformas que presentan un cambio medio de expresión estadísticamente significativo entre las distintas condiciones experimentales estudiadas. Para esto se pueden emplear diferentes programas como son DESeq (Anders Y Huber, 2012) Y EdgeR (Robinson, et al., 2010).

PARTE EXPERIMENTAL

Localización del Experimento

El experimento se realizó en la Universidad Politécnica de Pénjamo en el Laboratorio de Biotecnología y el Instituto Tecnológico de Roque en el Laboratorio de Biología molecular, durante Julio 2013 a Septiembre 2015

Material Vegetal

Para realizar los bioensayos se emplearon plantas axénicas de tres semanas de edad, de garbanzo variedad Costa 2004, con tolerancia a *Fusariosis*.

Fitopatógeno

La cepa monospórica de *Fusarium oxysporum* empleada para la producción de inóculo, fue aislada en Guanajuato. La concentración de la alícuota diluida fue de 1X10⁶ conidios· mL⁻¹.

Diseño de Experimentos

Se realizó un diseño completamente al azar, con dos repeticiones, la condición "Tratado" consistió en plantas inoculadas y la condición "Control" las plantas sin inocular. Las plantas se hicieron crecer bajo las mismas condiciones para asegurar que la única variable diferente fuera la inoculación.

Inoculación

La inoculación del fitopatógeno, se realizó en plantas axénicas de tres semanas de edad, mediante la punción con una aguja estéril en el cuello de la raíz, debido a que en la naturaleza Fusarium, necesita de heridas en la planta ocasionado por daño mecánico, daño por insectos o aberturas naturales para poder parasitar a la planta.

Colecta y Preservación de tejido

Después de 48 horas se hizo la colecta de tejido y se congeló en N₂ líquido, y se preservó a -80°C hasta su empleo.

Extracción de RNA

El primer paso para la construcción de las bibliotecas fue la extracción de RNA, con el "Rneasy Plant Mini Kit", siguiendo las recomendaciones del fabricante (Quiagen, Hilden, Germany).

Electroforesis de RNA

Para observar la integridad del RNA se realizó una técnica conocida como electroforesis, se hizo correr 1

□l del RNA que s

teñido con bromuro de etidio, se empleó buffer TAE 1X y un potencial eléctrico de 70 mV, se observaron los resultados por medio de la visualización en Fotodocumentador ChemiDoc™ de Bio-Rad y analizado por medio de Image Analysis Software.

Cuantificación de RNA

La cuantificación de la concentración de RNA obtenido, se realizó con Nanodr	op©, colocando 1	
de cada muestra. La concentración requerida para cada biblioteca fue de 5	□g/□	

Integridad del RNA

La determinación del número de integridad del RNA (RIN) y las proporciones de RNA ribosomal (rRNA) presentes, se obtuvieron mediante electroforesis capilar con el Bionalizer, siguiendo los protocolos del proveedor Agilent Tecnologies Inc.

Construcción de Bibliotecas de cDNA

Se realizó la preparación de las bibliotecas de cDNA, mediante el kit mRNA Sequencing siguiendo el protocolo del proveedor (Illumina Inc, 2015). A cada biblioteca se le asignó la codificación que se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Codificación de las ocho bibliotecas

Costa 2004		
Costa Control	Costa-Fusarium	
CE1-1	CE2-1	
CE1-2	CE2-2	

Secuenciación Masiva

La secuencia de cada biblioteca, se realizaron en la Unidad Universitaria de Secuenciación Masiva de DNA-UNAM empleando una unidad de secuenciación masiva Genome Analyzer II (Illumina Inc, 2015).

Análisis Bioinformático

Se empleó una computadora Toshiba, entorno Linux, distribución Biolinux 8, procesador AMD A10, cuatro núcleos y 12 G de RAM.

Se emplearon los programas que se muestran en la Tabla 2 para analizar las lecturas e identificar genes diferencialmente expresados en el tratamiento.

Tabla 2. Procesos Bioinformáticos y Software			
Procesos	Software Empleado		
1) Análisis de la calidad	FASTQC (Andrews, 2010)		
2) Manejo de secuencias para establecer una calidad óptima	TRIMMOMATIC (Bolger y Usadel,		
	2014)		
3) Mapeo de lecturas a el genoma de referencia	TopHat (Trapnell, et al., 2009)		
4) ensamble y estimación de las abundancias de los transcritos	HTSeq-count (Anders y Huber.,		
	2014)		
5) Análisis Estadístico e identificación de transcritos diferencialmente expresados	EdgeR (Robinson, <i>et al.</i> , 2010)		

Análisis de Calidad

Para identificar la calidad de las secuencias, se empleó el programa FASTQC (http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/).

Programación de Script

Para los siguientes procesos se realizó la programación de un script en Shell con la intensión de simplificar el análisis y la obtención de resultados.

Análisis Estadístico.

Para realizar el análisis estadístico, se elaboró un script en bash y ejecutar las funciones del programa EdgeR. Este programa analiza la expresión diferencial de los perfiles de RNA-seq y la expresión de genes con la replicación biológica. Utiliza la estimación empírica Bayes y la distribución binomial negativa. EdgeR, se ejecuta a través de la consola de Rstudio.

RESULTADOS

Integridad del RNA

En la Figura 2 se pueden apreciar el número de integridad del RNA y la calidad del mismo.



Figura 2. Resultados del análisis del RNA en el Bionalizer, Agilent Tecnologies Inc., indicando el RIN y las proporciones de RNA ribosomal

Secuenciación Masiva

La cantidad de lecturas de secuencias pareadas obtenidas por condición se aprecian en la Tabla 3.

Tabla 3. Número de Lecturas obtenidas de la secuenciación

Cos	Costa 2004 Control Costa 2004 Tratado		sta 2004 Tratado
Codificación	Número de Lecturas	Codificación	Número de Lecturas
CE1-1-R1	24,239,921	CE2-1-R1	19,343,806
CE1-1-R2	24,239,921	CE2-1-R2	19,343,806
CE1-2-R1	19,587,754	CE2-2-R1	22,109,632
CE1-2-R2	19,587,754	CE2-2-R2	22,109,632

Resultado de Análisis Estadístico

Después de realizer los análisis bioinformáticos mediante la corrida de los scripts, los resultados se resumen en la Tabla 4.

Tabla 20. Resultados de la Condición Costa en interacción con Fusarium

Descripción	Resultado
Número de genes expresados al 5% FDR	13,942
Dispersión	0.00199
BVC	0.0446
Número de genes que se sobreexpresaron al 5% FDR	1370
Número de genes que se no cambiaron al 5% FDR	11,206
Número de genes que se reprimieron al 5% FDR	1366

Anotación

Después de realizar el análisis estadístico y hacer la comparación con el genoma de referencia y los archivos de anotación los cuales pueden ser consultados en las siguientes bases de datos:

GigaDb http://gigadb.org/dataset/100076, Chickpea Transcriptome Data base (CTDB) http://www.nipgr.res.in/CGWR/links.php, NCBI http://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/Cicer_arietinum/ se obtuvieron una lista de 1370 genes

NCBI ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/Cicer_arietinum/ se obtuvieron una lista de 1370 genes sobreexpresados, en la Tabla 5 se muestran los primeros 12 genes con mayor expresión y en la Figura 3 se muestra un diagrama para visualizar el cambio log-fold contra las cuentas por millón (CPM), con los genes diferencialmente expresados al 5% FDR, las líneas azules indican dos veces el cambio. Esto confirma la naturaleza emparejada de las muestras.

Tabla 5. Los 12 primeros genes con mayor expresión

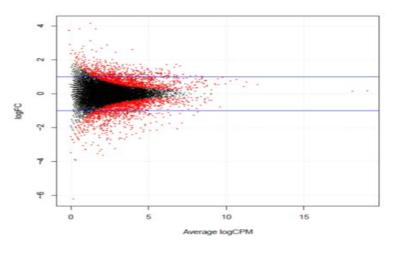


Figura 3. Cambio log-fold contra las cuentas por millón (CPM)

Clasificación funcional

Tomando como referencia la información obtenida de los 1370 genes sobreexpresados con los archivos de anotación y los programas BLAST de la base de datos del NCBI, y del Chickpea Genomic Web Resource, los genes se agruparon según su posible función biológica y su clasificación como se muestra en la Figura 4., de acuerdo a ésta clasificación el 12% de los genes codifican para metabolismo, 10% para defensa, 15% transporte, 22% relacionados con estrés en general, 10% estructura celular, 8% factores de transcripción, 3% muerte celular. Por otro lado, un porcentaje considerable del 20% de los genes diferencialmente expresados, codifican para proteínas de función desconocida.

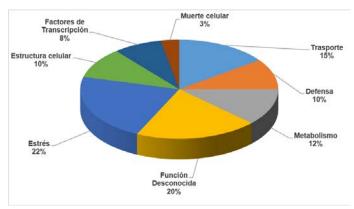


Figura 4. Posible Clasificación funcional de los genes expresados durante la interacción COSTA-Fusarium

CONCLUSIONES

Mediante el empleo de RNA-Seq y herramientas bioinformáticas se analizó el transcriptoma del garbanzo, se logró aislar e identificar la expression diferencial de genes de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) inducidos durante la interacción con la cepa patogénica de *Fusarium oxysporum* (*Foc*).

El presente estudio se realizó para identificar la expresión diferencial de los transcritos y las proteínas relacionadas con la defensa en garbanzo durante la infección con *Foc*, además de emplear las técnicas de NGS y las herramientas bioinformáticas, con las cuales se identificaron los diversos genes, que mostraron diferencias en la expresión durante la interacción, los cuales incluyen una variedad de respuestas como la sobreexpresión, el silenciamiento y los cambios en el nivel de expresión. Ésta información no sólo podrían producir importantes nuevos hallazgos en los mecanismos de resistencia de garbanzo, durante la infección con *Foc*, sino también ayudar en la dirección de los programas de mejoramiento del cultivo, mediante el uso de técnicas de ingeniería genética. Por lo tanto se requieren de más experimentos para fortalecer el conocimiento y la comprensión a través de investigaciones detalladas.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Anders, S. &. Huber (2012). Differential expression of RNA-Seq data at the gene level—the DESeq package. *Heidelberg, Germany: European Molecular Biology Laboratory (EMBL)*.
- Baena, D. D. (2006). Análisis de datos de Expresión Genética mediante técnicas de Biclustering. Master's thesis, Departamento de Lenguajes y Sistemas Informáticos Universidad de Sevilla.
- 3. Egan, A. N., Schlueter, J., & Spooner, D. M. (2012). Applications of next-generation sequencing in plant biology.
- 4. Morales GJ. Manjarrez SP. Castillo TN. Salinas PR. Montoya CL. Padilla VI. 2005. COSTA 2004:Nueva variedad de garbanzo para la Costa de Hermosillo. Folleto técnico 28 INIFAP.
- 5. Peng, Z. C. (2012). Comprehensive analysis of RNA-Seq data reveals extensive RNA editing in a human transcriptome. Nature biotechnology, 30(3), 253-260.
- Riascos, et al. 2015. Evaluación de las herramientas de secuenciación masiva (NGS) para identificar genes asociados con tolerancia al estrés hídrico en caña de azúcar.64(4).355– 362.doi: https://doi.org/10.15446/acag.v64n4.47772
- 7. Robinson, M. D. (2010). edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. Bioinformatics, 26(1), 139-140.
- 8. Sanger, F. N. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proceedings of the National Academy of Sciences, 74(12), 5463-5467.
- 9. SIAP. (15 de Noviembre de 2015). SIAP. Obtenido de Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera: www.siap.gob.mx
- 10. Soneson, C. &. (2013). A comparison of methods for differential expression analysis of RNA-seq data. BMC bioinformatics, 14(1), 1.
- 11. Team, R. C. (2014). R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria. R Foundation for Statistical Computing.
- 12. Van Verk, M. C. (2013). RNA-Seq: revelation of the messengers. Trends in plant science, 18(4), 175-179.

EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE SNAKS CON HARINA NO CONVENCIONAL DE CHIPILIN (Crotalaria longirostrata)

Marilyn Paola Ruiz Mondragón, Gabriela Palacios Pola, Ana Belem Piña Guzman

Instituto Politécnico Nacional A

Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas B

RESUMEN

La nutrición siempre ha estado ligada al desarrollo de las culturas y los pueblos; una mala nutrición genera necesariamente subdesarrollo. Algunas plantas nativas de México y Centroamérica, como la chaya y el chipilín, han contribuido a la alimentación de varias generaciones.

En el estado de Chiapas, dentro las hierbas consumidas ampliamente por la población, se encuentra *Crotalaria longirostrata el*, conocida popularmente como *chipilín, chop, chipile*, etc.

Las hojas de chipilín son ampliamente utilizadas como parte de la gastronomía de la región sur del país, para la elaboración de diversos platillos, desde tamales hasta platillos típicos y tradicionales. Aprovechando la aceptación y consumo del chipilín y con el fin de proponer el uso del chipilín en una botana de calidad, que aporte más nutrientes en comparación a los ya convencionales, se elaboró una galleta (snack) adicionada con chipilín y se evaluaron sus propiedades nutricionales.

A partir del análisis químico proximal realizado a las galletas, se encontró que presentaron una humedad del 3.4 %, 21.29 g de grasa, 11.61 g de proteína, 1.39 g de fibra cruda y 1.92 g de cenizas por 100 gramos de muestra, de esta manera se concluye que las galletas cumplen con la normatividad correspondiente y adicional a esto el aporte de proteína, es mayor que el solicitado.

INTRODUCCIÓN

Como quelites se conocen a algunas hojas y tallos que se comen crudos, otros se cuecen o fríen y se combinan con sopa, tacos, quesadillas, pinole o esquites. En algunos platillos constituyen el componente principal, pero también puede ser el componente que proporciona diferentes sabores y aromas. Las variedades más conocidas son: romerito, verdolaga, quelite cenizo, epazote, malacates, chivitos, huazontle, pápalo, quintonil, chaya, lengua de vaca, hierbamora, guía de chayote, chepil (o chipilín), pipicha, alache, hoja santa (o acuyo) y berro, entre otras (Bye y Linares, 2000).

Algunas plantas nativas de México y Centroamérica, como la chaya y el chipilín, han contribuido a la alimentación de varias generaciones, ya sea incorporada en aguas frescas o licuados, o bien formando parte de ensaladas y guisos. Aunado al aspecto cultural de estas costumbres, es conocido que la alimentación juega un papel fundamental para el desarrollo de una sociedad.

Hoy en día existen diversos problemas de salud que se asocian con la alimentación, falta de ejercicio y el sedentarismo. Estos problemas van desde la desnutrición hasta el sobrepeso y la obesidad y las enfermedades relacionadas con estos y prevalecen fuertemente en niños. Las causas principales son muchas y muy variadas, pero en las relacionadas con la alimentación se encuentran la falta de acceso a alimentos sanos y nutritivos, los malos hábitos alimenticios, la falta de tiempo para preparar alimentos inocuos y sanos, el ritmo de vida tan rápida que propicia el consumo de comida rápida o productos chatarra. Así, en muchos casos la dieta no cumple con los requerimientos de nutrientes, por lo que es necesario buscar la manera de suplir dichas deficiencias mediante alimentos enriquecidos con recursos vegetales nativos que mejoren su calidad nutricional y organoléptica.

El objetivo fue elaborar un producto con base en hoja de chipilín, con calidad nutricional, para promover el aumento del consumo de vegetales de hojas verdes en niños y niñas en edad preescolar, en este proyecto se probó la incorporación de chipilín en forma deshidratada, como Harina No Convencionale (HNC), en productos conocidos como snacks, probando diferentes concentraciones de cada uno de ellos en galletas, misma que fue analizada en base a una referencia para conocer sus características químicas proximales y de esta manera conocer sus propiedades nutricionales.

TEORÍA

Alimentación y hábitos

Las condiciones alimentarias han variado a través del tiempo y los grupos humanos se han adaptado a ellas, aprendiendo y creando conocimientos, pautas, creencias, reglas morales, arte, leyes y costumbres que en conjunto forman un todo complejo que conocemos como cultura. Ésta tiene que reflejar, tanto material como objetivamente, las condiciones en que una sociedad puede satisfacer sus necesidades, determinando la forma, el lugar y el tiempo con que cuenta para hacerlo.

De acuerdo con un estudio realizado por Martínez y Villezca (2005) los niños de cinco a once años tienen problemas de nutrición, tanto por deficiencia como por exceso; el 16.1% de los escolares presenta baja talla para su edad y el 4.5% presenta bajo peso. Los problemas de nutrición tienen trascendencia en la salud y el desarrollo de la sociedad y sus efectos negativos se reflejan en el desarrollo del capital humano. Las causas de la desnutrición primaria son: la pobreza, la ignorancia, que provocan el uso ineficiente de los recursos, y el aislamiento y dispersión de aldeas pequeñas que no cuentan con una comunicación adecuada.

De acuerdo a lo expuesto en la Cumbre Mundial sobre la Alimentación, en 1996, y al documento de la FAO sobre el Derecho a la Alimentación (FAO, 2000), toda persona tiene el derecho a consumir alimentos sanos y nutritivos, a una alimentación adecuada y a no padecer hambre. Esto equivale a contar con alimentos suficientes que satisfagan las necesidades nutricionales básicas de los individuos. Es ampliamente reconocido que en los países con una deficiencia del suministro energético en niños y adolescentes se manifiesta en éstos un crecimiento más lento de lo normal, pérdida de peso y, eventualmente, cese del crecimiento lineal y disminución en las potencias de la memoria y la inteligencia. Por el contrario, un consumo excesivo de nutrientes puede producir

ganancia de peso aumentada y obesidad con repercusiones en la salud de las personas (FAO, 2000).

Chipilín (Crotalaria longirostrata)

Si bien la acuicultura se presenta como una alternativa para la producción de proteína de alta calidad a bajo precio, es necesario lograr que esta actividad productiva se incorpore a la vida social del necesitado. El proceso de incorporación de plantas nativas con valor nutricional e importancia cultural, en la alimentación de peces, podría facilitar la adopción de la acuicultura en la vida del campesino. En las zonas rurales existe una variedad de plantas cuyas hojas son utilizadas para el consumo humano (Poot *et al.*, 2012).

En el estado de Chiapas, dentro las hierbas consumidas ampliamente por la población, se encuentra el chipilín (*Crotalaria longirostrata*) también conocido como chop, chipile, etc. Cada rama está compuesta por tres hojas pequeñas en forma ovalada y color verde oscuro. Sus flores son de color amarillo intenso y tiene forma de mariposa, constituyen racimos en la punta de la rama. El uso de las hojas de chipilín es muy popular para hacer tamales y caldo. (Mortón, 1994). En la figura 1 se muestra la composición nutricional de la hoja del chipilín, donde se observa que el contenido de proteína que aporta dicho quelite es importante.

Nutrimentos (100 g de alimento)	Chipilín
Energía	28 Kcal
Proteínas	4.0 g
Lípidos	0.3 g
Hidratos de carbono	4.4 g
Fibra	1.3 g
Vitamina A	223 mg
Ácido ascórbico	29 mg
Ácido fólico	0 mg
Hierro no hem	2.7 mg

Figura 1. Aporte nutritivo de la hoja de chipilín.

Fuente: Garay, 2002

El chipilín es uno de los quelites con mayor contenido nutrimental, reportándose que es rico en Calcio, Hierro, Tiamina, Riboflavina, Niacina y Ácido Ascórbico (Mortón, 1994).

Snaks y botanas

La industria de las botanas es muy variable debido a los cambios en los estilos de vida de los consumidores. Por esta razón, constantemente se innovan nuevos productos para satisfacer las necesidades del consumidor, jugando un papel muy importante los ingredientes utilizados para su elaboración ya que proporcionan características nutricionales y sensoriales para el mercado actual. Las botanas se han convertido en una parte importante de las dietas de muchos individuos y particularmente de la población infantil. Existe un gran interés en incrementar la fibra dietética de los alimentos incluyendo botanas para conducirlas hacia un enfoque saludable (Ozer et al., 2004).

Una de las botanas preferidas son las galletas que, de acuerdo a la norma NMX-F-006-1983, se definen como el producto elaborado con harinas de trigo, avena, centeno, harinas integrales, azúcares, grasa vegetal y/o aceites vegetales comestibles, agentes leudantes, sal yodatada; adicionados o no de otros ingredientes y aditivos alimenticios permitidos los que se someten a un proceso de amasado, moldeado y horneado.

De igual manera dicha norma clasifica las galletas de la siguiente manera:

Tipo I Galletas finas Tipo II Galletas entrefinas Tipo III Galletas comerciales

PARTE EXPERIMENTAL

Los análisis proximales de la muestra de galleta de chipilín, fueron determinados usando el método de la Association of Analytical Chemists (AOAC, Volumen 1)

Determinación de humedad

La determinación se realizó por triplicado, se pesaron 3 gramos de muestra en tapas de caja Petri, las cuales previamente se colocaron a peso constante, posteriormente se introdujeron las muestras al horno de secado, durante 12 horas a 60 °C. Transcurrido el tiempo, las muestras se colocaron en el desecador para que se atemperaran, se pesaron y con la diferencia de pesos se obtuvo el porcentaje de humedad en las muestras.

Determinación de ceniza

Se pesaron 5 gramos de muestra por triplicado en crisoles previamente pesados y puestos a peso constante, se llevaron a carbonizar sobre la parrilla de calentamiento, hasta que dejó de liberar humo, cuidando que no se incendiara. Se llevó a incinerar en la mufla a una temperatura entre 550 a 600°C, aproximadamente de 2 a 3 horas; una vez que las cenizas adquirieron un color blanco a gris-blanco, se colocaron 15 minutos en estufa de secado y se pesaron los crisoles y se obtuvo el porcentaje de cenizas.

Determinación de grasa cruda

El contenido de grasa se determinó por el método de Soxhlet, empleando hexano. Se utilizaron exactamente 5 gr de muestra y se colocaron en el equipo de extracción durante 16 horas, después de esto se evaporó el hexano y se prosiguió a realizar los cálculos para la obtención del porcentaje de grasa.

Determinación de proteína cruda

El contenido de proteína se determinó por el método de micro-Kjeldahl. Se utilizaron exactamente 0.05 gramos de muestra, la cual fue sometida a digestión a una temperatura de 420°C durante dos horas para liberar el nitrógeno orgánicamente ligado en forma de sulfato de amonio. Luego se separó por destilación en una solución de ácido bórico al 5% con 3 gotas de indicador micro-Kjedahl, y luego se tituló con el ácido clorhídrico estándar. Se utilizó un factor de conversión de 6,25 para convertir de nitrógeno total de proteína bruta a porcentaje.

Determinación de fibra cruda

Se colocó aproximadamente 1 gramo de muestra por triplicado en vasos de Berselius y se adicionaron 30 mL del reactivo S-K. Los vasos se colocaron en el condensador de fibra cruda y se llevaron a ebullición durante 30 minutos, posteriormente se filtró en caliente a través de un embudo (utilizando papel filtro llevado a peso constante con anterioridad). Se lavó el residuo con agua caliente y se colocó a peso constante el papel filtro, para posteriormente pesar y obtener el porcentaje de fibra cruda en las muestras.

RESULTADOS

Las características nutricionales de un alimento, pueden ser determinadas a partir de la determinación químico proximal de sus componentes, como un control para verificar que cumplan con las especificaciones o requerimientos establecidos durante la formulación, asegurando que sean aptos para el consumo.

De acuerdo con los resultados obtenidos en los análisis proximales de la muestra de galleta con harina de chipilín al 5% (Cuadro 1.) el aporte de proteína por parte de las galletas es importante ya que contienen el doble (11.61 g en 100 g⁻¹) del requerimiento mínimo especificado por la norma NMX-006-1983 que marca un mínimo de 6 g en 100 g⁻¹ de proteína en galletas comerciales. Este aporte de proteína puede deberse a que de manera natural el chipilín en su composición contiene 4 g de proteínas (Garay, 2002), lo cual le confieren a las galletas un valor extra de proteínas que no contienen las galletas convencionales comerciales.

Es importante señalar que, en un estudio realizado por Díaz *et al.* (2011) donde se elaboraron tostadas de maíz con base en hojas de chipilín, el contenido de proteínas fue también elevado, presentado 14 g de proteínas en 100 gramos de muestra, señalando que la propuesta de incorporar alimentos de hojas verdes en una tostada es una alternativa para dar variedad a la alimentación con un valor importante de nutrientes.

Cuadro 1. Comparación de nutrientes de las galletas chipilín con respecto a la NMX-F-006-1983

Especificaciones	Galletas a base de HNC de chipilín (5 %)	NMX-F-006-1983. ALIMENTOS. GALLETAS.
Humedad %	3.4 ± 0.14	8 %máximo
Grasa (g)	21.29 ± 0.53	5 mínimo
Proteína cruda (g)	11.61 ± 1.26	6 mínimo

Fibra cruda (g)	1.39 ± 0.22	0.5 máximo	
Cenizas (g)	1.92 ± 0.04	2 máximo	
Carbohidratos	63.76		

En cuanto al contenido de grasa, generalmente las galletas son productos que se caracterizan por un contenido alto de grasa, incorporada durante su elaboración para conferir la textura deseada. La norma hace referencia a un mínimo de 5 g de grasa en 100 g⁻¹ de muestra para ser considerada una galleta comercial, las galletas de chipilín aportan 1067.25 kJ (21.29 g en 100 g⁻¹) de grasa, debido principalmente a la cantidad de mantequilla empleada para su elaboración, ya que de manera natural ambos quelites no representan en sí un aporte significativo de lípidos.

En relación al contenido de fibra, la norma indica un nivel máximo de 0.5 g de fibra en 100 g de muestra en galletas comerciales, sin embargo, las galletas elaboradas en este trabajo presentaron en su composición un mayor contenido de fibra cruda de 1.39 g en 100 g⁻¹. Esto no significa que el producto sea inadecuado, sino por el contrario al tratarse de fibra cruda que es insoluble, esta actúa favorablemente sobre el tránsito intestinal, ya que la celulosa que contiene posee un efecto laxante superior al de la fibra soluble. La fibra insoluble está muy indicada para combatir el estreñimiento (FAO).

En lo que respecta a las cenizas, la norma citada con anterioridad indica que se puede tener un máximo de 2 g de cenizas, por lo que la galleta de chipilín evaluada cumple la norma, pues contiene 1.92 g en 100 g de galleta. Dichos micronutrientes representan las sales y minerales contenidas en el producto, las cuales no se consideran altas.

Finalmente, el aporte calórico de la galleta de chipilín es 1067.25 kJ por una porción de 100 gramos, dando así un aporte total de todos los macro y micronutrientes de 2,063.59 kJ. Comparando esta cantidad con el índice de ingesta diaria recomendada por la FAO/OMS/ONU, para un niño entre 6 y 12 años, que va desde 1,900 a 2,150 kcal por día (correspondiente a 7,949.6 a 8,995.6 kJ por día), una porción de 100 g de las galletas evaluadas en este estudio cubre aproximadamente una cuarta parte del requerimiento, sin embargo, se debe considerar que generalmente las porciones son de 25 a 30 gramos. Comparando dicho valor energético con unas galletas comerciales, las cuales en una porción de 30 gramos aportan 562 kJ, se tiene que la misma cantidad de galletas hechas a base de chipilín estarían aportando 619.077 kJ.

CONCLUSIONES

- Las galletas cumplen con las especificaciones establecidas en la norma NMX-F-006-1983.
- ➤ De acuerdo con los resultados obtenidos del análisis químico proximal, el contenido de proteína de 11.61 g en 100 gramos de muestra, es un valor alto pues representa el doble de la especificación en norma.
- > El chipilín aporta propiedades nutricionales adicionales a los productos elaborados con este.
- ➤ Una porción de 30 gramos aporta 619.07 kJ, lo cual representa el 7.78 % de la ingesta diaria recomendada para un niño de 6 a 12 años.
- El uso de *Crotalaria longirostrata* para la elaboración de galletas, resulta novedoso y favorable como una opción alternativa de snack.

BIBLIOGRAFÍA

- 69. AOAC. Association of Official Analytical Chemist. (1990). Official Methods of Analysis.15 ed. Volume 1. U.S.A
- 70. E. A. Ozer. S. Ibanoglu, P. Ainsworth y C. Yagmur (2004). Characteristics of a nutritious extruded snack Food using response surface methodology, European Food Research and Technology, 218, pp 474.
- 71. FAO. (2000). Depósito de documentos de la FAO. Producción y manejo de datos de composición química de alimentos. Disponible en: http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/ah833s18.htm Fecha de consulta: 16/04/2017
- 72. G. R. Poot, E. L. Gasca, y M. A. N. Olvera. (2012). Producción de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus* L.) utilizando hojas de chaya (*Cnidoscolus chayamansa* McVaugh) como sustituto parcial del alimento balanceado. *Latin american journal of aquaticresearch*, 40(4), 835-846.
- 73. I. J. Martínez y P. A. Villezca. (2005). La Alimentación en México. CIENCIA UANL / VOL. VIII, No. 1, pp 196 y 197.
- 74. J. F. Mortón. (1994). Pito (*Erythrina Berteroana*) and Chipilín (*Crotalaria Longirostrata*), (Fabaceae), two soporific vegetables of central America. Economic Botany 48(2), pp. 130-138
- 75. K. E. Díaz, P. G. Meza, G. G. Vela, M. J. León y V. S. Bezares. (2011) Elaboración de producto con base en maíz (*Zea mays*) y chipilín (*Crotalaria longirostrata*) para fomentar el consumo de hojas verdes en la alimentación de niños. LACANDONIA, año 5, vol. 5, no. 1: 143-149.
- 76. NMX-F-006-1983. Alimentos. Galletas. Food cookie. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- 77. R. Bye y E. Linares. (2000). Los quelites plantas comestibles de México: una reflexión sobre intercambio cultural. CONABIO. Biodiversitas 31:11-14.
- 78. O. L. Paredes, Guevara L. F., Bello P. L.A. (2012). Los alimentos mágicos de las culturas indígenas mesoamericanas. Fondo de cultura económica. ISBN 978-968-16-7567-7, 2012, Pp 12-15.
- 79. T. S. Garay. (2002). Fritura de alto valor nutricio con ingredientes vegetales, Tesis de licenciatura en Nutrición, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chipas. Pp 10.

EFECTO DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE BUTANOL VIA FERMENTATIVA USANDO CLOSTRIDIUM ACETOBUTYLICUM

Oliva, Alejandra; Quintero, Julián; Gentina, Juan Carlos, Aroca, Germán; Sosa, Gerardo; Ríos, Leopoldo, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Pontifica Universidad Católica de Valparaíso.

Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila

Escuela de Ingeniería Bioquímica, Pontifica Universidad Católica de Valparaíso

RESUMEN

La demanda creciente de energía y las afectaciones medioambientales, debidas a la dependencia por parte de la sociedad hacia los combustibles fósiles, han incentivado la búsqueda de nuevos procesos y fuentes de materia prima para la producción de combustibles renovables. En México, existen varias razones para incrementar el uso de bioenergía, entre ellas su potencial de convertirse en una parte fundamental de un sistema de energía sostenible que contribuirá a reducir la emisión de gases de efecto invernadero, la generación de nuevos trabajos en zonas rurales, así como la disminución de importaciones de derivados petroquímicos. Recientemente, el butanol está siendo considerado nuevamente como una opción competitiva y con mucho potencial como biocombustible debido a las ventajas que tiene sobre otros oxigenantes como el etanol. El butanol puede producirse vía fermentativa utilizando algunos microorganismos del género Clostridium sp. En este trabajo se evaluó el efecto de diferentes condiciones de operación en la producción de butanol por Clostridium acetobutylicum ATCC824 con el fin de determinar las condiciones óptimas para la fermentación. Los ensayos se realizaron en 60 ml de medio sintético en reactores de 100 ml en condiciones estrictamente anaerobias. Se estudiaron 3 factores: temperatura, pH v porcentaje de inóculo con 3 niveles cada uno utilizando un diseño ortogonal Taguchi L9. Los resultaron mostraron que la mayor productividad de butanol (0.118 gL⁻¹h⁻¹) se obtuvo a las 48 horas a una temperatura de 40 °C, pH 7.5 y 5% de inóculo con una concentración final de butanol de 5.623 g/L.

INTRODUCCIÓN

El siglo XX se caracterizó a nivel mundial, entre otras cosas, por una sociedad con un modelo de desarrollo basado en el uso industrial de los recursos fósiles (1). La demanda creciente de energía y las afectaciones medioambientales debidas a la dependencia por parte de la sociedad hacia los combustibles fósiles, han incentivado la búsqueda de nuevos procesos y fuentes de materia prima para la producción de combustibles renovables.

En este contexto, los biocombustibles están recibiendo cada vez mayor atención debido a su enorme potencial y sus múltiples beneficios, entre los que se encuentran: (a) fácil obtención de fuentes abundantes de biomasa, (b) gran potencial ecológico, (c) beneficios para el medio ambiente, la economía y los consumidores, (d) son biodegradables y contribuyen a la sustentabilidad (2).

En México, existen varias razones para incrementar el uso de bioenergía, entre ellas su potencial de convertirse en una parte fundamental de un sistema de energía sostenible que contribuirá a la reducción de la emisión de gases de efecto invernadero, la generación de nuevos trabajos en las zonas rurales, así como la disminución de importaciones de derivados petroquímicos (3).

Los biocombustibles comprenden una amplia gama de combustibles que son obtenidos principalmente a partir de biomasa, los cuales pueden ser sólidos como el carbón vegetal, líquidos como etanol, butanol y biodiesel, o gaseosos como biogás e hidrógeno (4). En lo particular, los biocombustibles líquidos se utilizan en vehículos de transporte, entre los principales se encuentran el biodiesel y los bioalcoholes.

De estos últimos, el etanol se ha considerado como una alternativa para los motores de combustión básicamente por ser un combustible que puede obtenerse por fermentación alcohólica de fuentes renovables de biomasa. Sin embargo, en años recientes el butanol, un alcohol más complejo, con mejores propiedades y que también puede obtenerse de fuentes renovables de biomasa por fermentación, está siendo considerado como una opción competitiva y con mayor potencial para su uso en el sector del transporte. (5) Entre algunas de las ventajas que presenta se encuentran: alto contenido de energía debido al mayor número de átomos de carbono, baja volatilidad, alto punto de ebullición, menor corrosividad y mayor facilidad de distribución debida, entre otras razones, a su menor explosividad (6). Lo anterior, aunado a su compatibilidad con los motores de combustión aumenta su potencial para usarse como un reemplazo total de la gasolina (7).

El butanol puede producirse vía fermentativa utilizando algunos microorganismos del género *Clostridium sp.* En este trabajo se evaluó el efecto de diferentes condiciones de operación en la producción de butanol por *Clostridium acetobutylicum ATCC824* con el fin de determinar las condiciones óptimas para la fermentación.

TEORÍA

Ventajas del butanol

Analizando las propiedades químicas y físicas de la gasolina, el diesel, el etanol y el n-butanol presentadas en la Tabla 1, es posible identificar algunas de las ventajas de éste último, como: (a) mayor poder calorífico, lo que reduce el consumo de combustible y al mismo tiempo aumenta el kilometraje; (b) menor volatilidad; (c) menos problemas de ignición debido a su menor calor de vaporización; (d) intersolubilidad, pues puede mezclarse más fácilmente con diesel o gasolina sin la necesidad de usar cosolventes; (e) mayor viscosidad, por lo que no causa problemas de desgaste en las bombas de combustible; (f) más seguro para utilizarse a altas temperaturas debido a su baja presión de vapor y alto punto de inflamación; (g) fácil distribución ya que tolera mejor la contaminación con agua y es menos corrosivo; (h) un beneficio a largo plazo para el hidrógeno, pues produce una mayor salida de energía cuando se usa en celdas de combustible, además de que el hidrógeno producido durante la fermentación de butanol puede recuperarse fácilmente, lo que aumenta el rendimiento energético total. (8)

Propiedad	Gasolina	Diesel	Etanol	n-Butanol
Fórmula molecular	C ₄ -C ₁₂	C ₁₂ -C ₂₅	C ₂ H ₅ OH	C ₄ H ₉ OH
Índice de cetanos	0-10	40-55	8	25
Índice de octanos	80-99	20-30	108	96
Contenido de oxígeno (% peso)			34.8	21.6
Densidad (g/ml) a 20 °C	0.72-0.78	0.82-0.86	0.790	0.808
Temperatura de autoignición (°C)	~300	~210	434	385
Punto de inflamación (°C)	-45 a -38	65-88	8	35
Menor poder calorífico (MJ/kg)	42.7	42.5	26.8	33.1
Punto de ebullición	25-215	180-370	78.4	117.7
Límites de Flamabilidad (% vol)	0.6-8	1.5-7.6	4.3-19	1.4-11.2
Presión de saturación (kPa) a 38 °C	31.01	1.86	13.8	2.27
Viscosidad (mm²/s) a 40°C	0.4-0.8 (20 °C)	1.9-4.1	1.08	2.63

Tabla 1. Especificaciones de alcoholes y combustibles fósiles convencionales (4).

Historia de la producción de butanol

La producción de butanol en una fermentación microbiana fue descubierta por el microbiólogo francés Louis Pasteur en 1861 (6). La producción de butanol a través de la fermentación acetona-butanol-etanol (ABE) comenzó entre 1912 y 1916 y es una de las fermentaciones industriales conocidas más antiguas (8). El proceso de fermentación a escala industrial se desarrolló durante la Primera Guerra Mundial impulsado por la demanda química y la escasez. Para 1950 cerca de dos tercios del abastecimiento de butanol a nivel mundial provenía de la fermentación. Sin embargo, debido al incremento de precio de los sustratos (principalmente melazas) y a la disponibilidad de petróleo crudo barato, el proceso de producción pasó de biotecnológico a petroquímico (9).

En la Figura 1 se muestra la ruta de producción del butanol por la fermentación ABE. Como puede observarse hay 3 clases de productos principales durante la fermentación: (a) solventes (acetona, etanol y etanol); (b) ácidos orgánicos (ácido acético, láctico y butírico) y (c) gases (dióxido de carbono e hidrógeno) (8).

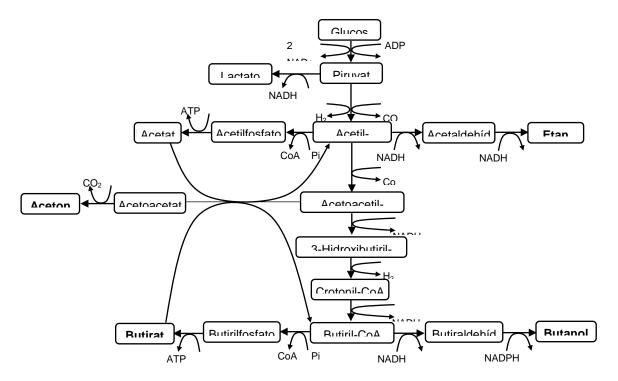


Figura 1. Ruta de fermentación del butanol por C. acetobutylicum (7).

Microorganismos productores de butanol

El género *Clostridium sp* incluye una gran variedad de bacterias productoras de biobutanol, entre las que se incluyen *C. acetobutylicum, C. beijerinckii, C. pasteurianum, C. sporogenes, C. saccaroperbutylacetonicum, C. saccharoacetobutylicum, C. aurantibutyricum, C. cadaveris y <i>C. tetanomorphum.* Específicamente *C. acetobutylicum, C. saccharoacetobutylicum, C. beijerinckii* y *C. saccaroperbutylacetonicum* han presentado actividad significativa para la síntesis de butanol con los más altos rendimientos. *C. acetobutylicum* (bacteria formadora de esporas, con forma de bastón, anaerobia obligada y gram positiva) fue el primer microorganismo en ser usado en la fermentación industrial del azúcar y granos amiláceos para la producción de acetona y butanol durante la primera mitad del siglo pasado (10).

Recientemente, se sabe que, debido a su capacidad sacarolítica, las bacterias del género *Clostridium* pueden fermentar biomasas económicas para la producción de biobutanol de segunda generación, como los materiales lignocelulósicos (5). Sin embargo, es necesaria la hidrólisis ácida o enzimática de la biomasa lignocelulósica antes de que pueda ser usada como sustrato en la fermentación ABE. (11)

PARTE EXPERIMENTAL

MICROORGANISMOS

En este proyecto, se utilizó *Clostridium acetobutylicum ATCC824* de la Colección de Cultivos Microbianos del CINVESTAV-IPN.

Preparación del inóculo

Clostridium acetobutylicum se cultivó anaeróbicamente a 37 °C y sin agitación durante 72 horas en

medio sintético con la siguiente composición (g/L): glucosa, 60; MgSO₄, 0.20; MnSO₄, 0.01; KH₂PO₄, 0.5; K₂HPO₄•3H₂O, 0.5; FeSO₄•7H₂O, 0.01; NaCl, 0.01; acetato de amonio, 2.2; ácido paraminobenzoico, 0.001; biotina, 0.0001; tiamina, 0.001; extracto de levadura, 1 (12).

Procedimiento

Los ensayos se realizaron en 60 ml del medio sintético descrito anteriormente en reactores de 100 ml en condiciones estrictamente anaerobias usando un agente reductor (0.5 g/L de L-cisteína), inyectando nitrógeno para desplazar el oxígeno y sellando con tapones de goma y casquillos de metal.

Se estudiaron 3 factores: temperatura, pH y porcentaje de inóculo con 3 niveles cada uno utilizando un diseño ortogonal Taguchi L9 (Tabla 2). La variable de respuesta fue la productividad de butanol.

Experimento	Factores		
Experimento	T (°C)	рН	% Inóculo (v/v)
1	35	6.0	5
2	35	6.5	10
3	35	7.0	15
4	40	6.0	10
5	40	6.5	15
6	40	7.0	5
7	45	6.0	15
8	45	6.5	5
9	45	7.0	10

Tabla 2. Matriz de diseño de experimentos Taguchi (L9(3⁴)).

Todos los experimentos se realizaron por duplicado, ajustando las condiciones de acuerdo al diseño de experimentos de la Tabla 2 durante un periodo de 120 horas. Cada 24 horas se tomaron alícuotas de 1 mL, a las que se les cuantificó la biomasa por densidad óptica a 600 nm utilizando un espectrofotómetro (Varian Cary 50 UV/Vis). Posteriormente se separó la biomasa y el sobrenadante por centrifugación. La fracción líquida se filtró a través de filtros de PVDF de 0.22 μ. La cuantificación de glucosa y butanol se llevó a cabo por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) usando un sistema Agilent Mod. 1200 Infinity utilizando ácido sulfúrico (H₂SO₄) 5 mM como fase móvil.

Para determinar las condiciones óptimas de fermentación de *Clostridium acetobutylicum* se llevó a cabo **un análisis estadístico** con el programa Qualitek-4®.

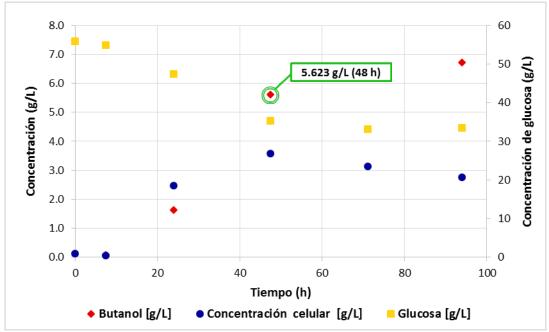
RESULTADOS

En la Tabla 3 se muestra la mayor productividad de butanol obtenida bajo las diferentes condiciones de trabajo especificadas en el diseño de experimentos anteriormente descrito:

Experimento	Productividad
1	0.0716
2	0.0633
3	0.0680
4	0.1093
5	0.0842
6	0.1184
7	0.0200
8	0.0087
9	0.0132

Tabla 3. Mayor productividad obtenida en cada una de las condiciones de operación.

Después de analizar los resultados se determinó que la mayor productividad de butanol (0.118 gL⁻¹h⁻¹) se obtuvo a las 48 horas a una temperatura de 40 °C, pH 7.5 y 5% de inóculo con una concentración final de butanol de 5.623 g/L. En la Gráfica 1 se presenta el perfil de crecimiento de *Clostridium acetobutylicum*, así como de la producción de butanol y el consumo de glucosa a las condiciones mencionadas.



Gráfica 1. Perfil de crecimiento de *C. acetobutylicum*, producción de butanol y consumo de glucosa a 40 °C, pH 7.5 y 5% de inóculo.

CONCLUSIONES

Las pruebas de fermentación de *C. acetobutylicum* a diferentes condiciones de temperatura, pH y porcentaje de inóculo se llevaron a cabo exitosamente. El análisis de los resultados obtenidos determinó que la mayor productividad de butanol (0.118 gL⁻¹h⁻¹) se obtiene a las 48 horas y cuando la fermentación se lleva a cabo a una temperatura de 40 °C, pH 7.5 y 5% de inóculo, lográndose una concentración de butanol de 5.623 g/L.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Boudet, Alain Michel. "Editorial: A new era for lignocellulosics utilization through biotechnology", C. R. Biologies, vol. 334, 2011, pp.777–780.
- 2. Demirbas, Ayhan. "Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections", Energ Convers Manage, vol. 49, 2008, pp. 2106–2116.
- 3. Islas, Jorge; Manzinia, Fabio; Masera, Omar. "A prospective study of bioenergy use in Mexico", Energy, vol. 32, 2007, pp. 2306–2320.
- 4. Demirbas, Ayhan. "Political, economic and environmental impacts of biofuels: A review", Appl Energ, vol. 86, 2009, pp. S108–S117.
- 5. Ezeji, Thaddeus C.; Qureshi, Nasib; Blaschek, Hans P. "Bioproduction of butanol from biomass: from genes to reactors", Curr Opin Biotechnol, vol. 18, 2007, pp. 220-227.
- 6. Ndaba, B.; Chiyanzu, I.; Marx, S. "n-Butanol derived from biochemical and chemical routes: A review", Biotechnol Rep, vol. 8, 2015, pp. 1–9.
- 7. Jang, Yu-Sin; Malaviya, Alok; Cho, Changhee; Lee, Joungmin; Lee, Sang Yup. "Review: Butanol production from renewable biomass by Clostridia". Bioresource Technol, vol. 123, 2012, 653–663.
- 8. Jin, Chao; Yaoc, Mingfa; Liuc, Haifeng; Leed, Chia-fon F.; Ji, Jing. "Progress in the production and application of n-butanol as a biofuel", Renew Sust Energ Rev, vol. 15, 2011, pp. 4080–4106.
- 9. Dürre, Peter. "Fermentative production of butanol: The academic perspective", Curr Opin Biotechnol, vol. 22, 2011, pp. 331–336.
- 10. Kumar, Manish; Gayen, Kalyan. "Developments in biobutanol production: New insights", Appl Energ, vol. 88, 2011, pp. 1999–2012.
- 11. Antoni, Dominik; Zverlov, Vladimir; Schwarz, Wolfang. "Biofuels from microbes", Appl Microbiol Biotechnol, vol. 77, 2007, pp. 23–35.
- Kheyrandish, Maryam; Asadollahi, Mohammad A.; Jeihanipour, Azam; Doostmohammadi, Mohsen; Rismani-Yazdi, Hamid; Karimi, Keikhosro. "Direct production of acetone-butanolethanol from waste starch by free and immobilized Clostridium acetobutylicum", Fuel, vol. 142, 2015, pp. 129–133

EFECTO DEL PROCESO DE COCCIÓN DE GARBANZO EN VERDE (Cicer arietinum L.) (GUASANA) SOBRE LA CALIDAD NUTRIMENTAL Y FUNCIONAL

María Isabel Arévalo González, Brenda Zulema Guerreo Aguilar, Jorge Alberto Acosta Gallegos y Salvador Horacio Guzmán Maldonado.

Departamento de Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Celaya. Av. Tecnológico s/n. Celaya, Gto.,

Campo Experimental Bajío (INIFAP). Programa de Frijol y garbanzo. Km 6.5, Carretera Celaya-San Miguel Allende, Celaya, Gto. shoraciogm@gmail.com

RESUMEN

El garbanzo verde conocido comúnmente como 'guasana' es un producto del campo que ha atraído la atención del público en general. Esta leguminosa se consume después de cocerlo al vapor o asado. A pesar de que el garbanzo seco es una leguminosa que ha sido ampliamente estudiada, se desconoce la calidad alimentaria del garbanzo verde. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad nutrimental y nutracéutica del garbanzo verde crudo, cocido al vapor o asado.

INTRODUCCIÓN

El garbanzo es originario del viejo mundo, hay evidencia arqueológica que indica que los Turcos lo consumian o lo utilizaban como ofrenda entre 2000 y 1400 AC. Los españoles lo introdujeron a nuestro país durante la conquista y fue aceptado ampliamnete.¹

A nivel mundial, el garbanzo se cultiva en 33 países, 20 de los cuales siembran más de 20,000 ha. Entre los países productores destaca, Australia, Canadá, España, India, Marruecos, México, Siria yTurquía, entre otros. México cupa el tercer lugar en produccion a nivel mundial con 131,894 ton. Los principales estados productores de nuestro país son Sinaloa, Sonora, Guanajuato y Michoacán. En los estados de Sinaloa y Sonora se cultiva el garbanzo seco de más alta calidad, el cual se caracteriza por su buen calibre, color y rugosidad. El 80% de la producción cumple con las normas de exportación y el resto generalmente se vende al mercado nacional. En México, el garbanzo también se consume en verde, pero se desconocen datos de producción y consumo. Sin embargo, hoy en día, el garbanzo verde se exporta a los Estados Unidos.

TEORÍA

El garbanzo pertenece a la familia de las *Fabaceae* del género *Cicer* el cual existen al menos 43 especies. La planta puede alcanzar una altura de 60 cm. Las raíces son poco profundas y de tallos ramificados. Los frutos vienen en vainas con una o dos semillas en su interior que suelen ser arrugadas y redondeadas.⁴

El garbanzo en verde o "guasana", se comercializa como alimento fresco. La calidad del garbanzo en verde se asocia más con el color verde intenso y lo dulce del grano. El garbanzo en verde se cosecha en un estado inmaduro de desarrollo que presenta una elevada actividad metabólica y de transpiración, lo que reduce su vida pos cosecha (Rangel y col., 2011). La composición química del garbanzo muestra un alto contenido de proteína y fibra con 20 y 15%, respectivamente (Cuadro 1).

La comercialización del garbanzo verde en México se inició en el año 2004 a través de la compañía Campo Nuevo ubicada en Hermosillo, Sonora. Recientemente aparte del color y lo dulce del grano, la calidad del garbanzo verde se ha asociado con el tamaño uniforme y color característico de la vaina. Para mantener la apariencia fresca de la vaina, se cosecha la planta completa y el fruto se separa con cuidado de forma manual. Eventualmente, la vaina se empaca en cajas de plástico y se almacena a 5 o 10 °C.⁵

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal. Se utilizaron las cuatro variedades de garbanzo que mayor consumo tienen en verde: Costa 04, Blanco Oro, Hoga 067 y Cuga 09 sembradas en el Campo Experimental Bajío del INIFAP. Cada una de las tres repeticiones cosechadas se dividió en tres porciones. Una se almacenó a –20 °C hasta su análisis y se denominó muestra cruda. Las otras dos porciones fueron cocidas al vapor y asadas sobre un comal metálico, respectivamente. Después de separar el grano de la vaina, fueron almacenadas a –20 °C hasta su análisis.

Componente	Contenido
Proteínas	20.0
Grasa	3.4
Fibra	15.0
Cenizas	4.1
Carbohidratos	57.5

Tabla 1. Composición química (%) del garbanzo seco.

Composición química. El contenido de proteína, fibra, lípidos, ceniza se determinó por métodos debidamente aprobados.⁷ Los carbohidratos fueron determinados por diferencia porcentual con los componentes anteriores.

Fenoles Totales. El método empleado fue el de Folin-Ciocalteu, ⁸ que está basado en la reducción de ácido gálico por compuestos fenólicos en presencia de un álcali (carbonato de sodio). Los fenoles se calcularon comparado las lecturas espectrofotométricas con una cuerva de calibración de ácido gálico y se reportaron como mg equivalentes de ácido gálico por 100 g.

Flavonoides totales. La cuantificación de los flavonoides totales en las diferentes muestras de garbanzo tierno se realizó mediante una técnica espectrofotométrica. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de catequina/100g (mg EC/100 g).

Taninos Condensados. Se cuantificaron los taninos condensados expresados como mg EC/100 g, de acuerdo al ensayo de vainillina.¹⁰

Capacidad antioxidante (CA). Se determinó la CA TEAC con el radical ácido 2,2'-azinobis (3etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS) comparando con una curva estándar de Trolox. Mientras que la CA por ORAC se realizó con el radical AAPH [2,2-azobis (2-amidinopropano)-HCI]. En ambos casos, los resultados se reportaron en micromoles equivalentes de Trolox/100 g (μmol TE/100 g).

Oligosacáridos. Los carbohidratos, de la familia de la rafinosa, fueron determinados por cromatografía liquida de alta resolución (HPLC-DAD).

RESULTADOS

Composición química. En general, el contenido de proteína disminuyó ligeramente cuando el garbanzo se sometió al proceso de cocción al vapor y cuando se cocinó asado (Cuadro 1). Por el contrario, la fibra se incrementó ligeramente. Sin embargo, los cambios generados en el garbanzo verde como resultado de los dos procesos son minoritarios. Muy probablemente los cambios en la proteína y la fibra son el resultado la hidrólisis de los péptidos y del almidón sufrido durante el proceso. Estos cambios incrementan la digestibilidad de ambos componentes.

Fenoles totales. En general, el contenido de fenoles totales no se modificó significativamente como resultado del proceso de cocción (Cuadro 2). Sin embargo, se observa un ligero decremento en el garbanzo cocido al vapor. Por otro lado, se observó que la variedad Costa presenta el mayor contenido de fenoles totales en comparación con el resto de las variedades analizadas.

Cuadro 1. Composición química de garbanzo verde crudo y sometido a dos tratamientos de cocción.

Muestra	Proteína	Fibra	Grasa	Ceniza	СН
Crudo					
Costa	8.43 ± 0.67	6.27 ± 0.03	3.25 ±0.26	4.43 ± 0.32	77.62
Blanco Sinaloa	9.19 ± 0.25	5.56 ± 0.01	2.98 ±0.01	4.11 ± 0.03	78.14
Blanco Oro	9.15 ± 0.32	6.60 ± 0.03	3.35 ±0.16	4.17 ± 0.01	76.13
Hoga	8.86 ± 0.27	5.60 ± 0.03	2.73 ±0.27	4.24 ± 0.15	78.83
Asado					
Costa	8.34 ± 0.02	6.09 ± 0.07	2.33 ±0.02	4.47 ± 0.32	78.75
Blanco Sinaloa	8.85 ± 0.08	6.38 ± 0.04	2.40 ± 0.01	4.16 ± 0.17	78.53
Blanco Oro	8.39 ± 0.19	6.22 ± 0.02	2.42 ± 0.11	4.22 ± 0.01	78.73
Hoga	8.28 ± 0.16	6.07 ± 0.09	2.24 ± 0.02	4.27 ± 0.22	79.11

Al vapor

Costa	8.35 ± 0.17	6.08 ± 0.15	2.89 ± 0.03	4.17 ± 0.41	78.48
Blanco Sinaloa	8.04 ± 0.03	6.31 ± 0.04	3.09 ± 0.28	3.87 ± 0.05	78.66
Blanco Oro	8.16 ± 0.16	5.98 ± 0.18	3.06 ± 0.12	4.22 ± 0.01	78.89
Hoga	8.58 ± 0.16	6.26 ± 0.05	2.96 ± 0.23	3.76 ± 0.01	78.42

Cuadro 2. Contenido de fenoles totales (mg EAG/100g) en garbanzo crudo y asado y cocido al vapor.

Muestra	Crudo	Asado	Cocido al vapor
Costa	370.6 ± 1.6 a	377.3 ± 2.6 a	343.8 ± 3.8 a
Blanco Sinaloa	330.5 ± 1.4 c	303.7 ± 2.6 c	300.9 ± 8.1 c
Blanco Oro	333.3± 1.9 c	326.4 ± 8.1 b	307.5 ± 2.9 c
Hoga	358.2 ± 2.7 b	333.3 ± 8.1 b	332.4 ± 4.1 b

Promedios con letra similar en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

EAG = Equivalentes de ácido gálico.

Los reportes sobre el contenido de fenoles totales prácticamente no existen. Sin embargo, se ha reportado en garbanzo verde cocidos en agua hirviendo por 8 min, que el contenido de fenoles totales presenta un nivel de hasta 197.8 mg/100 g.¹³ Las diferencias en los resultados reportados con el presente estudio pude explicarse por las diferencias en el origen geográfico y la variedad.

Por otro lado, se sabe que los fenoles totales se reducen cuando grano de garbanzo seco maduro es sometido al remojo, a la cocción en agua hirviendo o en vapor. ¹⁴ Lo cual concuerda en cierta medida con los resultados aquí presentados.

Capacidad antioxidante

Con respecto a la capacidad antioxidante (TEAC) del garbanzo verde, se observó que existen diferencias importantes entre variedades (Cuadro 3). Por ejemplo, el grano crudo del cultivar Blanco Sinaloa presentó el menor nivel de TEAC en comparación con el resto de las variedades. Mientras que Costa fue la variedad con el nivel más alto de TEAC. Estos resultados se observaron en grano crudo, asado y cocido al vapor. Por ejemplo, en el grano asado de las variedades Costa, Blanco Sinaloa y Hoga el nivel de TEAC se disminuye significativamente (Cuadro 3). Mientras que en la variedad Blanco Oro se incrementa un 23% en grano asado y hasta 3.2 veces más en grano

cocido al vapor. Se ha reportado que la capacidad antioxidante del garbanzo seco se incrementa cuando se cuece en agua o al vapor. 14

Cuadro 3. Capacidad antioxidante TEAC (µmol ET/100g) en garbanzo verde crudo, asado y cocido al vapor.

Muestra	Crudo	Asado	Cocido al vapor
Costa	532.24 ± 9.07 a	358.06 ± 7.71 ab	292.25 ± 5.83 b
Blanco Sinaloa	312.39 ± 4.95 b	132.32 ± 6.40 e	246.90 ± 2.98 c
Blanco Oro	117.08 ± 11.15 e	154.39 ± 6.21 d	376.31 ± 4.33 a
Hoga	541.12 ± 32.42 a	224.28 ± 6.90 c	128.79 ± 10.97 d

Promedios con letra similar en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

Con respecto a la CA por ORAC, los materiales presentaron muy pocas diferencias (Cuadro 4). Se puede observar que la variedad Hoga crudo y asado así como la variedad Blanco Oro asado y al vapor presentan los niveles mayores de ORAC en comparación con el resto de las muestras. Se ha reportado que si dos muestras presentan niveles de ORAC con una diferencia de 1.0, la capacidad de ellas para neutralizar radicales de oxígeno será la misma. ¹⁵

Cuadro 4. Capacidad antioxidante ORAC (µmol ET/100g) en garbanzo crudo y asado y cocido al vapor.

Muestra	Crudo	Asado	Vapor
Costa	3.74 ± 0.34 b	3.21 ± 0.05 b	2.24 ± 0.06 b
Blanco Sinaloa	$3.67 \pm 0.03 b$	$2.93 \pm 0.09 c$	1.55 ± 0.11 c
Blanco Oro	$3.75 \pm 0.17 b$	3.69 ± 0.03 a	3.29 ± 0.20 a
Hoga	4.38 ± 0.21 a	3.60 ± 0.16 a	2.26 ± 0.15 b

Promedios con letra similar en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

Oligosacáridos (OGS). Los OGS pertenecen a la familia de la rafinosa y han sido relacionados positivamente con la prevención del cáncer de colon. ¹⁶ Los OGS pasan por el tracto intestinal sin ser modificados; sin embargo, cuando llegan al colón, son fermentados por las bifidobacterias, microorganismos benéficos que pueden dominar otros microorganismos patogénicos. ¹⁷ Como resultado de la fermentación de los oligosacáridos, se generan ácidos grasos de cadena corta

necesarios para el buen funcionamiento de las células del colon. El consumo de los OGS se ha promovido junto con la fibra. Se ha reportado que el garbanzo seco presenta entre 1.64 y 3.09% de estaquiosa en variedades producidas en China. En este sentido, las variedades evaluadas en este trabajo presentaron menor contenido de este oligosacárido. Sin embargo, el contenido de refinosa y verbascosa es significativo Cuadro 5). Por ejemplo, el contenido de verbascosa se incrementa hasta en un 54% como resultado de la cocción al vapor o asado. En el Cuadro 5 se puede observar que las variedades mexicanas procesadas incrementan el contenido total de OGS de forma significativa. Es factible pensar que este incremento se debe al proceso de hidrólisis que ciertos carbohidratos sufren al ser procesados.

Cuadro 5. Contenido de oligosacáridos (%) en garbanzo verde asado y cocido al vapor.

Material	Rafinosa	Estaquiosa	Verbascosa	Total
Crudo				
Hoga	1.53 ± 0.17	0.06 ± 0.001	1.80 ± 0.06	3.39
Blanco Oro	1.44 ± 0.02	0.03 ± 0.004	1.96 ± 0.05	3.43
Blanco Sinaloa	1.33 ± 0.20	0.09 ± 0.001	2.38 ± 0.06	3.71
Costa	1.33 ± 0.64	0.11 ± 0.009	2.54 ± 0.03	3.98
Vapor				
Hoga	1.34 ± 0.42	0.03 ± 0.003	3.26 ± 0.05	4.63
Blanco Oro	1.28 ± 0.52	0.05 ± 0.004	3.04 ± 0.01	4.37
Blanco Sinaloa	1.19 ± 0.37	0.04 ± 0.003	2.70 ± 0.05	3.93
Costa	1.26 ± 0.81	0.37 ± 0.003	3.10 ± 0.06	4.84
Asado				
Hoga	1.53 ± 1.05	0.10 ± 0.007	3.92 ± 0.02	5.55
Blanco Oro	1.33 ± 0.08	0.08 ± 0.002	3.74 ± 0.01	5.15
Blanco Sinaloa	1.41 ± 0.06	0.07 ± 0.004	3.75 ± 0.03	5.23
Costa	1.47 ± 0.49	0.13 ± 0.001	3.77 ± 0.02	5.37

Promedios con letra similar en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

CONCLUSIONES

Los tratamientos de cocción al vapor y asado afectan en forma diferencial el contenido de fenoles y la capacidad antioxidante.

En general, el garbanzo verde asado y cocido al vapor es una buena fuente de fenoles totales, y presentan altos niveles de capacidad antioxidante TEAC.

El garbanzo verde cocido al vapor o asado es una excelente fuente de oligosacáridos y por lo tanto puede contribuir en la prevención de cáncer de colon.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. B. A. L. Romero, H. J. M. Barrón, V. M. R. Falcón y C. R. Anduaga, "Evaluaciones de la calidad comercial y tecnológica de variedades y líneas avanzadas de garbanzo (*Cicer Arietinum* L.) cosechadas en el noreste de México", Ciencias Biol. Salud, 16, 1, 2014, pp.1-8.
- 2. FAO, 2012. FAOSTAT. Consultado el 15 de marzo de 2017.

http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancorhttp://www.fao.org/faostat/en/#data/CC.

- 3. B. M. Apáez, "Producción de garbanzo (*Cicer arientinum* L.) en función del manejo y ambiente", Tesis de maestría en ciencias. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias e Investigación, 2013, Montecillo, Texcoco, Edo de México.
- 4. T. A. González, "Desarrollo de un producto de panificación a partir de harina compuesta de trigo, garbanzo y brócoli", Tesis de licenciatura, 2012, Universidad de San Buenaventura, Medellín, Colombia.
- P. M. D. Rangel-Verdugo, E. M. Osuna, S. T. Báez, H. M. A. Basilio, T. J. Valdez, M. B. Contreras, B. R. Sañudo y S. J. A. Campos, "Caracterización del garbanzo verde (*Cicer arietinum* L) y tecnologías poscosechas para mantener su calidad" Revista Chapingo serie Horticultura, 17, 1, 2011, pp.39-35.
- 6. R.V.G Aguilar y R. J. F. Vélez, "Propiedades nutricionales y funcionales del garbanzo (*Cicer arietinum* L.)", Tesis de Licenciatura, 2013, Universidad de las Américas, Puebla, Pue.
- 7. AOAC, 15ª edición (1990), Association of Official Analytical, Vol 1.

https://archive.org/details/gov.law.aoac.methods.1.1990

- 8. V. L. Singleton and A. Rossi, "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents", Am. J. Enol. Vitic., 16, 1965, pp. 144-158.
- X. Dewanto, K. Wu, K. Adom, and R. H. Liu, "Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity", J. Agric. Food Chem., 50, 2002, pp.3010– 3015.
- 10. S. S. Deshpande and M. Cheryan, "Evaluation of vanillin assay for tannin analysis of dry beans", J. Food Sci., 50, 1985, pp. 905-916.

- 11. R. Van den Berg, G. R. M. Haenen, H. Van den Berg and A. Bast, "Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures", Food Chem., 66, 1999, pp. 511-517.
- 12. D. Huang, B. Ou and R. L. Prior, "The chemistry behind antioxidant capacity assays", J. Agric. Food Chem., 53, 6, 2005, pp. 1841-1856.
- 13. S. Bhattacharya and N. G. Malleshi, "Physical and nutritional characteristics of premature-processed and matured green legumes", J. Food Technol., 49, 4, 2012, pp. 459-466.
- 14. B. Xu and S, K, Chang, "Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic contentand antioxidant activities of cool season food legumes", Food Chem., 110, 1, 2008, pp. 1-13.
- 15. A. Zulueta, M. J. Esteve, A. Frígola, "ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products" Food Chem., 114, 2009, pp. 310-316.
- R. Reynoso-Camacho, M. C. Ríos-Ugalde, I. Torres-Pacheco, J. A. Acosta-Gallegos, A. C. Palomino-Salinas, M. Ramos-Gómez, E. González-Jasso y S. H. Guzmán-Maldonado, "El consumo de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y su efecto sobre el cáncer de colon en ratas Sprague-Dawley, Agric. Técnica Méx.", 33, 1, 2007, pp, 43-52.
- 17. X. Xiaoli, Y. Liyi, H. Shuang, L. Wei, S. Yi, M. Hao, and Z. Jusong, "Determination of oligosaccharide contents in 19 cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L) seeds by high performance liquid chromatography", Food Chem., 111, 2008, pp. 215-219.

INFLUENCIA DE LAS ESTACIONES DEL AÑO EN EL PORCENTAJE DE ÁCIDO CARMÍNICO DE LA GRANA COCHINILLA

Gabriela Arroyo Figueroa, Guadalupe Ruíz Ruíz, Tarsicio Medina Saavedra, Isabel García Vieyra.

Universidad de Guanajuato, gabiaf@yahoo.com.mx

Empresa Planpulu, luyruizrz@gmail.com

RESUMEN

En algunas fuentes bibliográficas se hace referencia que el ciclo biológico de la grana cochinilla (Dactylopius coccus costa), presenta un comportamiento distinto durante las estaciones del año. El ciclo biológico del insecto se desarrolla en un período de 60 a 75 días habitualmente. Por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar la influencia de las estaciones del año, en el porcentaje de ácido carmínico en la producción de grana cochinilla. Esto se realizó mediante el registro de los factores abióticos, siendo determinante la temperatura; y mediante el análisis del porcentaje de ácido carmínico del insecto, en la producción durante las estaciones del año, dentro del invernadero de la empresa PLANPULU S.C.de R.L. de C.V., ubicada en la localidad de Urireo en el municipio de Salvatierra, Gto. Se encontró que durante las estaciones de primavera-verano, donde la temperatura máxima promedio fue de 39±1.0°C, el ciclo biológico del insecto disminuyó de 45 a 60 días, se incremento la producción de coccerina (cera que produce el insecto) y aparecieron una mayor cantidad de machos. Como consecuencia se obtuvo un porcentaje de ácido carmínico promedio de 19.36±0.2%. Mientras que durante las estaciones de otoño-invierno, con un registro de temperatura máxima promedio de 24±1.0°C. Provocó que la grana cochinilla comenzara un período de hibernación, lo que disminuyó la ovoposición y la cantidad de machos, como resultado el porcentaje de ácido carmínico promedio del insecto fue de 21.35±0.2%. Por lo que se concluvó de manera preliminar dentro del cultivo de la grana cochinilla, que la estación del año es determinante en el porcentaje de ácido carmínico presente en el insecto.

INTRODUCCIÓN

La duración del ciclo biológico de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) comienza desde la fase de huevo hasta adulto, es variable ya que puede ser desde 90 hasta 103 días (Marín y Cisneros, 1977) ó 128 días (Condeña, 1997) variabilidad en función de la temperatura y otros factores, por lo que puede alargase en climas fríos o reducirse en climas cálidos. En México se incita que la producción de cochinilla se realice tradicionalmente bajo cobertizos, ya que el conocimiento popular señal que los factores abióticos son adversos al desarrollo de la misma. Los principales factores abióticos que intervienen en la cría de grana cochinilla son temperatura (Méndez, 1992), misma que inhibe en la duración del ciclo biológico, y afecta en la disminución del número de machos del insecto, así mismo Tekelenburg, (1995); hace referencia a que la temperatura, afecta el grado de ovoposición de las hembras, además al establecimiento de ninfas. La investigación fue llevada en la empresa PLANPULU S.C. de R.L. de C.V. ubicada en la comunidad de Urireo con el objetivo de comprobar la influencia de las estaciones del año en el porcentaje de ácido carmínico en la producción de la grana cochinilla, registrando la variable de temperatura.

TEORÍA

El insecto *Dactylopius coccus* Costa se hospeda en el nopal (*Opuntia ficus*-indica) y es conocido como grana carmín, grana fina, grana cultivada o de manera popular como cochinilla (Vigueras y Portillo, 2001). El nombre de grana se le dio como un resultado de confusión durante el tiempo de la Colonia, ya que algunos creyeron que era una semilla de un vegetal (Dahlgren, 1990). La grana

carmín fue uno de los principales aportes al México prehispánico al mundo (Del Río, 2006, Sahagún, 1992). Durante el desarrollo del insecto se presentan factores que afectan la producción, tales como las condiciones ambientales (factores abióticos), como la temperatura, humedad relativa, lluvia, viento y granizo, entre otros más; estos pueden ocasionar la muerte del insecto cuando no están en equilibrio es decir cuando se encuentran en condiciones extremas, (Santibáñez, 1990; Méndez et al., 1996; Flores, 1995; Flores, 1997; Aguino y Bárcenas, 1999; Vigueras y Portillo, 2001a; Portillo y Vigueras, 2003 y Bustamante, 2008), por lo cual en México se recomienda la fabricación de estructura o cobertizos que le brinden cierta protección al cultivo de la grana (Vigueras y Portillo, 1997). La temperatura es uno de los factores que tiene mayor efecto en índice de natalidad, mortalidad y desarrollo del insecto (Bursell, 1974), los estadíos ninfales son los más susceptibles a los decrementos o incrementos de temperaturas, y a su vez incide en la concentración de ácido carmínico del mismo insecto. Diversos estudios muestran que cuando se presenta decremento de temperatura, el aqua contenida en los cuerpos de los insectos se congela y modifica el pH, lo que puede ocasionar desnaturalización de las proteínas, por lo que la supervivencia depende de mantener el agua en fase liquida para que no se altere el pH. Por otro lado si la temperatura incrementa, puede producir deshidratación y desnaturalización de proteinas y enzimas (Bursell, 1974). El ácido carmínico es un ácido orto-fenoxi-carboxílico de carácter hidrofílico, presente en la grana cochinilla y este presenta una coloración la cual puede variar has púrpura cuando el pH aumenta (Arroyo, Figueroa et al., 2008). Los estándares de calidad del extracto de hidrosoluble de la grana cochinilla son regidos por FDA de Estados Unidos, el porcentaje de ácido carmínico debe de encontrarse entre 20 y 22 % y un pH entre 8.5-7.0 (tomado a 25 °C y concentración 1:1000), el porcentaje de proteína presente debe ser menor a 2.2 % y la presencia de arsénico y plomo debe encontrase ausente (FDA, 2007; Arroyo, Figueroa et al., 2009).

PARTE EXPERIMENTAL

El estudio de investigación se llevó a cabo en el invernadero de Plantaciones Puerto de Luna S.C. de R.L. de C.V., ubicado en Urireo (Figura 1), municipio de Salvatierra, Gto, bajo condiciones controladas, con un área de producción de 2344 m², donde se realizó un monitoreo de temperatura cada tres horas, para los registros de temperatura durante el período primavera verano y para el de otoño-invierno. Se empleó un termohigrómetro marca Extrech instrumens ubicado en el centro del área de producción.



Figura 1. Ubicación de PLANPULU

Así mismo se efectuó un monitoreo de manera visual el desarrollo de la grana cochinilla, al realizar los monitoreos de manera directa y constante se observó, el exceso de desarrollo de machos debido a las altas temperaturas. Para determinar el porcentaje de ácido carmínico del período primavera-verano y otoño-invierno, se uso el método de Marmion (1984), el análisis se realizo en tres muestras de cada período. El método consiste en moler la grana en un mortero, donde posteriormente se pesó 0.025 gr de grana en tubo de ensaye enseguida se agregó 7.5 ml de HCl 2N, agitándose un poco y se colocó a baño maría durante 30 min a 94°C, transcurrido este lapso de tiempo se dejó enfríar a temperatura ambiente, en seguida se aforo en un matraz a 250 ml con agua desionizada, al instante se filtró y se precipitaron los primeros 50 ml, después de estos 50 ml, se tomaron para llenar las celdas y poder leerlas en el espectofómetro a una absorbancia de 494

nm, en la cual se introdujeron tres réplicas de la muestra y una muestra blanco en parte proporcional a lo usado en preparar la muestra grana HCl, más tarde se evaluó el contenido de las réplicas mediante la absorbancia, luego de obtener la absorbancia de cada una de las muestras se aplicó la ecuación 1 (Arroyo et al.,2016; Ruiz, 2016).

$$\% AC = \frac{ABS \times 100}{1.39}$$
 (Ecuación 1)

Donde:

% AC = Porcentaje de ácido carmínico

ABS= Lectura de absorbancia

1.39= Absorbancia del ácido carmínico al 100%

RESULTADOS

Se encontró que durante las estaciones de primavera-verano, donde la temperatura máxima promedio fue de 39±1.0°C, en la figura 2, se observa un ejemplo del registro llevado durante el período de primavera-verano, en donde se muestra el comportamiento de la temperatura durante trece días del mismo período.

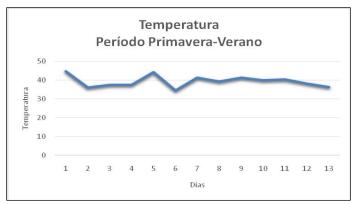


Figura 2. Grafica que muestra un ejemplo del comportamiento de la temperatura durante el periodo de primavera-verano.

También se observó que el ciclo biológico del insecto disminuyó de 45 a 60 días, y se incremento la producción de coccerina y aparecieron una mayor cantidad de machos. Por otro lado al determinar el porcentaje de ácido carmínico en el insecto se encontró un valor promedio de 19.36±0.2% (Tabla no. 1).

Tabla 1. Valores obtenidos en el análisis de ácido carmínico en la grana durante el periodo de primayera verano

Muestra	Absorbancia	% Ácido carmínico
		en la grana
1	0.27±0.01	19.68±0.52
2	0.28±0.03	19.85±0.95
3	0.26±0.01	18.57±0.66

En las estaciones de otoño-invierno, se observó un registro de temperatura máxima promedio de 24±1.0°C. En la figura 3, se observa un ejemplo del registro llevado durante el período de otoño-

invierno, en donde se muestra el comportamiento de la temperatura durante trece días del mismo período.

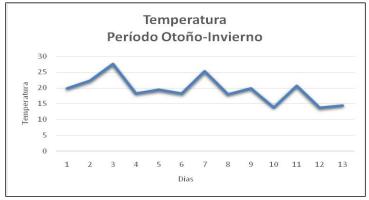


Figura 3. Grafica que muestra un ejemplo del comportamiento de la temperatura durante el periodo de primavera-verano.

Esta temperatura provocó que la grana cochinilla comenzara un período de hibernación, lo que disminuyó la ovoposición y la cantidad de machos, esto influyo en el resultado del porcentaje de ácido carmínico promedio del insecto el cual fue de 21.35±0.2% (Tabla 2).

Tabla 2. Valores obtenidos en el análisis de ácido carmínico en la grana durante el periodo de primavera verano

Muestra	Absorbancia	% Ácido carmínico
		en la grana
1	0.29±0.01	21.15±0.20
2	0.31±0.03	22.08±0.25
3	0.29±0.01	20.71±0.30

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, se concluyó de manera preliminar dentro del cultivo de la grana cochinilla, que la estación del año es determinante en el porcentaje de ácido carmínico presente en el insecto.

BIBLIOGRAFÍA

- A. L. Vigueras. y L. Portillo. "Cultivo de la grana o cochinilla del nopal". 1997. pp. 79-91.
 En: Llanderal, C. y R. Nieto H. (eds.). "Producción de Grana Cochinilla". Colegio de Posgraduados.
- 2. A. L. Vigueras, G y L. Portillo. Manual de cría de grana cochinilla. 2001. pp. 1-17. Universidad de Guadalajara Jalisco.
- 3. A. L. Vigueras, G y L. Portillo. "Factores que afectan el cultivo de la grana cochinilla". 2001a.pp.79-91. En: Llanderal, C. y R. Nieto H. (eds.). Producción de Grana Cochinilla. Colegio de Posgraduados.
- 4. B. Dahlgren. "La grana cochinilla". Editado por Instituto de Investigaciones Antropológicas de la Universidad Autónoma de México.1990. pp. 341.

- 5. B. Sahagún. "Historia general de las cosas de la Nueva España". Editorial Porrúa. México, D.F. 1992. pp.1093.
- 6. C. A. Flores. V. "La producción de cochinilla en las Islas Canarias". España. 1997. Pp.187-188. En: Memorias del VII Congreso Nacional y V Internacional sobre Aprovechamiento del Nopal. Monterrey, Nuevo León, México.
- 7. D. Marmion. "Handbook of U.S. Colors for foods, drugs, and cosmetics". John wiley & Sons.1984. pp. 10-427.
- 8. E. Bursell. "Introducción a la fisiología de los insectos". Ed. Alhambra. 1974. pp.298-313.
- 9. F.A. Condeña, "Manejo integral de la tuna y cochinilla". Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamango. Ayacucho, Perú. 1997. pp 341.
- 10. FDA, US. "Reglamento de estándares para tintes, pinturas y lacas de productos alimenticios". 2007.
- 11. G. L. Santibáñez. W. "Ciclo biológico, cultivo y aprovechamiento de la cochinilla del nopal". Dactylopius coccus Costa en el municipio de Villa Días Ordaz, Tlacolula, adscrito al centro Coordinador Indigenista (I.N.I.) Zapoteco del Valle Oaxaca. Reporte de Servicio Social. Universidad Autónoma Metropolitana. 1990. pp. 149.
- 12. G. Aquino. P. y N. Bárcenas. "Cría de la cochinilla para la producción de grana y sus posibilidades de resurgimiento en México". 1999. pp.275-308. En: Aguirre R.J.R. y J.A. Reyes A. Memorias del VIII Congreso Nacional y VI Internacional sobre el conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. San Luis Potosí, México.
- 13. G. Arroyo. F., L. Vargas. R., L. Portillo. M., A. L. Vigueras. Gy L. López. M. "Cultivo de grana carmín para abastecimiento de proyectos de investigación e impulso a su producción en la región. 2008". Informe de Proyecto. Dirección de Investigación y Posgrado, de la Universidad de Guanajuato. DINPO-UG-22000042/08.
- 14. G. Arroyo. F. y L. López. M. Obtención del carmín de cochinilla a partir del insecto (Dactylopius coccus Costa) para cosméticos. 2009. Informe de proyecto. Dirección de Investigación y Posgrado, de la Universidad de Guanajuato. DAIP-UG-00011/07.
- 15. G. Ruíz. R. "Influencia de la fertilización del nopal (*Opuntia ficus-indica*, var. Atlixco) en la concentración de ácido carmínico de la grana cochinilla". 2016. pp. 43-45.
- 16. I. Del Río y Dueñas. "Grana cochinilla fina, regalo de México para el mundo. Instituto Estatal de Ecología de Oaxaca". Gobierno de Oaxaca. 2006. pp 11-53.
- 17. J. A. Bustamante. "Megaproyecto cochinilla cielo abierto", Tigray, Etiopia. 2008. pp. 110-112.En: Llanderal, C., D. H. Zetina, A. L. Vigueras y L. Portillo. (eds.). 2008. Grana Cochinilla y Colorantes Naturales. Colegio de Posgraduados. México.
- 18. L. Portillo y A. L. Vigueras. "Cría de grana cochinilla". Universidad de Guadalajara, México. 2003. pp. 51.
- 19. R. L. Marín y F. V. Cisneros, "Biología y morfología de la grana del carmín *Dactylopius coccus* Costa (Homóptera: *Dactylopidae*)". Revista Peruana de entomologia. Vol.20,1, 1977.pp. 115-120.
- 20. S. J. Méndez. G. "Tasa de supervivencia y reproducción de la grana cochinilla *Dactylopius coccus* Costa (Homóptera: Dactylpiidae) a diferentes temperaturas". Tesis de maestría en Ciencias. Colegio de posgraduados. 1992. pp. 14-15.
- 21. S. J. Méndez. G., G. Aquino-Pérez y J.J. Martínez-Hernández. "Experiencia en la producción de la grana cochinilla *Dactylopius coccus* C. (Homoptera: Dactylopiidae) en el Altiplano Postosinozacatecano", México. 1996. pp 107-118. En: Anales del I Seminario de Tuna y cochinilla, Ayacucho, Perú.
- 22. T. Tekelenburg. "La producción de cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) en ambientes semi-controlados". 1995. pp. 48-55. En Memorias del Conocimiento y Aprovechamiento del nopal. 6to. Congreso nacional y 4to. Internacional. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco.
- 23. V. I. Flores. F. "Crianza de la cochinilla en Sudámerica". 1995. pp 35-41. En: E. Pimienta-Barrios., E. Neri-Luna, A. Muñoz-Urias y F.M. Huerta-Martínez (comp.). Conocimiento y aprovechamiento del 6to. Congreso Nacional y 4to. Internacional. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.

COMPUESTOS DERIVADOS DEL 2-AMINOBENZOTIAZOL CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Bautista Ramírez María Esther, Gómez y Gómez Yolanda, Cruz Alejandro

Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Departamento Bioprocesos, Departamento Ciencias Básicas². maestherbr@gmail.com

RESUMEN

Los benzotiazoles (BTA) y sus derivados son los compuestos heterocíclicos más importantes como agentes farmacológicos que presentan un gran número de actividades biológicas contra el cáncer, antimicrobianas, anticonvulsivantes, antivirales, antituberculosas, antimaláricas, antihelmínticas, analgésicas, antiinflamatorias, hipoglucemiantes, fungicidas y herbicidas. Los derivados de BTA siquen siendo uno de los compuestos más versátiles contra los microorganismos, muchas investigaciones han revelado que los derivados de BTA como antimicrobianos poseen un potencial significativo¹. En este trabajo se presentan los resultados del estudio de la actividad antimicrobiana de 9 compuestos derivados del 2- aminobenzotiazol. Se utilizó la prueba de difusión en agar que consiste en colocar sensidiscos impregnados de los compuestos a probar en una placa de agar con las diferentes bacterias tanto para Gram+ y Gram-. Los compuestos que presentaron actividad fueron los compuestos 1, 2 y 3 (fig.1) los cuales posteriormente fueron evaluados para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) con el método estandarizado por el CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute). Los compuestos 1, 2 y 3 presentaron actividad antimicrobiana contra S. dysenteriae, L.monocitogenes, B. subtilis , P. aeruginosa, S. aureus, E.coli , E. agglomerans, S. typhi y B. cereus. Las CMIs obtenidas se encuentran entre 125 y 1000 \square g/m1 siendo menos potentes que la cefalosporina usada como control.

Fig.1 Compuestos que presentaron actividad

INTRODUCCIÓN

Los benzotiazoles (BTAs) y sus derivados son de los compuestos heterocíclicos más importantes como agentes farmacológicos y forman parte de estructuras como la luciferina de las luciérnagas y los compuestos que dan aroma a las hojas de té y a los arándanos o generan el sabor producido por los hongos *Aspergillus clavatus* y *Frondosus polyporis*. (R.S. Keri et al., 2015) Presentan un gran número de actividades biológicas como agentes contra el cáncer (Y. Luo-Ting 2012), antimicrobianos (K. Amandeep 2012), antiturberculosos(S. Sing 2009), antimaláricos, antihelmínticos(M. Himaja 2011), antiinflamatorios (A:K. verma 2014), hipoglucemiantes(G. Mariappan (2012), fungicidas (N. Sekar 2012), anticolvulsivantes, antivirales, colorantes, herbicidas, analgésicos, entre otras (fig 1) . (R.S. Keri et al., 2015)

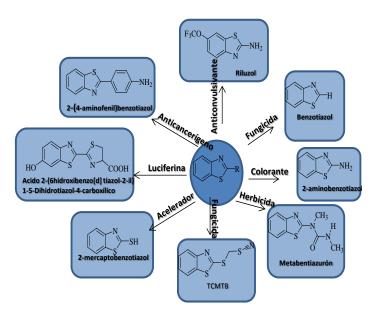


Figura 2. Actividades que presentan los compuestos derivados del 2-aminobenzotiazol.

El descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos y la búsqueda de un mejor tratamiento de las enfermedades infecciosas han sido objetivos primordiales para los científicos en las últimas décadas, los problemas con los microorganismos resistentes a múltiples fármacos han alcanzado un nivel alarmante en muchos países del mundo. La resistencia de una gran variedad de especies de bacterias a agentes microbianos como Hactámicos, macrólidos, quinolonas y vancomicina es un problema mundial cada vez más importante. A pesar de numerosos intentos de desarrollar nuevos modelos estructurales en la búsqueda de antimicrobianos eficaces, los derivados de BTA siguen siendo uno de los compuestos más versátiles contra los microorganismos, muchas investigaciones han revelado que los derivados de BTA como antimicrobianos poseen un potencial significativo. Los BTA-triazoles conjugados reportados por Sony y Col presentaron actividad contra bacterias y hongos, los compuestos con grupos 4-hidroxi-4-dimetilano y 3,4-dimetoxy en el anillo aromático presentaron actividad antibacteriana. La sustitución en la posición 2 del anillo aromático por un cloro (-Cl) y 3,4- dimetoxy (-3,4-OCH₃) incrementa la actividad antifúngica y la sustitución en la posición 2-nitro o 3-nitro disminuyo la actividad de los compuestos 9, 10, 11 y 12.

Los BTA's que contienen sulfonamida compuestos **13** y **14** tuvieron buena actividad comparada con el trimetroprim-sulfametoxazol. Las sulfonamidas con un grupo amino (-NH₂) y un grupo nitro (-NO₂) en la posición del C4 del anillo fenilo y sustitución del metilo. El reemplazo del grupo amino con un grupo nitro disminuyó la actividad antibacteriana.

Shama y Col sintetizaron derivados del pirimido-BTA y probaron su actividad contra *Bacillus coagulans, Bacillus subtilis, Salmonella, Staphylococcus aureus, P. aeuroginosa.* Ureas conjugadas con BTA que son los compuestos **15, 16, 17 y 18** fueron descritos por Saeed y Col. los cuales evaluaron estos compuestos por sus propiedades antimicrobianas obteniendo unas concentraciones mínimas de entre 50 y 20 µg/mL.

PARTE EXPERIMENTAL

Estructuras de los compuestos probados

5

Figura 3. Compuestos probados

Cepas utilizadas

Preparación del inóculo

Las cepas utilizadas (tabla 1) fueron donadas por la Dra. Yolanda Gómez del laboratorio de Farmacología de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología-IPN. El inóculo se preparó añadiendo al cultivo solución salina fisiológica ajustando a una densidad óptica 0.5 McFarland a 530 nm esta solución tiene una concentración aproximada de 1x 10³-5x10³ UFC/ml.

Tabla 1.- Cepas que fueron utilizadas.

Gram negativas	Gram positivas
Salmonella dysenteriae	Bacillus subtilis
Leisteria monocitogenes	Staphylococcus aureus
Pseudomonas aeruginosa	Bacillus cereus
Escherichia coli	
E. agglomerans	
Salmonella typhi	

Preparación de los compuestos y el control

Se pesaron 20 mg de los compuestos y se disolvieron en 2 ml de etanol posteriormente se realizaron diluciones desde 20 mg/ml hasta 5mg/ml. Se utilizó Cefalosporina como control pesando 5 mg y realizando diluciones desde 5 mg/ml hasta 1mg/ml

Determinación de la sensibilidad de las cepas.

Se impregnaron los discos con los compuestos en una concentración inicial de 20 mg/ml. Usando los métodos del CLSI (NCCLS) difusión en disco se determinó la sensibilidad de las cepas mencionadas anteriormente. Los discos de papel filtro (6 mm de diámetro) fueron impregnados con una solución del compuesto en etanol. A las placas se les añadió 10ml de agar de antibiótico 1 y 20 ml de agar de antibiótico 2, el cual fue inoculado con 0.1 ml de cada una de las cepas. Estas fueron incubadas a 37°C por 24 horas. Posterior a las 24 horas se midieron los diámetros de los halos de inhibición.

Determinación de la Concentración Mínima inhibitoria

Usando el método del CLSI (NCCLS) (micro-dilución en caldo).

se determinó la absorbancia a 530 nm. (fig. 4)

La concentración mínima inhibitoria (CMI) fue determinada aña	adiendo 0.9 ml del medio RPMI 1640
en un buffer de MOPS, 100	dilleiones s de dos ón microbiana y 1
compuestos (250 000-0.122	Cg/Adeteriormentecubados durante

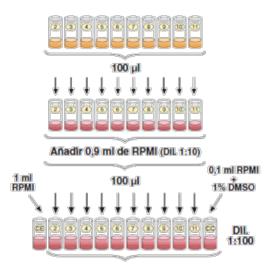


Figura 4. Determinación de la CMI

RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

En la tabla 2 se muestra el diámetro de los halos de inhibición obtenidos por el método de difusión en disco.

Tabla 2. Resultados obtenidos del antibiograma.

Сера	Compuesto								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
		Diám	etros de	halos c	le inhi	bició	n (cm	1)	
Salmonella dysenteriae	1.8	1.4	2.0						
Leisteria monocitogene s	1.1	1	1.7						
Bacillus subtilis	1.4	1.3	1.9						
Pseudomonas aeruginosa	1.2	1.4	1.9						
Staphylococcu s aureus	1	1.1	1.8						

Escherichia coli	1.2	1.1	2.2	 	 	
E. agglomerans	1.3		2.0	 	 	
Salmonella typhi	1.1	1.1	1.9	 	 	
Bacillus cereus	1.4	1.9	1.3	 	 	

Posteriormente se determinó la CMI a los compuestos que si presentaron actividad antimicrobiana. Las cuales se muestran en la tabla 3.

Tabla 3.- Resultados de concentración mínima inhibitoria.

Сера	Concentración mínima inhibitoria ($rac{\mu g}{ml}$)						
		Compuesto		Control			
	1	2	3	Cefalosporina			
Salmonella dysenteriae	250	250	250	50			
Leisteria monocitogenes	250	250	250	50			
Bacillus subtilis	250	250	250	50			
Pseudomonas aeruginosa	250	1000	250	125			
Staphylococcus aureus	250	250	250	50			
Escherichia coli	250	250	250	50			
E. agglomerans	250		500	125			
Salmonella typhi	1000	500	500	125			
Bacillus cereus	125	250	125	125			

La actividad antimicrobiana de los compuestos derivados del 2-aminobenzotiazol que presentaron actividad, fue comparada con la cefalosporina. Los compuestos **1,2** y **3** (tabla 1) son isotiureas que presentaron actividad contra *S. dysenteriae, L. monocitógenes, B. subtilis, P. aeruginosa, S. aureus, E. coli, E. agglomerans, S. typhi y B. cereus* donde el compuesto **3** presentó el mayor halo

de inhibición (2.2 cm) contra E. Coli. Estos compuestos inhiben el crecimiento de bacterias tanto Gram + como con Gram -. El compuesto 1 presenta menor halo de inhibición de 1 cm contra Staphylococcus aureus. Y por último el compuesto 2 presento el menor halo de inhibición de (1 cm) contra L. monocitogenes. La menor CMI la presentaron el compuesto 1 y 3 (125 µg/ml) contra B. cereus, esta es comparable a la obtenida con cefalosporina para el mismo microorganismo. Los compuestos evaluados presentan menor potencia comparados con moléculas que tienen como sustituyentes algunas tioureas que están reportadas en la literatura como por ejemplo las moléculas de los compuestos 17 y 18 reportan una CMI de (25 µg/mI), mientras que el compuesto 16 presenta una CMI de (20 µg/ml). Aunque también cabe destacar que los compuestos 13 y 14 reportan una CMI de 1.5 µg/mL que son concentraciones más bajas que las que se presentan hasta ahora en ese trabajo. Los compuestos 4, 5, 6, 7, 8 y 9 no presentaron actividad como antimicrobianos contra las cepas probadas lo que indica que al cambiar la tiourea por urea en la estructura estos pierden su actividad como antimicrobianos, aunque no se descartan otras actividades biológicas que pudieran presentar. Los compuestos que no presentaron actividad antimicrobiana pudieran presentar otro tipo de actividad como antiinflamatorias, analgésicas, antitumorales o antihelmínticas, propiedades que se evaluarán más adelante.

CONCLUSIONES

Los compuestos 1, 2 y 3 presentaron actividad antimicrobiana contra *S. dysenteriae, L.monocitogenes, B. subtilis , P. aeruginosa, S. aureus, E.coli , E. agglomerans, S. typhi, B. cereus.* El compuesto 3 presentó el mayor halo de inhibición de 2.2 cm contra *E. coli*, los compuestos 1 y 2 de 1 cm contra *S. aureus* y *L. monocitogenes* respectivamente. La menor CMI fue para los compuestos 1 y 3 de 125

El gereus comparable con la cefalosporina. Las isotioureas 1, 2 y 3 fueron menos potentes que la cefalosporina. Las ureas 5, 6, 7, 8 y 9 no presentaron actividad antimicrobiana.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. A.K. Verma, *et al,* "Synthesis, Characterization and evaluation of Anti-inflammatory and Analgesic activity of Benzothiazole derivatives", Indian J. Pharm. Biol. Res. 2014; 2(3) pp 84-89.
- 2. G. Mariappan *et al,*" Synthesis and Antidiabetic Evaluation of Benzothiazole Derivatives", J of the Korean Chem Soc 2012; 56 (2) pp 251-256.
- 3. G.N. Raju, B.S. Karumudi, N.R. Rao, "Benzothiazole-versatile heterocyclic nucleus in medicinal chemistry: A review. Int J of Pharm Chem. 5,2015, pp 104-114
- 4. K.Amandeep, *et al,* "Synthesis, Spectral Studies and Biological Evaluation of Schiff Base Derivatives of Benzothiazole for Antimicrobial Activity", Res J of Pharm, Biol and Chemical Sci, 2012; 3(4), pp 847.
- 5. M, Himaja, *et al*, Synthesis and Anthelmintic activity of 2-Amino-6-substituted Benzothiazoles, Int Res J of pharm, 2011; 2(1) pp 114-117.
- 6. M.A. Mahran *et al.* "Synthesis and *in vitro* Evaluation of New Benzothiazole Derivatives as Schistosomicidal Agents", Mol 2007; 12 pp 622-633.
- 7. N. Sekar, *et al,*" Synthesis and antimicrobial activity of novel 2-substituted benzimidazole, benzoxazole and benzothiazole derivatives", Arabian J of Chem 2012.
- 8. R.S. Keri, M.R. M. R. Patil, S.A. Patil, S. Budagumpi,"A comprehensive review in current developments of benzothiazole-based molecules in medicinal chemistry", Eur J of Med Chem, 89,2015, pp 207-251.
- 9. S. Singh *et al*, "Microwave assisted synthesis of fluoro, chloro, 2-n (substituted schiff's bases) amino benzothiazoles as potential antimicrobial and antitubercular agents", The Pharma Research: 2009;I(1) pp.192-198.
- 10. Y Luo-Ting, *et al,*" Synthesis and Biological Evaluation of Novel Benzothiazole-2-thiol Derivatives as Potential Anticancer Agents", Mol 2012; 17,pp 3933-3944.
- 11. Clinical and Laboratory Standars Institute (2007). Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de sensibilidad a los antifúngicos (documentos M-27,M38-A Y M44-

A).2ª. ed. Pensylvania: NCCLS. Revista Iberoamericana de Micología.

APROVECHAMIENTO DE SUBPRODUCTOS DEL BENEFICIADO DE CAFÉ

Oscar Antonio Sánchez Aguirre, Marina Guevara Valencia, María Teresa González Arnaó y Ma. del Roció Bulás Mendoza

Laboratorio de Biotecnología y Criobiología vegetal. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, Orizaba, Ver. E-mail: oskar.aguirre92@gmail.com

RESUMEN

Veracruz es uno de los estados más importantes en producción de café. La contaminación provocada por la industria cafetalera en el proceso del beneficio del café húmedo, constituye un serio problema, debido a que se consumen grandes cantidades de agua y cerca del 80% del fruto se considera con poco o nulo valor económico, la mayor de las veces se desecha vertiéndose regularmente en ríos, lo que provoca contaminación de los manantiales. El objetivo del presente trabajo centró su interés en la valoración de los subproductos que son generados en este proceso, entre ellos el mucilago del fruto de café. Para la remoción del mucilago se emplean métodos enzimáticos, mecánicos y químicos; la combinación de éstos en un proceso de fermentación ofrece los mejores resultados. El mucílago fresco contiene 8.2% de carbohidratos, 0.8% de fibra compuesta de celulosa y hemicelulosas, 1.5% de sustancias pécticas, 7.1 % de azúcares totales. A partir del mucílago es posible obtener la miel de café; este subproducto es uno de los más promisorios porque puede transformarse en diferentes productos que pueden ser utilizados en la industria alimentaria, cosmética, agroindustrial, farmacéutica y en la producción de combustibles. La miel de café aún no ha sido reconocida como producto alimenticio para consumo humano, no obstante contiene una gran cantidad de polifenoles, que pueden ser importantes para la elaboración de bebidas ricas en antioxidantes. Las aplicaciones que se pueden realizar a partir del mucílago y la miel de café, hacen que estos subproductos adquieran un impacto económico al proporcionarle valor agregado a materiales desaprovechados, así como la reducción de problemas ambientales que genera el beneficiado.

INTRODUCCIÓN

El café es uno de los principales productos agrícolas que se comercializan en los mercados internacionales y es importante en las exportaciones de los países productores. Actualmente, el café es el segundo *commodity* mas comercializado en el mundo, sólo superado por el petróleo [1].

En la última década se observan tasas moderadas de crecimiento en la producción mundial de café a diferencia de lo que fueron las dos décadas previas a ésta. Los datos revelan que las mayores tasas de crecimiento en los últimos cinco ciclos, Brasil sigue siendo con mucha diferencia, el mayor productor de café, con un 30% de producción, seguido de Vietnam (19.18%), Colombia (9.42%), Indonesia (7.67%) y Etiopía (4.46%). Entre todos constituyen un grupo que controla más del 70% de la producción mundial de café [2].

México produce cafés de excelentes calidades, ya que su topografía, altura, climas y suelos le permiten cultivar y producir variedades clasificadas dentro de las mejores del mundo, la variedad genérica que se produce en México es la arábica (Figura 1), que se clasifica dentro del grupo de "otros suaves". Destacan por su calidad las variedades Coatepec, Pluma Hidalgo, Jaltenango, Marago y Natural de Atoyac, sólo por citar algunas. México es el primer productor mundial de café orgánico, y uno de los primeros en cafés "Gourmet" [3].



Figura 11. Coffea arabiga

Veracruz es uno de los estados más importantes en producción de café. Dentro de esta industria la mayoría de los productores-industrializadores utiliza el proceso de beneficio húmedo, que genera una gran cantidad de aguamieles y mucílagos de café. Los aguamieles junto con los mucílagos de café son considerados altamente contaminantes, debido a su composición, siendo estos ricos en azúcares reductores y no reductores [4].

A medida que las sociedades se desarrollan, aumenta su densidad poblacional, adquieren tecnologías más complejas y sofisticadas que por supuesto demandan mayor cantidad de recursos, lo que conlleva a enfrentar serias limitaciones en el acceso a esos recursos, lo que los obliga a tomar medidas de control y protección de los mismos. Es en este momento cuando surge el interés de la recuperación de la energía y el concepto de reciclaje de materia como mecanismo para conservar el ecosistema.

La contaminación provocada por la industria cafetalera en el proceso del beneficio del café constituye un serio problema en los países productores. Debido a que el procesado del fruto se realiza generalmente en el beneficio húmedo del café, en donde se consumen grandes cantidades de agua y cerca del 80% del fruto es considerada como poco o nulo su valor económico y por consiguiente es considerado como desecho, este se vierte generalmente en ríos, lo que provoca malos olores y por consiguiente la contaminación de los ríos, a ello sumándole los propios problemas sociales que esta situación trae aparejado, sobre todo, las limitaciones con sus usos con fines recreativos y de sustento familiar por la contaminación de ríos en épocas cafetaleras [5].

El mucilago del fruto de café es muy rico en sustancias pecticas, de las cuales se pueden obtener pectinas, de igual forma por su contenido de azúcares se puede utilizar para la producción de miel y alcohol etílico y por fermentación anaerobia se puede producir biogás metano.

FERMENTACIÓN DEL CAFÉ

La miel de café se extrae despulpando sin agua los frutos maduros. La pulpa se exprime en una prensa hidráulica, el grano se lava por recirculación de agua y se reúne con el jugo de la pulpa para ser concentrados a fuego directo. Los azúcares presentes en mayor cantidad en la miel de café son fructosa, glucosa, sacarosa e ínfinita cantidad relativa (trazas) rafinosas. Comparada con la miel de café posee mayores cantidades de glucosa y fructosa [6].

La fermentación del café (Figura 2) despulpado es la etapa clave en el beneficiado húmedo del café.

El grano de café recién despulpado está cubierto de una capa mucilaginosa que representa alrededor de 20% en peso del fruto maduro. Este mucílago está formado principalmente por pectina y azúcares que se degradan en el proceso de fermentación. La fermentación de los granos recién despulpados procede por un mecanismo complejo ya que actúan sobre el mucílago las

enzimas propias del grano y otras enzimas extracelulares producidas por los microorganismos presentes.



Figura 12. Métodos tradicionales utilizados por el caficultor, para determinar el momento de finalización de la fermentación del café. a) Orificio en la masa del café; b) Método del tacto

Desde el punto de vista bioquímico, la eliminación del mucílago procede a través de una degradación de la pectina y otras sustancias pécticas a ácido galacturónico y los azúcares se transforman primeramente a alcoholes y luego a ácidos orgánicos.

Conforme avanza la fermentación, la formación de ácidos hace que el pH de la masa de granos de café, baje de un valor de 6.0 que tiene el mucílago fresco, hasta alrededor de 4.0 cuando la partida está a punto de lavado.

La actividad enzimática se acelera fuertemente con la temperatura. Además, cuando se recircula el agua de despulpado, el líquido se enriquece de microorganismos e inocula los granos recién despulpados dando como resultado una notable aceleración al proceso de fermentación. El tiempo de fermentación varía dependiendo de muchos factores pero en general puede durar de 12 a 15 horas [7].

MUCÍLAGO DE CAFÉ

El mucílago es una capa aproximadamente 0.5 a 2 mm de espesor que está fuertemente adherida a la cáscara del grano de café. Desde el punto de vista físico, el mucílago es un sistema coloidal líquido, liofílico, siendo por lo tanto un hidrogel.

Químicamente el mucílago contiene agua, pectinas, azúcares y ácidos orgánicos. Durante la maduración del grano de café, el pectato de calcio, localizado en la laminilla y la protopectina de la pared celular, es convertido a pectinas. Esta transformación de las protopectinas resulta en la desintegración de la pared, dejando un plasma celular libre. En este plasma además de pectinas se encuentran azúcares y ácidos orgánicos derivados del metabolismo y la conversión del almidón [8].

Los mucílagos son preparaciones líquidas espesas, viscosas y adherentes producidas mediante la dispersión de gomas en agua o la extracción de principios mucilaginosos de sustancias vegetales con agua. Los mucílagos tienden a la descomposición y muestran una disminución considerable de la viscosidad durante la conservación.

El mucílago del café está constituido por el mesocarpio del fruto (Figura 3) y representa de un 15% a 20% del peso de la fruta fresca. El pH del mucílago fresco varía entre 5.5 - 6.2. El mucílago tiene un contenido de pectina (en base seca) que pueden variar entre 15.9% - 33%. El resto de componentes lo constituyen: agua, azúcares reductores y no reductores, celulosa, cenizas, etc [9].



Figura 13. Corte transversal del fruto de café

Durante el proceso de fermentación de los granos de café despulpado, el mucílago es degradado a ácido galacturónico, ácidos orgánicos (principalmente acético y láctico), alcohol y otros productos de la fermentación y el pH del mucílago baja hasta aproximadamente 4.0. En este punto los granos de café son lavados con agua dando como resultado las aguas mieles.

Dado que el 39% del fruto maduro de café es pulpa fresca y que el 22% es mucílago, por lo que se debe de buscar medios de utilidad para disminuir desechos.

De los residuos industriales del café pueden obtenerse, en distintos estados de pureza, los siguientes tipos de sustancias:

- Pectinas sin refinar: Esas pectinas pueden estar en forma de gel soluble termorreversible o en forma de eslabón en cruz no reversible, que tienen un sabor de boca distinto.
- Azúcares naturales del fruto del café: procedentes principalmente del agua del despulpe reciclada, son en su mayor parte monosacáridos, glucosa, galactosa, manosa y arabinosa, con un sabor distinto, que recuerda al de las ciruelas, y podrían comercializarse como una novedad para el conocedor de café más refinado.
- Compuestos antioxidantes y flavonoides: Estos son principalmente los compuestos de antocianina de color del fruto, pero también contienen todos los demás polifenólicos, tales como los ácidos clorogénicos y, por supuesto, cafeína. Esas sustancias pueden combinarse de varias maneras para hacer una serie de aditivos de los alimentos que pueden tener interés para la industria del 'alimento saludable'.
- *Pro antocianinas incoloras:* podrían usarse como recurso básico para la fabricación de otros alimentos o quizá para la síntesis más sofisticada de otras sustancias químicas.

A fin de aprovechar la máxima cantidad de azúcar en el café se hace necesario llevar a cabo un despulpado en seco evitándose el lavado el mucílago.

La pulpa fresca sin mojar contiene 1.57 % de sacarosa, componente esencial para el cultivo de levaduras alimenticias [10].

El análisis fisicoquímico del mucilago de café [11] reporta los siguientes resultados:

- Carbohidratos: conforman del 7.5 % al 9.8 % del peso del mucílago fresco. Los carbohidratos del mucílago fresco contienen en promedio 47.9 % de azúcares reductores, como la glucosa, la fructosa, la maltosa y la lactosa, un 29.8 % de azúcares no reductores como la sacarosa, el 7.3% de fibra, y 15.0 % de sustancias no fibrosas, como las sustancias pécticas. El mucílago no contiene almidón.
- **Fibra:** constituye del 0.5% a 1.0% en peso del mucílago fresco y está compuesta de celulosa y hemicelulosas, pero no contiene lignina; su contenido varía relativamente durante la fermentación, debido a la disminución de azúcares.
- Sustancias pécticas: constituyen del 0.6% al 2.0% del peso del mucílago de café fresco.
 Durante la fermentación varía su concentración debido a las degradaciones de los azúcares, a los cambios de humedad y materia seca, a la eliminación de CO₂ y por la actividad de varias

enzimas naturales del sustrato que degradan y despolimerizan parcialmente los compuestos pécticos en el medio ácido de la fermentación.

- Azúcares: Los azúcares totales constituyen del 6.2 % al 7.4 % del peso húmedo del mucílago de café maduro y comprenden los azúcares reductores y los no reductores. Los azúcares reductores conforman del 4.0 % al 4.6 % del peso del mucílago fresco y son fermentados por las levaduras y bacterias para producir el etanol, el ácido láctico y otros compuestos.
- **Grados Brix:** en café, los sólidos solubles del mucílago contienen principalmente sacarosa, glucosa, fructosa, ácidos málico, láctico, acético, succínico, oxálico, fórmico, fosfórico, galacturónico, etanol y otros alcoholes, ésteres, polisacáridos, proteínas y cenizas. Los grados Brix del mucílago de café fresco varían según el estado de maduración. En promedio, el mucílago del café contiene menos °Brix (14.1%) que el maduro (17.1%), y el sobremaduro más que el maduro (20.1 %).
- **pH:** el pH del café en baba fresco es ácido, con valores que dependen de la madurez, del tiempo entre la recolección y el despulpado, y de la manipulación de los frutos y granos en baba; así, el café en baba clasificado sólo por zaranda presenta pH entre 4.9 y 5.6, con un promedio de 5.2; mientras que los granos en baba obtenidos de frutos clasificados con agua y después de despulpados por zaranda tienen un pH de 5.1 a 5.6, y un promedio de 5.4. Por su parte, en sistemas sumergidos, cuando para la fermentación se agrega agua en un 30% del peso de café en baba, el pH inicial es de 5.3 a 5.5 y para 50 % alcanza valores de 5.6 a 6.0.
- Acidez: es la valoración química del contenido de las sustancias ácidas presentes en elmucílago de café, que incluyen los ácidos acético, málico, láctico, cítrico, succínico y otros compuestos. La acidez de un litro de mucílago fresco obtenido en un desmucilaginador mecánico, con capacidad para 600 kg/h de frutos y operado con 1,6 L/min de agua es alrededor de 1.000 mg CaCO₃ y este valor se triplica a las 20 h de fermentación en un sistema abierto, a temperatura promedio de 20.5°C, mientras que a las 74 h el valor es aproximadamente de 7.000 mg CaCO₃.

MIEL DE CAFÉ

El manejo de los co-productos del café (mucílago y la pulpa), siempre ha sido considerado como uno de los ejes problemáticos entre los productores y los centros especializados en café, no obstante a que ya se han encontrado al menos tres opciones de uso: como elemento integrante del compostaje para abonos, como alimento para cerdos o en materia prima para producción de etanol.

Sin embargo, la posibilidad de usar estos co-productos del grano de café es limitada teniendo en cuenta que el producto tiene una vida útil de alrededor de 10 horas, con lo cual se hace estrictamente necesario procesar el mucílago y la pulpa (cáscara) antes de su descomposición, lo que implica realizar un movimiento logístico que garantice el aprovechamiento adecuado de dichos co-productos.

Ahora bien, el grano de café es una fruta atípica ya que normalmente las frutas son separadas de su piel, se consume la pulpa y se elimina o siembra la semilla. En el caso del café, actualmente se aprovecha únicamente la semilla, la cual es la que se procesa y se realiza un paso de secado, tostión y molido, con el fin de obtener el café que se consume en todo el mundo, pero los coproductos de dicho grano de café son eliminados y desechados al ambiente, lo cual lleva a una alta contaminación teniendo en cuenta el tiempo de degradación de los mismos [12].

El mucílago, que corresponde aproximadamente al 17% del grano de café, es almacenado en un contenedor que tiene una capacidad de 5000 L con un tiempo de almacenamiento no superior a 9 horas, luego es transportado en un carro cisterna con una capacidad de 5000 Kg y transportado a la planta de miel de café luego de un previo análisis de calidad donde se realiza lectura de grado Brix superior a 9 % (azúcares) y un pH superior a 4.5 (proceso de descomposición). Por debajo de estos parámetros la miel de café es rechazada (el mucílago representa el 10 % del grano pero esta cantidad sólo se refiere al mucílago que se queda adherido al grano ya que el 10 % restante se queda adherido a la pulpa; de ahí la importancia de alimentar el separador de la presente invención con estos dos co-productos para su separación y posterior aprovechamiento) [13].

Una vez que el mucilago ha pasado por el área y el paso de tamizado, éste se somete a un paso de tratamiento enzimático, donde el producto es almacenado en tres tanques con una capacidad de 10 000 L cada uno sometido a un proceso de calentamiento a una temperatura que se encuentra en el rango de 50 a 80°C, preferiblemente 65°C, para disminuir la carga microbiana. Luego de descender la temperatura a aproximadamente 45°C se le adicionan 100 ppm de enzimas pectoliticas, donde la actividad pectolítica, es decir la actividad de la pectinasa, es degradar exclusivamente la pectina, en donde dicha actividad es necesaria para la clarificación del mucilago, Esta acción es también importante, porque participa en la ruptura de la pared de las células vegetales y permiten una mayor salida del agua en el proceso de evaporación.

De este modo, las enzimas pectoliticas utilizadas facilitan la liberación del contenido celular del mucilago y la degradación de la pectina. El objetivo de este tratamiento es la obtención de un mucilago más estable, más rico en compuestos fenólicos e igualmente más fáciles de clarificar, ya que las cadenas de las pectinas impiden la liberación del agua natural del mucilago, toda vez que al romperse las cadenas se permite la liberación de agua y aumenta la concentración de los nutrientes en el proceso de evaporación y su digestibilidad. Para garantizar un correcto tratamiento enzimático es necesario trabajar el mucílago a una temperatura que se encuentra el rango de 40 a 45°C y con un tiempo mínimo de 30 minutos, donde entre mayor sea el tiempo de tratamiento enzimático, mayor será la concentración de azúcares y nutrientes del producto terminado y su posterior aprovechamiento.

Después, el mucílago concentrado o lo que es igual, miel de café (por su alto contenido de azúcares) se logra por medio de un paso de deshidratación al vacío a una temperatura no mayor a 65°C lo que permite obtener un producto con un mínimo de daño nutricional por calor, de alta digestibilidad y palatabilidad, cuya materia seca está constituida casi en su totalidad por aminoácidos y azúcares reductores y no reductores con una vida útil de por lo menos seis meses en condiciones de medio ambiente y almacenadas a temperatura ambiente de 18 a 30°C, que garantizan sus características organolépticas y microbiológicas [12].

Este tratamiento inicia con un mucílago a una concentración de aproximadamente 7 a 11 ºBrix, preferiblemente 9 ºBrix (% de azucares) y por eliminación de agua natural es llevado a una concentración de 55 ºBrix, garantizando las siguientes características del producto terminado o materia prima (Tabla 1):

Tabla 21. Composición química de la miel de café

Composición	%	Composición	%
Humedad	30 – 40	Fósforo	0.07
Energía Bruta cal/g	2,345	Hierro ppm	135.29
Proteínas	4.46	Magnesio	0.04
Fibra cruda	2.35	Potasio	0.69
Grasa	0.00	Sodio	0.05
Cenizas	2.35	Zinc ppm	4.71
Azufre	0.08	⁰Brix	55
Cobre ppm	10.59	Polifenoles mgGAE/100mg	38.03

Finalmente, una vez se tiene la materia prima a base de mucílago de café, es decir, la miel de café debido a su alto contenido de azúcares, esta materia prima puede ser utilizada para la fabricación de una pluralidad de productos, tal como para alimentación humana, alimentación pecuaria, cosméticos, medicamentos y alcohol carburante (etanol), entre otros, donde dichos productos comprenden un alto contenido de antioxidantes, proteínas y minerales, los cuales mejoran los rendimientos y la salud del consumidor, bien sea humano o animal.

CONCLUSIONES

La formación del mucilago del café es responsable del 28% de la contaminación generada por el beneficio húmedo del café debido a su alto contenido de azúcares reductores y no reductores que este contiene. Por lo que es necesario transformar estos subproductos del beneficio del café en otros en los que se le pueda dar un mejor provecho a sus características físicas y químicas.

Los mucilagos son formados cuando las semillas de la planta son hidratadas y esta contiene una gran variedad de propiedades físicas y químicas que adquiere de la cascarilla de las semillas.

El mucilago del café debido a sus propiedades físicas y químicas puede ser transformado en diferentes subproductos a través de la fermentación anaerobia uno de ellos es la miel de café que a su vez, también es transformado en diferentes subproductos que pueden ser utilizados en la industria alimentaria, cosmética, agroindustrial, farmacéutica y en la producción de combustibles.

La miel de café aún no ha sido reconocida como producto alimenticio para su consumo humano pero no obstante, debido a su gran cantidad de polifenoles que este contiene, ha sido utilizado para la elaboración de una bebida rica en antioxidantes utilizando una mezcla junto con el té negro.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Bestteneverything.com. (2016). *Top Ten Most Traded Commodities | Best Ten Everything*. [online] Disponible: http://bestteneverything.com/top-ten-most-traded-commodities/ [Acceso: Agosto 2016].
- 2. Cefp.gob.mx. (2016). CEFP_CámaraDiputados. [online] Disponible en: http://www.cefp.gob.mx/intr/edocumentos/pdf/cefp/cefp0542001.pdf [Acceso: Agosto 2016].
- 3. Gob.mx. (2016). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación | Gobierno | gob.mx. [online] Disponible: http://www.gob.mx/sagarpa [Acceso: Agosto 2016].
- 4. Hernández colorado José Fernando. Evaluación de la aplicación del mucilago de café y pontenciabilizador solubilizador dihidro a cafetos en Huatusco, Veracruz. Universidad autónoma de Chapingo. 2006
- 5. Serna M. C.A. Desarrollo sostenible, economia ambiental y economia ecologica. Universidad de Manizales. Segunda Edicion, mayo 2005. 169 p.
- 6. Catie.2003. Utilización de subproductos del Café en la alimentación animal. Centro Agronómico Tropical. Pp 17.
- 7. USAID. 2003. Guía de prevención de la contaminación para el beneficiado de café en el Salvador.
- 8. García Muñoz Karina Olivia. 2008. Programa de Desarrollo de Proveedores, para la comercialización de Café bajo el sistema de Comercio Justo.." UTMX. Pp 20-35.
- 9. Gennaro Alfonso R. 2003. Remington Farmacia. Panamericana. Pp 851
- Rajkumar Rathinavelu y Graziosi Giorgio.2003. Posibles usos alternativos de los residuos y subproductos del café. ICS UNIDO. Pp 4.
- 11. Puerta Q. 2012. Factotores, procesos y controles en la fermentación del café. CENICAFE. Programa de investigación científica. Manizales, Caldas, Colombia
- 12. Ramírez Vélez Andrés, López Juan, Jaramillo Carlos.2011. Proceso de la obención de miel y/o harina café a partir de pulpa o cáscara y el mucílago del grano de café. European Patent Application.
- 13. Ramírez Vélez Andrés, López Juan, Jaramillo Carlos.2013. Proceso de la obención de café a partir de pulpa o cáscara y el mucílago del grano de café. BibTex. Pp 2-6.

EFECTO DEL TERMOULTRASONIDO SOBRE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS EN LECHE

Araceli Monter-Arciniega, Tania Atzimba Hernández-Falcón, Nelly del Socorro Cruz-Cansino, Esther Ramírez-Moreno, Ernesto Alanís-García, José Mariano García-Garibay

Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa

RESUMEN

El objetivo fue determinar el efecto del termoultrasonido sobre las propiedades fisicoquímicas en leche. Se utilizaron 6 tipos de leche bronca estandarizada: Control (CL); Termoultrasonicada-10min (U-10); Termoultrasonicada-15min (U-15); Homogenizada-Termoultrasonicada-10min (HU-10); Homogenizada-Termoultrasonicada-15min (HU-15); Homogenizada-Pasteurizada (HP) se determinó: análisis químico proximal (AQP), índice de estabilidad, densidad, sólidos totales (ST), sólidos no grasos (SNG) y color (L^* , a^* , b^* , C y $^{\rm o}$ h). La muestra HU-15 presentó mayor porcentaje de humedad y valores menores (p < 0.05) en los demás parámetros comparada con el resto. La leche U-15 tuvo mayor estabilidad significativamente comparado con las demás. Todas las muestras se encontraron dentro del nivel aceptado en densidad, ST y SNG (1.0295 - 1.035 g/mL, >12.5% y 6.45 - 11.70%, respectivamente). En las características de color, la leche HP tuvo mayor L^* y L^* y L^* y L^* pero mostró menores valores en L^* en cuanto a L^* la leche HU-10 tuvo mayor valor y la U-10 mostró mayor L^* por lo anterior se puede decir que el uso del termoultrasonido es una buena alternativa para el tratamiento de la leche, ya que puede mantener e incluso mejorar diferentes aspectos de calidad de la misma.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la leche, es el producto lácteo más consumido. En México se producen más de 11 mil 130 millones de litros de leche bovina al año, de la cual más del 20% se utiliza para la elaboración de leche entera, pasteurizada y ultrapasteurizada. Debido a que la calidad de la leche constituye un eje estratégico en la industria, es necesario ofrecer alternativas que permitan ofrecer herramientas de análisis que ayuden a la obtención de leche de buena calidad cumpliendo con las medidas higiénicas y sanitarias establecidas para la región y el país, con el objeto de obtener mejores beneficios económicos por ello el objetivo fue determinar el efecto del termoultrasonido sobre las propiedades fisicoquímicas en leche.

TEORÍA

La tecnología de ultrasonido puede definirse como ondas mecánicas a frecuencias por arriba del umbral del odio humano (> 16 kHz). Las ondas viajan a través del material o sobre la superficie a una velocidad la cual depende de la naturaleza de la onda y del material a través del cual es propagada. La aplicación de ultrasonido y tratamientos térmicos suaves (entre 50 y 60°C) ha dado lugar al procedimiento denominado termoultrasonicación. Esta tecnología ha sido probada en lácteos, donde se observó una disminución de microorganismos patógenos como *Escherichia coli, Pseudomonas fluorescens* y *Listeria monocytogenes*, esto sin alterar el contenido de proteína y caseínas. El efecto de los ultrasonidos sobre los agentes alterantes de los alimentos es limitado y dependiente de múltiples factores (tipo de alimento, tiempo, exposición del tratamiento, entre otros), por ello, su aplicación se encaminó hacia la combinación, simultanea o alterna, con otras técnicas de conservación.

PARTE EXPERIMENTAL

La muestra de leche se obtuvo del Rancho Universitario del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAP) de la UAEH, la cual fue sometida a tratamiento de homogeneización y termoultrasonicación

en diferentes condiciones, una muestra pasteurizada y un control fueron utilizadas como comparación. Todas las muestras se almacenaron en congelación a -32°C. El proceso de homogeneización se llevó a cabo con un homogeneizador digital (IKA® Ultra Turrax) a 11,000 rpm durante 5 minutos. La pasteurización se realizó según Juraga *et al.*⁹ Se colocaron muestras de leche homogeneizadas y no homogeneizadas en un procesador ultrasónico de 1500 W (VCX 1500 HV Sonics & Materials, Inc. Newtown, CT, EE.UU.). Las muestras se procesaron a una velocidad constante de 20 kHz durante periodos de tiempo de 10 y 15 min respectivamente, la temperatura inicial y final fue registrada (tabla 1).

Tabla 1 – Temperatura inicial y final de las diferentes leches después del tratamiento

	Muestras	CL	U-10	U-15	HU-10	HU-15	HP
T (90)	T ¹	8	31 ± 3.61	31 ± 2.65	30 ± 3.00	29 ± 3.61	8
T (°C)	T^2	-	48.27 ± 2.89	54.87 ± 1.42	50.20 ± 0.40	55.07 ± 0.40	85

T: Temperatura. T¹: Temperatura inicial. T²: Temperatura final. CL: control. U-10: leche bronca – estandarizada – termoultrasonicada – 10 minutos*. U-15: leche bronca – estandarizada – termoultrasonicada – 15 minutos*. HU-10: leche bronca – estandarizada – homogenizada – termoultrasonicada – 10 minutos*. HU-15: leche bronca – estandarizada – homogenizada – termoultrasonicada – 15 minutos*. HP: leche bronca – estandarizada – homogenizada – pasteurizada. *:95% de amplitud empleada en termoultrasonido.

DETERMINACIÓN DEL ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL (AQP)

El AQP se llevó a cabo con el equipo LACTOSCAN MCC, Milkotronic Ltd, Bulgaria, utilizando 30 mL de cada muestra a temperatura ambiente. Los datos porcentuales obtenidos fueron: lactosa, proteína, ceniza y grasa. La humedad se calculó por diferencia (fórmula 1):

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

El índice de estabilidad se valoró determinando el porcentaje de partículas sedimentadas (p/p) después de la centrifugación, de acuerdo a Cruz-Cansino¹⁰ (formula 2)

%
$$p/p = (Tubo 2-Tubo 1) x 100 (2)$$

La densidad se evaluó en cada muestra después de los diferentes tratamientos, utilizando el método descrito por Kirk *et al.*¹¹ La fórmula 3 se usó para calcular la densidad. Los sólidos totales (ST) y sólidos no grasos (SNG) se calcularon siguiendo las fórmulas (4 y 5).

La prueba de color se realizó usando un colorímetro portátil Hunter Lab (MiniScan XETM Hunter Associates Laboratory INC., Reston, Virginia, USA), donde se obtuvieron valores según la escala CIE L^* a^* b^* , donde L^* corresponde a luminosidad que varía de 0 (blanco) a 100 (negro); a^* la contribución rojo-verde y b^* la contribución azul-amarillo. La medición se realizó en 10 mL de leche para obtener los valores de L^* a^* b^* . Para calcular Cromaticidad (C) y °Tonalidad (°h) se utilizaron las siguientes fórmulas:

C =
$$(a^2 + b^2)^{1/2}$$
 (6)
h° = tg^{-1} b/a (7)

ANALÍSIS ESTADÍSTICO

Los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar (DE), y se analizaron mediante el análisis unidireccional de varianza (ANOVA). Las diferencias entre las medias se compararon con una prueba Duncan con un nivel de significancia de α < 0.05, utilizando el software IBM SPSS Advanced Statistics para Windows, Versión 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, EE.UU.).

RESULTADOS

ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL (AQP)

La muestra HU-15, presentó el mayor porcentaje de humedad y valores menores en proteína, lactosa y cenizas (p < 0.05) en comparación con el resto de las muestras (tabla 2). El resultado alto de humedad de dicha leche, pudo deberse a que durante el tiempo de aplicación de ultrasonido ocurre una reordenación de macromoléculas, causando una desnaturalización proteica, lo que provoca liberación de agua, esto aunado a que la producción de algunas reacciones químicas puede generar moléculas de agua en el medio, así también con mayores intensidades de cavitación, se genera un mayor contenido de agua añadida aparente en el medio. 13 De acuerdo a Badui, ¹⁴ el contenido total de proteína en la leche es de 3.3%, por otro lado, la NOM-155-SCFI-2012 ¹⁵ describe un 3% mínimo en dicho parámetro. Se puede observar que las muestras analizadas presentan valores dentro de la norma establecida. En un estudio por Bermúdez-Aguirre et al. 13 en leche termosonicada (90% amplitud) previamente pasteurizada, presentó resultados inferiores en el contenido de proteínas (3.03%) comparados con los obtenidos en el presente estudio, ellos lo atribuyen a la desnaturalización de las proteínas debido al tratamiento térmico (pasteurización) más el ultrasonido. Lo anterior coincide con lo reportado por Serra et al., 16 donde usaron leche cruda entera aplicando otra tecnología no convencional de ultra alta presión de homogenización (300 MPa), en donde alcanzaron cerca de 90°C e indican que esta temperatura provoca una mayor desnaturalización proteica. Respecto al contenido de grasa, las muestras no presentaron diferencia significativa y tuvieron un valor aceptable respecto a lo señalado por la NOM-155-SCFI-2012¹⁵ (mínimo 30 g/L= 3% mínimo). La lactosa es el principal hidrato de carbono de la leche, debe estar presente entre 43 y 50 g/L. Las muestras se encontraron dentro de los parámetros reportados por dicha norma. Los datos obtenidos del contenido de minerales son similares con los reportados por Mahmood y Usman¹⁷ en un estudio de diferentes tipos de leche incluida la bovina, donde presentan datos entre 0.40 y 0.80% de cenizas.

Tabla 2- Valores promedio (± DE) del análisis químico proximal de leche tratada

Muestras			Parámetros		
wuestias ₋	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Lactosa (%)	Ceniza (%)
CL	78.68 ± 0.44^{b}	3.34 ± 0.08^{a}	3.00 ± 0.00	5.06 ± 0.12^{a}	0.73 ± 0.02^a
U-10	78.81 ± 0.71 ^b	3.33 ± 0.16^{a}	3.00 ± 0.00	5.02 ± 0.18 ^a	0.72 ± 0.04^{a}
U-15	78.84 ± 0.88^{b}	3.31 ± 0.16 ^a	3.00 ± 0.00	5.02 ± 0.23^{a}	0.72 ± 0.04^{a}
HU-10	78.92 ± 0.04^{b}	3.30 ± 0.01^{a}	3.00 ± 0.00	5.00 ± 0.01 ^a	0.71 ± 0.00^{a}
HU-15	79.35 ± 0.00^{a}	3.32 ± 0.00^{b}	3.00 ± 0.00	4.88 ± 0.00^{b}	0.69 ± 0.00^{b}
HP	78.79 ± 0.20^{b}	3.32 ± 0.04^{a}	3.00 ± 0.00	5.03 ± 0.06^{a}	0.72 ± 0.01 ^a

a-d Distintos superíndices en la misma columna indican diferencia significativa entre tratamientos (p < 0.05). CL: control. U-10: leche bronca – estandarizada – termoultrasonicada – 10 minutos*. U-15: leche bronca – estandarizada – termoultrasonicada – 15 minutos*. HU-10: leche bronca – estandarizada – homogenizada – termoultrasonicada – 10 minutos*. HU-15: leche bronca – estandarizada – homogenizada – termoultrasonicada – 15 minutos*. HP: leche bronca – estandarizada – homogenizada – pasteurizada. *:95% de amplitud empleada en termoultrasonido.

PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS ESTABILIDAD FÍSICA

Los resultados se muestran en la figura 1, donde la leche U-15 con 2.81 ± 0.21 tuvo un menor porcentaje (p < 0.05) de p/p, mientras que la leche CL y HU-15 presentaron el mayor % p/p con 4.15 ± 0.29 y 4.38 ± 5.36 respectivamente. Datos altos de este parámetro indican una baja estabilidad como consecuencia de la sedimentación de las partículas, 10 por lo tanto la leche U-15 tuvo una mejor estabilidad en comparación con el resto de las muestras, esto pudo deberse a que el termoultrasonido pudo haber reducido la sedimentación al fragmentar las moléculas en partículas más pequeñas, gracias al alto efecto de cizallamiento producido durante la cavitación. Esto puede estabilizar el sistema coloide y explicar por qué se retuvieron más partículas finas en el sobrenadante después de la centrifugación. 18

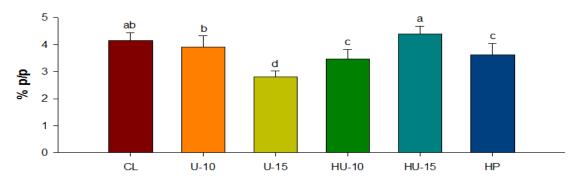


Figura 1 – Índice de estabilidad de las diferentes muestras analizadas. ^{a-c} Distintas superíndices en la misma línea indican diferencia significativa entre tratamientos (p < 0.05). % p/p: Porcentaje de sólidos precipitados. CL: control. U-10: leche bronca – estandarizada – termoultrasonicada – 10 minutos*. U-15: leche bronca – estandarizada – termoultrasonicada – 15 minutos*. HU-10: leche bronca – estandarizada – homogenizada – termoultrasonicada – 10 minutos*. HU-15: leche bronca – estandarizada – homogenizada – termoultrasonicada – 15 minutos*. HP: leche bronca – estandarizada – pasteurizada. *:95% de amplitud empleada en termoultrasonido.

DENSIDAD, SÓLIDOS TOTALES (ST) Y SÓLIDOS NO GRASOS (SNG)

En la tabla 3 se presentan los resultados obtenidos de densidad, ST y SNG donde se observa que entre las muestras no hubo diferencias significativas, para ninguna de las determinaciones. De acuerdo a la NMX-F-700-COFOCALEC-2012¹⁹, la densidad mínima para la leche cruda de vaca y pasteurizada es de 1.0295 g/mL con un máximo de 1.035 g/mL, en cuanto a los ST deben ser mayores de 12.5% y están representados por la grasa en emulsión, las proteínas en suspensión coloidal, lactosa, vitaminas, sales y otros componentes orgánicos e inorgánicos en solución.²⁰ El factor que tiene más influencia en el porcentaje de sólidos totales es la grasa ya que es el componente más variable que tiene la leche.²¹ El porcentaje de SNG en leche de vaca debe de encontrarse en un rango de 6.45 - 11.70%.²² Por lo anterior se puede observar que todas las muestras analizadas estuvieron dentro de los límites permitidos.

Tabla 3- Valores promedio (± DE) de los parámetros de densidad, ST y SNG de las leches

Muestras	Densidad	ST	SNG
CL	1.032 ± 0.001^{a}	11.69 ± 0.34^{a}	8.69 ± 0.34^{a}
U-10	1.032 ± 0.001^{a}	11.63 ± 0.43^{a}	8.64 ± 0.43^{a}
U-15	1.032 ± 0.001^{a}	11.64 ± 0.47^{a}	8.64 ± 0.47^{a}

HU-10	1.032 ± 0.002^{a}	11.67 ± 0.54 ^a	8.67 ± 0.54^{a}
HU-15	1.032 ± 0.001 ^a	11.62 ± 0.40^{a}	8.63 ± 0.41^{a}
HP	1.032 ± 0.001 ^a	11.59 ± 0.40^{a}	8.60 ± 0.40^{a}

a-d Distintos superíndices en la misma columna indican diferencia significativa entre tratamientos (*p* < 0.05).
 ST: sólidos totales. SNG. Solidos no grasos. CL: control. U-10: leche bronca – estandarizada – termoultrasonicada – 10 minutos*. U-15: leche bronca – estandarizada – termoultrasonicada – 15 minutos*.
 HU-10: leche bronca – estandarizada – homogenizada – termoultrasonicada – 10 minutos*.
 HU-15: leche bronca – estandarizada – homogenizada – termoultrasonicada – 15 minutos*.
 HP: leche bronca – estandarizada – homogenizada – pasteurizada. *:95% de amplitud empleada en termoultrasonido.

COLOR

El color es un atributo de calidad importante en la industria de los alimentos, e influye en la aceptación por parte de los consumidores. El color de los alimentos se rige por cambios químicos, bioquímicos, microbianos y físicos, que ocurren durante el procesamiento y almacenamiento del alimento. En el aspecto de luminosidad (L^*) (tabla 4) la leche pasteurizada, respecto a las demás muestras, tuvo significativamente el mayor valor. Caso contrario se observó en la coordenada a^* (eje del rojo⁽⁺⁾ al verde⁽⁻⁾), donde dicha muestra fue menor (p < 0.05) pero en general se detectó una contribución negativa. En los resultados de la coordenada b^* (eje azul⁽⁻⁾ al amarillo⁽⁺⁾) todas las leches presentaron valores positivos, pero la muestra HU-10 tuvo mayor valor de b^* (p < 0.05) comparada con las demás leches. Los valores de Cromaticidad (C) indican el nivel de saturación, la leche U-10 fue significativamente mayor, respecto al resto. En cuanto a los grados de Tonalidad (°h), todas las muestras tuvieron valores negativos, sin embargo, la leche pasteurizada tuvo mayor valor (p < 0.05) en comparación con las demás leches. El color más amarillo encontrado en los valores de b^* en la leche control, se debe a que al no ser sometida a homogenización, no existe modificación de tamaño del glóbulo de grasa lo que provoca este color.

	Tabla 4- Valores medios (± DE) de los parámetros de color					
Muestras	L*	a*	b*	С	°h	
CL	$63.02 \pm 0.50^{\circ}$	-3.56 ± 0.04^{a}	5.46 ± 0.20^{b}	6.50 ± 0.19^{c}	$-57.07 \pm 0.86^{\circ}$	
U-10	$62.53 \pm 1.02^{\circ}$	-3.63 ± 0.27^{ab}	6.12 ± 0.29^{b}	7.13 ± 0.13^{a}	-59.28 ± 3.07^{d}	
U-15	64.04 ± 0.79^{b}	-3.65 ± 0.27^{ab}	5.41 ± 0.12^{b}	6.54 ± 0.14^{c}	$-56.04 \pm 2.3^{\circ}$	
HU-10	62.61 ± 1.29 ^c	-3.58 ± 0.25^{ab}	5.72 ± 0.15^{a}	6.75 ± 0.21 ^b	-57.95 ± 1.80^{cd}	
HU-15	63.34 ± 1.29 ^{bc}	-3.75 ± 0.00^{b}	$4.81 \pm 0.32^{\circ}$	6.10 ± 0.28^{d}	-51.94 ± 1.62 ^b	
HP	66.61 ± 0.66 ^a	-4.06 ± 0.06^{c}	4.67 ± 0.37^{c}	6.19 ± 0.31 ^d	-48.87 ± 1.91 ^a	

 $^{^{\}text{a-d}}$ Distintos superíndices en la misma columna indican diferencia significativa entre tratamientos (p < 0.05). CL: control. U-10: leche bronca – estandarizada – termoultrasonicada – 10 minutos*. U-15: leche bronca – estandarizada – termoultrasonicada – 15 minutos*. HU-10: leche bronca – estandarizada – homogenizada – termoultrasonicada – 10 minutos*. HU-15: leche bronca – estandarizada – homogenizada – termoultrasonicada – 15 minutos*. HP: leche bronca – estandarizada – homogenizada – pasteurizada. *:95% de amplitud empleada en termoultrasonido.

CONCLUSIONES

La calidad de la leche abarca varios aspectos que se pueden evaluar y comparar con las normas establecidas. Las leches termoultrasonicadas mostraron adecuados atributos de calidad, respecto a la muestra control y la pasteurizada, destacando la leche U-15 la cual presentó resultados adecuados a los indicados por las diferentes normas en densidad, solidos no grasos y estabilidad. En general se observaron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados y la leche control, por lo tanto la aplicación del termoultrasonido indica una mejor calidad fisicoquímica en la leche, por lo anterior se puede decir que el uso del termoultrasonido es una buena alternativa para el tratamiento de la leche, ya que puede mantener e incluso mejorar diferentes aspectos de calidad de la misma.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. M. R. Meyer. "Elaboración de productos lácteos", México. Trillas. 2014
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SIAP-SAGARPA). Panorama de la Lechería en México: enero - marzo del 2015. SAGARPA-SIAP. Recuperado de:
- 3. http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochureleche EneroMarzo2015.pdf. 2015
- 4. F. C. M Vásquez, G. R. Martínez, V. M. M. Mancera, L. E. O Ávila, Vargas, M. R. "Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha (departamento de Boyacá)", Rev. Med. Vet., Vol. 14, 2007, pp. 61-83.
- 5. M. F. Capilla. "Tesis de Maestría Para asegurar la calidad microbiológica de la leche y evitar que represente un riesgo para la salud de la población, existen métodos convencionales para tratarla (pasteurización), estos incluyen el uso de ultra alta temperatura (UHT), baja temperatura tiempo largo y alta temperatura tiempo corto", Recuperado
 - de http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/16818/CAPILLA%20MORENO%20FERNANDO-%20B120943.pdf?sequence=1. 2015.
- 6. A. C. Soria, M. Villamiel, "Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review", Trends. Food. Sci. Technol., Vol. 21, 7, 2010, pp. 323-331.
- 7. L. E. Robles-Ozuna, L. A. Ochoa-Martínez, "Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos", Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha., Vol. 13, 2, 2012, pp. 109-122.
- 8. A. A. Gabriel, "Microbial inactivation in cloudy apple juice by multi-frequency Dynashock power ultrasound", Ultrason. Sonochem., Vol. 19, 2, 2012, pp. 346-351.
- 9. R. S. Wilches, "Tecnologías no térmicas en el procesado y conservación de alimentos vegetales. Una revisión", Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales., Vol. 2, 1, 2015, pp. 73-82.
- 10. E. Juraga, S. B. Sobota, Z. Herceg, J. A. Rezek, "Application of high intensity ultrasound treatment on *Enterobacteriae* count in milk", Mljekarstvo., Vol. 61, 2, 2011, pp. 125-134.
- 11. N. Cruz, M. Capellas, M. Hernández, A. J. Trujillo, B. Guamis, V. Ferragut, "Ultra high pressure homogenization of soymilk: Microbiological, physicochemical and microstructural characteristics", Food. Res. Int., Vol. 40, 6, 2007, pp. 725-732.
- 12. Kirk, R.S., Sawyer, R., y Egan, H. 2009. Composición y Análisis de Alimentos de Pearson. 2ª Edición. (Ed) Patria México.
- 13. F. J. Francis, "Color quality evaluation of horticultural crops", HortScience (USA)., 1980
- 14. D. Bermúdez-Aguirre, M. G. Corradini, R. Mawson, G. V. Barbosa-Cánovas, "Modeling the inactivation of *Listeria* innocua in raw whole milk treated under thermo-sonication. Innovative", Food Sci. Emerg. Technol., Vol. 10, 2, 2009, pp. 172-178.
- 15. D. S. Badui, Química de los alimentos. México: Editorial Pearson, 2013.
- 16. Norma Oficial Mexicana: NOM-155-SCFI-2012, Leche-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. 2012.

- 17. M. Serra, A. J. Trujillo, P. D. Jaramillo, B. Guamis, V. Ferragut, "Ultra-high pressure homogenization-induced changes in skim milk: impact on acid coagulation properties", J. Dairy. Res., Vol. 75, 01, 2008, pp. 69-75.
- 18. A. Mahmood, S. Usman, "A comparative study on the physicochemical parameters of milk samples collected from buffalo, cow, goat and sheep of Gujrat, Pakistan, Pakistan Journal of Nutrition., Vol. 9, 12, 2010, pp. 1192-1197.
- 19. R. Seshadri, J. Weiss, G. J. Hulbert, J. Mount, "Ultrasonic processing influences rheological and optical properties of high-methoxyl pectin dispersions", Food Hydrocolloids., Vol. 17, 2, 2003, pp. 191-197.
- Norma Oficial Mexicana NMX-F-700-COFOCALEC-2012. Sistema Producto Leche, Alimento Lácteo, Leche Cruda De Vaca. Especificaciones Fisicoquímicas, Sanitarias y Métodos De Prueba, 2012.
- 21. Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization (FAO/WHO). Milk and Milk Products. Rome, Italy. Recuperado de http://www.fao.org/Wairdocs/X5434E/x5434e0d.htm. 2007.
- 22. I. C. García, A. N. Panadero, "Factores que influyen en la composición nutricional de la leche", Revista Ciencia Animal., 5, 2012, pp.73-85.
- P. Villafuerte, "Características de la leche". Academia. edu. Recuperado de: https://www.academia.edu/8367776/Cap%C3%ADtulo_1_Caracter%C3%ADsticas_de_la_leche. 2016.
- 24. D. Pingret, A. S. Fabiano-Tixier, F. Chemat, "Degradation during application of ultrasound in food processing: a review", Food control., Vol. 31, 2, 2013, pp. 593-606.
- 25. P. B. Pathare, U. L. Opara, F. A. J. Al-Said, "Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review", Food and BioprocessTechnology., Vol. 6, 1, 2013, pp. 36-60.
- 26. J. Pereda, V. Ferragut, J. M. Quevedo, B. Guamis, A. J. Trujillo, "Effects of ultra-high pressure homogenization on microbial and physicochemical shelf life of milk", J. Dairy. Sci., Vol. 90, 3, 2007, pp. 1081-1093.

EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA Y FÍSICOQUÍMICA DEL MÚSCULO DE BARRILETE (KATSUWONUS PELAMIS) ANTES Y DESPUÉS DE LA ETAPA DE COCIMIENTO

Irma Lorena Sánchez-Humarán, Alonso García-Sánchez, Gabriela del Carmen Suárez-Lizárraga, José Abel Ortega y Alma Verónica Suárez-Lizárraga,

Instituto Tecnológico de Mazatlán
Universidad Autónoma de Guadalajara
Colegio de Bachilleres del Estado de Sinaloa No. 95 Mazatlán, Sin.,
(irmalorenasahu@hotmail.com, ia alonsogs@hotmail.com, gasuli@hotmail.com, sonny200183@hotmail.com, almavero1011@hotmail.com)

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó microbiológicamente el músculo de barrilete (Katsuwonus pelamis) antes y después de la etapa de cocimiento, con el fin de encontrar microorganismos formadores de toxinas. A las muestras seleccionadas se les realizaron análisis físicos (potencial hidrogeno y cloruros), con la finalidad de conocer las características de la materia prima. Las muestras de pescado fueron tomadas por duplicado antes y después del cocimiento, por un tiempo de doce horas después de cocinarse, para evaluar el comportamiento de la carga bacteriana en cada una de las etapas arriba señaladas y determinar la posibilidad de que desarrollara alguna toxina no termolábil. Los métodos utilizados fueron los recomendados por las Normas Oficiales Mexicanas NOM-242-SSA1-2009 bienes y servicios. Productos de la pesca. Pescados frescosrefrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias, NOM-056-SSA1-1993 Requisitos sanitarios del equipo de protección personal, NOM-092-SSA1-1994 Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa, NOM-109-SSA1-1994 Procedimiento para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para sus análisis microbiológicos y NOM-110-SSA1-1994 Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico y guías de la FDA. Los resultados del producto cocido fueron menores a cien UFC/g hasta la etapa previa del esterilizado, después del tiempo de exposición en el rango indicado se encuentran los resultados dentro de los límites permisibles de las Normas Oficiales Mexicanas utilizadas. Se concluye que el producto es apto para consumo humano ya que los resultados microbiológicos en pescado crudo y cocido destinados para el proceso de enlatado se encuentran dentro de los límites permitidos por las Normas Oficiales Mexicanas.

INTRODUCCION

La alimentación adecuada es una pieza importante para la salud del ser humano y una calidad de vida apropiada, como bien es sabido, los alimentos son portadores de energía e importantes nutrientes que ayudan a tener un buen funcionamiento en nuestro cuerpo. Uno de los problemas de mayor índole en la pérdida de salud para el ser humano y para cualquier organismo en general es causado por la ingesta de alimentos contaminados, ya sea por microorganismos patógenos o toxinas que alteran sus propiedades nutricionales (Anders *et al.*, 2009). En el caso particular del pescado, los microorganismos presentes varían de la zona superficial y del contenido intestinal. La microflora que posee el pescado no es homogénea y dependerá del ambiente, lugar y del sistema de captura, de igual forma la contaminación que provoque el hielo utilizado para su conservación y de los tratamientos a bordo, así como también la mala manipulación que tenga el personal que tiene contacto directo con el pescado (Gingerich *et al.*, 2000). En el presente estudio, se evaluó mediante análisis microbiológicos y físico-químicos el músculo de barrilete (*Katsuwonus pelamis*), antes y después de la etapa de cocimiento.

PARTE EXPERIMENTAL

Plan de muestreo: se tomaron las tallas más críticas del pescado barrilete antes de entrar al cocedor para determinar la presencia o ausencia de bacterias. Se muestrearon distintas tallas de pescado a temperaturas mayores o iguales a 0°C en la etapa de descongelado y después de la etapa de cocimiento.

Determinacion de bacterias mesofílicas aerobias, pH y cloruro de sodio: para determinar la presencia de bacterias mesofílicas aerobias se utilizó la técnica de dilución en placa (NOM-092), para determinar el pH se utilizó un potenciómetro de campo y para la determinación de cloruro de sodio se utilizó la técnica descrita por Gill *et al.* (2009).

Determinacion de tiempos y temperaturas mínimas de cocimiento: se analizaron los resultados para la prueba de bacterias mesofílicas aerobias despues del cocimiento, se implementaron medidas correctivas y se ajustaron los tiempos y temperaturas y se procedió a realizar los analisis correspondientes para confirmar la ausencia de estos microorganismos.

RESULTADOS

En la figura 1 se observa el promedio de los resultados obtenidos del conteo de bacterias mesófilas aerobias en pescado crudo el cual muestra un comportamiento que está fuera del límite permisible. El mayor valor fue de 320,000 UFC/mL de muestra en talla 10; mientras que el menor valor fue de 270,000 UFC/mL muestra en talla 4.

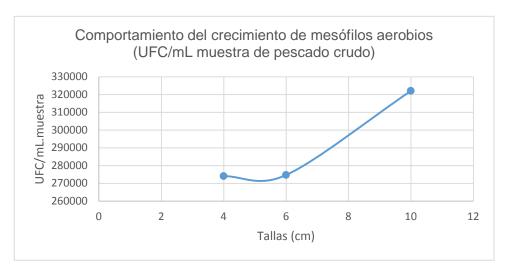


Figura 1. Comportamiento del crecimiento de mesófilos aerobios en pescado crudo

En la figura 2 se observa el comportamiento que tiene el pescado precocido al salir del cocedor, se muestra que el mayor valor fue 95952.6 UFC/mL muestra en talla 6; mientras que el menor valor fue 50185.32 UFC/mL muestra en talla 10. Lo anterior se atribuye a que el proceso de precocción en tallas pequeñas es de 100 °C mientras que en tallas grandes es 105 °C, con lo que se concluye que entre mayor sea la talla del pez menor será la carga bacteriana debido a que tiene mayor temperatura y tiempo de precocción.



Figura 2. Comportamiento del crecimiento de mesófilos aerobios en pescado precocido

En la figura 3 se muestra el porcentaje de cloruro de sodio en distintos tiempos antes y después del precocido. El pescado crudo tiene un promedio que va desde 0.957 a 1.694 de NaCl; mientras que en pescado precocido el promedio es de 0.551 a 1.595 de NaCl. La FAO (1999) justifica que el aumento de cloruros se debe principalmente a la desnaturalización de proteínas por calor incrementando la pérdida de aqua.

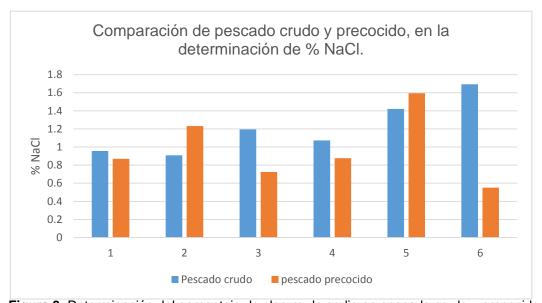


Figura 3. Determinación del porcentaje de cloruro de sodio en pescado crudo y precocido

CONCLUSIONES

El comportamiento de temperatura en los cocedores no fue uniforme al presentar una diferencia de hasta 6°F en un punto y otro, sin embargo esto no impacto en las pruebas realizadas, ya que se tomaron estas zonas frías como críticas al realizarse los muestreos. Se estableció que la metodología actual para seleccionar la pieza crítica (más fría y con mayor peso) durante el proceso, la correcta inserción de los sensores y la ubicación en la zona fría, fue efectiva para el

monitoreo de este estudio. Con la aplicación de las técnicas microbiológicas actuales para el control de producto en proceso es posible dar garantías de que los tiempos de exposición no son considerables para que la carga bacteriana presente valores altos de UFC capaces de producir toxinas. Los resultados obtenidos al realizar los diferentes análisis permiten conocer la calidad del pescado antes y después del tratamiento así como confirmar que las condiciones de operación que se requieren para el proceso son óptimas. El control y monitoreo diario de las diversas especificaciones fisicoquímicas (cloruros) al agua de servicio arrojaron resultados satisfactorios cumpliendo con los parámetros específicos ya establecidos. Para evaluar microbiológicamente el atún se revisó que la incubadora cumpliera con el factor de temperatura aceptable, con la finalidad de que no hubiera variaciones entre cada nivel de la misma.

BIBLIOGRAFIA

- 1. Acuff. G., A.L. Izat and G. Firme (2001). "Microbial flora on pond-reared tilapia (*Tilapia aurea*) held on ice". *J. FoodProt.* 47, 778-780
- 2. Addison, R.F. and J.E. Stewart. (2003). "Domoic acid and the Eastern Canadian molluscan shellfish industry". *Aquaculture* 77, 263–269.
- Anders, A. y Brekken, B. (2009). "La degradación del tejido, liberación y descomposición microbiana de los aminoácidos del capelán almacenado a granel". J. Sci Food Agric. 4 (5): P. 56-60.
- 4. Anders Aksnes and Bjorn Brekken. (1990). "Tissue degradation, Amino Acid Liberation and Bacterial descomposition of Bulk Stored Capelin". J. Sci Food Agric. 45.56–60, 990.
- 5. Eglee, Ruiz. (2012). Histamina en el pescado. Estac. Exp. Dtto. Federal pag 1
- 6. Elika. (2013). "Histamina". [en línea]. Arkaute: España. [Consulta: 10 de abril de 2014]. Disponible
 - en: http://www.elika.net/datos/pdfs agrupados/Documento100/13.Histamina.pdf
- 7.FAO.(2000)."Las negociaciones comerciales multilaterales sobre la agricultura, manual de referencia". Roma. [Consulta: 12 de enero de 2014]. Disponible en: http://www.fao.org/DOCREP/003/X7354S/X7354S00.HTM
- 8. Food and Drug Administration. (2011). "Fish and fishery products hazards and controls guidance". fourth edition. Chapter 12: pathogenic bacteria growth and toxin formation (other than *Clostridium botulinum*) as result of time and temperature abuse.
- Food and Drug Administration (FDA). (2012). "Bad Bug Book. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook". 2nd Edition.Gram, L. 2010. Identification, characterization and inhibition of bacteria isolated from tropical fish. Ph. D. Thesis. The Technological Laboratory of the Danish Ministry of Fisheries and the Royal Veterinary and Agricultural University.
- 10. Galleguillos, M. (2000). "Aminas biogénicas nuevos indicadores químicos utilizados como criterios de calidad en harinas de pescado. Control de calidad de insumos y dietas acuícolas, documento preparado por el proyecto: Apoyo a las actividades regionales de Acuicultura en América Latina y el Caribe". Aquila II: 187-190.
- 11. Gingerich, T., Lorca, T., Flick, G., Pierson, M. y Mcnair, H. (2000). "Biogenic amine survey and organoleptic changes in fresh, stored, and temperature-abused bluefish (Pomatomus saltatrix)". Journal of Food Protection. P.1033-1037.
- 12. Norma Oficial Mexicana (NOM-027-SSA1-1993). "Productos de la pesca. Pescados frescos-refrigerados y congelados". Especificaciones sanitarias
- 13. Norma Oficial Mexicana (NOM-056-SSA1-1993). "Requisitos sanitarios del equipo de protección personal".
- 14. Norma Oficial Mexicana (NOM-092-SSA1-1994). "Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa". Secretaría de Economía, México.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-109-SSA1-1994). "Procedimiento para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico". Secretaría de Economía, México.
- 16. Norma Oficial Mexicana (NOM-110-SSA1-1994). "Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico". Secretaría de Economía, México

17. Norma Oficial Mexicana (NOM-242-SSA1-2009). "Productos de la pesca. Pescados frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias". Secretaría de Economía, México.

RIZOBACTERIAS TOLERANTES A AGROQUÍMICOS AISLADAS DE MAÍZ Y PAPA CON POTENCIAL BIOESTIMULANTE

Álvaro Ricardo Escalante Sansores, Perla Xóchitl Hernández Rodríguez, Lilia Tapia López, Erik Ocaranza Sánchez.

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional (CIBA-IPN), Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala. CP 90700

RESUMEN

Los agroquímicos son usados para el control de plagas y enfermedades en las plantas causadas por bacterias y hongos, sin embargo, se ha reportado que son persistentes en el suelo y afectan negativamente a otros organismos que benefician a las plantas y al suelo. Algunos microrganismos benéficos promueven el crecimiento vegetal y pueden desarrollar resistencia hacia ciertos agroquímicos, por lo que podrían ser integrados a las prácticas agrícolas convencionales. En este estudio se evaluaron cuatro rizobacterias tolerantes a agroquímicos aislados de la rizósfera de maíz y papa en el centro del país. Se cuantifico la solubilización de fosfatos y producción de ácido indol 3-acético (AIA). Se evaluó la resistencia in vitro de las rizobacterias a siete agroquímicos seleccionados, para ello se prepararon las dosis recomendadas por el fabricante (1 X) y también dosis 10X, 100 X y 1000 X. Finalmente se evaluó in vitro su efecto en la germinación y elongación radicular en semillas de trigo. Las cuatro cepas solubilizan fosfatos y producen AIA y mostraron resistencia a por lo menos 5 agroquímicos a concentración 10X. Sin embargo, en el experimento con semillas de trigo únicamente las cepas CIBA1 y CIBA3 fueron capaces de promover el crecimiento de la plántula en un 16% y 19% respectivamente, en comparación al control. Por lo cual se concluye que estas dos cepas tienen el potencial para ser usadas para formular bioestimulantes que se integren en el manejo convencional del cultivo de trigo, sin embargo, se requiere continuar con pruebas en invernadero y campo.

INTRODUCCIÓN

Como resultado de uso de agroquímicos, en partículas plaguicidas, la contaminación actual del suelo es un problema de gran preocupación. Una cantidad considerable de los plaguicidas terminan en el suelo, lo que resulta en efectos dañinos a otros organismos no blanco, incluyendo a los microrganismos del suelo¹. Los plaguicidas que permanecen, afectan de manera adversa la estructura composición, y actividades metabólicas de las comunidades microbianas, estos cambios conllevan a la pérdida de fertilidad y sustentabilidad de los campos agrícolas. Dependiendo de la composición del plaguicida, el tipo de suelo y sus características, los pesticidas tienen tasas de degradación bajas, como consecuencia debido su aplicación repetida, puede llevar a una acumulación a concentraciones muy perjudiciales a los microrganismos. Sin embargo, algunos microrganismos pueden desarrollar tolerancia o resistencia a los agroquímicos, tras largos periodos de exposición ².

Una técnica reciente para mejorar la producción agrícola ha sido el uso de rizobacterias benéficas conocidas como PGPR, por sus siglas en inglés (Plant growth promoting rhizobacteria), como inoculantes. Las PGPR's pueden facilitar el crecimiento vegetal a través de diversos mecanismos; fijación de nitrógeno, solubilización de fósforo, producción de diversos compuestos como sideróforos, fitohormonas y antibióticos³.

Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal resistentes o tolerantes a agroquímicos podrían ser integradas a las prácticas agrícolas convencionales, manteniendo su efecto en el incremento del rendimiento de los cultivos y al mismo tiempo podrían ayudar a acelerar la degradación de los agroquímicos en el suelo⁴.

Por otra parte, el trigo (*Triticum spp.*), es el cultivo con mayor extensión en el mundo con una superficie de 240 Mha, siendo la fuente más importante de granos para la alimentación, puede ser cultivado en gran parte del mundo y está adaptado a una variedad de climas. Tiene un alto rendimiento, llegando a alcanzar cerca de 3 Ton/ha (FAO). Diversos autores han reportado aumento en el crecimiento y rendimiento de trigo, al ser inoculado con PGPR's. Kumar, 2014 reporta aumentos del 17%, 79%, y 26% respecto al control sin tratar en altura, rendimiento y peso respectivamente⁵. A su vez, Khalid, 2004, reporta aumentos de 27%, 17% y 14% respecto al control en rendimiento, longitud y peso seco respectivamente⁶.

PARTE EXPERIMENTAL

En este estudio se evaluaron cuatro rizobacterias las cuales fueron aisladas a partir de suelo rizosférico de plantas de maíz y papa cultivados en la región centro de México, mediante el siguiente procedimiento. En frascos de vidrio se agregó 1g del suelo seco, y se mezcló con medio mínimo mineral, y como única fuente de carbono se añadieron 100 ppm de siete agroquímicos (tabla 1) y se incubaron a 30°C durante siete días. Transcurrido el tiempo de incubación se inoculó una asada de la suspensión en cajas Petri con medio King B, las cuales se incubaron a 30°C durante 24 horas. Las colonias bacterianas se purificaron hasta obtener cultivos axénicos y se identificaron como CIBA 1, CIBA 2, CIBA 3 y CIBA 4.

La evaluación *in vitro* de la resistencia de las cuatro rizobacterias a siete agroquímicos fue evaluada mediante el método de difusión en placa (Kirby-Bauer)⁷. Por un lado, se prepararon soluciones acuosas de los siete agroquímicos con las dosis recomendadas por el fabricante (1 X) y también dosis 10X, 100 X y 1000 X (Tabla1). Se aplicaron 20 µl de cada solución en un disco de papel filtro estéril de 12.5 mm de diámetro, y se dejaron secar a temperatura ambiente bajo condiciones asépticas. Por otro lado, las bacterias a evaluar se propagaron en caldo nutritivo hasta una concentración de 1 x 10⁸ UFC/ml. Como control se usó un bioestimulante comercial cuyo ingrediente activo es *Bacillus. subtilis* con una concentración de 1X10⁸ células/ml.

A continuación, se inocularon por extensión en placa 100 µl de las suspensiones bacterianas en placas Petri con agar nutritivo. El área de la placa se dividió en cuatro cuadrantes y se colocó un disco con agroquímico en el centro de cada cuadrante, correspondiente a las cuatro concentraciones evaluadas. Las placas fueron refrigeradas a 4°C durante la noche para permitir la difusión del agroquímico, posteriormente se incubaron a 30°C durante 48 horas. Transcurrido el tiempo de incubación, se midió en diámetro de inhibición para cada tratamiento. Se consideró positiva la resistencia si el diámetro del halo era menor a dos mm con respecto al diámetro del disco.

Tabla 1. Dosis recomendada de los siete agroquímicos empelados en la evaluación *in vitro* de la resistencia a agroquímicos.

Nombre	Clave	Uso	Dosis Recomendada
Bactrol ®	BACT	Bactericida	2 mg/ml
Promyl ®	PROM	Fungicida	1 mg/ml
Rizolex ®	RIZOL	Fungicida	1.25 mg/ml
Agry-Gent ®	AGRY	Bactericida	0.8 g/ml
Pulsor ®	PULS	Fungicida	1%
Buckman ®	BUCK	Bactericida/Fungicida	6%
Cercobin ®	CERCO	Fungicida	1 mg/ml

Se evaluó en las cuatro rizobacterias la capacidad de solubilizar fósforo, para ello se utilizó el medio NBRIP⁸, el cual está formulado con fosfato tricálcico como fuente de fósforo insoluble. Se inoculó una colonia aislada al medio NBRIP mediante picadura, con un total de cuatro colonias por caja. El ensayo se realizó por triplicado. Las placas fueron incubadas por 14 días a 30°C.

Transcurrido el tiempo de incubación se midió el diámetro de la colonia y del halo de solubilización, para calcular el índice de solubilización de fósforo con la ecuación de Edi-Premono, 1996:

La producción de ácido indol-3-acético en cada uno de los cultivos bacterianos se evaluó de acuerdo a la metodología de Karadeniz *et al.*, 2006⁹. Se incubaron las cepas en caldo nutritivo durante 24 horas. La suspensión bacteriana se ajustó a una concentración de 10⁸ UFC/ml y se inoculó un ml en 50 ml de medio LB adicionado con 0.05g/L de L-triptófano (>99%). La suspensión se incubó a 30°C, 220 rpm durante 120 horas.

Los cultivos se centrifugaron a 10,000 rpm a 4°C por 20 min, se tomó el sobrenadante y se ajustó hasta un pH de 2.5-2.8 para realizar la extracción con un volumen de 20 ml de acetato de etilo, por tres veces consecutivas. Se tomó la fase orgánica y se llevó a sequedad en rotovapor, el residuo se resuspendió en metanol. Para comprobar la presencia de las fitohormonas en los extractos se realizó una cromatografía en capa fina, en placas de Sílica gel 60 F254. En cada carril se colocaron 20 µl de los extractos, como control positivo se usó estándar de AIA.

El ensayo de germinación *in vitro* de semillas de trigo se desarrolló en una cámara húmeda con la metodología propuesta por Mia *et al.*, 2010¹⁰. La cámara húmeda consistió en colocar papel filtro de poro mediano estéril dentro de cajas Petri desechables, posteriormente, el papel filtro se humedeció con dos ml de agua destilada estéril.

Las semillas de trigo (*Triticum* sp.), fueron desinfectadas superficialmente, con una solución de hipoclorito de sodio al 1%, por inmersión durante dos minutos. Posteriormente fueron enjuagadas cinco veces con agua destilada estéril y se secaron a temperatura ambiente. Una vez secas, treinta semillas de trigo se sumergieron durante 20 minutos en el tratamiento correspondiente con una suspensión bacteriana de 1 x 10⁸ UFC/ml. Posteriormente se colocaron diez semillas en cada cámara húmeda. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado. Como control negativo se colocaron las semillas en caldo nutritivo estéril. Las placas fueron incubadas en oscuridad a 30°C durante 120 horas.

Transcurrido el tiempo de incubación se registró el número de semillas germinadas y la longitud total de la plántula, para calcular el índice de vigor con la siguiente ecuación:

IV=%Germinación x Longitud plántula (cm)

RESULTADOS

Las cuatro rizobacterias aisladas en medio King B son bacilos Gram negativo. Las colonias son de forma circular y de color beige con un tamaño de 1 mm. La superficie es lisa brillante. CIBA 1 es plana y los tres restantes son convexas. Sus bordes son lisos y tienen un aspecto mucoso y consistencia cremosa, a excepción de CIBA1 q tiene una consistencia seca (tabla 2).

La evaluación *in vitro* de la resistencia de las rizobacterias a siete agroquímicos mostro que las cuatro bacterias evaluadas fueron capaces de crecer en presencia de los agroquímicos a concentraciones superiores a la dosis recomendada, en comparación con el control, que en la mayoría de casos fue inhibido (Tabla 3).

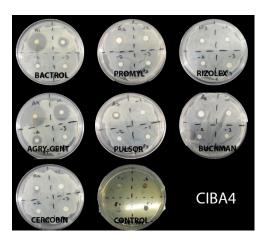
Tabla 2. Morfología colonial de las bacterias aisladas

Clave	Forma	Color	Tamaño (mm)	Superficie	Elevación	Borde	Aspecto	Consistencia
CIBA1	Circular	Beige	1	Lisa brillante	Plana	Liso	Mucoso	Seca
CIBA2	Circular	Beige	1	Lisa brillante	Convexa	Liso	Mucoso	Cremosa
CIBA3	Circular	Beige	1	Lisa brillante	Convexa	Liso	Mucoso	Cremosa
CIBA4	Circular	Beige	1	Lisa brillante	Convexa	Liso	Mucoso	Cremosa

Tabla 3. Resistencia de las cuatro rizobacterias a siete agroquímicos

		BΑ	СТ			PR	ОМ			RIZ	ZOL			ΑC	3RY	,		PΙ	JLS			Вι	JCK			CE	RC	C
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
CIBA1	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
CIBA2	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
CIBA3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
CIBA4	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
CTRL	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
+: Resisten	ncia		: Inh	ibición					1	:1X	- 2	2:10X	3:10	00X	4:1	000X												

Figura 1. Evaluación in vitro de la resistencia de las cuatro rizobacterias a siete agroquímicos



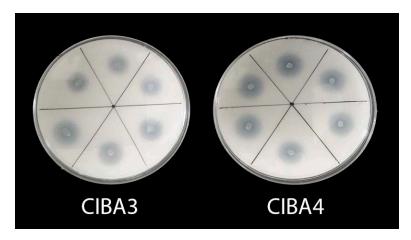
La evaluación *in vitro* de las cuatro rizobacterias para solubilizar fósforo se realizó mediante el índice de solubilización de fósforo (tabla 4). Las medias fueron comparadas por el método de HSD de Tukey, con una confianza del 95%. En la tabla se muestra que el PSI de la rizobacteria CIBA 1 y CIBA 2 es de 2.17 y 2.41, respectivamente. Y entre ellas no existe una diferencia estadística significativa. Lo mismo ocurre para CIBA 3 y CIBA 4 que tienen un índice de 3.25 y 3.07, respectivamente.

Tabla 4. Índice de solubilización de fósforo de las cuatro rizobacterias

Clave	PSI
CIBA1	2.17±0.09 a
CIBA2	2.41±0.04 a
CIBA3	3.25±0.28 b
CIBA4	3.07±0.32 b

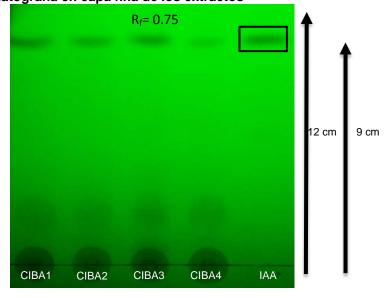
*Letras diferentes son significativas

Figura 2. Solubilización de fósforo inorgánico en Medio NRBIP de las bacterias CIBA 3 y CIBA 4



Se evaluó la producción de ácido indol-3-acético en cada uno de los cultivos bacterianos. Las placas cromatográficas fueron reveladas en luz uv de onda corta (254nm), lo que mostró la presencia de una banda con el mismo factor de retención que el estándar de ácido indol-3-acético, lo que confirma que las cuatro bacterias son capaces de biosintetizar la fitohormona a partir de su precursor, el aminoácido L-Trp.

Figura 3. Cromatografía en capa fina de los extractos



En la tabla 5 se muestran el porcentaje de incremento de tamaño de plántula con respecto al control y el índice de vigor en el ensayo de germinación en semillas de trigo. Las cepas CIBA1 y CIBA3 fueron capaces de promover el crecimiento de la plántula en un 16% y 19% respectivamente, en comparación al control. Estas cepas también mostraron ser diferentes estadísticamente al control de acuerdo a la prueba de Tukey, con una confianza del 95%.

Tabla 5. Ensayo de germinación in vitro

Clave	Longitud (cm)	Incremento	Índice de Vigor	
Control	7.76	-	668.3± 25.41	а
CIBA1	9.01	16%	872.66±56.06	С
CIBA2	7.61	-2%	712.33±54.04	ab
CIBA3	9.35	19%	837.66±37.65	bc
CIBA4	7.10	-8%	639.00±34.96	а

^{*} Letras diferentes son estadísticamente diferentes

CONCLUSIONES

Las cuatro bacterias aisladas mostraron una resistencia a por lo menos 5 agroquímicos con concentración 10X y en algunos casos de 1000X la dosis recomendada. El control *B. subtilis* únicamente resiste Rizolex®, Pulsor®, Buckman® y Cercobin®, en todos los casos a 1X concentración.

De igual manera las cuatro bacterias poseen la capacidad de solubilizar fósforo inorgánico y biosintetizar la fitohormona, ácido indol-3-acético, dos de los mecanismos que son principalmente responsables de promover el crecimiento vegetal de manera directa¹¹. Por otra parte, solamente dos bacterias aisladas, CIBA1 y CIBA3, fueron capaces de mostrar un efecto positivo en el experimento *in vitro*, promoviendo el crecimiento en un 16% y 19% respectivamente, en comparación al control. Debido a lo anterior se concluye que las bacterias aisladas y probadas tienen el potencial para ser usados en formulaciones de bioestimulantes y ser usados en suelos con alta concentración de agroquímicos (plaguicidas), sin embargo, se requieren más pruebas a nivel invernadero y campo.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Muñoz-Leoz, B., Garbisu, C., Charcosset, J.-Y., Sánchez-Pérez, J. M., Antigüedad, I., & Ruiz-Romera, E. "Non-target effects of three formulated pesticides on microbially-mediated processes in a clay-loam soil" *Science of The Total Environment*, Vol. 449, 2013, pp. 345–354.
- 2. Ahemad, M., & Khan, M. S. "Pseudomonas aeruginosa strain PS1 enhances growth parameters of greengram [Vigna radiata (L.) Wilczek] in insecticide-stressed soils", *Journal of Pest Science*, Vol *84*(1), 2011, pp. 123–131.
- 3. Ahemad, M., & Kibret, M. "Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective", *Journal of King Saud University Science*, Vol.26(1), 2014, pp. 1–20
- 4. Ahmad, M., Akhtar, M. F.-Z., Jamil, M., Latif, M., Ahmad, I. "Pesticide tolerant plant growth promoting rhizobacteria isolated from rhizosphere of okra", *Soil & Environment*, Vol. 32(2), 2015, pp. 111-118
- 5. Kumar, A., Maurya, B. R., & Raghuwanshi, R. "Isolation and characterization of PGPR and their effect on growth, yield and nutrient content in wheat (Triticum aestivum L.)". Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, Vol 3(4), 2014, pp. 121–128.
- Khalid, A., Arshad, M., & Zahir, Z. a. "Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat". Journal of Applied Microbiology, Vol.96(3), 2004, pp. 473–480.
- 7. Drouin, P., Sellami, M., Prévost, D., Fortin, J., & Antoun, H." Tolerance to agricultural pesticides of strains belonging to four genera of *Rhizobiaceae*", *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, Vol. *45*(8), 2010, pp. 757–765.

- 8. Nautiyal, C. S. "An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms" *FEMS Microbiology Letters*, Vol. *170*(1),1999, pp. 265–270.
- 9. Karadeniz, A., Topcuoğlu, ş. F., & İnan, S. "Auxin, Gibberellin, Cytokinin and Abscisic Acid Production in Some Bacteria", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol, 22(10), 2006, pp.1061–1064.
- 10. M.A. Baset Mia. "Effects of rhizobia and plant growth promoting bacteria inoculation on germination and seedling vigor of lowland rice". *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, Vol. 11(16), 2012, pp. 3758-3765
- 11. Lugtenberg, B., & Kamilova, F. "Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria" *Annual Review of Microbiology*, Vol. *63*(1), 2009, pp. 541–556.

EVALUACIÓN DE UN HIDROLIZADO DE MICROALGAS EN EL EFECTO DE PROLIFERACIÓN DE YEMAS DE CUNA DE MOISÉS (SPATHIPHYLLUM UXPANAPENSE).

Verónica Gómez -Entzin, Antonia Gutiérrez -Mora y Nutan Prasad -Rout.

Unidad de Biotecnología Vegetal, CIATEJ, AC. Camino Arenero 1227, El bajío del arenal, C.P.45019, Zapopan, Guadalajara, Jalisco, México.

E-mail Tutor Académico: nutan@ciatej.mx

RESUMEN

Las microalgas contienen fitohormonas y otros compuestos que modifican el crecimiento de las plantas in vitro e in vivo¹. Spathiphyllum sp. es una planta ornamental que ha cobrado una gran importancia comercial². Sin embargo, el potencial hidrolizado de algas como bioestimulante, no ha sido explotado completamente en su acción para incrementar el crecimiento de plantas. En evaluó el desarrollo V producción de Spathiphyllum uxpanapense mediante el efecto del hidrolizado de algas en diferentes concentraciones (0, 5, 10, 20, 30 y 40%) en diversos tratamientos: Aqua más extracto, en combinación del medio de cultivo MS (Murashige y Skoog); MS más la adición de Bencilaminopurina (BAP). Los resultados mostraron que en presencia del hidrolizado de algas (5 y 10%) ya sea en combinación con MS y MS + BAP estimuló el vigor, crecimiento de yemas y grosor de las raíces, sin embargo, no presentó efecto significativo en el aumento de proliferación de yemas axilares. Lo que se sugiere que el extracto de algas podría usarse como un nuevo inductor para la producción de raíces en condiciones in vitro para Spathiphyllum uxpanapense.

INTRODUCCIÓN

Las algas marinas y productos derivados de algas han sido ampliamente utilizados como enmiendas en los sistemas de producción de cultivos debido a la presencia de compuestos estimuladoras del crecimiento de plantas. Aunque muchos de los diversos componentes químicos de los extractos de algas marinas y sus modos de acción permanecen desconocidos, es posible que estos componentes exhiban actividad sinérgica, Sin embargo, el potencial bioestimulador de muchos de estos productos no ha sido explotado completamente debido a la falta de datos científicos sobre los factores de crecimiento presentes en las algas marinas y su modo de acción para el crecimiento de las plantas. Se ha demostrado que los extractos celulares y el medio de crecimiento de varias especies de microalgas contienen fitohormonas (giberelinas, auxina y citoquinina), que se sabe que desempeñan un papel crucial en el desarrollo de las plantas. Estos compuestos generalmente modifican el crecimiento de las plantas y los patrones de desarrollo, ejerciendo así una profunda influencia en varios procesos fisiológicos, las microalgas tienen efectos positivos en el crecimiento de plantas y es posible fuente potencial como un bioestimulador, es indispensable verificar si el uso de este extracto podría beneficiar y mejorar la proliferación de la especie Spathiphylum uxpanapense en cultivo in vitro. Esta planta tiene un gran valor ornamental ya que ha tenido una gran aceptación como una planta de interior y exterior en sombra por su abundante follaje y exotismo de sus flores, debido a esto es de interés comercial, pero su periodo de crecimiento es largo, no se cuenta con semilla de calidad adecuada y el número de brotes es poco, por lo que hay que recurrir a nuevas alternativas la propagación in vitro posibilita la obtención de grandes cantidades de plantas, a partir de yemas axilares es la forma más rápida de proliferación de brotes

TEORÍA

Los extractos de algas marinas se usan como suplementos nutricionales, bioestimulantes o biofertilizantes en la agricultura y horticultura³. Los bioestimulantes se definen como "materiales, distintos de los fertilizantes, que promueven el crecimiento de las plantas cuando se aplican en pequeñas cantidades" y también se denominan "mejoradores metabólicos" ^{4.} Las algas marinas son multicelulares macroscópicas y sus extractos contienen macronutrientes, micronutrientes, aminoácidos, vitaminas, citoquininas, auxinas, giberelinas, carbohidratos, betaínas y sustancias de crecimiento similares a ácido abscísico⁵. Estos compuestos generalmente modifican el crecimiento de las plantas y los patrones de desarrollo, ejerciendo así una profunda influencia en varios procesos fisiológicos^{1.}Los informes anteriores han puesto de manifiesto la importancia de los extractos de algas marinas y su utilización con resultados significativos sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, la germinación de semillas⁶, la propagación en masa in vitro⁷, el mejoramiento del rendimiento y la calidad de la fruta⁷, el desarrollo profundo de las raíces⁸ y el aumento de la producción de metabolitos secundarios9. Actualmente, se utilizan diferentes procesos de extracción para obtener estimulantes de algas marinas. Dependiendo del proceso de producción, los productos de algas marinas pueden clasificarse como extractos o suspensiones. El término "extracto" se utiliza para productos que se producen con algunos productos químicos para hidrolizar el alga, mientras que el término "suspensión" se refiere a aquellos productos que se producen sin productos químicos¹⁰. Además se sugiere que la hidrólisis de algas, los polisacáridos se degradan a oligosacáridos que pueden actuar como inductores metabólicos que desencadenan las respuestas fisiológicas mencionadas anteriormente 11. La mayoría de los extractos comerciales se producen por hidrólisis alcalina utilizando hidróxido de sodio, carbonato de sodio o carbonato de potasio¹². Las extracciones se pueden llevar a cabo en condiciones alcalinas, neutras o ácidas¹³. Los oligosacáridos formados por el proceso de hidrólisis alcalina pueden ser reconocidos en la pared celular de la planta y actúan como moléculas de señalización, induciendo la respuesta para producir algunos compuestos fitoguímicos¹¹.

Los extractos de algas marinas son bioactivas a bajas concentraciones (diluido como 1: 1000 o más) 14. Aunque muchos de los diversos componentes químicos de los extractos de algas marinas y sus modos de acción permanecen desconocidos, es posible que estos componentes exhiban actividad sinérgica¹⁵. Algunas microalgas son ricos en proteínas, vitaminas, reguladores de crecimiento, minerales y carotenoides, antioxidantes que pueden ayudar a proteger las células de daños¹⁶, también pueden ser útiles ya que tienen la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico al suelo y este nitrógeno es útil para los cultivos. Debido a la importancia del papel desarrollado por estos compuestos para el crecimiento de las plantas es importante la detección de éstos, con métodos analíticos químicos, o colorimétricos ya que se podría llegar a evaluar la viabilidad y efectividad de distintos productos¹⁷. La planta modelo es Spathiphyllum uxpanapense perteneciente al género Spathiphyllum que comprende 47 especies, de las cuales, el 94% se encuentran en el neotrópico, sus límites van desde México hasta el norte de Bolivia y Brasil. El nombre de la especie, Uxpanapense, alude a la región donde fue descubierta, es decir la zona del Uxpanapense en el municipio de Hidalgotitlán, es perteneciente a la Familia: Araceae. Es una planta perenne de tallos cortos, peciolos alargados envueltos en la base por hojas lanceoladas, lisas, de color verde oscuro y nervaciones prominentes en el envés, esta planta tiene un gran valor ornamental ya que ha tenido una gran aceptación como una planta de interior y exterior en sombra por su abundante follaje y exotismo de sus flores, debido a esto es de interés comercial¹⁸. La demanda de Spathiphyllum es durante todo el año, por ello se recurre a nuevas alternativas, la propagación *in vitro* a partir de yemas axilares posibilita la obtención de grandes cantidades de plantas y es la forma más rápida de proliferación de brotes. Por tanto, el objetivo de este estudio es evaluar el desarrollo y producción de yemas axilares de *Spathiphyllum uxpanapense* mediante el efecto del extracto hidrolizado *de Spirulina*.

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención del material vegetal

Para la producción de brotes se utilizaron explantes (yemas axilares) de *Spathiphyllum uxpanapense*, cultivar Callisto, provenientes de plantas establecidas *in vitro* del laboratorio de Biotecnología Vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ).

Medio de cultivo

Los explantes se sembraron en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) suplementado con 30 g L⁻¹ de sacarosa. El regulador de crecimiento vegetal utilizado para inducir la formación de brotes fue la citocinina 6-bencilaminopurina (BAP) y Phytagel® (SIGMA) (8 g L⁻¹) como agente gelificante, los medios se ajustaron a un pH de 5.8 con NaOH al 1 N y HCl 0.1 N, según se requirió. Finalmente se esterilizó en la autoclave a 121 °C por 20 min.

Obtención del extracto hidrolizado (EH) de microalgas.

La obtención del EH se llevó a cabo por hidrólisis alcalina y ácida. Para la hidrólisis alcalina se prepararon 3 soluciones de hidróxido de potasio y para la hidrólisis ácida se preparó 3 soluciones de ácido sulfúrico, ambas con las mismas concentraciones, posteriormente se tomó una determinada cantidad de las 3 soluciones de hidróxido de potasio y las 3 soluciones de ácido sulfúrico, se le agregó polvo de microalga y fue sometido a tratamiento térmico, se procedió a centrifugar las muestras y recuperar el sobrenadante, se neutralizó el pH con soluciones de hidróxido de sodio e hidróxido de amonio. Posteriormente se realizó el análisis del rendimiento de las hidrólisis ácida y alcalina, determinando macroelementos y microelementos llevados a cabo en la Unidad de Servicios Analíticos y Metrológicos del CIATEJ.

Bioensayo de toxicidad del extracto hidrolizado de microalga.

Para el bioensayo de toxicidad se preparó soluciones del EH a diferentes porcentajes (0-100%) aumentado de 10 en 10 porcentualmente, dando un total de 10 tratamientos, como testigo se usó

agua destilada. Se utilizaron plantas provenientes de la propagación *in vitro* y se evaluaron cada 30 d, la variable evaluada fue el porcentaje de sobrevivencia.

Evaluación del efecto del EH de microalga en el desarrollo y proliferación de brotes en Spathiphyllum uxpanapense.

Se realizó la preparación de medios (Tabla 1) suplementados con el EH de microalga con porcentajes de (0-40%) aumentado de 10 en 10 porcentualmente. Los medios sólidos (agua, MS, MS con BAP) se hicieron solas y en combinación con el EH con 5 repeticiones cada uno, los medios sin el EH fueron usados como controles respectivos para el análisis. Los medios se ajustaron a un pH de 5.8, y se esterilizaron, para el establecimiento de los cultivos se utilizaron tubos de ensayo, con 10 mL del medio de cultivo estéril, se sembró una yema axilar por cada frasco. Las condiciones del cuarto de incubación para los explantes fueron: 25 ± 2°C, con un fotoperiodo de 16/8 h (luz/oscuridad). Los tubos de ensayo permanecieron 3 meses y 8 días, los explantes se revisaron cada 30 d evaluando el número de brotes, número de raíces, número de hojas. Al final del experimento se evaluó la altura de la planta, el grosor de raíz, porcentaje de sobrevivencia y el contenido de clorofila a, b y caroteno.

Tabla 1. Composición de medios suplementado con diferentes porcentajes de extracto hidrolizado (EH) de *Spirulina*.

Tratamientos	Medio 1	Medio 2	Medio 3
Control	Agua + EH (0)	MS + EH (0)	MS + BA + EH (0)
T1	Agua + EH (5)	MS + EH (5)	MS + BA + EH (5)
T2	Agua + EH (10)	MS + EH (10)	MS + BA + EH (10)
Т3	Agua + EH (20)	MS + EH (20)	MS + BA + EH (20)
T4	Agua + EH (30)	MS + EH (30)	MS + BA + EH (30)
T5	Agua + EH (40)	MS + EH (40)	MS + BA + EH (40)

Extracción de clorofila

Se utilizó una repetición de cada tratamiento, se cortó en pequeños trozos el explante, se pesaron 20 mg de tejido y se colocó en tubos de ensayo, se le agrego 2 mL de metanol absoluto, y se dejó a completa obscuridad por un tiempo de 24 horas a 4°C. Se realizó las lecturas de las muestras en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 666 nm para determinar el contenido de clorofila a, 653 nm para el contenido de clorofila b y para el contenido de caroteno a 470 nm.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando el programa STATGRAPHICS Centurión XVI versión 16.1.03 con un intervalo de confianza del 95% a fin de establecer diferencias significativas entre tratamientos (α =0,05). Se utilizó el análisis estadístico ANOVA de un solo factor y prueba LSD.

RESULTADOS

Análisis del rendimiento de la hidrólisis ácida y alcalina

Los datos obtenidos en el análisis del rendimiento de la hidrólisis ácida y alcalina se determinó la cantidad de los elementos mayores y menores, posteriormente se seleccionó la 3 solución de hidrolisis alcalina porque se encontró mayor cantidad de los minerales de interés en comparación con el resto de las soluciones (Tabla 1).

Tabla 1. Análisis del rendimiento de los minerales extraídos de *Spirulina* sp. a partir de la hidrólisis ácida y alcalina a diferentes concentraciones.

Elementos	H.acida 0.4 M	H.acida 0.6 M	H.acida 1 M	H.alcalina 0.4 M	H.alcalina al 0.6 M	H.alcalina al 1 M	Unidades
Fosforo	971,1	336	874,3	1851	576,9	1798	mg/kg
Calcio	53,39	37,71	42,47	38,59	48,92	59,68	mg/kg
Magnesio	133,2	108,9	107	40,96	34,69	45,02	mg/kg
Azufre	13410	14370	23160	244,5	258	309,2	mg/kg
Potasio	1721	979,8	1610	12570	9989	38520	mg/kg
Fierro	7,4	9,82	8,38	10,05	7,3	10,96	mg/kg

Bioensayo de toxicidad del extracto hidrolizado de microalgas en el cultivo *in vitro* de *Spathiphyllum uxpanapense*.

Se registraron los datos visuales que se obtuvieron en el bioensayo de toxicidad del EH de microalgas. En los primeros 15 d después del establecimiento se observó clorosis en las hojas de *Spathiphyllum uxpanapense*, únicamente en los porcentajes mayores a 40% de extracto, posteriormente al cumplir los 30 d se volvió a observar y las hojas que estaban cloróticas en los primeros 15 d, presentaban necrosis y algunos muerte total de la planta (Fig. 2).



Fig. 2 Exposición de las yemas axilares de *Spathiphyllum uxpanapense* en los diferentes porcentajes de extracto (0-100%), a) siembra de la yema axilar 1 d, 15 d después de la siembra (b), yemas axilares expuestas a (0%-40%) de extracto a los 30 d (c) y d) yemas axilares expuestas a 50-100% de extracto a los 30 d.

Efecto del EH de microalgas en el crecimiento y desarrollo de Spathiphyllum uxpanapense.

La evaluación del EH se realizó a partir de explantes de yema axilar, el análisis de cada tratamiento se llevó a cabo en cinco repeticiones. Las observaciones se realizó cada (30 días), los explantes presentaron efectos tóxicos en las hojas, sobre todo en concentraciones mayores a 30%, mientras que las de bajas concentraciones se encontraban en buen estado. Los resultados de los análisis estadísticos para la altura de las plantas en los tratamientos en el medio uno (M1), medio dos (M2) y en el medio tres (M3) no tuvieron un efecto significativo en el crecimiento de la planta, en la comparación de medias para los tres medios se encontró que son estadísticamente iguales, la evaluación de número de raíces en los tres medios el ANOVA indicó que tuvieron un efecto altamente significativo, el M1 con porcentaje de EH al 5% obtuvo mayor número de raíces, en comparación con el control, para el M2 si hubo presencia de raíces en los tratamientos, sin embargo el control presentó mayor número de raíces. El M3 con 5% de EH obtuvo mayor número de raíces en comparación con el resto de los tratamientos. Lo que nos indica que el EH solo o en combinación con MS o MS + BA en porcentajes bajos ayuda a la proliferación de raíces, mientras que en altas concentraciones parece tener muy bajos o nada de efectos en el crecimiento de raíces (Fig.3). En cuanto al grosor de raíces se encontró un efecto significativo en los tres medios evaluados, M1 suplementado con 5% y 10% de EH, el M2 suplementado con 10% de EH y M3 con 5 % de EH, fueron los que tuvieron mejor grosor de raíz, en comparación con el resto de los tratamientos, lo que nos indica que el EH solo o en combinación con MS y MS + BA tienen un buen efecto en el grosor de raíces en comparación con el control (Fig.3). El número de hojas en el M1 presentò diferencia significativa entre los tratamientos con 5% y 20% de EH, sin embargo el control superó a los 2 tratamientos mencionados, el M2 no presentó diferencia estadística, en el M3 se encontró diferencia estadística, el 5 % de EH presento mayor número de hojas en comparación con el resto de los tratamientos. En los tres medios evaluados para el número de hojas, el control supero a todos los tratamientos sin embargo, se observó en el M3 el 5% de EH las hojas eran más grandes. Para la proliferación de brotes en los tres medios evaluados, se observó que en el M1 y M2 no presentó brotes sin embargo en el M3 si hubo crecimiento de brotes y fue estadísticamente significativo, el control obtuvo el mayor número de brotes en comparación con el EH de 5 %, lo que nos indica que el extracto de 5% da más origen a raíces y disminuye el número de brotes aun suplementado con BA (Fig.3). El análisis estadístico para el porcentaje de sobrevivencia para los tres medios fueron estadísticamente significativos, los porcentajes de 5, 10 y 20 % presentaban mayor sobrevivencia mientras que en 30 y 40% disminuía el porcentaje de sobrevivencia (Fig.3).

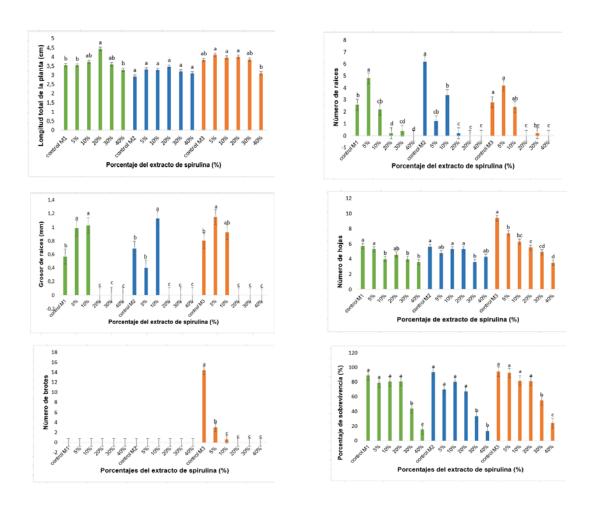


Fig. 3 Parámetros de crecimiento de las plantas *Spathiphyllum uxpanapense* cultivados en M1 agua (agua + EH), M2 MS (MS + EH), M3 MS+ BA (MS+ BA + EH). Utilizando la prueba Tukey HSD. Grupos con la misma letra no son significativamente diferentes. α =0.05

Análisis de la extracción de la clorofila

Los resultados de la extracción de clorofila a, en los tres medios no fueron estadísticamente significativos (Fig. 5), sin embargo en el M1 hubo mayor contenido de clorofila a en el porcentaje de 20% de EH, en comparación con el control donde hubo menos contenido de clorofila a, para el contenido de clorofila b se encontró mayor cantidad en el control y en el porcentaje de EH al 5%, y se encontró menos en el de 20%, para el contenido de caroteno hubo mayor cantidad en el

porcentaje de 20% y menos cantidad en el control y el de 5% de extracto. En el M2 se encontró mayor cantidad de clorofila a en el porcentaje de 5%, y hubo menos cantidad en el EH de 10 %, para la clorofila b se encontró mayor cantidad en el EH de 40%, pero la gráfica nos indica que no se observa mucha diferencia del contenido de clorofila b, para el caroteno se encontró mayor cantidad en el porcentaje de 5 % de EH, en el M3 el contenido de clorofila a y b, no se observó mucha diferencia y en el contenido de caroteno hubo mayor cantidad en el EH de 40 % y menos cantidad en el de 20%, lo que nos indica que a mayor cantidad de clorofila a, hay menor cantidad de clorofila b y Caroteno.

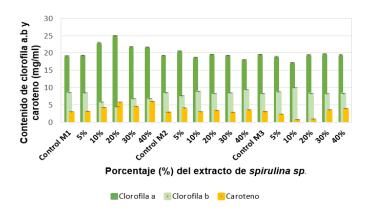


Fig.4 Contenido de clorofila a, b y Caroteno de las plantas *Spathiphyllum uxpanapense* cultivados en M1 agua (agua + EH), M2 MS (MS + EH), M3 MS+ BA (MS+ BA + extracto hidrolizado).

CONCLUSIONES

Los resultados mostraron que no presentó efecto significativo en el aumento de proliferación de yemas axilares, sin embargo ayudo a la proliferación de raíces, en presencia del hidrolizado de microalgas al (5 y 10%) ya sea en combinación con MS y MS + BAP, estimuló el vigor, crecimiento de yemas y grosor de las raíces. Lo que se sugiere que el extracto de *algas* podría usarse como un nuevo inductor para la producción de raíces en condiciones *in vitro* para *Spathiphyllum uxpanapense*, aunque faltan más investigaciones al respecto.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. A. Santner, L. V. Calderon, M. Estelle, "Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth", Nat Chem Biol Vol.5, 2009, pp. 301–307.
- 2. Y.H. Dewir, D. Chakrabarty, E. J. Hahn and K. Y. Paek, "A simple method for mass propagation of Spathiphyllum Cannifolium using on airlift bioreactor", In vitro cell. Dev. Biol.-Plant Vol.42, 2006, pp. 291-297.
- 3. R.M. Hernández, F. Santacruz, M.A. López, J. Norrie, G. Carmona, "Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.)", J Appl Phycol vol.26, 2013 pp. 619–628
- 4. X. Zhang, R.E. Schmidt, "The impact of growth regulators on the a-tocopherol status in water-stressed *Poa pratensis* L.", Int. Turfgrass Soc. Res. J vol.8, 1997 pp. 1364–1373.
- 5. K.R.R. Rengasamy, M.G. Kulkarni, W.A. Stirk, J.V. Staden," Eckol—a new plant growth stimulant from the brown seaweed *Ecklonia maxima*", J Appl Phycol vol.27, 2015 pp. 581–587.
- 6. G. Kumar and D. Sahoo, "Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold" J Appl Phycol vol.23, 2011, pp.251-255.

- 7. S. Vinoth, P. Gurusaravanan, N. Jayabalan, "Effect of seaweed extracts and plant growth regulators on high-frequency in vitro mass propagation of *Lycopersicon esculentum* L (tomato) through double cotyledonary nodal explants", J Appl Phycol vol.24, 2012, pp. 1329–1337.
- 8. M.M. Anisimov, E.L. Chaikina, "Effect of seaweed extracts on the growth of seedling roots of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) season al changes in the activity", Int J Curr Res Acad vol.2, 2014, pp. 19–23
- 9. T.L. Luz, F.Hennequart, M. Gaffney, "Enhancement of phenolic and flavonoid compounds in cabbage (*Brassica oleraceae*) following application of commercial seaweed extracts of the brown seaweed, (*Ascophyllum nodosum*)", Agric Food Sci vol.22, 2013, pp. 288–295.
- G. Blunden, "Agricultural uses of seaweeds and seaweed extracts. In:GuiryMD, BlundenG (eds)Seaweed resources in Europe: uses and potential", Wiley, Chichester, 1991, pp. 65–81.
- 11. N.P. Chandia, B. Matsuhiro, E. Mejias, A. Moenne, "Alginic acids in *Lessonia vadosa*: partial hydrolysis and elicitor properties of the polymannuronic acid fraction", J Appl Phycol, vol. 16, 2004, pp. 127–133.
- 12. J.S. Craigie, "Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture", J Appl Phycol vol. 23, 2011, pp. 371–393.
- 13. E. Booth, "The manufacture and properties of liquid seaweed extracts", Proc Int Seaweed Symp, vol 6, 1969, pp. 655–662.
- 14. I.J. Crouch, and J.V. Staden, "Evidence for the presence of plant growth regulators in commercial seaweed products", Plant growth regulation, vol.13 (1) 1993, pp. 21-29.
- 15. F. Fornes, M.S. Perales, J.L. Guadiola, "Effect of a seaweed extract on the productivity of 'de Nules' clementine mandarin and navelina orange", Bot Mar, vol.45, 2002, pp. 486–489.
- 16. E.W. Becker, "Development of Spirulina research in a developing country- india" Inst. Oceano, Monaco, special, 1993, pp. 49-57.
- 17. C. Peña, R. Arango, "Evaluation of ethanol production using recombinant strains of Saccharomyces cerevisiae from sugar cane molasses", Dyna vol.76, 2009, pp. 153-161
- 18. N.F.A. Cardona," Revisión taxonómica del genero Spathiphyllum (Araceae), para la flora de Colombia. Posgrado de biología, universidad de Antioquia apartado 1226, Medellín Colombia.

EVALUACION DE DIETAS ARTIFICIALES PARA ESTABLECER LA CRÍA DEL GUSANO COGOLLERO SPODOPTERA FRUGIPERDA (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

Mirna Gutiérrez Ochoa, Lucila Aldana Llanos, María C. Hernández Reyes.

Instituto Politécnico Nacional¹, Centro de Desarrollo del Productos Bióticos. E-mail migutierrezo@ipn.mx

RESUMEN

Spodoptera frugiperda es considerado un insecto de importancia económica por causar daños severos que van del 13% hasta 60%. El objetivo fue desarrollar una dieta artificial para la cría masiva de S. frugiperda en laboratorio que cumpla con los requerimientos nutricionales necesarios para su desarrollo, con el fin de ser utilizados en evaluaciones con bioinsecticidas. Se evaluaron cuatro dietas: 1) alubias, 2) alubias con salvado, 3) frijol peruano con salvado y 4) frijol peruano con salvado y vitaminas; todas las dietas complementadas con elementos nutricionales y agentes antmicrobianos a 26±1°C, HR 60±5% y 12:12 L-O. Utilizando un diseño completamente al azar con 90 larvas neonatas por tratamiento, las variables evaluadas fueron peso, desarrollo y mortalidad de larvas y pupas. Se realizó un análisis de varianza de una vía y se aplicó la prueba de Tukey. Los resultados obtenidos muestran que los pesos de larvas a los 10 días de las dietas 3 y 4 no difieren significativamente (0.081g y 0.077g) y si difieren en comparación con las dietas 1 y 2 (0.048g y 0.042g). Los pesos de pupas de las dietas 3 y 4 no difieren significativamente (0.193g y 0.235g) y si en comparación con las dietas 1 y 2 (0.177 y 0.176). La dieta artificial mas efectiva con menor porcentaje de mortalidad fue la dieta 3 con 4% de mortalidad total, en comparación con las dietas 1) 8.5%, 2) 21.0% y 4) 11%. La dieta 3 de frijol peruano más salvado, posee los nutrientes esenciales y las proporciones equilibradas para el crecimiento y desarrollo de S. frugiperda en condiciones de laboratorio.

INTRODUCCION

El maíz es un cultivo importante en el contexto socioeconómico de México, el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) es considerado una de las principales plagas del maíz en América ya que ocasiona grandes pérdidas económicas (SIAP, 2007). Para su control los agricultores han tenido que utilizar productos químicos sintéticos los cuales han tenido un papel importante en la producción agrícola, tales como los clorados, organofosforados y piretroides (Morales *et al.*, 2009). Sin embargo su uso continuo e indiscriminado ha causado a quienes lo usan enfermedades, intoxicaciones agudas, cáncer, daños celulares, efectos teratogénicos en el ADN (FAO, 2012; Baron y Angulo 2003) y muertes por envenenamiento a corto plazo, como también ha afectado al ambiente, acumulado por bioconcentraciones en los distintos eslabones de la cadena alimenticia, principalmente en el suelo y agua. Asimismo intoxicación de peces, aves y otros organismos (FAO, 2012; Baron y Angulo 2003). Por lo que es importante el control de este insecto, incorporando métodos alternativos para reducir el uso de insecticidas químicos, de acuerdo a la agricultura sostenible que evita en lo posible el uso de los agroquímicos. Para lo cual es importante tener la cría en condiciones de laboratorio

Las dietas artificiales confieren una ventaja fundamental con respecto a la alimentación natural, y es la independencia de los recursos naturales, lo cual permite tener una cría continua del insecto con la finalidad de ser utilizados para bioensayos en laboratorio para el estudio de su ecología, fisiología y comportamiento (Singh, 1983). El problema que se presenta cuando se trata de obtener una dieta para la cría adecuada de un insecto en el laboratorio es su contaminación por microorganismos; para combatirlos se utilizan agentes antimicrobianos, como el formaldehido, metil P-hidroxibenzoato, ácido sórbico (Singh, 1970). El objetivo fue desarrollar una dieta artificial para la cría masiva de *S. frugiperda* en laboratorio que cumpla con los requerimientos nutricionales necesarios para su desarrollo, con el fin de ser utilizados en evaluaciones con bioinsecticidas

PARTE EXPRIMENTAL

En las evaluaciones se utilizó como insecto blanco el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*, se inició la cría de *S. frugiperda* a partir de larvas colectadas en un campo de maíz ubicado en la zona de Yautepec, Morelos, México. Se alimentaron con hojas frescas, se trasladaron al laboratorio de Entomología del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CEPROBI-IPN), en donde se separaron individualmente en recipientes de plástico de 3.5 cm de alto por 4 cm de diámetro con tapa de rosca. Se les proporcionaron hojas tiernas de maíz manteniendo las larvas en una cámara incubadora marca Precision modelo 818 a una temperatura de $27\pm1^{\circ}$ C, humedad relativa de 60-70% y un fotoperíodo de 12-12 L-O. Las larvas puparon en estos mismos recipientes y al emerger los adultos fueron colocados en bolsas de papel encerado, a las cuales se les colocó una caja Petri de plástico de 10 cm de diámetro con algodón humedecido con solución azucarada al 10%, para su alimentación. Los adultos copulan y ovipositan en las paredes de las bolsas. Se utilizaron larvas de la segunda generación (F_2) para realizar las evaluaciones de las diferentes dietas.

Se evaluaron cuatro dietas la composición de cada una de ellas se muestra en la tabla 1, todas incluyeron agar (Bioxon), agua, ácido ascórbico, el cual se utilizó debido a que es un factor de crecimiento necesario para un desarrollo adecuado de los insectos fitófagos (Chippendale y Beck, 1964) y su deficiencia de este en insectos se asocia a anormalidades en la ecdisis (esclerotización). En un recipiente con aqua se dejó remojando el frijol y/o alubias durante 24 h, posteriormente se lavó y se molió en licuadora, una vez molido se le agregó el resto de los ingredientes. El agar se disolvió en 180 mL de agua y se colocó en un horno de microondas durante 2 minutos y se adiciona inmediatamente a la dieta. Preparadas las dietas se vaciaron a recipientes de plástico de 3.5 cm de alto por 4 cm de diámetro con tapa de rosca, una vez gelificadas y frías se colocaron individualmente las larvas neonatas, 90 por tratamiento y fueron colocadas en una cámara incubadora marca Precision modelo 818 a 27±1°C de temperatura, humedad relativa de 60-70% y fotoperíodo de 12-12 L-O, revisando diariamente. El diseño experimental fue completamente al azar, cada larva se consideró como unidad experimental. Las variables de respuesta fueron peso de larvas a los 10 días, desarrollo y mortalidad larval y peso de pupas. La mortalidad se calculó de acuerdo a la fórmula de Abbott (1925). A los datos se les aplicó análisis de varianza de una vía y prueba de medias de Tukey (0.05) con el programa Sigma Stat 12.5.

Tabla 1. Dietas artificiales evaluadas en laboratorio

Ingrediente	D1	D2	D3	D4
Alubias (g)	60.0	60.0		_
Frijol peruano (g)			60.0	60.0
Germen de trigo (g)	27.5	27.5	27.5	27.5
Salvado (g)		10.0	10.0	10.0
RuViOtic (g) (vitaminas de uso				3.0
veterinario)				
Levadura de Cerveza (g)	17.5	17.5	17.5	17.5
Ácido ascórbico (g)	1.75	1.75	1.75	1.75
Ácido sórbico (g)	0.55	0.55	0.55	0.55
Metil parahidroxibenzoato (g)	1.1	1.1	1.1	1.1
Agar (g)	7.5	7.5	7.5	7.5
Formaldehído al 10% (mL)	2.0	2.0	2.0	2.0
Agua para frijol (mL)	237	237	237	237
Agua para el agar (mL)	180	180	180	180

RESULTADOS

Se observó que con las cuatro dietas evaluadas se desarrolló *Spodoptera frugiperda* y completó su ciclo de vida, sin embargo como se observa en la Tabla 2, el peso promedio de larvas y pupas resultó mayor en los tratamientos 3 y 4, significativamente diferentes a los tratamientos 1y 2.

El mayor peso promedio de las larvas y pupas fue el de las dietas de peruano/salvado y peruano/vitaminas/salvado, mientras que las larvas y pupas con menor peso fueron las alimentadas con las dieta de alubias y alubias/salvado.

Tabla 2. Efecto de las dietas en el peso de larvas y pupas de Spodoptera frugiperda.

	Peso de larvas	Peso de pupas (g)	
Dietas	10 días (g)		
1) Alubias	0.0485±0.0371 b	0.177±0.0629 b	
2) Alubias/salvado	0.0427±0.0273 b	0.176±0.0332 b	
3) Peruano/salvado	0.0815±0.0378 a	0.193±0.0228 a	
4) Peruano/vitaminas/salvado	0.0776±0.0354 a	0.235±0.0301 a	

Medias dentro de las columnas seguidas con la misma letra no difieren significativamente, según prueba de Tukey.

Los resultados presentados en la Tabla 3. Indican que la duración en la etapa de larva-pupa con la dieta peruano/salvado fue de 27 días y con la de alubias/salvado de 33 días en promedio.

Tabla 3. Efecto de las dietas en el desarrollo larval y pupas de Spodoptera frugiperda

Dietas	Desarrollo larval días	Desarrollo pupas días
1) Alubias	21±3.7197 b	10±1.8770 a
2) Alubias/salvado	23±3.8767 a	10.±1.7035 a
3) Peruano/salvado	16±1.6057 c	11±1.9183 a
4) Peruano/vitaminas/salvado	20±0.6581 b	11±1.7085 a

Medias dentro de las columnas seguidas con la misma letra no difieren significativamente, según prueba de Tukey.

La mortalidad de las larvas alimentadas con la dieta de alubias fue 0% pero con esta dieta la mortalidad de pupas fue de 8.5 como se observa en la Tabla 4. También se muestra que con la dieta peruano/salvado la mortalidad total fue la más baja de los diferentes tratamientos con un 4%

Tabla 4. Porcentaje de mortalidad de larvas y pupas de Spodoptera frugiperda

DIETAS	Mortalidad Larval %	Mortalidad Pupas %	Mortalidad Total (Larvas y Pupas) %
1) Alubias	0.0	8.5	8.5
2) Alubias/salvado	5.5	15.5	21.0
3) Peruano/salvado	2.0	2.0	4.0
4)Peruano/vitaminas/salvado	3.5	7.5	11.0

CONCLUSIONES

Del análisis de resultados obtenidos de mayor peso de larvas y pupas y una menor mortalidad (4%) con la dieta de frijol peruano más salvado, se concluye que esta dieta posee los nutrientes esenciales y las proporciones equilibradas para el crecimiento y desarrollo de *S frugiperda* en condiciones de laboratorio para la realización de bioensayos en la evaluación de bioinsecticidas.

BIBLIOGRAFIA

- 1. Abbot, W. 1925. A method of computing the effectiveness o fan insecticida. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- 2. Baron, F. N., & J, M. Angulo. 2003. El gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda* Smith). Cartilla ilustrada No. 3 Cooperación Técnica CORPOICA, Universidad del Sinú, Colombia.
- 3. Chippendale, G.M. Y S.D. Beck. 1964. Nutrition of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hubn). V. Ascorbic acid as the corn leaf factor. Entomol. Exp. Appl., 7:241-248.
- 4. FAO. 2012. Los plaguicidas, en cuanto contaminantes del agua. (En línea). Disponible en http://www.fao.org/docrep/W2598S/w2598s06.htm.
- 5. Morales V, Garay B, Romero A, Sánchez J. 2009. Insecticidas biológicos en el control de insectos plaga: agrícolas, forestales, de almacén y urbanas en México. Artículo Científico. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.1-5 pp.
- 6. SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2007. Situación Actual y Perspectivas del Maíz en México 1996–2012. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). México, D.F. 208 p.

- 7. Singh, P. y H. L. House. 1970. Antimicrobials: "safe" levels in a synthetic diet of an insect, *Agria affinis*. J. Insect Physiol., 16:1769-1782.
- 8. Singh, P. 1983. A general purpose laboratory diet mixture for rearing insects. Insect Science and its application. 4(4) 357-362.

INCREMENTAR EL PORCENTAJE DE COLONIAS BACTERIANAS EN VACUNA EXPERIMENTAL DE CORIZA AVIAR

Gloria María González León, Carlos Eduardo Báez Estrada, Idalia de Jesús Ruíz García

Centro Universitarios de los Altos Universidad de Guadalajara

RESUMEN

Jalisco a nivel nacional aporta el 55% del total de huevo consumido, y la región de Los Altos del estado se posiciona como el principal productor en el país por el número de gallinas. Sin embargo, en los últimos años estas empresas han sufrido el embate de infecciones con microorganismos que han sufrido mutaciones genéticas y con ello resistencia, causando pérdidas económicas a la avicultura, haciendo necesario el desarrollo nuevas vacunas para la prevención. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar tres diferentes concentraciones vacunales contra el último serovar de Avibacterium paragallinarum (coriza aviar) encontrado en la región Altos sur. Para conocer el reto inmunogénico, tres diluciones de inoculo fueron elaboradas (1 x 10⁶, 1 x 10⁷ o 1 x 10⁸ UFC/mL) y se seleccionaron aves libres de anticuerpos maternos contra la enfermedad, animales que recibieron alimento y aqua para consumo ad libitum. Diez animales fueron asignados a cada uno de los tratamientos, aplicando 0.5 mL de vacuna experimental vía subcutánea en la parte cefálica el cuello. Las reacciones se monitorearon durante 21 días y los datos fueron analizados con la prueba estadística de X². Se observó un 100% de protección en las aves que fueron inmunizadas con la vacuna conteniendo 1 X 108 UFC/ mL de concentración microbiana. Por lo tanto, esta es recomendable para aves en producción que se encuentran localizadas en la región.

INTRODUCCIÓN

La avicultura como fuente de proteína en los últimos 30 años ha tenido un crecimiento importante a nivel mundial en países que por su cultura consumen constantemente productos de esta rama pecuaria. Además, en la actualidad estos países ocupan los primeros lugares en consumo y exportación de productos avícolas. En la producción de aves, como en cualquier otra explotación animal, los individuos están constantemente expuestos a microrganismos que pueden perjudicar su salud, y en consecuencia su productividad (Steinfeld y Chilonda, 2006). En cambio, en México existen regiones con un claro liderazgo en este sistema. Jalisco aporta el 55% del total de la producción de huevo a nivel nacional, y en particular la región de los Altos Sur se posiciona como el principal productor de huevo en el mercado. Lo anterior asociado con el hacinamiento de aves lo predispone a ser un medio de cultivo para microorganismos y por ello a nivel estatal las enfermedades se presentan en la región, por ejemplo, se observa frecuentemente la influenza aviar, viruela y coriza, según lo manifiestan los reportes del laboratorio Avilab, en relación a la demanda de sus clientes e investigaciones (Informador.Mx, 2011).

TEORÍA

En la Universidad del Estado de México se realizó el aislamiento de coriza, serovar C-1, identificándose como la última mutación de la bacteria *Avibacterium paragallinarum* (García-Sánchez *et al.*, 2015).

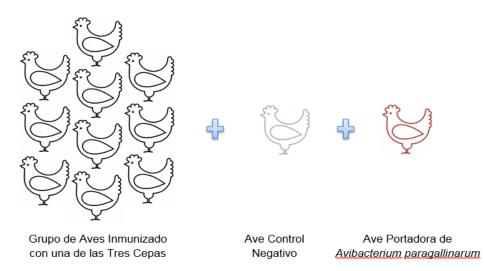
Además, Soriano-Vargas *et al.* (2012) en otra investigación, en gallinas de remplazo con coriza infecciosa, reportaron por primera ocasión la independencia de esta del factor V de crecimiento (NAD). Page (2015) clasificó las cepas con la técnica de aglutinación en placa demostrando que existían tres tipos a los que denominó A, B y C. Por lo tanto, por ser la investigación más reciente sobre la enfermedad, se tomará como referencia para posteriores modificaciones de esta variante del agente etiológico en las próximas vacunas de coriza para proteger a las aves y disminuir la probabilidad de una epidemia a nivel regional. El objetivo general fue evaluar el efecto de la concentración de *Avibacterium paragallinarum* en vacunas experimentales sobre la respuesta inmune de las aves.

PARTE EXPERIMENTAL

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio Avilab ubicado en Av. Porcicultores # 80, Tepatitlán de Morelos Jalisco, ubicado en latitud 20.798 y longitud -102.764 donde la temperatura media anual es 19°C. La prueba de protección de la vacuna experimental se realizó en Laboratorio de Investigación Pecuaria y Patológica S.A. de C.V. (LIPEPSA) con domicilio en Avicultores #47, código postal 47600, Tepatitlán de Morelos, Jalisco.

La bacteria *Haemophilus paragallinarum* se replicó en caldo de infusión cerebro corazón (ICC) con NADH (0.5%) según lo marca Soriano-Vargas y Terzolo (2004), con suero de caballo (3%) a una temperatura de 37°C y ambiente anaerobio, para incrementar la carga bacteriana. La concentración bacteriana en la vacuna fue medida a través de la luminosidad del caldo, utilizando un refractómetro y un método cuantitativo (cuenta viable) con el uso de dilución seriada de la muestra en agua, caldo o solución salina. La inoculación de la dilución en medio de cultivo sólido y la incubación durante 24-48 horas a la temperatura apropiada y en placa son métodos de estimación de bacterias viables en término de unidades formadoras de colonias (**UFC**).

Para conocer el reto inmunogénico, dos grupos de diez aves fueron asignados a cada una de las tres emulsiones elaboradas (1 x 10⁶, 1 x 10⁷ y 1 x 10⁸ UFC/mL), agregando un ave control negativo y otra portadora de la bacteria a cada uno, *a priori* se seleccionaron aves libres de anticuerpos maternos contra la enfermedad. Se les aplicó 0.5 mL de vacuna vía subcutánea en la parte cefálica el cuello. Las aves experimentales recibieron alimento y agua para consumo *ad libitum* durante todo el estudio. Las reacciones se monitorearon durante 21 días y los datos fueron analizados con la prueba estadística de X².

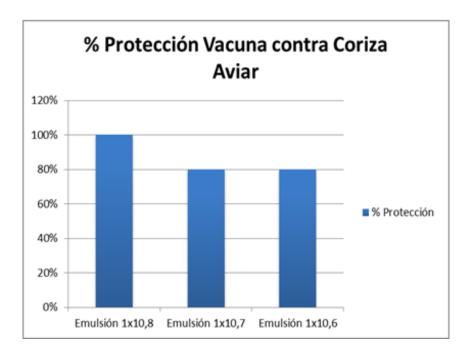


RESULTADOS

La protección de la emulsión 1 con concentración de 1 x 10⁸ Unidades Formadoras de Colonias/mL fue del 100%, generando una respuesta inmune que brinda protección al ave contra el ultimo serovar identificado en la región de la bacteria Avibacterium paragallinarum.

Dos grupos fueron inoculados con la vacuna experimental 1, y en ambos el resultado fue el mismo: protección a la población del 100%.

En cambio, la protección de las emulsiones con concentración de 1 x 10⁶ y 1 x 10⁷ UFC/mL fue del 80% de la población en los cuatro grupos.



CONCLUSIÓN

La protección es más eficaz al aumentar la concentración de bacterias por mililitro en la emulsión. El resultado fue satisfactorio para la prueba de 1 x 10⁸ UFC/mL que generó protección del 100% en la población, mientras que en las otras emulsiones con concentración de 1 x 10⁶ y 1 x 10⁷ UFC/mL brindaron protección al 80% de las aves, demostrando menor respuesta inmune.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. García-Sánchez, A., & et al. (26 de septiembre de 2015). *Phylogenetic Relationship of Serovar C-1 Isolates of Avibacterium paragallinarum*. Recuperado el 18 de septiembre de 2015, de http://www.aaapjournals.info/doi/abs/10.1637/10572-051413-ResNote.1.
- 2. Informador.Mx. (14 de Junio de 2011). Los Altos se posiciona como el primer productor de huevo en México. Recuperado el 22 de septiembre de 2015, de http://www.informador.com.mx/jalisco/2011/299606/6/los-altos-se-posiciona-como-el-primer-productor-de-huevo-en-mexico.htm.
- 3. Soriano Vargas, E., & Terzolo, H. R. (2004). *Haemophilus paragallinarum*: Etiología de la coriza infecciosa. *Vet. Méx.*, 245-259.

- 4. Soriano-Vargas, E., Sánchez-Morales, J., Morales-Erasto, V., & Gracía-Sánchez, A. (17 de septiembre de 2012). Aislamiento e identificación de Avibacterium paragallinarum NAD independiente (serovariedad C-1) en gallinas de reemplazo con coriza infecciosa. Recuperado el 23 de septiembre de 2015, de http://web.a.ebscohost.com/ehost/detail/detail?vid=2&sid=c675c9fe-009c-4df5-83a3-3724d3ab1efc%40sessionmgr4003&hid=4204&bdata=JnNpdGU9ZWhvc3QtbGl2ZQ%3d% 3d#AN=90061030&db=lth.
- 5. Steinfeld, H., & Chilonda, P. (2006). *Perspectiva Mundial*. Recuperado el 8 de septiembre de 2015, de ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a0255s/a0255s02.pdf.

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS PEZONES DE VACAS DEL MUNICIPIO DE VILLA JIMÉNEZ MICHOACÁN

Carlos Bedolla Cedeño, Rodolfo Lucio Domínguez, Ángel Raúl Cruz Hernández, Hugo Castañeda Vázquez, Valente Velázquez Ordoñez y Eduardo González Valdez

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. México

Centro de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara. Jalisco, México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México

Escuela de Químico-Farmacobiología

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. México.

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar las características morfológicas de los pezones en vacas del municipio de Villa Jiménez, Michoacán y determinar su impacto en la producción de leche y en la resistencia individual a infecciones intramamarias. Se evaluaron 276 cuartos de 69 vacas de la raza Holstein-Friesian, Jersey y Suiza, las cuales son explotadas bajo un sistema de producción semiintensivo a pequeña escala. La evaluación se hizo siguiendo un esquema subjetivo que describió tres diferentes formas de los pezones: embudo, cilíndrico y botella, y tres categorías para la forma de la punta de los pezones: redondeada, puntiaguda y plana. Los pezones delanteros y traseros, derechos e izquierdos, fueron observados de manera separada, antes del ordeño matutino. Se encontró una gran variabilidad en los pezones, la forma de pezón cilíndrico (44.57%), fue la de mayor aparición, seguido de la forma de embudo (32.97%) y botella (21.01%). En cuanto a la forma de la punta del pezón, la forma con mayor aparición fue la plana (44.57%), redondeada (32.97%) y puntiaguda (21.01%). El diámetro promedio para el total de los pezones fue de 52.12 mm, mientras que el promedio del largo para estos mismos fue de 123 mm. Se concluye que la forma del pezón identificado con mayor frecuencia fue el pezón cilíndrico, seguido de las formas embudo y botella, siendo los pezones de forma de embudo, el tipo de pezón más favorable en la producción de leche, observándose que los cuartos traseros son los más susceptibles a las infecciones intramamarias. En cuanto a la forma de la punta del pezón, los de mayor frecuencia fue la plana, seguida de las formas redondeada y puntiaguda. Considerando lo anteriormente expuesto, estos resultados obtenidos pueden ser utilizados en programas de mejoramiento genético para mejorar la salud de ubre.

INTRODUCCIÓN

Los bovinos lecheros tienen el sistema mamario más simple de todos los animales domésticos, el mismo consta de una abertura dentro del seno del pezón, que más arriba se comunica con el seno de la glándula, y donde se conecta a un gran número de túbulos mamarios provenientes del tejido secretorio. Sin embargo, aun cuando estos animales presentan un sistema mamario muy sencillo, son los más susceptibles a sufrir enfermedades en la glándula mamaria (Riera *et al.*, 2005).

La mastitis bovina es reconocida como una de las enfermedades que mayor pérdida económica causa en los rebaños lecheros (Rogers et al., 1991) y con una heredabilidad de 0.42 que se puede considerar alta (Nash y Rogers, 2000). A pesar del avance científico en la materia y de los esfuerzos que se realizan con la aplicación de medidas de control, tratamientos con antibióticos y nuevos procedimientos de ordeño esta patología es la razón principal de la eliminación de vacas

en hatos lecheros, estimándose en un 26.5%, lo cual va en detrimento del progreso genético alcanzado en un momento determinado (Chrystal *et al.*, 1999).

La morfología de los pezones, interviene en la capacidad de producción de leche y en consecuencia en la mastitis clínica de las vacas lecheras. Las diferencias anatómicas en las estructuras del pezón, especialmente la punta y el canal del pezón son asociadas con susceptibilidad a infecciones y reconocidas como parte del mecanismo de defensa pasiva contra la invasión de microorganismos porque impide la entrada de estos a la ubre. El tamaño, la forma del pezón y la morfología externa del canal del pezón se deben evaluar clínicamente, porque son considerados como factores de resistencia individual en la patogénesis de la mastitis bovina (Appleman *et al.*, 1972).

Cuando los conteos de células somáticas (CSS) son elevados se relacionan con la mastitis clínica, por lo tanto las características morfológicas del pezón, por ser de moderada a alta heredabilidad son criterios importantes en la evaluación y selección de bovinos lecheros para mejorar la producción de leche y tener bajos niveles en el CSS en el Hato (Miller *et al.*, 1992). Debido a la poca efectividad en los tratamientos contra la mastitis, además de las fuertes regulaciones por el uso indiscriminado de antibióticos ha llevado a buscar un mecanismo de defensa genético a través de la selección de vacas lecheras tomando en cuenta las características de la glándula mamaria.

El objetivo de esta investigación fue evaluar las características morfológicas de los pezones de las vacas del municipio de Villa Jiménez, Michoacán y determinar su impacto en la producción de leche y en la resistencia individual a infecciones intramamarias.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó de septiembre a noviembre de 2015, en las localidades de Caurio de Guadalupe y Caurio de la Rinconada, del municipio de Villa Jiménez, Michoacán. Se evaluaron 276 cuartos pertenecientes a 69 vacas de la raza Holstein, Jersey y Pardo Suiza; así como también cruzas de estas, las cuales se explotan bajo un sistema de producción extensivo e intensivo.

Las vacas que se encontraban bajo un sistema extensivo eran ordeñadas manualmente, el despunte era realizado mediante el amamantamiento con las crías, posteriormente se procedía al ordeño manual, sin realizar una limpieza a los pezones; por lo que la medición de los pezones se realizó antes del despunte.

Las vacas que se encontraban bajo un sistema de producción intensivo se ordeñaban con un sistema mecánico; la medición se realizó después de la limpieza de la ubre y antes del despunte. Los pezones para su evaluación, se dividieron de acuerdo a su ubicación anatómica en la glándula mamaria en: delantero izquierdo (DI), delantero derecho (DD), trasero izquierdo (TI), trasero derecho (TD).

Las puntas de los pezones se dividieron de acuerdo a su ubicación anatómica en: Delantero derecho (PDD), delantero izquierdo (PDI), trasero derecho (PTD) y trasero izquierdo (PTI). La forma del pezón se evaluó, en tres tipos de pezones: Embudo, Cilíndrico y Botella.

En la forma de la punta del pezón en: Redondeada, Puntiaguda y Plano. El largo del pezón se midió con un vernier desde la base de la ubre a la punta de la teta.

El diámetro del pezón se midió con un vernier en la parte más amplia del pezón antes del ordeño de la mañana. Las vacas de todos los rebaños estudiados eran ordeñadas dos veces al día con equipos mecánicos y manualmente, selladas después del ordeño.

Los datos obtenidos se vaciaron en una hoja de registro diseñada para el trabajo de campo, tomando como referencia el número de arete o nombre de la vaca (Riera et al., 2005)..

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 276 cuartos evaluados para caracterizar la forma del pezón, se observaron 17(6.15%) PDD en forma de embudo, 37 (1.40%) cilíndricos y 13 (4.71%) de botella. Además 2 cuartos (0.72%) eran ciegos. Los PDI se observaron de la siguiente manera: embudo 23 (8.3%), cilíndricos 32 (11.59%), botella 13 (4.71%) y ciegos 1 (0.36%). Con respecto a los PTD habían 26 (9.42%) con forma de embudo, cilíndricos 29 (10.50%),14 (5.07%) en botella; sin encontrarse cuartos ciegos. En los PTI se encontraron de la siguiente manera: 25 (9.05%) en embudo, 25 (9.05%) cilíndricos 18 (6.52%) botella y 1 (0.36%) ciego. La media general de la forma del pezón por vaca encontrada fue: 8.23% en embudo, 8.13% cilíndricos y 5.23% botella.

Forma de la punta de los pezones

Igual como se hizo con la forma del pezón, las observaciones para las puntas se hicieron de acuerdo con la ubicación anatómica de los pezones un la ubre y se comenzó con la PUDD, las cuales se observaron de la siguiente forma: 13 (4.71%) redondeadas, 17 (6.15%) puntiagudas, 36 (13%) planas y 2 (0.72%) eran cuartos ciegos. Las PUDI se cuantificaron 13 (4.71%) redondeadas, 22 (7.97%) puntiagudas, 33 (11.95%) planas y 1 (0.36%) cuartos ciegos.

En las PUTD, las redondeadas eran 14 (5.07%), puntiagudas 26 (9.42%), planas 29 (10.50%), no se encontraron cuartos ciegos. Las PUTI también se mantuvieron con poca variación al compararas con las anteriores 18 (6.52%) se observaron redondeadas, 25 (9.05%) puntiagudas, 25 (9.05%) planas y 1 (0.36%) cuarto ciego.

La media general para Forma de la punta del pezón por vaca fue: 5.25% redondeados, 8.14% puntiagudos, 11.12% planos.

Diámetro de los pezones

Esta medida también fue realizada en los 276 cuartos, en los PDD se encontró una media 25.79 mm, para los PDI una media de 26.89 mm, los PTD tenían media de 26.59 mm y finalmente los PTI midieron 25.98 mm.

Largo de los pezones

El largo del pezón se midió desde la base de la ubre hasta la punta de los mismos, observándose en los PDD una media de 62.20 mm, en los PDI la media es 64.26 mm, respecto a los pezones traseros las medidas fueron las siguientes: PTD media 60.92 mm, en los PTI 58.59 mm.

Siguiendo un esquema subjetivo de evaluación de acuerdo con la ubicación de los pezones en la glándula mamaria, la forma del pezón fue evaluada en las 69 vacas. Se caracterizaron los pezones en tres formas: en embudo, con frecuencia promedio de observación de 32.97%, cilíndricos y botella con medias de 44.56% y 21.01% respectivamente. Para estas características, la localización de los pezones en la ubre, no tuvo efecto significativo, dado que el número de vacas y sus respectivos porcentajes se mantuvieron casi invariables en los cuatro pezones de una misma vaca, coincidiendo con Paredes *et al.* (2015), quien obtuvo consistencia numérica en los cuatro pezones de las mismas vacas, sin embargo la caracterización que reportó fue de 43.83% pezones cilíndricos, 32.91% en embudo y 22.63% en botella, la cual es diferente a la categorización obtenida en este estudio. En cuanto a producción de leche no se encontró diferencia significativa entre los pezones en embudo y cilíndricos.

Otro estudio encontró baja prevalencia de mastitis en pezones en embudo, pero menor capacidad de producir leche. En términos porcentuales la frecuencia era: 48.69% en embudo, 32.84% cilíndricos y 15.34% en botella (Riera *et al.*, 2005). En los pezones cilíndricos la incidencia de mastitis fue más alta porque, este tipo de pezones cierra el flujo de leche y se incrementa el vacío

de succión que lesiona el pezón, lo que pudiese ser la causa directa de mastitis en los pezones cilíndricos.

Las evaluaciones de las formas de la punta del pezón, también se hicieron en las 69 vacas de igual manera que para la forma del pezón, y se clasificaron en tres categorías, que en términos de frecuencia resultaron las siguientes: redondeadas 32.97%, puntiagudas 21.01% y planas 11.12%. Estos resultados, coinciden con poca diferencia, con estudios anteriores de la forma de la punta del pezón (Riera *et al.*, 2005).

Nuestra clasificación también difiere a la hecha por Hickman, (1963), que en 158 vacas Holstein y Pardo Suizo, se determinó que el 25% tienen punta de pezones redondeados o puntiagudos, el 50% plana y el 25% restante en forma de disco. En los cuartos anteriores con puntas planas la prevalencia de mastitis era más baja que en los pezones puntiagudos, el flujo de leche fue más alto en puntas planas y baja producción en puntas cóncavas o invertidas, estas últimas son difíciles de lavar previo al ordeño y la leche puede acumularse en la cavidad, creando condiciones para el crecimiento bacteriano. En nuestro estudio el pezón redondeado tuvo menos frecuencia de mastitis clínica y subclínica en las 69 vacas

El promedio de diámetro de los pezones delanteros fue 44m y 51 mm en los traseros, los diámetros obtenidos por Rogers y Spencer. (1999), no influyen significativamente en el flujo y la producción de leche, sin embargo el ordeño es más satisfactorio cuando el diámetro es menor a 24 mm. El diámetro se incrementa con el número de lactancias y los pezones anchos son asociados con caídas de pezoneras.

El largo del pezón influencia la velocidad de ordeño y el deslizamiento de pezoneras al igual que el ordeño a mano es más fácil realizarlo en pezones largos apoyándose con su simetría y su posición a la hora de la ordeña.

En este estudio, se reporta que en los pezones perdidos o no funcionales, la frecuencia fue de 0.96% para los pezones delanteros y 0.48% en los traseros. La diferencia se debe, a que los pezones anteriores están aproximadamente 1 cm más cerca del piso que los posteriores lo cual ha sido considerado como factor de riesgo. Esta situación de pezones no funcionales o perdidos tiene un gran impacto económico en la ganadería lechera, por lo que se le debe dar mayor importancia en estudios futuros.

CONCLUSIONES

Se concluye que la forma de los pezones que tiene mayor frecuencia de aparición en vacas Holstein, Jersey y Pardo suiza fue la cilíndrica, seguido de las formas embudo y botella, mientras que para la forma de las puntas de los pezones, la de mayor frecuencia fue la plana, seguida de las formas puntiaguda y redondeada, con un diámetro promedio para los pezones delanteros de 25.84 mm y para los traseros 26.28 mm. El promedio de largo para los pezones delanteros fue 63.23 mm y para los traseros 59.76 mm siendo los pezones delanteros más largos, aproximadamente en 4mm.

La localización anatómica de los pezones en la glándula mamaria no tuvo efecto al momento de realizar las evaluaciones, sus porcentajes se mantienen casi invariables en cada uno de los pezones de cada vaca. La mayor frecuencia de pezones negativos a las pruebas de mastitis, se observó en los que presentan la forma de embudo, no así en los pezones cilíndricos y botella, en los cuales se presentó una mayor cantidad de casos de mastitis clínica y subclínica.

Las características evaluadas en este estudio están relacionadas, con la producción de leche. Los resultados de esta investigación pueden ser utilizados para estimar parámetros genéticos como la heredabilidad, que es considerada de moderada a alta, en las características morfológicas del pezón, al igual que la raza, edad, alimentación y número de gestaciones, lo cual daría una buena respuesta a la selección, en los programas de mejoramiento genético para la salud de ubre.

En cuanto a la resistencia individual a infecciones intramamarias, los cuartos que presentaron mayor incidencia de mastitis clínica y subclínica fueron los traseros, debido a que en estos se deposita la mayor carga de leche lo que predispone a que pueda haber un mayor contacto con el suelo después del ordeño, favoreciendo de esta manera que se produzca una contaminación directa del cuarto con la suciedad.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Chrystal, M. A.; Seykora, A. J.; Hansen, L. B. Heritabilities of Teat End Shapes and Teat Diameter and Their Relationships with Somatic Cell Scores. J. Dairy Sci. 82 (9): 2017-2022. 1999.
- Hickman, C. G. Teat Shape and Size in Relation to Production Characteristics and Mastitis in Dairy Cattle. Animal Research Institute, Canada Department, Ottawa: 157. 777-782 pp. 1963.
- 3. Miller, R. H. (1992). Traits for Sires Selection Selection Re- lated to Udder Health and Management. J. Dairy Sci. 67 (2): 459-471.
- 4. Nash, D. L., y Rogers, J. C. (2000). Heritability of Clinical Mastitis Incidence and Relationships with Sire Trasmitting Abilities for Somatoc Cll Score. J. Dairy Science, 83 (10).
- 5. Paredes, C. Y., Marquez S. M. G., Ceja, M. G., Medina, P. L. M. (2015). Caracterización morfométrica de los pezones en vacas de la raza Holstein en la población de Téjaro, Michoacán. FMVZ-UMSNH. Morelia, Michoacán.
- 6. Riera, N. M., Rodríguez, M. J. M., Perozo, P. E. R., Cefis, A. Caracterización morfométrica de los pezones en vacas Carora. Revista Científica, V.XV: 421-428. 2005.
- 7. Rogers, G. W., Hargrove, G. L.; Lawlor, T. J.; Ebersole, J. L. (1991). Correlations Among Linear Type Traits and Somatic Cell Counts. J. Dairy Sci. 74 (3): 1087-1091.
- 8. Rogers, G. W.; Spencer, S. B. (199). Relationships among Udder and Teat Morphology and Milking Characteristics. J. Dairy Sci. 74 (12): 4198-4194.

COLIFORMES FECALES EN LA LAGUNA DE YURIRIA

Marina Olivia Franco Hernández, María de Lourdes Moreno Rivera, Johana Isabel Carbajal Marquez, Ana Laura Rodríguez Sotelo.

Instituto Politécnico Nacional, UPIBI

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología.

Instituto Politécnico Nacional, UPIIG

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campis Guanajuato,

RESUMEN

Uno de los organismos que se utilizan para determinar la calidad sanitaria de los cuerpos de agua son los organismos coliformes y que dependiendo de la cantidad de estos pueden estar presentes los organismos patógenos en los que se incluyen vírus, bacterias, protozoarios y algas. El lugar de muestreo fue la Laguna de Yuriria Guanajuato, se realizaron dos muestreos: uno en el mes de enero 2017 recolectando 7 muestras. Se obtuvieron valores de pH en el punto 1: 7.48; 2 pto: 7.54; 3 pto: 7.58; 4 pto: 7.82; 5 pto: 8.01 y 6 pto: 7.88, considerándose como medianamente alcalinos todos los puntos de muestreo según la NOM 001-SEMARNAT-2000. Respecto a la conductividad los valores obtenidos se han encontrado por debajo de 1.0, por lo tanto, se consideran como efectos despreciables de salinidad. Teniendo presencia ausencia de carbón orgánico y materia orgánica y como consecuencia se obtuvo una concentración baja de microorganismos. SE encontraron concentraciones altas de nitratos y fósforo, por lo que, se dedujo una posible eutrofización en el cuerpo de agua. Los parámetros analizados se encontraron dentro de los LMP de la normatividad Mexicana. La cantidad de coliformes fecales presentes fue de 2x10⁶ en la zona más contaminada. Se pretende dar una propuesta de remediación.

INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la población del municipio de Yuriria, Guanajuato México, ha incrementado los niveles de contaminación con los desagües sobre todo origen doméstico, la carga contaminante está representada por altos porcentajes de materia orgánica y microorganismos de origen fecal, el control microbiológico es muy importante tanto en la depuración del agua, al ser reutilizada, el factor de riesgo más importante está asociado con la exposición a agentes biológicos que incluyen organismos patógenos, helmintos, protozoos y virus entéricos (Asano y Levine, 1998). La contaminación tanto a nivel humano como ambiental en este cuerpo de agua hace necesario determinar el tipo de microorganismos presentes y su concentración proporciona herramientas indispensables para determinar la calidad del agua y para la toma de decisiones en relación al control de vertidos, tratamiento de aguas y conservación del ecosistema.

El grupo coliforme está formado por todas las bacterias aerobias y anaerobias facultativas, Gramnegativas, no formadoras de esporas y con forma de bacilo que fermentan la lactosa, produciendo gas y ácido en 48 horas a 35° C. Pertenecen a este grupo los géneros: Escherichia, Citrobacter, Enterobacter y Klebsiella.

No todos los coliformes son de origen fecal, por lo que es necesario desarrollar pruebas para diferenciarlos a efectos de emplearlos como indicadores de contaminación. Se distinguen, por lo tanto, los coliformes totales que comprende la totalidad del grupo y los Coliformes fecales, aquellos

de origen intestinal. Desde el punto de vista de la salud pública, esta diferenciación es importante, puesto que permite asegurar con alto grado de certeza que la contaminación que presenta el agua es de origen fecal.

TEORIA

Los coliformes totales y E. coli en particular, se han seleccionado como indicadores de contaminación fecal por fermentar la lactosa a 44.5°C. Aproximadamente el 95% del grupo de los coliformes presentes en heces fecales, se denominan termotolerantes por su capacidad de soportar temperaturas más elevadas). Un microorganismo indicador de contaminación fecal debe reunir las siguientes características:

- Ser un constituyente normal de la flora intestinal de individuos sanos.
- Estar presente cuando los microorganismos patógenos intestinales lo están.
- Presentarse en número elevado, facilitando su aislamiento y cuantificación.
- Su tiempo de supervivencia debe ser igual al de los patógenos de origen fecal.
- No debe ser patógeno.

Por lo que el **objetivo** del presente trabajo fue determinar la calidad sanitaria de La Laguna de Yuria Guanajuato, México determinando la cantidad coliformes fecales que son considerados como microorganismos indicadores de la calidad del agua.

METODOLOGÍA O PARTE EXPERIMENTAL.

La Laguna de Yuriria, se localiza en los Valles Abajeños del Estado de Guanajuato (México), con una superficie de 80 Km² y una capacidad de 188 hm³, regula el microclima de la zona manteniendo los niveles de humedad atmosférica atenuando temperaturas extremas, es un hábitat de descanso y alimentación temporal de aves migratorias como, cerceta azul, pato tepalcate y cerceta alas verdes, entre otras, algunas bajo protección especial, presenta graves problemas de contaminación por la descarga de aguas residuales sin tratar de 14 comunidades, descargan sus drenajes de manera directa a los arroyos que llegan a la laguna, se suman a la contaminación el crecimiento sin control del lirio acuático, la reducción de sus niveles de profundidad y la pesca ilegal, que afectan el turismo que llega a la zona.

Procedimiento en la toma de muestras. Se establecieron ocho sitios de muestreo en la laguna, cada uno de ellos se ubicaba aproximadamente 5m de las orillas de la laguna (ver figuras 1 a 4), en cada uno de estos sitios se observaron las descargas de drenaje de casas, restaurantes y los locales de mercados sobre ruedas, para tomar las muestras se utilizo una lancha de motor, con un bote de 20 Litros atado a un lazo, el que fue sumergido con una palo hast el fondo de la laguna, se mezclo agua del fondo y de la superficie y se coloco en un recipiente de plastico que fue almacenado en un hielera a una temperatura entre 10 y 20°C para su porterior análisis microbiologico.

Muestreo en la Laguna de Yuriria, Guanajuato.

Las muestras se almacenaron y se transportaron al Laboratorio de investigación de la UPIBI y se realizó la caracterización microbiológica: se cuantificaron coliformes totales y fecales en donde se utilizó la técnica del número más probable NOM-112-SSA1-1994 para determinación de bacterias coliformes como se muestra en la figura. Se realizaron diluciones decimales en solución salina (0.85%) en tubos de ensayo de 10⁻¹ a 10⁻⁴. Para la prueba presuntiva: Se inoculó 1mL de cada dilución en 3 tubos (cada uno con campana de Durham) con 10mL de caldo Lauril Sulfato de Sodio, se incubaron durante 48 horas a 35°C. La presencia de gas en las campanas Durham en cualquier cantidad, dentro del tiempo de incubación hace positiva la prueba. Para la prueba confirmativa los tubos que dieron positivos en caldo Lauril Sulfato de Sodio se sembraron 1 ml al caldo lactosa bilis verde brillante, incubándose a 44.5 °C durante 48 horas, se consideró la prueba positiva si se observaba generación de gas dentro de la campana.



Figura 1. Ubicación de los puntos muestreados en los meses de Junio y Septiembre de 2016.



Figura 2. Isla de San Pedro, con presencia de lirio



Figura 3. Pueblo La Angostura con Mercado sobre ruedas.



Figura 4. Pueblo La Angostura se realiza la pesca turistica y se encuentra el mercado sobre ruedas.

Muestra: Agregar 10 g o 10mL

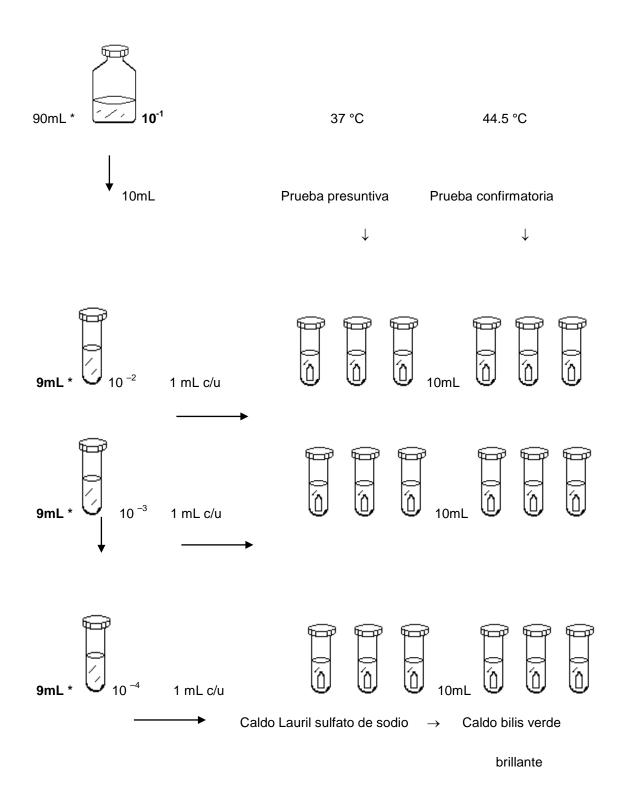


Figura 5. Esquema de la técnica número más probable (NMP) para determinar coliformes fecales en Agua RESULTADOS

Durante el muestreo se observaron aves como: patos, gaviotas, garzas y pelicanos, el Lirio acuático, complico la toma de las muestras. Al ser considerada La Laguna de Yuriria un humedal de importancia mundial; en el 2004 en la Convención de Ramsar por la declaratoria de conservación, cuya aplicación corresponde a la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (Conanp), en donde el gobierno Mexicano se comprometió a trabajar en pro de "la conservación y el uso racional de los humedales mediante acciones locales y nacionales", este cuerpo de agua se encuentra muy contaminado por la cantidad de coliformes presentes y por el lirio acuático.

Se encontró como era de esperarse mayor contaminación por coliformes fecales en el poblado La Angostura que tiene casas, restaurante y mercado sobre ruedas.

SITIOS DE MUESTREO	DESCRIPCIÓN DEL SITIO DE MUESTREO	COLIFORMES TOTALES NMP/mL	COLIFORMES FECALES NMP/mL
P1 LA ISLA DE SAN PEDRO	Aledaño al pueblo de Yuriria, con lirio acuatico, hay descargas de drenaje de las casas.	35 X 10⁴	7.7 X 10 ³
P2 UG 1	Se encuentran cerca de la carretera de Salvatierra, predominan el carrizo y el	78 X 10 ⁵	<3 X 10 ³
P3 UG 2	lirio, no se observaron peces.	68 X 10 ³	<3 X 10 ³
P4 ZONA DE CULTIVOS	Cercano a las compuertas de entrada a la Laguna que se une al Río Lerma, no se observaron peces ni lirío acuatico alrededor.	33 X 10 ⁴	7 X 10 ³
P5 COMPUERTA DE ENTRAD A	Cercano a la entrada que proviene del Río Lerma pasa por detrás del poblado de la Loma de Zempoala, predomina el Carrizo y muy poco Lirio.	46 X 10 ⁴	<3 X 10 ³
P6 LOMA DE ZEMPOALA	Hay un Restaurante, tiene su propio criadero de mojarras, carpa, bagre y charal, y crecimiento de carrizo.	11 X 10 ⁶	14 X 10 ³
P7 LA ANGOSTURA	En este sitio se encuentra el puerto en donde se practican deportes acuaticos y pesca y se observaron aves como Pelicanos, gaviotas, garzas y se encuentra el mercado sobre ruedas.	24 X 10 ⁵	21 X 10 ³
P8 CENTRO DE LA LAGUNA	No se observaron peces ni lirio.	11 X 10 ⁶	3 X 10 ⁴

CONCLUSIONES

Los altos niveles de contaminación de origen fecal se reportan principalmente en los sitios de desagüe de los drenajes provenientes de las casas.

La presencia de coliformes totales y fecales representa un riesgo sanitario para los habitantes del Municipio de Yuriria, la elevada cantidad de estos microorganismos podría indicar la presencia de organismos patógenos de origen intestinal.

Habrá que revisar la legislación existente para el control microbiológico del agua y concientizar a los habitantes del Municipio del riesgo del desagüe de los drenajes al cuerpo de agua.

BIBLIOGRAFÍA

- AYRES, R. Y WESCOT, D. (1987). "La calidad del agua en la agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación". Estudio FAO Riego y Drenaje, № 29. Roma. p 8-101.
- CAMPOS. C. (1999). "Indicadores de contaminación fecal en la reutilización de aguas residuales para riego agrícola". Tesis doctoral. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. 250 pp.
- 3. WESCOTT, D. Y AYRES, R. (1990). "Criterio de calidad de aguas de riego", en riego con agua residual municipal regenerada. Asano, T. Editado por Universidad Politécnica de Cataluña. Barcelona. p 33-66.
- 4. YATES, M. (1992). "Biomonitors of environmental contamination". Encyclopedia of Microbiolgy. Volume 1. Academic Press, Inc New York. p 321-330.
- 5. http://periodicocorreo.com.mx/laguna-de-yuriria-area-natural-protegida-y-amenazada/

APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS DE LA CAÑA DE AZÚCAR UTILIZANDO FERMENTACIÓN EN FASE SÓLIDA (FFS) CON CEPAS DE HONGOS *Pleurotus djamor*

Harim García García, Jorge Aurelio Lois Correa y María Elena Sánchez Pardo.

Instituto Politécnico Nacional - CICATA Altamira, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional (ENCB)

RESUMEN

La industria azucarera es una de las más importantes en México; sin embargo, durante la trasformación de la materia prima se generan sub-productos que no son aprovechados; tal es el caso del cogollo de la caña de azúcar, el cual se incinera durante la cosecha para facilitar el corte manual, la quema de esta biomasa tiene repercusiones en el medio ambiente, siendo la principal, la liberación de CO₂ a la atmósfera. Por otro lado, un sub-producto fibroso que se obtiene al final del tándem azucarero, es el bagazo de caña, el cual se dispone en grandes extensiones a cielo abierto dentro del ingenio, o se utiliza para alimentar las calderas del mismo. Ante la necesidad de aplicar tecnologías sustentables que permitan la disposición de la biomasa residual del sector primario,- sin generar más contaminantes,- se plantea la utilización de tratamientos biológicos que permitan transformar esta materia prima para obtener productos de valor agregado, la tecnología más prometedora es la Fermentación en Fase Sólida (FFS). Ésta, ha sido estudiada ampliamente por diversos autores alrededor del mundo, obteniendo resultados favorables, principalmente en la producción de hongos comestibles del género Pleurotus. Sumado a la producción de alimento humano, este tratamiento permite la obtención de un sub-producto con alto contenido de proteína. Una opción innovadora consiste en aprovechar los residuos lignocelulósicos tratados biológicamente con cepas de hongo Pleurotus djamor para lograr la obtención de alimento enriquecido, el cual pueda ser incorporado a la dieta humana.

Palabras clave: Fermentación en Fase Sólida. Pleurotus diamor, residuos lignocelulósicos.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el sector primario dispone de una gran cantidad de residuos lignocelulósicos, los cuales son generados principalmente durante la cosecha, o después de algún tratamiento industrial; generalmente estos residuos son desechados, incinerados, o se introducen en procesos de bajo rendimiento energético dentro de la misma industria. Un ejemplo claro de esta problemática es el de la obtención de azúcar; el método más ampliamente empleado para la recolección de la caña, consiste en prender fuego a los cañaverales, lo cual genera liberación de CO_2 , afectaciones al suelo y a la salud de las personas que radican en las cercanías (Hiscox et al. 2015). Por otra parte, los desechos obtenidos de la extracción del azúcar, bagazo de caña, generalmente se utilizan para alimentación de las calderas dentro de los ingenios o simplemente se disponen a cielo abierto en grandes extensiones de tierra.

La industria azucarera es históricamente una de las más importantes en el país, debido a su relevancia económica y social en el campo; genera más de dos millones de empleos, tanto en forma directa como indirecta. Tamaulipas en México, produce más de 3.6 millones de toneladas de caña de azúcar, con un rendimiento de 68.7 toneladas por hectárea. Para el año 2014 se sembraron 63630.23 hectáreas, distribuidas en los municipios de El Mante, Xicoténcatl, Ocampo, Antiguo Morelos, Nuevo Morelos, González, Gómez Farías. Usualmente, el Ingenio Pantaleón, ubicado en la localidad de Pánuco, Veracruz, es considerado como perteneciente a la zona de Tamaulipas debido a su cercanía.(CONADESUCA and SAGARPA 2016; SAGARPA and CONADESUCA 2015).

Ante la necesidad de aplicar tecnologías sustentables que permitan la disposición de la biomasa residual del sector primario, sin generar más contaminantes, se plantea la utilización de tratamientos biológicos, empleando microorganismos que degradan los compuestos de la pared celular y permitan un fácil acceso a las cadenas de carbohidratos con la finalidad de producir coproductos que permitan su aprovechamiento en la alimentación humana.

Una solución que en la que se ha puesto gran énfasis en los últimos años, es la tecnología de Fermentación en Fase Sólida (FFS), al considerarse un sistema útil para la producción de biomasa,

proteínas, enzimas y otros metabolitos de valor agregado, utilizando un sustrato sólido y con bajo contenido de agua (Pandey, Soccol, and Larroche 2008; Thomas, Larroche, and Pandey 2013). Esta tecnología puede aplicarse para la producción de alimento humano, específicamente la producción de hongos del género *Pleurotus*, los cuales son capaces de degradar los residuos fibrosos.

El principal componente de estos desechos es la lignocelulosa, la cual se considera el principal y más abundante componente de la biomasa producida por la fotosíntesis. Consta de un conjunto de sustancias estrechamente relacionadas (celulosa, hemicelulosa, lignina), las cuales son el principal componente de las paredes celulares de las plantas, en donde la celulosa está íntimamente asociada con la lignina (Martin 2015). Generalmente, el material lignocelulósico contiene 30-50% de celulosa, 20-30% de hemicelulosa y 20-30% de lignina (Sengupta and Pike 2017).

Existe gran diversidad en los sustratos utilizados para el crecimiento de hongos comestibles del género *Pleurotus* los cuales incluyen diversos desechos agroindustriales y de la cosecha en dependencia del lugar donde se planea realizar el cultivo así como de la disponibilidad que se tenga de dicho sustrato(Motato, Mejía, and León 2006; Poppe 2005), el *Pleurotus ostreatus* es el que más se ha cultivado para consumo humano en diversos sustratos, entre ellos el bagazo de caña con resultados favorables(Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, ICIDCA 2000; Obodai, Cleland-Okine, and Vowotor 2003; Sánchez 2010). Por otro lado, en el *Pleurotus djamor*, se ha estudiado para otras aplicaciones, como por sus características antibacteriales (Valencia et al. 2008), para su utilización en bio-remediación de efluentes contaminados por colorantes (Yildirim et al. 2012), producción de biosurfactantes (Velioglu and Ozturk Urek 2015) e incluso para sintetizar nanopartículas (Raman et al. 2015).

Con las anteriores referencia mencionadas, el objetivo de esta investigación consiste en proponer el aprovechamiento de residuos de la agroindustria azucarera, específicamente cogollo y bagazo de caña, utilizando la tecnología de fermentación en fase sólida (FFS) y empleando cepas de hongo comestible *Pleurotus djamor* durante la etapa de expansión micelial; con la finalidad de obtener un producto con contenido de proteína que puedan ser utilizados en alimentación humana, ya que en algunas investigaciones se ha planteado el aprovechamiento del sustrato final de la cosecha de *Pleurotus* para ser utilizado como alimento para ganado sin someterlo a algún tratamiento, e incluso se ha utilizado como abono para plantas.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Como sustrato se utilizó residuos lignocelulósicos de la agroindustria cañera, bagazo y cogollo de caña. El bagazo de caña se obtuvo del tándem final del ingenio azucarero Pantaleón, ubicado en la ciudad de Pánuco, Veracruz. El cogollo de caña fue obtenido de una cooperativa ganadera, localizada en Ozuluama de Mascareñas Veracruz. Los sustratos fibrosos se secaron a temperatura ambiente y a la sombra para evitar su degradación, el sustrato se revolvió periódicamente para asegurar un secado homogéneo. Una vez seco, el sustrato se almacenó a temperatura ambiente. El tamaño del sustrato se redujo hasta una longitud de entre 1 y 2 cm, con la finalidad de obtener una mejor retención de humedad, permitir el paso del aire a través de él y propiciar que el micelio del hongo colonice el sustrato. El tamaño del sustrato se redujo utilizando una picadora de cuchillas, y posteriormente se homogenizó utilizando tamices Tyler malla 16 y 20.

Para utilizar los sustratos en el cultivo del hongo se realizó tratamientos térmicos, primero sumergiendo los sustratos en agua a 90°C durante 30 min, y colocando el sustrato húmedo en bolsas de polipapel para posteriormente esterilizar en autoclave a 121°C durante 20 minutos. Este tratamiento se realizó con la finalidad de disminuir la flora microbiana nociva que está presente en el sustrato y de esta manera evitar que los microorganismos compitan por espacio y nutrientes con el micelio del hongo *P. djamor.* Finalmente, el sustrato se inoculó utilizando semilla de sorgo con que contenía micelio de *P. djamor*, el cual fue obtenido del proveedor PRODISET. Para la inoculación se empleó un 5% de semilla de sorgo en relación al peso húmedo del sustrato.

Fermentación en Fase Sólida (FFS). Una vez que el sustrato se inoculó, fue colocado en una incubadora a 28-30°C, con una humedad relativa de 80%, en condiciones de oscuridad, hasta que el micelio colonizó toda la superficie del sustrato.

Caracterización de los Sustratos. Estos análisis se realizaron de acuerdo a los métodos de la AOAC (Association of Official Analytical Chemists), (AOAC 1992) con el fin de conocer la composición química tanto de la materia prima inicial y del sustrato fermentado con micelio de *P. djamor* con fines de comparación. Los análisis realizados se mencionan a continuación: determinación de humedad utilizando termo balanza; determinación de materia seca, por diferencia de peso en relación al resultado de humedad; determinación de cenizas por calcinación; determinación de extracto etéreo utilizando el método Soxhlet; determinación de proteína con el método Kjeldhal; además de análisis especiales, como la determinación de Fibra Dietaria; Fibra detergente Neutra (FDN), Fibra detergente Ácida (FDA) y Lignina detergente Ácida (LDA).

Caracterización del co-producto. Para poder caracterizar el co-producto, fue necesario liofilizar los sustratos fermentados con la finalidad de mantener el micelio sin que sufriera daños (Garcia-Amezquita et al. 2016). El sustrato liofilizado se sometió a una reducción de tamaño, mediante una molienda y posteriormente se pasó a través de tamiz malla 40. Las caracterizaciones realizadas a los sustratos liofilizados fueron, determinación de humedad; determinación de materia seca, por diferencia de peso en relación al resultado de humedad; determinación de cenizas por calcinación; determinación de extracto etéreo utilizando el método *Shoxlet*; determinación de proteína con el método *Kjeldhal*, determinación de agua y determinación de aceite.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La inoculación y el crecimiento micelial y el proceso de fermentación en fase sólida se llevaron a cobo en las instalaciones de CICATA-Altamira. El tiempo de crecimiento aproximado del micelio fue de 45 días, tanto para los sustratos de cogollo como para los de bagazo de caña. Las caracterizaciones químicas y el proceso e liofilización se realizaron en la ENCB. En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en los análisis proximales realizados a los sustratos, integrales, fermentados y liofilizados, con fines de comparación.

Tabla 22. Resultados obtenidos en la caracterización química de los sustratos

Muestra	% Humedad	% Materia Seca	% Ceniza	% Extracto Etéreo	% Proteína
Bagazo Integral	9 ± 0.1	90.9 ± 0.1	1.9 ± 0.02	0.5 ± 0.09	1.2 ± 0.1
Bagazo Fermentado	81.2 ± 0.8	18.7 ± 0.8	3.5 ± 0.2	0.4 ± 0.1	4.1 ± 0.7
Bagazo Liofilizado	5.8 ± 0.3	94.2 ± 0.3	3.8± 0.6	0.5 ± 0.02	4.1 ± 0.02
Cogollo Integral	9.6 ± 0.1	90.3± 0.1	5.9 ± 0.1	0.5 ± 0.05	3.9 ± 0.2
Cogollo Fermentado	79.3 ± 0.3	20.7 ± 0.3	5.9 ± 0.2	0.6 ± 0.1	6.2 ± 0.3
Cogollo Liofilizado	6.1 ± 0.3	93.9 ± 0.3	6.2± 0.6	0.6 ± 0.5	6.8 ± 0.3

Se observó aumento en el contenido de humedad entre los sustratos integrales y fermentados, debido a los tratamientos térmicos aplicados, pero también se observó disminución en el contenido de humedad después del proceso de liofilización, lo cual indica que dicho proceso se realizó correctamente. Además, se observa incremento en los porcentajes de ceniza, aunque en cogollo esta diferencia no es muy significativa. En el análisis de extracto etéreo no se observó diferencias significativas en ambos sustratos, esto es debido a la poca cantidad de compuestos grasos de la muestra; sin embargo, los residuos obtenidos pueden deberse a la extracción de pigmentos o aceites presentes en las muestras, dado su naturaleza vegetal. Lo más relevante de estos análisis es el porcentaje de proteína, donde se observa un incremento de los sustratos integrales a los fermentados, además de no presentarse cambios significativos entre los sustratos fermentados y

los liofilizados, lo cual indica que el proceso de liofilización conservó la proteína del sustrato y el micelio.

Tabla 23. Resultados para determinación de Fibra Dietaria

Muestra	% Fibra Dietaria
Bagazo Integral	88.9 ± 1.5
Bagazo Fermentado	85.4 ± 1
Bagazo Liofilizado	77.1 ± 0.9
Cogollo Integral	88.1 ± 2.7
Cogollo Fermentado	79.4 ± 2.6
Cogollo Liofilizado	71.3 ± 0.1

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos para los análisis de fibra dietaria. En estos análisis enzimático-gravimétricos, se obtuvieron altos porcentajes de fibra dietaria para los sustratos iniciales, además se observó que este porcentaje disminuye con los tratamientos aplicados, al comparar los sustratos iniciales con los fermentados y estos con los liofilizados. Algo similar se observa en los resultados de Fibra Detergente Neutra (FDN) y Fibra Detergente Ácida (FDA), los cuales se muestran en la Tabla 3. Se observa una disminución del contenido de FDN y FDA en los sustratos analizados a medida que se aplicaron los tratamientos de fermentación y de liofilización.

Tabla 24. Resultados para Fibra Detergente Ácida (FDA) y Fibra Detergente Neutra (FDN)

	% FDN	% FDA
Bagazo Fermentado	87.86 ± 0.6	75.56 ± 0.2
Bagazo Liofilizado	73.15 ± 0.3	72.58 ± 0.1
Cogollo Integral	72.32 ± 1.3	65.49 ± 1.7
Cogollo Fermentado	70.19 ± 0.4	62.97 ± 1.5
Cogollo Liofilizado	69.47 ± 0.8	60.01 ± 0.5

Los resultados obtenidos para FDN y FDA se utilizaron para calcular los porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina de las muestras analizadas, los cuales se observan en la Tabla 4. En estas muestras en particular. Se observa una disminución en el contenido de celulosa en las muestras fermentadas y liofilizadas, y un incremento en los porcentajes de lignina y de hemicelulosa.

Tabla 25. Componentes de la pared celular

	% Celulosa	% Hemicelulosa	% Lignina
Bagazo Integral	45.3*	27.5*	23.6*
Bagazo Fermentado	49.62 ± 0.5	23.76 ± 0.9	12.83 ± 0.7
Bagazo Liofilizado	47.91 ± 0.9	24.02 ± 0.2	13.19 ± 1
Cogollo Integral	53.10 ± 0.5	6.83 ± 1.2	12.39 ± 1.7
Cogollo Fermentado	43.76 ± 1.2	7.22 ± 1.7	19.21 ± 1.4
Cogollo Liofilizado	35.78 ± 1.2	9.46 ± 0.2	24.23 ± 1.7

^{*} Valores obtenidos de referencia (Dopico-Ramirez, et al. 2012)

Muestra	uestra Retención de Agua Retención de Aceite				
	(mL agua/g muestra)	(mL aceite/g muestra)			
Bagazo integral	7.1 ± 0.4	5.72 ± 0.3			
Bagazo liofilizado	5.6 ± 0.2	5.4 ± 0.6			
Cogollo integral	7.3 ± 0.4	5.6 ± 0.4			
Cogollo liofilizado	5.7 ± 0.1	5.1 ± 0.4			

Tabla 26. Capacidades de retención de agua y aceite

Los resultados para retención de agua y aceite se presentan en la Tabla 5. Estos análisis solo se realizaron a las muestras integrales y a los liofilizados con fines de comparación, debido a que el sustrato liofilizado es el producto de interés. Las muestras integrales de cogollo y bagazo de caña presentaron una retención de agua de 7 mL de agua por gramo de muestra. Las muestras liofilizadas son similares entre sí, ya que presentan una capacidad de retención de agua de 5 mL de agua por cada gramo de muestra. Para el caso de retención de aceite, tanto las muestras integrales como las liofilizadas tuvieron un comportamiento similar ya que presentan una capacidad de retención de aceite de 5 mL de aceite por cada gramo de muestra.

CONCLUSIONES

Se logró el crecimiento de micelio de *Pleurotus djamor* sobre los sustratos de cogollo y bagazo de caña de azúcar, el tiempo de crecimiento fue de 45 días, según la literatura el tiempo puede variar de 18 a 50 días por lo que el tiempo de incubación se encuentra de los límites marcados en investigaciones previas.

En los análisis de humedad se observa un incremento al comparar los sustratos integrales y los fermentados, debido al tratamiento térmico al cual es sometido el sustrato, previamente a la inoculación. Por lo tanto en el contenido de materia seca también se observa una marcada diferencia entre los sustratos además de un incremento del contenido de ceniza. En cambio, al comparar el extracto etéreo los porcentajes obtenidos son poco relevantes, puesto que el cogollo y bagazo de caña carecen de contenido graso, y el resultado obtenido puede deberse a aceites, ceras o pigmentos presentes en los sustratos. En cuanto a los sustratos liofilizados se observó gran diferencia en el contenido de humedad, lo que indica que el método fue aplicado correctamente, en cuanto a extracto etéreo no se observó diferencia significativa en las muestras.

El porcentaje de FDN y FDA disminuyó en los sustratos fermentados. En los componentes de la pared celular se observa disminución en los contenidos de celulosa, pero un incremento en los contenidos de lignina y de hemicelulosa, lo cual puede deberse a la liberación de cadenas de hemicelulosa y lignina durante el proceso de fermentación.

La mayor diferencia se observó en el contenido de proteína, al comparar los sustratos integrales y los fermentados, ya que en el caso del cogollo se incrementó de un 4% a un 6% y en el caso del bagazo el contenido de proteína se incrementó de 1% hasta 4% en cambio al comparar el contenido de proteína de ambos sustratos con los liofilizados no se observó diferencia significativa, lo cual indica que el proceso de liofilización sirvió para conservar el contenido de proteína.

En lo referente a la retención de agua y aceite se observan valores similares para ambos sustratos liofilizados, que son el producto de interés, lo cual indica que ambos, tanto cogollo y bagazo tienen características similares con respecto a estas propiedades de absorción.

Con los procesos y caracterizaciones realizadas, se comprueba que es posible el aprovechamiento de residuos lignocelulósicos, como cogollo y bagazo de caña, utilizando la Fermentación en Fase Sólida, asistido con hongos *Pleurotus djamor*, y utilizando tecnologías como la liofilización para permitir la obtención de un producto con un contenido de proteína y alto contenido de fibra. Cabe señalar que dicho co-producto debe seguir evaluándose para poder ser utilizado con fines alimenticios y comerciales.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Politécnico Nacional, al Centro de Investigación en ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada Unidad Altamira, a la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas

BIBLIOGRAFÍA

- 1. AOAC. 1992. AOAC Official Methods of Analysis. 15th ed. edited by Kenneth Helrich. USA: Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- 2. CONADESUCA and SAGARPA. 2016. Informe Estadístico Del Sector Agroindustrial de La Caña de Azúcar, Zafras 2008/09 2014-15. México.
- 3. Dopico-Ramirez, Daysi, Lucia García-García, Alejandro Abril-Gonzalez, Yelenys Hernández-Corvo, and Dolores Cordero-Fernandez. 2012. "Lignina de Bagazo Como Fibra Dietética." *ICIDCA*. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar 46(1):46–50.
- 4. Garcia-Amezquita, L. E., J. Welti-Chanes, F. T. Vergara-Balderas, and D. Bermúdez-Aguirre. 2016. *Freeze-Drying: The Basic Process*. 1st ed. edited by B. Caballero, P. M. Finglas, and F. Toldrá. Elsevier Ltd.
- 5. Hiscox, A. L., S. Flecher, J. J. Wang, and H. P. Viator. 2015. "A Comparative Analysis of Potential Impact Area of Common Sugar Cane Burning Methods." *Atmospheric Environment* 106:154–64.
- Instituto Cubano de Investigaión de los Derivados de la Caña de Azúcar ICIDCA. 2000.
 Manual de Los Derivados de La Caña de Azucar. 3rd ed. edited by L. O. Gálvez Taupier and S. Roselló Bugallo. Ciudad de La Habana: ICIDCA.
- 7. Martin, A. M. 2015. "Bioconversion of Waste Materials to Industrial Products." Pp. 1689–99 in, vol. 1, edited by A. M. Martin. Canadá: Springer science + business media, LLC.
- 8. Motato, Karina, Amanda Mejía, and Ángela León. 2006. "Evaluación de Los Residuos Agroindustrales de Plátano (*Musa Paradisíaca*) Y Aserrín de Abarco (*Cariniana Piriformes*) Como Sustatos de Cultivo Para El Hongo *Pleurotus Djamor.*" *Universidad de Antioquia Colombia* 13(1):24–29.
- 9. Obodai, M., J. Cleland-Okine, and K. A. Vowotor. 2003. "Comparative Study on the Growth and Yield of *Pleurotus Ostreatus* Mushroom on Different Lignocellulosic by-Products." *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 30(3):146–49.
- 10. Pandey, Ashok, Carlos Ricardo Soccol, and Christian Larroche, eds. 2008. *Current Deveopments in Solid-State Fermentation*. 1st ed. New Delhi: Springer science + business media, LLC.
- 11. Poppe, Jozef. 2005. "Sustrato." Pp. 83–93 in *Manual del cultivador de hongos 1. Cultivo del Hongo Ostra*. República de Corea: MushWorld.
- 12. Raman, Jegadeesh et al. 2015. "Mycosynthesis and Characterization of Silver Nanoparticles from *Pleurotus Djamor* Var. Roseus and Their in Vitro Cytotoxicity Effect on {PC3} Cells." *Process Biochemistry* 50(1):140–47.
- 13. SAGARPA and CONADESUCA. 2015. COMPARATIVO A NIVEL NACIONAL, REAL ZAFRA 2014/15 vs 3er ESTIMADO Y REAL ZAFRA 2013/14 Caña Molida (T) COMPARATIVO A NIVEL NACIONAL, REAL ZAFRA 2014/15 vs 3er ESTIMADO Y REAL ZAFRA 2013/14 Azúcar Producida (T) COMPARATIVO A NIVEL NACIONAL. México.
- 14. Sánchez, Carmen. 2010. "Cultivation of *Pleurotus Ostreatus* and Other Edible Mushrooms." *Applied Microbiology and Biotechnology* 85(5):1321–37.
- 15. Sengupta, Debalina and Ralph Pike. 2017. "Biomass as Feedstock." Pp. 1723–75 in *Handbook of Climate Change Mitigation and Adaptation*, edited by W.-Y. Chen, T. Suzuki, and M. Lackner. springer International Publising.
- 16. Thomas, Leya, Christian Larroche, and Ashok Pandey. 2013. "Current Developments in Solid-State Fermentation." *Biochemical Engineering Journal* 81:146–61.
- 17. Valencia, Gustavo et al. 2008. "Actividad Antibacteriana de Extractos Hexánicos de Cepas de Pleurotus Djamor." *Revista Mexicana de Micología* 28(1):119–23.
- 18. Velioglu, Zulfiye and Raziye Ozturk Urek. 2015. "Optimization of Cultural Conditions for Biosurfactant Production by *Pleurotus Djamor* in Solid State Fermentation." *Journal of Bioscience and Bioengineering* 120(5):526–31.
- 19. Yildirim, Numan, Mehtap Tanyol, Turgay Dere, Aysenur Cumurcu, and Abdunnasir Yildiz.

2012. "The Investigation on Physico-Chemical Parameters of the Textile Effluents after Treatment by White Rot Fungus *Pleurotus Djamor.*" New Biotechnology 29:S184.

EL MEDIO CONDICIONADO AUMENTA LA QUIMIOATRACCIÓN ESPERMÁTICA EN CÁMARA MICROCANAL

Julia Estrella González García, Demetrio Alonso Ambriz García, Alfredo Trejo Córdova,

María del Carmen Navarro Maldonado y Sarahí Hernández Martínez.

Licenciatura en Biología

Departamento de Biología de la Reproducción Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. deme@xanum.uam.mx

RESUMEN

El espermatozoide debe unirse al ovocito para fecundarlo. En mamíferos se conoce que este proceso puede ocurrir por quimioatracción. Esta atracción química entre gametos, se ha comprobado que ocurre por sustancias liberadas por el folículo, el ovocito y células circundantes, utilizando modelos que han empleado una variedad de dispositivos. En este estudio se evaluó la atracción del líquido folicular (LF) ovino sobre espermatozoides epididimarios de hámster Sirio Dorado, utilizando una cámara microcanal (CM) de diseño propio. El LF fue aspirado de folículos terciarios de ovarios de ovejas sacrificadas en rastro, mientras que los espermatozoides fueron recuperados de cola de epidídimos de machos hámster adultos (10 meses de edad y 120±5 qr de peso). Una biopsia de cada epidídimo se colocó en tubo Eppendorf con 1 mL de SOFs (SOF suplementado con BSA 0.3%) y se incubó 30 min a 37 °C y 5% de CO₂ para capacitación (SOF condicionado-SOFc). Posteriormente se evaluó la calidad espermática (viabilidad, movilidad y concentración) y se llenó la CM con 45 µL de medio (SOFs o SOFc), 2 µl de LF en cada pozo de salida (A o B alternados) y 2 µL (140,000 espermatozoides) en el pozo de entrada. La CM se incubó con humedad por 15 min. Se retiraron 2 µL de los pozos de salida y se determinó la concentración de espermatozoides, encontrándose que, en presencia de LF, migraron 40% más espermatozoides (p<0.05) que sin LF y que, en presencia de SOF condicionado, esta diferencia fue 94% mayor (p<0.05). Se concluye que la cámara microcanal es adecuada para efectuar estudios de quimioatracción hacia espermatozoides y que el utilizar un medio para la migración previamente condicionado con la capacitación espermática, permite obtener mejores resultados de quimioatracción.

INTRODUCCIÓN

La quimiotaxis, es la conducción del espermatozoide hacia el ovocito guiado por un gradiente de concentración de atrayentes químicos (Teves *et al.*, 2009). Este proceso ha sido plenamente demostrado en especies animales acuáticas de fecundación externa, donde el encuentro entre gameto masculino y femenino es determinante para la consecución de la fecundación y la progresión de la vida. En tanto que en mamíferos por ser de fecundación interna, el tema ha sido ampliamente discutido con aseveraciones controversiales, habiendo argumentos comprobables tanto en pro como en contra de dicho proceso (Yanagimachi, 1981).

La quimiotaxis que ejerce el líquido folicular hacia los espermatozoides, se ha comprobado en humanos y se ha planteado que son varios los atrayentes químicos entre ellos péptidos N-formilados (Iqbal *et al.*, 1993), péptido atrial natriurético (Zamir *et al.*, 1993), y principalmente progesterona (Isobe *et al.*, 2002).

La progesterona (P4), es secretada por las células que rodean el ovocito, formando una concentración estable a lo largo del cúmulo. Esta es la principal inductora de la quimiotaxis del espermatozoide (Darszon, 2008). Además, parece ser que es el único quimioatrayente fisiológico que es secretado por las células del cúmulo (Teves *et al.*, 2009).

Se ha comprobado que el líquido folicular en mamíferos contiene los atrayentes necesarios para provocar la quimioatracción de los espermatozoides de su propia especie, pero además lo puede hacer con espermatozoides de otra especie (De Jonge, 2000).

Con la finalidad de probar el potencial de quimioatracción del líquido folicular ovino hacia los espermatozoides de hámster en una cámara de microcanal desarrollada en nuestro laboratorio es que se realizó el presente estudio. Además se probó el medio SOF (Synthetic Oviductal Fluid) de manera directa o condicionada durante la capacitación de los espermatozoides.

Los principales propósitos para llevar a cabo este estudio de quimioatracción fueron los siguientes: Determinar el efecto potencial del líquido folicular ovino así como los medios SOF y SOF condicionado sobre la quimioatracción de espermatozoides en el hámster Sirio Dorado, y utilizar el sistema de cámara de microcanal desarrollado en nuestro laboratorio.

PARTE EXPERIMENTAL Animales

Se utilizaron 7 machos hámster Sirio Dorado Adultos, de 10 meses de edad y 120±5 gr de peso (promedio±DE).

Condiciones de Bioterio

Los machos se mantuvieron en cajas de acrílico con cama sanitaria. El agua y alimento en pellet se proporcionó a libertad. Las condiciones fueron 23 °C de temperatura y humedad relativa 30%. El fotoperiodo fue de 14 horas luz (4 am a 6 pm) y 10 de oscuridad (6 pm a 4 am).

Obtención de líquido folicular

Ovarios de ovino (n=40) fueron obtenidos en un rastro comercial en el Municipio de Chimalhuacán, Estado de México. Fueron transportados en un termo con solución salina a 35 °C con antibióticos y antifúngicos. En el laboratorio fueron lavados tres veces en solución salina fresca isotérmica. Dentro de la campana de flujo laminar los folículos ováricos de 5mm de diámetro fueron aspirados y el líquido folicular colocado en cajas Petri retirando los ovocitos. El líquido folicular fue colocado en tubos Eppendorf y se centrifugó a 1000g por 15 minutos. El sobrenadante fue guardado dentro del tubo Eppendorf a -20 °C hasta su uso.

Obtención de espermatozoides epididimarios

Los machos fueron sacrificados por dislocación cervical. Se disecaron los testículos y epidídimos. Se obtuvieron 2 biopsias de tamaño de un octavo del total de la masa de la cola del epidídimo. Se colocaron en dos tubos Eppendorf con 0.5 mL de SOF y 1.5mg de Albúmina Sérica Bovina (0.3%). Se incubaron a 37 °C durante 30 minutos, con 5% de CO₂ con el fin de facilitar el libre nado de los espermatozoides al exterior del tejido epididimario (Barros, 1974; Bedford, 1970; Xie *et al.*, 2010 y Takase *et al.*, 1995). Uno de los tubos se utilizó para evaluar la muestra espermática y colocar la

muestra espermática en la cámara microcanal. En tanto que el segundo tubo sirvió para obtener el medio SOF condicionado durante la capacitación espermática.

Evaluación espermática

Para evaluar la movilidad masal, se colocó una gota (5 µL) de muestra espermática en un portaobjetos limpio y atemperado, se observó al microscopio óptico con objetivo 20X y se calificó el movimiento de la siguiente manera según el Manual de la OMS: de 20 a 40% reducido, 40 a 60% considerable. 70 a 90% excelente.

Para la movilidad individual, se adicionó una microgota de muestra espermática sobre un portaobjetos limpio y atemperado, y se colocó cercana otra gota de medio SOF, con la ayuda de la aguja de una jeringa, se hizo una fusión de ambas gotas (dilución arbitraria), se observó en el microscopio con objetivo 20X. Contabilizando porcentualmente los espermatozoides móviles de los inmóviles.

Para determinar la concentración espermática, con una pipeta de Thoma para conteo de glóbulos rojos, se hizo una dilución 1:200 con agua destilada. Bajo microscopio óptico a 20X, se realizó el conteo de 5 cuadrantes de los 25 posibles. Se promedió el valor obtenido total de los 5 cuadrantes y se multiplicó por 10, determinando el valor en millones de células espermáticas por millilitro de muestra contenida en el tubo Eppendorf (Zhaojing *et al.*, 2013).

El segundo tubo Eppendorf que se incubó fue centrifugado a 1000g durante 5 minutos. Se extrajo el sobrenadante (medio condicionado) para llenar las cámaras de microcanal (40 μ L) o en su caso con medio SOF suplementado con ASB.

En las cámaras de microcanal, se colocaron en el pozo de entrada muestras espermáticas de 2 µL y, de manera alternada, en los pozos A y B se colocó líquido folicular para observar y comparar la migración espermática. Las cámaras de microcanal se incubaron 15 minutos a 37 °C y 5% de CO₂, en cámaras húmedas consistentes en cajas Petri con sanitas humedecidas con agua destilada, cubiertas de papel aluminio (Figura 1).



Figura 1.- Cámaras de microcanal incubadas en cámaras húmedas de cajas Petri

y sanitas humedecidas con agua destilada.

Conteo de migración espermática

Se tomaron 2 µL de los pozos A y B de cada una de las cámaras de microcanal. Se colocaron en un portaobjetos y se realizó el conteo de espermatozoides de cada muestra, bajo microscopio óptico a 20X.

Diseño Experimental

Se realizaron dos series de experimentos con tres repeticiones por cada una de las 7 muestras de espermatozoides epididimarios obtenidos.

En la primer serie de experimentos se llenó el canal de migración espermática con medio SOF suplementado y además se colocó en un pozo de salida de la cámara microcanal, liquido folicular de manera alternada entre el pozo de salida A y B.

En la segunda serie de experimentos se llenó el canal de migración espermática con medio SOF condicionado y de manera similar al experimento anterior, se colocó en un pozo de salida líquido folicular de manera alternada entre los pozos A y B.

Análisis Estadístico

El número de espermatozoides migrados en cada pozo de salida y en cada tratamiento (líquido folicular, medio SOF suplementado y SOF condicionado) fueron analizados por pares y con tres repeticiones por muestra obtenida (42 pruebas), a través de la prueba T-Student con un límite de significancia de 0.05 utilizando Microsoft Excel 2010.

RESULTADOS

De las 7 muestras de espermatozoides epididimarios se obtuvo de 70 a 90% de movilidad espermática masal durante la incubación de las biopsias de cola de epidídimos. La movilidad individual fue de al menos 70%. La concentración espermática fue de 120 a 520 x10⁶ espermatozoides por mL. Si se considera que esta concentración representó un octavo de la reserva de cola epididimaria, se proyectó que las concentraciones totales en dicha región anatómica fueron de 960 a 4160 x 10⁶ espermatozoides. En relación a los espermatozoides migrados (quimioatracción) hacia los pozos de salida de la cámara microcanal con o sin líquido folicular, y en presencia de medio SOF suplementado o SOF condicionado se presentan en la siguiente tabla.

Número de Espermatozoides migrados				
SOF suplementado SOF condicionado			dicionado	
LF	Sin LF	LF Sin LF		
146	104	161	83	
+40% (p<0.05) +94% (p<0.05)				

Tabla 1. Relación de espermatozoides migrados (quimioatracción) hacia los pozos de salida de la cámara microcanal con o sin líquido folicular y en presencia de medio SOFs o SOF condicionado.

DISCUSIÓN

La quimiotaxis espermática es un tema controversial, puesto que se ha sugerido que este proceso sería vital para el encuentro de gametos masculinos y femeninos en especies animales de fecundación externa como las acuáticas, pero no así en los mamíferos, cuya fecundación ocurre en el interior de sus organismos. Los estudios que apoyan la existencia de la quimiotaxis en mamíferos, han utilizado diferentes dispositivos y químicos atrayentes con resultados variables, pero que avalan significativamente la existencia de dicho proceso. De lo encontrado en el presente trabajo, es evidente una diferencia significativa (p<0.05) entre el número de espermatozoides migrados hacia el líquido folicular y en ausencia de éste, además de que el llenar el canal de migración espermática de la cámara microcanal con medio SOF suplementado se obtuvo 40% mayor de población espermática. Cuando se usó el medio SOF condicionado, por la permanencia

de los espermatozoides epididimarios durante su capacitación, permitió una mayor migración (94%) hacia el líquido folicular que con respecto al pozo sin líquido folicular (146 vs 104 y 161 vs 83, respectivamente).

Eisenbach y Giojales (2006), determinaron en mamíferos que la orientación espermática es esencial para que lleguen con éxito al ovocito, y agregaron que se han demostrado tres mecanismos que guían al espermatozoide para que tenga lugar la fecundación: la termotaxis, la reotaxis y la quimiotaxis, donde los diferentes estímulos motivadores para el encuentro de gametos son, el gradiente de temperatura, el flujo de fluidos y un gradiente de concentración de una sustancia quimio atrayente (progesterona), respectivamente. Es decir que, el proceso de fecundación donde está involucrada la atracción espermática, es aún más complejo de lo que se estimaba tan solo por sustancias químicas.

Por otro lado, se sabe que el comportamiento de respuesta de los espermatozoides a un gradiente espacial de temperatura o substancias químicas, se traduce en un descenso en la linearidad del patrón de nado o desplazamiento (Eisenbach y Giojalas, 2006). Esto se refleja en los parámetros de movilidad (menor linearidad) y en el aumento del desplazamiento de la cabeza, lo que resulta en una mayor amplitud de movimiento del flagelo. Aunque en el presente trabajo no se analizó el patrón de movimiento espermático por método CASA, es evidente la modificación del patrón de movimiento como efecto importante de la quimiotaxis y como parte de un proceso fundamental para el encuentro de los gametos. Baste recordar que, con la diminución de la linearidad, el espermatozoide tiene un patrón de movimientos oscilatorios en espiral abierta, que le facultan para un probable encuentro con el gameto femenino (Eisenbach y Giojalas, 2006).

La quimiotaxis espermática es un mecanismo muy extendido y conservado entre especies, que guía el espermatozoide hacia el ovocito, tanto cuando la fecundación es externa como interna. En los resultados aquí obtenidos se aprecia cómo son guiados de mejor manera hacia el quimioatrayente, cuando se coloca líquido folicular en el pozo de salida, siendo de 40 a 94% más los espermatozoides migrados que cuando no se coloca dicho liquido folicular.

Por otro lado, la utilización de medio SOF condicionado durante el proceso de capacitación espermática, también resultó altamente favorable para la ocurrencia de la migración espermática, obteniendo un aumento de 94% en el número de espermatozoides migrados, con respecto al 40% que se obtuvo en medio SOF. Es decir que, en el medio SOF condicionado se obtuvo poco más del doble en la cuenta de espermatozoides migrados entre tratamientos.

CONCLUSIONES

Dados estos resultados en los que se observó una preferencia en la migración de espermatozoides hacia el medio SOF condicionado en presencia de líquido folicular, se confirma que el líquido folicular de ovino ejerce el efecto de quimiotaxis hacia los espermatozoides epididimarios de hámster. Además que la cámara de microcanal diseñada y construida en nuestro laboratorio, resultó ser un modelo preciso para demostrar la atracción espermática o quimioatracción.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. A. Darszon, Canales, iones y cómo el espermatozoide interpreta los mensajes del óvulo, En: Instituto de Biotecnología de la UNAM 25 aniversario (Ed.), Una ventana al quehacer científico México, DF, UNAM., 2008, pp. 29-42.
- 2. C. De Jonge, Human Fertilization, En: Handbook of the Assisted Reproduction Laboratory, Keel B, May J, De Jonge C, editores. Florida: CRC Press, 2000, pp. 28.

- 3. M. Eisenbach, Giojalas, L. C., Sperm guidance in mammals an road to the egg, Nature Reviews Molecular Cell Biology, Vol. 7, 4, 2006, pp. 276-285.
- 4. T. Isobe, Minoura H, Tanaka K, Shibahara T, Hayashi N, Toyoda N.,The effect of rates on human sperm chemotaxis, Hum Reprod, Vol. 17, 2002, pp.1441–1446.
- 5. M. Iqbal., Shivaji S., Vijayasarathy S., Balaram P., Synthetic peptides as chemoattractants for bull spermatozoa structure activity correlations, Biochem Biophys Res Commun, Vol. 96, 1980, pp. 235–242.
- 6. M. Teves, Guidobaldi H. A., Unates D. R., Sanchez R., Miska W., SJ, Morales G. A. A., Giojalas L. C., Molecular mechanism for human sperm chemotaxis mediated by progesterone, PLos One, Vol. 86, pp. 745–749.
- 7. M. Xiel, Mar, Han C, Suk, Zhang Q., Qiu T., Wang L., Huang G., Quiao J., Wang J. Y., Cheng J., Integration of sperm motility and chemotaxis screening with a microchannel-based device, Clinical Chemistry, Vol. 56, 7, 2010, pp. 1270-1278.
- 8. R. Yanagimachi, Mechanisms of fertilization in mammals, En: Fertilization and Embryonic Development *in vitro*, (L. Mastroianni, Jr. y J.D. Biggers, Eds.). Ed. Plenum Press, New York, 1981, pp. 82-182.
- 9. N. Zamir, Riven-Kreitman R., Manor M., Makler A., Blumberg S., Ralt D., Eisenbach M., Atrial natriuretic peptide attracts human spermatozoa *in vitro*, Biochem Biophys Res Commun, Vol. 197, 1993,pp.116 –122.
- L. Zhaojing, Shaolin W., Zilong S., Ruiyan N., Y., Jundong W., *In vivo* influence of sodium fluoride on sperm chemotaxis in male mice, Reproductive Toxicology, Vol. 14, 2013, pp. 649-660.

FORMULACIÓN DE UNA PELÍCULA A BASE DE COCCERINA

Valentín López Gayou, Ada María Ríos Cortés, Minerva Rosas Morales, Gabriel Ríos Cortés,

Instituto Politécnico Nacional – Centro de Investigción en Biotecnología Aplicada Instituto tecnológico de Orizaba

RESUMEN

En la actualidad existen nuevas tecnologías de conservación que retrasan los procesos de deterioro y mantiene la calidad e inocuidad de los alimentos. Una de estas tecnologías es el uso de recubrimientos comestibles o películas las cuales los protegen de estos factores. Para su elaboración se han empleado diversos materiales tales como polisacáridos, lípidos y proteínas que regularmente proviene de desechos agroindustriales. Por lo que en este trabajo se estableció la formulación de una película a base de dos subproductos: la coccerina, que es la cera que recubre a la grana cochinilla que es desechada en su proceso de colecta para la obtención del ácido carmínico, que dadas sus características regulan la permeabilidad al vapor de agua y el quitosano, este ultimo, subproducto proveniente de los crustáceos cuya función en este caso son propiedades antimicrobianas. Las películas elaboradas con estos compuestos se analizaron en un microscopio metalográfico y mediante FTIR las cuales mostraron buena apariencia a una concentración de 0.5% y 1% de material lipídico sobre la matriz de quitosano. Los espectros obtenidos indicaron la interacción de cada componente y se determinó que no ocurren enlaces entre cera y quitosano. el material lipídico solo se mantiene estable dentro de la emulsión debido a la viscosidad del quitosano que lo estabiliza de forma temporal.

INTRODUCCIÓN

Una película comestible se define como una capa preformada y delgada elaborada con material comestible, la cual puede ser colocada sobre alimento o entre los componentes del producto. La función de estas películas es inhibir o reducir la migración de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, aromas, lípidos, pigmentos, también pueden funcionar como antioxidantes, antimicrobianos, saborizantes, colorants los cuales mejoran la apariencia dando brillo al producto recubierto. Sin embargo, también poseen desventajas ya que pueden llegar a generar sabores, colores y olores no característicos al alimento que recubren o incluso sabores desagradables por el resultado de la inducción de anaerobiosis, o que la cubierta se vuelve quebradiza proporcionando un aspecto desagradable a la superficie del producto (Bosquez, 2003).

En caso particular de frutas y hortalizas para consumo en fresco, las películas comestibles proporcionan una cubierta protectora adicional cuyo impacto tecnológico es equivalente al de una atmósfera modificada. Actualmente las películas y cubiertas comestibles tienen una amplia variedad de aplicaciones: cubiertas de chocolate para nueces y frutas, cubiertas de cera para frutas y hortalizas, productos cárnicos, confitería, etc. (Bosquez, 2003). Sus propiedades dependen de los componentes con la que se elaboran. Las películas pueden estar compuestas principalmente por polisacáridos, proteínas, lípidos, gomas y alginatos o la mezcla de cualquiera de estos grupos (Bosquez, 2003). Entre los polisacáridos mas empleados en la formulaciones de películas, se encuentra el quitosano este es derivado de la quitina. La cual es un biopolímero que

se encuentra en el exoesqueleto de crustáceos y por medio de una desacetilación alcalina se obtiene. Entre los lípidos, la cera es un material importante y es obtenido generalmente como residuo de procesos de extracción de un producto principal como es la miel en la actividad apícola, o bien, obtenida intencionalmente como es el aprovechamiento de cera de candelilla. Las ceras son blandas y moldeables en caliente, pero duras en frío (*Badui, 2006*). En México, el mayor uso de encerado está en los frutos cítricos como naranja, toronja y limón; además de durazno, ciruela, mandarina, pera, manzana, aguacate, plátano, lima, papaya y piña. Esta técnica ayuda a prolongar hasta en 50 por ciento la vida útil del fruto. Las ceras parafinadas como por ejemplo la cera de candelilla (un aceite exudado de la planta de candelilla, originaria de USA y México), son algunas de las ceras preparadas y usadas en tales aplicaciones; ellas también son usadas como agentes de microencapsulación, específicamente para sustancias con olores y sabores a condimento (Tharanathan, 2003). Entre las ceras naturales también existe la cera de grana cochinilla la cual hasta el momento no se ha aprovechado, por lo que con el fin de darle alguna aplicación se realizó una formulación con quitosano y esta cera y su posterior caracterízación.

PARTE EXPERIMENTAL

Purificación de la cera.

Se realizó un tamizado de cera con malla a 50, 250 y 300. Se obtuvo un tamizado fino en malla de 300. Se realizó la extracción de cera con xileno como solvente.

Formulación de película

Como fase continua se ocupó una solución de quitosano (Q) a un porcentaje de 1.5% (peso/volumen) en ácido acético al 1% en agua desionizada.

Para la fase dispersa se realizó una estabilización de cera con aceite de inmersión (CA) como sustituto de aceite mineral en proporción de 95:05 de Cera:Aceite, respectivamente.

Para la incorporación de ambas fases se realizaron las siguientes emulsiones

Formulación de emulsiones

Emulsion Q:CA05

Se realizó una prueba en proporción de 99.5:0.5 entre Quitosano (Q) y CA (cera/aceite). Se realizó la emulsión mediante un agitador magnético a 150 °C en parrilla por 20 min. Se igualó la temperatura de Q a la temperatura de la CA. Se tomó 0.5% de C:A y se agregó a 99.5% de Q; se realizó una agitación magnética por 30 minutos. La emulsión se depositó en caja petri, posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Emulsión Q:CA1.

Se realizó una prueba en proporción de 99:01 entre Q y CA. Se realizó la emulsión mediante un agitador magnético a 150 °C en parrilla por 20 min. Se igualó la temperatura de Q a la temperatura de la CA. Se tomó 1% de C:A y se agregó a 99% de Q; se realizó una agitación magnética por 30 minutos. La emulsión se depositó en caja petri, posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Emulsión Q:CA2.

Se realizó una prueba en proporción de 98:02 entre Q y CA. Se realizó la emulsión mediante un agitador magnético a 150 °C en parrilla por 20 min. Se igualó la temperatura de Q a la temperatura

de la CA. Se tomó 2% de C:A y se agregó a 99% de Q; se realizó una agitación magnética por 30 minutos. La emulsión se depositó en caja petri, posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Emulsion Q:CA3.

Se realizó una prueba en proporción de 97:03 entre Q y CA. Se realizó la emulsión mediante un agitador magnético a 150 °C en parrilla por 20 min. Se igualó la temperatura de Q a la temperatura de la CA. Se tomó 3% de C:A y se agregó a 97% de Q; se realizó una agitación magnética por 30 minutos. La emulsión se depositó en caja petri, posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Emulsion Q:CA4.

Se realizó una prueba en proporción de 96:04 entre Q y CA. Se realizó la emulsión mediante un agitador magnético a 150 °C en parrilla por 20 min. Se igualó la temperatura de Q a la temperatura de la CA. Se tomó 4% de C:A y se agregó a 96% de Q; se realizó una agitación magnética por 30 minutos. La emulsión se depositó en caja petri, posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Emulsion Q:CA5.

Se realizó una prueba en proporción de 95:05 entre Q y CA. Se realizó la emulsión mediante un agitador magnético a 150 °C en parrilla por 20 min. Se igualó la temperatura de Q a la temperatura de la CA. Se tomó 5% de C:A y se agregó a 95% de Q; se realizó una agitación magnética por 30 minutos. La emulsión se deposito en caja petri, posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Caracterización de películas

Microscopía

La caracterización de la película mediante microscopía se empleó un microscopio metalográfico invertido Olympus modelo PME3. Se realizaron tres pruebas diferentes para remover cera de la película como se muestra en la tabla 1.

Pruebas	Procedimiento
Testigo	Se obtuvo una película en caja petri y se observó en microscopio
Calentamiento	Una reproducción de la misma película fue sometido a calentamiento para remover la cera
Di solvente	Otra muestra similar se colocó en un recipiente en el cual se recubrió con disolvente la película y se sometió a calentamiento por 1 hora.

Caracterización FT-IR

Se realizó el análisis de espectros de cera, aceite y quitosano como componentes principales de las películas obtenidas en FT-IR Bruker Vertex 70.

RESULTADOS

Las películas obtenidas con mayor concentración de cera mostraron una coloración blanca y grasosa al tacto, con un fuerte olor a aceite. Las películas QCA05 y QCA1 con mejor aspecto fueron caracterizadas.

Caracterización en microscopio

En el caso de la película 0.5% de CA se encontraron partículas de CA muy dispersas sobre la película de quitosano.

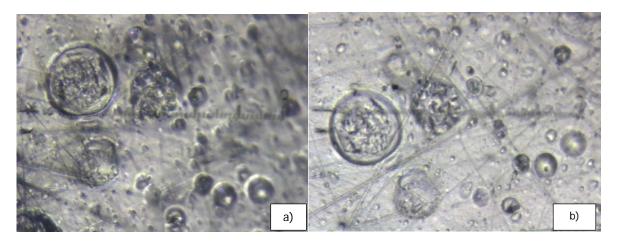


Figura 1.- Película QCA05 testigo

Película QCA05 sometido a calentamiento

La película obtenida con 0.5% de CA se llevó a una temperaruta de 90 °C aproximadamente por 30 min para intentar desintegrar la cera. Posteriormente se observó en microscopio (Figura 2).

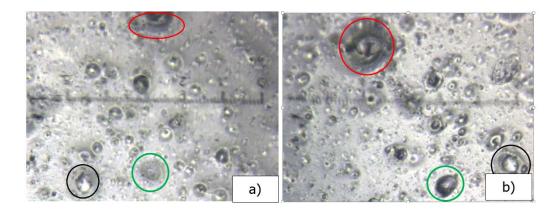


Figura 2.- a) Película con partículas de cera formando implosiones sobre la superficie después de aplicar calor. b) En la parte posterior no muestra perforaciones en la misma ubicación por lo que no ocurrió perforación.

Película QCA05 sometido a solvente

Se preparó otra muestra de película QCA05 y se sumergió en solvente xileno para retirar parte de la cera de la película (Figura 3).

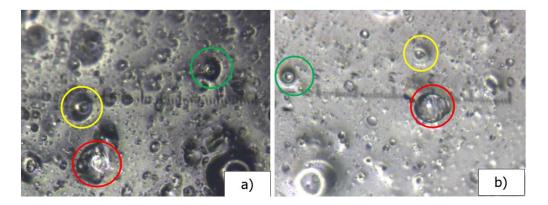


Figura 3.- a) Se muestra la película con partículas de cera formando glóbulos sobre la superficie de después de aplicar calor. b) En la parte posterior no se obervaron perforaciones.

Película QCA1

Se obtuvo una película quitosano al 1% de CA y se tomaron dos muestras más por separado para la desintegración de cera (Figura 4).

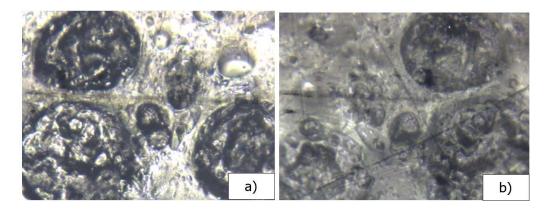


Figura 4.- Se mostraron partículas de cera dispersas en mayor cantidad que en películas QCA05. Siendo estas mas grandes. b) Se observó menor cantidad de cera en la parte posterior de la película.

Película QCA1 sometido a calentamiento

Se preparó una película al 1% de CA y se sometió a calentamiento a una temperatura de 90 °C aproximadamente., Como muestra la Figura 5.

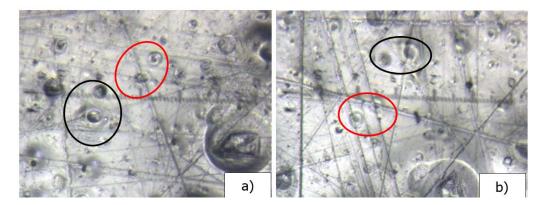


Figura 5.- a). Se detectaron pequeñas implosiones sobre la superficie b) En la parte posterior de la película sometida a calentamiento en la misma área. Los glóbulos antes encontrados no se muestran en esta superficie de la película. Se observaron otros glóbulos correspondientes de partículas pequeñas adheridas en este lado de la película.

Película QCA1 sometido a solvente

Se sumergió una película QCA1 en solvente xileno a temperatura de 90 °C aproximadamente. Se observó en microscopio.

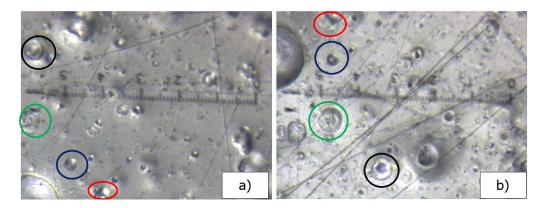


Figura 5.- a) En las dos muestras observadas no se nota la desintegración de la cera de la película de quitosano, pero tampoco se muestra integrada en la matriz. Se detectaron glóbulos similares a los encontrados en las muestras sometidas a calentamiento. b) No se encontraron orificios procedentes de los observados a los glóbulos de la parte anterior de la película.

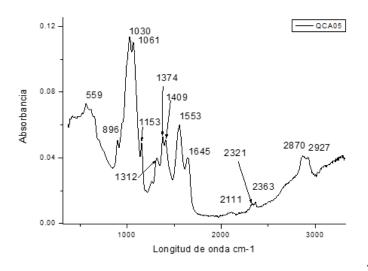
De las películas obtenidas de QCA05, el porcentaje de gotas pequeñas entre 0.01-0.05 mm es de 80% aproximadamente, esto como referencia a tres áreas tomadas como muestra de las películas observadas. El 20 % restante corresponde a gotas de mayor tamaño desde 0.1-0.15 mm.

De las películas obtenidas de QCA1, el porcentaje de gotas pequeñas de 0.01-0.05 mm es de un 75% aproximadamente y el otro 25% corresponde a gotas más grandes de 0.1-0.3 mm.

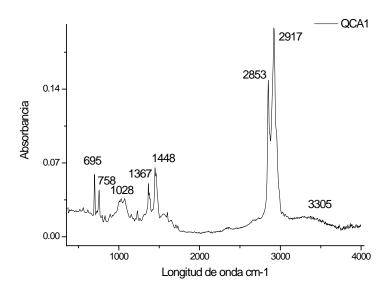
Caracterización FT-IR

Se realizó el análisis de espectros de cera, aceite y quitosano como componentes principales de las películas obtenidas en FT-IR Bruker Vertex 70 para analizar las películas realizadas

En el caso del espectro de QCA05 muestra una banda entre 3400 y 3200 cm-1 que pertenece al estiramiento de los enlaces OH y NH presentes en la estructura de quitosano. En este espectro de la película QCA05 se encontró la presencia de bandas de estiramiento CH característico de carbono saturado en un rango de 2870 a 2927 cm-1 seguido por pequeñas señales en un rango de 2363 a 2111 cm-1 correspondientes a la presencia de diferentes estiramientos de CH presentes en cera y aceite. Para este caso se presentan con menor intensidad. En la región de 1645 cm-1 a 1312 cm-1 se presenta el espectro de quitosano. La banda con número de onda 1645 cm-1 a 1553cm-1 es característica de una amida I de quitosano y se puede observar la inflexión del grupo -NH2. Las bandas entre 1250 y 800 cm-1 son estructuras de tipo sacárido del quitosano. La aparición de absorción a 896 cm-1 en quitosano es vibración de NH2. Por tanto, en esta lectura seencontró mayores componentes de quitosano.



El espectro de QCA1 muestra una banda entre 3305 cm-1 perteneciente al estiramiento de los enlaces OH y NH presentes en la estructura de quitosano. En este espectro de la película QCA1 se encontró la presencia de bandas de estiramiento CH característico de carbono saturado en un rango de 2917 a 2853 cm-1 seguido por pequeñas señales en un rango de 2733 a 2350 cm-1 correspondientes a la presencia de diferentes estiramientos de CH presentes en cera y aceite. La banda con número de onda 1448 cm-1 es característica de una amida I de quitosano y se puede observar la inflexión del grupo -NH2. La absorción a 1367 cm-1 corresponde a las interacciones O-H. En este espectro también se muestran bandas en 1028 y 798 a 695 correspondientes a interacciones entre CH, aminas y CO₂ de cera y aceite incluyendo al quitosano. En este espectro se puede deducir que la mayor interacción entre los tres componentes de la película ocurre en una longitud de onda de 1550 a 700 cm-1.



Los espectros obtenidos muestran poca interacción entre los componentes químicos de la cera y el quitosano, ya que en gran parte de las muestras de películas se mantienen ciertos parámetros que corresponden a compuestos de cera y quitosano respectivamente. En algunos casos se observan bandas nuevas que pueden ser de residuos de aceite que rodea la superficie de la cera y de acuerdo a lo observado en microscopio, ya que durante la toma de muestras en microscopio se puede observar tonos fluorescentes alrededor de las partículas de cera. Sin embargo durante la estabilización de la cera, esta se incorpora satisfactoriamente a la solución de aceite.

Se hizo una comparación entre las lecturas obtenidas en ATR en cada porcentaje de películas desde QCA05 a QCA5 donde se puede corroborar que a mayor cantidad de fase lipídica aumenta el estiramiento de CH en la película. De igual manera sucede en los espectros obtenidos en FT-IR de transmisión, aunque en este último método se obtienen menor cantidad de bandas en comparación con los espectros de ATR. La mayor cantidad de bandas se concentra en la región de huella dactilar o infrarrojo cercano, en el cual las bandas que pueden apreciarse es la interacción de varios compuestos que forman enlaces o coinciden en su longitud de absorción.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos de métodos aplicados para remover la cera de la película de quitosano indicaron que la cera no se encuentra incorporada en la matriz sino que se encuentra en la superficie de la película.

Se observó una gran mejoría en la uniformidad de las películas reduciendo el contenido de cera.

Los espectros obtenidos indican una estructura constante de quitosano y cera, mientras que en la región de huella dactilar se muestran bandas nuevas que podrían ser residuos de aceite en la película.

El aceite ayuda a estabilizar la cera pero a mayor cantidad de material lípido aumenta el estiramiento de CH en la película de acuerdo a los espectros obtenidos y aparecen compuestos OH en bandas de 3060 a 3037 cm-1.

La cera genera una apariencia blanca sobre la película de quitosano mientras tanto, el quitosano funciona como estabilizante reteniendo partículas de material lipídico dentro de la solución.

AGRADECEMOS AL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL POR EL APOYO PARA REALIZAR ESTE PROYECTO

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Alzate F., Cuervo R. y Valencia M., (2015). Extracción y caracterización de quitosano fúngico experimental y comercial, como potencial biomaterial para aplicaciones en ingeniería de tejidos. Universidad San Buenaventura, Cali, Colombia.
- 2. Badui, S. (2006). *Ceras.* Química de los alimentos. 4ta ed. Pearson. Edo. México. México. P. 206.
- 3. Bósquez, E. (2003). Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón Persa (Citrus latifolia Tanaka). Tesis. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F. Pág. 12.
- 4. Gómez, E. (2011). *Recubrimientos para frutas y hortalizas*. Tecnología postcosecha y procesado mínimo. V Curso Internacional. Cartagena, España.
- 5. Hagenmaier R. (2000). *Evaluation of a polyethylene-candelilla coating for 'Valencia' oranges*. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USA.

ESTRÉS OSMÓTICO EN Physcomitrella patens: UN ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO

Orbe Sosa Zuleika, Ríos Meléndez Selma, Arroyo Becerra Analilia, Martínez Núñez Mario Alberto, Fabien Nogué, y Villalobos López Miguel Ángel.

Centro de Investigación en Bitecnología Aplicada-Instituto Politécnico Nacional, Tlaxcala, México. CP. 90700. *mvillalobosl@ipn.mx

Laboratorio de Ecogenómica Unidad Académica de Ciencias y Tecnología de la UNAM en Yucatán, Fac. de Ciencias. UNAM. Yucatán, México. CP. 97355.
Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318 INRA-AgroParisTech.

RESUMEN

Como organismos sésiles, las plantas están sometidas a diferentes factores de estrés abiótico, siendo la sequía el que mas afecta su desarrollo. Las plantas presentan estrategias celulares, fisiológicas y moleculares para defenderse de la falta de agua. Un ejemplo es el aumento de la actividad enzimática y las reacciones de fosforilación¹. El musgo *Physcomitrella patens* es tolerante a distintos tipos de estrés abiótico. P. patens es utilizado como modelo de estudio debido su capacidad de realizar "gene targeting" a tasas similares a las de levadura. En el presente proyecto analizamos transcriptomas de P. patens bajo estrés abiótico, los cuales fueron obtenidos de protonemas de 10 días de edad sometidos a dos tratamientos de estrés osmótico con 300mM de sorbitol (Stl) y glucosa (Glc), por un periodo de 3hrs. Se encontraron 31474 genes expresados de manera diferencial (GDE) para sorbitol y 63051 GDE en el tratamiento con glucosa, con respecto al control. Bajo el tratamiento con sorbitol se identificaron 114 genes que codifican para enzimas, mientras que para glucosa fueron 161. La vía del metabolismo de la sacarosa y el almidón es de especial importancia, pues es fundamental para entender la reconfiguración metabólica. Nuestros resultados resaltan la relevancia de genes involucrados en reacciones enzimáticas de procesos metabólicos importantes, como la enzima 4-α-glucanotransferasa (DPE2), considerada en plantas vasculares como una enzima limitante. Se utilizó el sistema CRISPR/Cas9 para generar líneas mutantes.

INTRODUCIÓN

De manera natural, las plantas están expuestas a distintos tipos de estímulos ambientales, los cuales, dependiendo de su intensidad y duración pueden afectar de manera significativa su desarrollo, por lo que se les considera estímulos estresantes². Al tener un estilo de vida sésil las plantas activan diversas estrategias celulares, moleculares y fisiológicas de sobrevivencia para contrarrestar los efectos nocivos del estrés³. Dichas estrategias son reguladas por la maquinaria transcriptómica, permitiendo la expresión o silenciamiento de genes relacionados con la tolerancia del organismo. En la actualidad, existen diversas bases de datos y programas informáticos con algoritmos matemáticos precisos que permiten, no sólo almacenar la información encontrada a partir de los análisis transcriptómicos de un organismo determinado, sino también conocer de manera más detallada como está compuesto su genoma para poder encontrar genes nuevos, sitios importantes de regulación y factores transcripcionales, por mencionar algunas; a su vez, los resultados obtenidos por análisis *in silico* pueden corroborarse con técnicas moleculares conocidas. De tal forma que existen distintos modelos de estudio que cuentan con la secuenciación de su genoma, susceptible de ser comparado con los trancriptomas obtenidos bajo condiciones

específicas, entre los que se encuentran el musgo *P. patens*. El musgo *P. patens* pertenece al phylum briophyta y cuenta con diversas características como la tasa de recombinación homóloga similar a la realizada por levaduras, la dominancia de haploidia en su ciclo de vida y su fácil cultivo *in vitro* que lo hacen un modelo interesante. Debido a que el musgo P. *patens* expresa de manera coordinada genes que codifican para enzimas, y estas a su vez participan en ciertas vías metabólicas cuyos productos finales ayudan a generar respuestas adaptativas ante condiciones de estrés abiótico, el objetivo del presente proyecto es identificar aquellas enzimas y vías metabólicas que se activan ante condición de estrés osmótico por sorbitol y glucosa (300mM) con ayuda de las nuevas tecnologías de secuenciación y estrategias bioinformáticas comparando lo encontrado en las distintas bases de datos disponibles. Los resultados bioinformáticos aquí presentados serán corroborados de manera experimental.

PARTE EXPERIMENTAL

Material biológico

Se crecieron protonemas de *P. patens* en medio sólido PpNH4 sobre membrana de celofán, con un periodo de 16hrs luz y 8hrs oscuridad, a una temperatura de 23°C y una humedad relativa de 25%. Para someter el tejido a estrés osmótico se utilizó la técnica de traspaso, que consiste en transferir la membrana de celofán a cajas Petri con medio PpNH4 adicionado con 300mM de sorbitol o glucosa (300mM) durante un periodo de 3hrs. Una vez terminado el estímulo, se recolecta el tejido y se procede a la extracción del ARN total con Trizol, para posteriormente purificar el ARNm con oligo dT.

Análisis bioinformático del transcriptoma

El ARNm se secuenció utilizando la tecnología de RNAseq (Illumina). Una vez recibidos los archivos fastq, se procedió a realizar el análisis de calidad utilizando el programa NGS-QC; para su análisis (alineación, ensamblado y evaluación estadística) se utilizó el software TopHat con el genoma de referencia V3.3 de *P. patens* disponible en Phytozome. Al listado de genes diferencialmente expresados (GDE), se le asignaron sus funciones basado en el archivo de anotación disponible en Phytozome y en las bases de datos de KEGG y Uniprot, principalmente. A aquellos genes identificados con una función enzimática se les asignó su ruta metabólica correspondiente.

Se realizó una búsqueda bibliográfica, en las bases de Pubmed y Scopus, de los genes más representativos para posteriormente ser validados de manera experimental.

Sistema CRISPR/Cas9

El diseño de los ARNg estuvieron a cargo del Dr. Fabien Nogue (INRA-Abrobiotech, Versalles Francia).

Para la transformación de protoplastos de *P. patens* se utilizaron los plásmidos: pEnt-gRNA-PpDPE2-1 (1.5μg), pEnt-gRNA-PpDPE2-2 (1.5μg), pAct-Cas9 (1.5μg) y pBNRf (20μg) se realizó con el método de Bezanilla (2008). Los gRNA's fueron diseñados para deletar dos regiones con distinta longitud del exón 1 (PpDPE2-1, ; PpDPE2-2,), esperando observar una banda mayor de 500pb para la WT y menor de 400pb para las distintas clonas generadas por lo que se comprobó la deleción mediante PCR en gel de agarosa 1.5%.

Ensayo de carbohidratos

Se relizó la cuantificación de azúcares solubles con el reactivo de antrona basado en el método de Yemm y Willis (1954) con algunas modificaciones. Partiendo de protonemas de cinco días de edad colectados a las 12:00hrs del día, lo que representa la mitad del periodo luminoso. Se ajustaron diluciones 1:10 para realizar la cuantificación a una longitud de onda de 600nm.

RESULTADOS

Una vez realizado el análisis del transcriptoma mediante el software TopHat, se obtuvieron un total de 31474 GDE para la condición de Stl y 62051 para la condición de Glc (Figura 1a). A partir de estos, se continuó analizando solamente aquellos cuyo nivel de expresión con respecto al control fuera mayor a 2 (log₂≥2); obteniendo así 420 para Stl y 501 genes para Glc. De estos últimos se identificaron 114 y 161 genes que codifican para enzimas, respectivamente (Figura 1b). Nuestros resultados indican que la ruta del metabolismo de la sacarosa y almidón es la más representada (con nueve genes de la vía) (Tabla 1). De acuerdo a lo reportado por Streb y Zeeman (2012) en general participan 14 enzimas tanto en reacciones catabólicas y anabólicas de sacarosa y almidón, de las cuales nosotros encontramos inducidas mas de la mitad de estas en nuestro análisis trascriptómico.

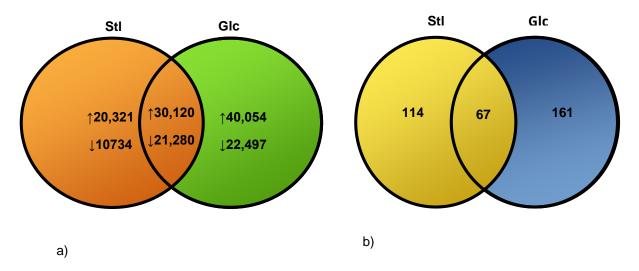


Figura. 1. Diagramas de Venn que muestra a) los genes diferencialmente expresados para el tratamiento de Sorbitol (StI), Glucosa (Glc) y los comunes entre ambos tratamientos, y b) la cantidad de genes encontrados que codifican para enzimas.

Ruta metabólica	Gen	[E.C.]	Actividad	
ppp00500	Pp3c3_9200	[3.2.1.20]	Alfa-glucosidasa	
Metabolismo de	Pp3c19_8410	[2.7.7.27]	Glucosa 1	fosfato
la sacarosa y			adenililtransferasa	
almidón	Pp3c22_9700	[3.2.1.2]	Beta amilasa	
	Pp3c9_25200	[2.4.1.14]	Sacarosa fosfato sintasa	
	Pp3c5_19770	[2.4.1.13]	Sacarosa sintasa	
	Pp3c2_2790	[3.2.1.39]	Beta 1, 3 glucanasa	
	Pp3c25_1530	[2.7.1.105]	Fosfofructoquinasa 2	
	Pp3c19_20120	[2.7.1.1]	Hexoquinasa	

Pp3c9_14900 [2.4.1.21] Almidón sintasa
Tabla 1. Genes encontrados en el transcriptoma que participan en el metabolismo de la sacarosa y almidón.

Dentro de los genes expresados de manera positiva se encontró al gen PpDPE2, el cual codifica para la enzima 4-α-glucanotransferasa, la cual está reportada en plantas superiores como una enzima limitante del metabolismo de la sacarosa y almidón. Una mutación en este gen causa un aumento en el contenido de azúcares solubles en las hojas de *A. thaliana*⁴.

Aunque su expresión no fue significativa con respecto al control, se corroboró su expresión por medio de PCR de punto final y se deletó el exón 1 mediante el diseño de dos gRNA que reconocen dos regiones de distintas pares de bases del mismo, permitiendo generar dos mutantes por medio del sistema CRISPR/Cas9 (Figura 2 a y b), comprobando su correcta deleción por secuenciación (Figura 3).

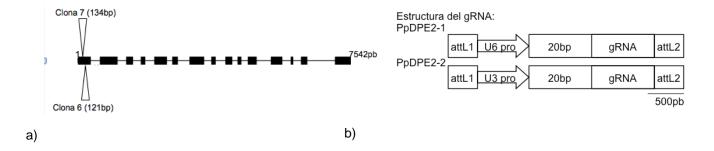


Figura. 2.
a) Estructura del locus del gen PpDPE2 se distribuye de la posición 0 a 7542pb, incluye 15 exones.
b) Diseño de los gRNA.

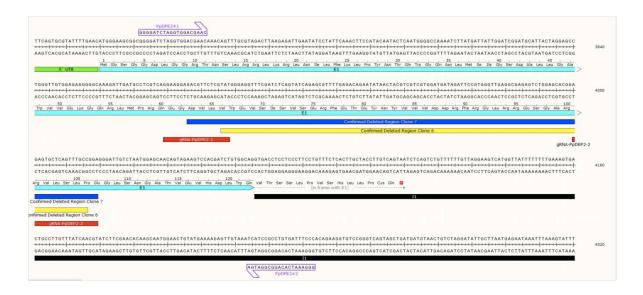


Figura. 3. Esquema del gen PpDPE2 y sitios de unión de los gRNA.

Por medio de la medición de azúcares solubles del tejido protonemal se encontró una mayor cantidad de estos en las clonas generadas con respecto a la línea silvestre. Observando que la enzima DPE2 de *P. patens* realiza la misma función que la reportada para plantas vasculares.

CONCLUSIONES

El análisis *in silico* fue fundamental para encontrar enzimas y vías metabólicas esenciales para el desarrollo del organismo y su tolerancia al estrés osmótico. La deleción del exón 1 del gen PpPDE2 utilizando el sistema CRISPR/Cas9 provoca un retraso en el crecimiento de los gametóforos de *P. patens*, así como una morfología distinta en el crecimiento de la colonia. Los ensayos preliminares de cuantificación de azúcares solubles nos permiten observar una mayor cantidad de estos en las líneas generadas con respecto a la línea silvestre crecidas en condiciones control, por lo que se infiere que está enzima presenta la misma función que la reportada para plantas vasculares. Sin embargo, en este momento se están realizando más experimentos al respecto considerando el ciclo circadiano que permitan confirmar esto.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a las siguientes instituciones por las becas otorgadas para la realización del presente proyecto: COFAA, CONACyT, SIP, Instituto Politécnico Nacional, PAPIIT-IA205417, UNAM; así como también a mis asesores de tesis y compañeros de trabajo por su apoyo.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. H. Fujii y J. K. Zhu. Osmotic stress signaling via protein kinases. (2012) *Cell Mol. Life Sci.*, Vol. 69:9, pp. 3165–3173.
- 2. S. Friedel, et al. Reverse engineering: a key component of systems biology to unravel global abiotic stress cross-talk. (2012) *Front. Plant Sci.* Vol.3:294, pp. 1-16.
- 3. J. Krasensky y C. Jonak. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. (2012) *J Exp. Bot.* Vol.63:4, pp. 1563-1608.
- 4. T. Chia, et al. A cytosolic glucosyltransferase is required for conversion of starch to sucrose in Arabidopsis leaves at night. (2004) *Plant J.* Vol.37, pp. 853–863.
- 5. S. Streb y S. Zeeman. Starch Metabolism in Arabidopsis. (2012) *Ame. Soc. Plant Biol.* pp. 1-34.

CARACTERIZACIÓN DE UN LOTE DE SUELO DE LA UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE TECÁMAC

L. V. Camargo-Cruz, V. Enciso-Tenorio, M. Quezada-Cruz¹ y P. R. Galicia-García.

Laboratorio de Biotecnología Ambiental. Universidad Tecnológica de Tecámac. Carretera Federal México - Pachuca, Km. 37.5, Predio Sierra Hermosa, C.P. 55740, Tecámac, Estado de México. predictage @hotmail.com

RESUMEN

Por la gran importancia que representa el suelo para la vida del hombre y de todos los seres vivos, este recurso se debe conservar. Sin embargo, en la actualidad está seriamente amenazado por la práctica de sistemas de producción inadecuados o mal aplicados, la contaminación industrial y urbana aceleran los procesos de erosión y desertificación, estos factores provocan la reducción de la fertilidad y el aumento de la salinidad, lo anterior también modifican los procesos naturales de regeneración. Para entender y atender este problema se realizó la caracterización parcial de un lote de suelo de la Universidad Tecnológica de Tecámac, en el Estado de México, de acuerdo a la norma NOM 021 SEMARNAT 2000, que establece las especificaciones de fertilidad y salinidad presentes en el suelo. Se tomaron cuatro muestras al azar en zig- zag en una superficie de 2 ha. el análisis se realizó por triplicado. Los resultados mostraron pH de 8.2, humedad de 3.6 %, materia orgánica de 2.6 %, cantidad de nitrógeno inorgánico de 13 mg.Kg⁻¹, densidad aparente de 1.4 g.cm⁻³ y una conductividad eléctrica de 2.8 dS.m⁻¹ a 25 °C. El suelo se clasifica como ligeramente salino y poco fértil. En principio una alternativa para mejorar dicho suelo es la aplicación de riegos frecuentes para su lavado y retiro de sales. Así mismo, se recomienda el cultivo de especies tolerantes a la salinidad como: alfalfa, gladiola, haba, cebolla, nabo, col, lechuga y zanahoria.

INTRODUCCIÓN

En México, las actividades industriales han provocado serios daños al ambiente afectando a la mayoría de los ecosistemas. El suelo representa un ecosistema donde, se puede encontrar una gran variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos. Es un cuerpo natural que conforma el hábitat de bacterias, hongos, levaduras, virus y plantas superiores, entre otros, que sirve para la alimentación de los animales y del hombre a través de los ciclos tróficos y tiene como sustento los ciclos biogeoquímicos (Thompson y Troeh, 2002).

Los componentes inorgánicos que contiene y los organismos así como los microorganismos que lo habitan mantienen este ecosistema en equilibrio. Los organismos y microorganismos aportan componentes químicos y minerales, resultado de la biodegradación. Además de complejos orgánicos como ácidos húmicos y fúlvicos, enzimas, vitaminas, hormonas y antibióticos y albergan una rica reserva genética (Bautista *et al.*, 2004).

La importancia que tiene el suelo para mantener la vida del hombre y de todos los seres vivos en el planeta, muestra la necesidad de conservar este recurso. Sin embargo, en la actualidad está seriamente amenazado por la práctica de sistemas de producción y uso del suelo inadecuados o mal aplicados, que incluso han acelerado los procesos de erosión y desertificación de grandes zonas en México (Bautista et al., 2004). De igual forma, la industrialización y urbanización han generado una gran cantidad de desechos que son incorporados al suelo, lo cual ocasiona tanto la reducción de su fertilidad como la modificación de sus procesos naturales. Por lo anterior, es necesario estudiar las características particulares del suelo para determinar su grado de contaminación y consecuentemente, aplicar alguna de las técnicas de remediación existente más adecuada.

Para elegir la técnica adecuada, es necesario considerar una serie de procesos y fenómenos fisicoquímicos y microbiológicos que ocurren en el suelo. Es por esto que en el presente trabajo, el principal objetivo fue realizar el análisis del suelo con base a la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-021-SEMARNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Las determinaciones se realizaron en el suelo de la Universidad Tecnológica de Tecámac.

La Universidad se encuentra ubicada en el Municipio de Tecámac localizado en la parte nororiente de la capital del Estado de México y al norte del Distrito Federal, en la región conocida como Zona Metropolitana del Valle de México, con coordenadas 19°58´ de longitud oeste y 19°43' de latitud norte a una altura de 2340 msnm (México, 2000). Hasta el año 2002 el municipio contaba con el 78.35% del suelo para uso agrícola. Los principales cultivos son; maíz, frijol, cebada, avena y forrajes. El 2.73% del territorio para el uso pecuario; el 0.46% para uso forestal; el 12.33% para la zona urbana y el 0.28% la industria, para este año se consideraron el 0.40% de suelos erosionados, el 0.02% de cuerpos de agua y otros usos 5.41% (Alanis, 2002).

El municipio se encuentra ubicado a orillas de lo que fuera el lago de Xaltocan, no cuenta con ningún sistema montañoso y los principales tipos de suelo que se encuentran en este municipio son aptos para las actividades agropecuarias. Sin embargo, en la última década, la creación de grandes unidades habitacionales han propiciado el crecimiento de la población de manera importante, además que se han instalado sobre tierras ejidales con una reducción considerable de las actividades agropecuarias. Los desechos sólidos y líquidos de estas zonas urbanas están contaminando y degradando los proceso naturales del suelo (Alanis, 2002).

Para recuperar y conservar el suelo en el municipio, es necesario entender el grado de deterioro, para ello es importante analizar las características fisicoquímicas y microbiológicas, para adecuar alguna técnica de remediación y en el futuro mantener el ecosistema en un estado óptimo.

1.1. Objetivo.

Determinar las características fisicoquímicas del suelo de la Universidad Tecnológica de Tecámac con base en la Norma NOM-021-SEMARNAT-2000.

TEORÍA

El suelo es un recurso natural de suma importancia, ya que la superficie terrestre se desempeña como reactor natural, como hábitat de diversos organismos, así mismo como fuente de materiales no renovables y de soporte de infraestructura (Beraldi-Campesi, 2014). El análisis fisicoquímico del suelo constituye una de las técnicas más utilizadas para ayudar en la evaluación de la fertilidad del suelo la cual es una cualidad que permite proporcionar los nutrientes apropiados, en las cantidades debidas y en el balance adecuado para el crecimiento de las plantas (Quiroga y Bono, 2012). La fertilidad del suelo es un factor importante para el desarrollo de una planta debido a que construye sus órganos a partir de los nutrientes del suelo mediante los mecanismos metabólicos de la planta (FAO, 2002).

Así mismo al determinar las condiciones específicas del suelo, éstas pueden ser mejoradas, para mantener los niveles adecuados y balanceados de salinidad presentes en los suelos. Debido a que la alta concentración de sales solubles afecta el desarrollo de las plantas, limitando la absorción de agua a través de las raíces. Una alta concentración de sodio (alcalinidad) afecta las condiciones físicas del suelo, esta provoca una dispersión de las partículas de arcilla que afectan la estructura del suelo (Marchuk *et. al.*, 2013).

En la superficie terrestre los suelos salino-alcalinos están ampliamente distribuidos, de los cuales 8.31 x 10⁹ ha son suelos afectados por la salinidad (Martínez-Beltrán y Manzur, 2005). El término suelo salino se usa con relación a los suelos que tienen un alto valor de la conductividad eléctrica en el extracto de saturación, mientras que el termino suelo sódico se emplea para referirse a suelos que tienen un alto porcentaje de sodio intercambiable. Los suelos salinos-alcalinos se

describen como aquellos que contienen suficiente sales, sodio o ambos limitando el crecimiento de algunos cultivos y que contienen cantidades excesivas de Na⁺ en los sitios de intercambio (Beraldi-Campesi, 2014). En los suelos alcalinos (pH alto) no hay suficientes lluvias, en estas áreas de lixiviación los cationes, calcio, magnesio, potasio y sodio son bases que forman erosión en las rocas naturales, mantienen a los coloides del suelo "cargados" no permitiendo el flujo de hidrógeno (H⁺) al suelo para acumularlo y formar suelos ácidos. En muchas áreas la escasez de precipitaciones y drenaje deficiente conduce a la acumulación de sodio y sus sales (Na₂SO⁴ y NaCl). La cantidad de materia orgánica (MO), está ligada a la cantidad, tipo y actividad microbiana. De este modo el mantenimiento de la "fertilidad biológica" sugiere inalterabilidad del ambiente sobre todo microbiológico del suelo. Son variadas las ventajas y actividades de los microorganismos del suelo, participando en: Procesos de humificación y mineralización de MO, procesos de fijación biológica (simbiótica y libre) de Nitrógeno, solubilización de componentes minerales del suelo (asociación micorrítica), reducción de nitratos y sulfatos e hidrólisis de úrea (Rengasamy, 2013).

La densidad de MO del suelo es de aproximadamente de 1.1 a 1.5 g cm⁻³, en tanto la materia mineral es de 2.7 g cm⁻³. Las fases líquida y gaseosa en conjunto constituyen alrededor de la mitad del volumen del suelo y sus proporciones relativas varían rápidamente a medida que la fase líquida (el agua del suelo) drena o es utilizada por las plantas. La fase gaseosa, que a menudo ocupa la cuarta parte del volumen del suelo, está compuesta aproximadamente por 80% de N, como en el aire atmosférico, siendo el 20 % restante principalmente oxígeno. El aire de los suelos bien drenados contiene menos de 0,1% de CO₂, pero esta cifra puede llegar a 5 o 10% cuando la aireación es pobre (McCallum *et al.*, 2014). El efecto primario de sales solubles excesivas en las plantas es delimitar la capacidad de las raíces de la planta para absorber agua en el suelo, incluso en condiciones de suelo húmedo. La solución del suelo con bajo potencial osmótico debido a la mayor concentración de sales solubles en comparación con las células de la planta, no permitirá raíces de las plantas para extraer agua del suelo, causando síntomas similares a la sequía en las plantas (Munns y Tester, 2008).

PARTE EXPERIMENTAL

La superficie del lote fue de 2 ha aproximadamente, ubicado dentro de las instalaciones de la Universidad Tecnológica de Tecámac. Se consideraron 6 pozos con una profundidad 30 cm cada uno, en los meses de Septiembre a Octubre de 2015.



Figura 1. Punto de muestreo

El análisis de las muestras se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología Ambiental de la Universidad Tecnológica de Tecámac según lo indica la Norma NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Específicamente, se empleó la metodología para determinar fertilidad de suelo y suelos salinos.

Para la caracterización del lote se realizó el muestreo al azar en zig- zag (Figura 1) de las cuales se obtuvo las muestras compuestas.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 1a, en el cual se aprecia que el pH en las muestras analizadas mostró un intervalo de 7.8 a 8.6 con un media de 8.2, lo cual se interpreta como un suelo medianamente alcalino. Lo anterior, es congruente con los antecedentes del lote, debido a que este, formo parte del perímetro de lo que constituyó la laguna de Xaltocan y Zumpango. La superficie del lote presenta una vegetación muy pobre principalmente de zacates de poca altura (30 cm).

La humedad en el suelo se mantuvo en un intervalo de 3.6 a 3.7 % con una media de 3.6, lo cual se interpreta según la norma como un suelo con una baja humedad. Si se considera la época de muestreo, en la zona la precipitación es prácticamente nula, además de haber sido un año con una precipitación promedio baja de 400 mm anuales en la época de lluvia (Primavera–Verano). La vegetación principal son zacates y algunas pequeñas herbáceas con espinas, prácticamente secos.

Según los análisis, el lote mostro un porcentaje de MO con un intervalo de 2.2 a 3.1%, con una media de 3.6 %. Según la norma se trata de un suelo con un contenido de MO medio, lo cual se explica debido a que por lo menos en los 15 años anteriores, estos suelos permanecen sin ningún trabajo agrícola. La vegetación herbácea anual que predomina, permanece en la época de lluvia y en el periodo de estiaje se incorpora como MO al suelo, lo que puede explicar los valores obtenidos en el análisis.

La cantidad de nitrógeno inorgánico en el suelo mostró un intervalo de 9 a 17 con una media de 13 mg.kg-1, según la norma es un suelo clasificado con un bajo contenido de nitrógeno inorgánico. Lo que puede deberse a que se cuantifico el nitrógeno residual después del crecimiento de las plantas.

En relación a la densidad aparente esta mostró un intervalo de 1.2 a 1.7 con una media de 1.4 g.cm-3, la norma lo ubica como un suelo arenoso. La mayor utilidad de la densidad aparente en relación a la densidad real en las actividades agrícolas, es que la densidad aparente nos da una mayor certeza de la capacidad del suelo para el crecimiento de las plantas.

Las características descritas hasta el momento son de suma importancia, ya que se busca entender el comportamiento para recuperar y conservar el suelo con una visión sustentable. Así, algunas características como la densidad aparente y su interpretación, está relacionada con la humedad presente en el suelo, debido a que un suelo arenoso retiene poca agua debido a la mayor filtración, y si se asocia con una evaporación estacional alta y poca precipitación los resultados son congruentes y es un indicador de la degradación del ecosistema.

La cantidad mínima de MO es otro indicador que está asociado con las características antes descritas, debido a que disminuye la retención de humedad. También está asociada con la escasa cantidad de nitrógeno inorgánico presente y como consecuencia su escasa probabilidad para una productividad agrícola eficiente.

Los suelos con estas características los hacen favorables para el cambio de uso, lo que deriva en utilizarlos para promover la construcción de unidades habitacionales y la consecuente disminución de la actividad agrícola de la zona. Su recuperación es primordial para contribuir en detener la mancha urbana en los que constituye la Zona Metropolitana del Valle de México.

Cuadro 1a. Características fisicoquímicas de un lote de suelo de la Universidad Tecnológica de Tecámac de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000.

Característica	Intervalo	Media	Referencia
рН	7.8 a 8.6	8.2	Fuertemente ácido < 5 Moderadamente ácido de 5.1 a 6.5

				ente alcalino de e alcalino > 8.6	7.4 a 8.5
Humedad	3.6 a 3.7	3.6 %	Seco Bajo Medio Aceptable Excelente Húmedo	0 % 0 - 25 25 - 50 51 - 75 76 - 100 Sobre cap	pacidad
Materia orgánica	2.2 a 3.1	2.6 %	Muy bajo Bajo Medio Alto Muy alto	11.0-16.0	0.51 - 1.5 1.6 -3.5
Nitrógeno inorgánico	9 -17	13 mg.Kg ⁻¹	Muy bajo Bajo Medio Alto Muy alto	0 - 10 10 - 20 20 - 40 40 - 60 > 60	
Densidad aparente	1.2 a 1.7	1.4 g.cm ⁻³		Suelos orgánicos Suelos arcilloso Suelos francos Arenosos	
Densidad real	1.6 a 1.7	1.7 g.cm ⁻³	Intervalo de valores para densidad real 2.5 – 2.7		

Otro análisis que se llevó a cabo fue el de determinar la Conductividad Eléctrica, debido a las características encontradas la cual mostro un intervalo de 1.3 a 4.3 con una media de 2.8 dS.m⁻¹ a 25 °C, la norma indica que se encuentra como un suelo ligeramente salino lo que lo hace restrictivo para el rendimientos de cultivos muy sensibles a las sales (Cuadro 1b). Esta característica es un indicador de que con un aumento de MO y estableciendo algunos cultivos tolerantes es posible la recuperación, con un manejo adecuado.

La escases de alimentos, el aumento de la población en la zona y la falta de productividad en el sector agrícola, es debido principalmente a un desconocimiento del funcionamiento del ecosistema y de las características de los ciclos biogeoquímicos, con su conocimiento es posible identificar los factores físicos, químicos o biológicos que hacen improductivos los suelos de la zona, por lo que este estudio es el inicio de un proyecto para recuperar y mantener la productividad del ecosistema.

Es importante considerar todos los análisis incluidos en la NOM-021-SEMARNAT-2000 para un estudio completo del suelo, debido a que es la única forma de conocer completamente el ecosistema y poder llevar a cabo acciones de recuperación y mantenimiento óptimo el cual incluya una visión de sustentabilidad.

Cuadro 1b. Características fisicoquímicas de un lote de suelo de la Universidad Tecnológica de Tecámac de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000 (Continuación).

Característica	Intervalo	Media	Referencia	
Conductividad eléctrica	1.3 a 4.3	2.8 dS.m ⁻¹ a 25 °C	< 1.0 No salino	Despreciable en su mayoría
			1.1-2.0 Ligeramente	Se restringen los

salino	rendimientos de cultivos muy sensibles
2.1-4.0 Moderadamente salinos	Disminuyen los rendimientos de la mayoría de los cultivos. Entre los que toleran están: alfalfa, remolacha, cereales y los sorgos para grano.
4.1-8 salinos	Sólo dan rendimientos satisfactorios los cultivos tolerantes.
8.1-16 Fuertemente salinos	Sólo dan rendimientos satisfactorios algunos cultivos muy tolerantes.
>16 Muy fuertemente salinos	Escasa cobertura vegetal natural

En las muestras se realizaron diluciones seriadas para la colocación de las muestras en medios específicos de PDA para hongos y Agar nutritivo para bacterias, los resultados 3 bacterias de los géneros *Micrococcus*, *Stapylococcus* y *Bacillus* de acuerdo a las pruebas bioquímicas un hongo del *Phylum Zygomycota* de acuerdo a la tinción de azul de algodón.

CONCLUSIONES

Se determinaron algunas características físico-químicas de un lote de suelo dentro de la Universidad Tecnológica de Tecámac con base en la Norma NOM-021-SEMARNAT-2000, como pH con 8.2, humedad de 3.6%, MO de 2.6%, cantidad de nitrógeno inorgánico de 13 mg.Kg⁻¹, densidad aparente de 1.4 g.cm⁻³ y una conductividad eléctrica de 2.8 dS.m⁻¹ a 25 ⁰C. Sin embargo, es necesario incluir todos los análisis indicados por la norma para una caracterización completa de la muestra. Los análisis físicos, químicos y microbiológicos son de gran trascendencia para la recuperación y conservación del ecosistema con un enfoque de sustentabilidad.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Alanis B. J. L. 1979. Los archivos municipales del Estado de México, Gobierno del Estado de México, México 79 p.
- 2. Bautista C. A., Etchevers B. J., Del Castillo R. F y Gutiérrez C. 2004. La calidad del suelo y sus indicadores. Ecosistemas 13(2):90-97.
- 3. Beraldi-Campesi H. 2014. La vida temprana en la tierra y los primeros ecosistemas terrestres. Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana. UNAM México D. F. 66(1):65-83.
- 4. Escalante L. A., Gosset,, L. G., Martínez J. A. y Bolívar Z. F. 2004. Diversidad bacteriana del suelo: métodos de estudio no dependientes del cultivo microbiano e implicaciones biotecnológicas. Agrociencia 38(6):583-592.

- 5. FAO. 1992. Manual de uso de fertilizante. Asociación internacional de uso de los fertilizantes. París, Francia. 632 p.
- 6. Hünnemeyer J. A., De Camino R. y Müller S. 1997. Análisis del desarrollo sostenible en centroamérica: Indicadores para la agricultura y los recursos naturales. IICA/GTZ. San José, Costa Rica, pp. 7-9.
- 7. McCallum A., Andersen M., Rau G.C., Larsen J., Acworth I. 2014. River-aquifer interactions in a semi-arid environment investigated using point and reach measurements. Water Resour Res 50:2815–2829
- 8. Marchuk A., Rengasamy P., McNeil A. 2013. Influence of organic matter, clay mineralogy and pH on the effects of CROSS on soil structure is related to the zeta potential of the dispersed clay. Soil Res 51:34–40.
- 9. Martínez-Beltrán J. & Manzur C. L. 2005. Overview of salinity problems in the world and FAO estrategies to address the problem. In: Proceedings of the International Salinity Forum, Riverside. pp 311–313.
- 10. Munns R., Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annu Rev Plant Biol 59:651–681.
- 11. Quiroga A. y Bono A. 2012. Manual de fertilidad de suelo. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. La pampa Argentina. 162 p.
- Rengasamy P. 2013. Salt-affected soils: sustainable agriculture. In: Jorgensen SE (ed) Encyclopedia of environmental management. Taylor and Francis, New York, pp. 2349– 2356
- 13. SEMARNAT. 2012. Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. 2012. Diario oficial segunda sección México D. F. 82 p.
- 14. Thompson L. & Troeh F. 2015. Los suelos y su fertilidad. Ed. Reverte Madrid, España. 250 p.

PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS INHIBITORIOS DE Lactobacillus plantarum VS BACTERIAS PATÓGENAS EN ALIMENTOS

María Susana Suárez Martínez, Minerva Rosas Morales, Ada María Ríos Cortés

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada

Instituto Politécnico Nacional (CIBA - IPN), Carretera Estatal Sta. Inés Tecuexcomac-Tepetitla km 1.5. Tlaxcala. México

RESUMEN

Los compuestos inhibitorios pueden ser de diferente naturaleza (ácidos orgánicos y/o bacteriocinas), su función principal es inhibir el crecimiento de bacterias, en alimentos ayudan a conservarlos sin alterar su composición. Lactobacillus plantarum CDBB-B1091 es una bacteria acidoláctica productora de probióticos y bacteriocinas, crece en varios medios de cultivo; los óptimos son MRS y LBS. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad inhibitoria del sobrenadante de Lactobacillus plantarum (neutralizados y no neutralizados) sobre bacterias patógenas de alimentos: E. coli, Salmonella sp. S. aureus. Los sobrenadantes se obtuvieron durante cinéticas de crecimiento de Lactobacillus plantarum en medios LBS y MRS monitoreadas cada 2 h, se evaluaron los puntos desde el inicio de la fase exponencial (12 h), hasta el inicio de la fase estacionaria (32 h) así como la fase de muerte (48 h). Por otra parte *E. coli, Salmonella sp.* S. aureus fueron inoculadas en placas de agar Mueller-Hinton, se les agregó 100 µl de sobrenadante (neutralizado o no neutralizado) por el método de pozos de 6 mm de Ø y mediante discos de papel filtro de 6 mm de Ø con 50 µl. Posteriormente se incubaron a 37 °C durante 24 h, se midieron los halos de inhibición mostrando que los sobrenadantes no neutralizados del medio MRS tienen mayor inhibición que los neutralizados sobre E. coli y Salmonella sp, mientras que solo los sobrenadantes no neutralizados del medio LBS mostraron actividad inhibitoria contra dichas cepas. Por otro lado en S. aureus no se detectó inhibición en ninguno de los sobrenadantes.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias acido lácticas se caracterizan por otorgar beneficios a los consumidores; un ejemplo es *Lactobacillus plantarum* CDBB-B1091, la cual es una bacteria no patógena Gram positiva presente naturalmente en el tracto gastrointestinal humano y en la saliva, es comúnmente usada en la fermentación de alimentos también ha sido usada como probiótico, sus aplicaciones bioterapéuticas son cada vez más reconocidas. Además es heterofermentativa, no esporulante, de grado alimenticio (Vélez, De Keersmaecker, & Vanderleyden, 2007). Al ser una bacteria heterofermentativa; es capaz de producir ácido cítrico (8.61 %), ácido succínico (1.5 %), ácido láctico (78.47 %), ácido acético (9.9), etanol (1.6 %); así como diversas bacteriocinas (Jurado-Gámez, Calpa-Yama, & A., 2014).

Lactobacillus plantarum ha demostrado actividad inhibitoria frente a bacterias Gram positivas como Bacillus cereus, Bacillus pumilus, Bacillus subtilis, Listeria monocytogenes (ATCC 7644) y Staphylococcus aureus (ATCC 1395); en bacterias Gram negativas como Salmonella tiphy (ATCC 6539), Escherichia coli (ATCC 25922), Klebsilella sp. y Serratia marcescens. Respecto a la actividad inhibitoria el espectro de estas bacteriocinas o sus extractos puede verse afectado según el tratamiento al que son sometidos, como liofilización, concentración del sobrenadante, purificación y neutralización, entre otros. En el caso particular de los extractos de bacteriocinas, la actividad es mayor cuando son concentrados, pero es necesario considerar la termo resistencia para evitar la alteración de la funcionalidad de la bacteriocina. Además, la acción combinada de dos o más bacteriocinas puede reforzar considerablemente la acción inhibitoria (Coghetto et al., 2016).

PARTE EXPERIMENTAL

Lactobacillus plantarum CDBB-B1091 es una cepa de la Colección Nacional de Cepas Microbianas y Cultivos Celulares del CINVESTAV-IPN, México. Para este estudio se realizaron cinéticas de crecimiento de dicha cepa a nivel matraz; por triplicado en matraces de 1 L con 250 mL de medio de cultivo, a 30 °C, 150 rpm en medios LBS y MRS, se monitoreó durante 48 horas realizando muestreos cada 2 horas. En este trabajo solo se probaron los sobrenadantes correspondientes a la fase exponencial (12 - 32 horas) además del muestreo obtenido a las 48 horas (fase de muerte).

Para probar la actividad inhibitoria las muestras colectadas se centrifugaron a 10000 rpm durante 10 min a 4 °C, posteriormente la mitad de estos sobrenadantes se neutralizaron utilizando NaOH 1M; esto con el propósito de descartar si la acción inhibitoria se debió a bacteriocinas o a ácidos orgánicos producidos por la cepa durante la fase exponencial. Dichos sobrenadantes se probaron contra cepas patógenas de alimentos: *E. coli, Salmonella sp. y S. aureus*.

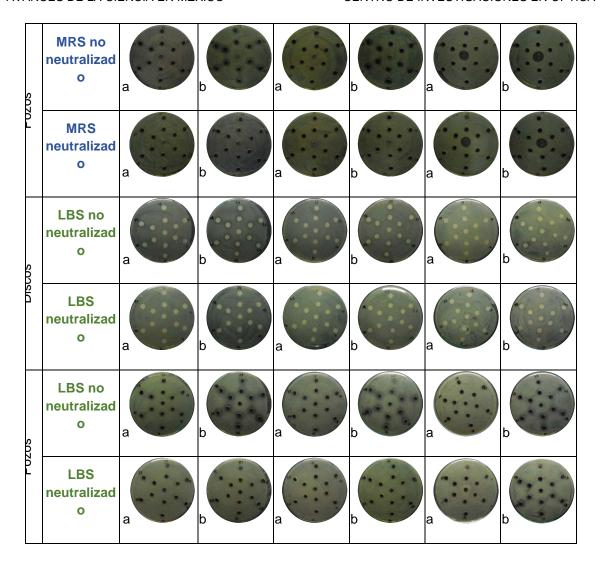
Previamente cada cepa patógena se creció en placas con agar Mueller- Hinton durante 24 horas a 37 °C. Posteriormente se realizó una suspensión de cada cepa patógena en tubos con agua de peptona ajustando su absorbancia a 1 en un espectrofotómetro a λ = 625 nm, después se agregaron 100 μ L de las suspensiones en placas con agar Mueller-Hinton, se extendieron con la ayuda de un asa de vidrio estéril. Una vez seco el inóculo en las cajas, se colocaron discos de papel filtro de 6 mm de \varnothing embebidos con 50 μ L de sobrenadante, otra técnica utilizada fue la de pozos de 6 mm de \varnothing con 100 μ L. En el centro de cada caja se colocó un control positivo de nisina a una concentración de 10 mg/mL, posteriormente las placas se llevaron a incubación a 37 °C por 24 horas; transcurrido ese tiempo con la ayuda de un vernier se midieron los halos de inhibición formados alrededor de los pozos o discos.

RESULTADOS

Al observar las imágenes de los halos de inhibición formados en las placas (Tabla 1; las imágenes a corresponden a los sobrenadantes de los muestreos de las 12-22 horas y las imágenes b a los tomados de las 24-48 horas, para cada cepa) se encontró que los sobrenadantes neutralizados y no neutralizados obtenidos de la cinética en medio MRS mostraron mejor actividad contra *E. coli* y *Salmonella* que los de LBS donde solo hubo inhibición con los sobrenadantes no neutralizados; lo que podría sugerir que la actividad inhibitoria se debe a la acción de ácidos orgánicos. Sin embargo ninguno de estos sobrenadantes mostro actividad contra *S. aureus* Respecto al control positivo solo hubo halos de inhibición en las placas con *S. aureus*.

Tabla 27 Inhibición generada por sobrenadantes de Lactobacillus plantarum vs E. coli, Salomonella sp. y S. aureus.

	Sobrenadan te	E. coli	Salmonella	S. aureus
	10			
SOS	MRS no neutralizad o		a b	a b
DISCOS	MRS neutralizad o		a b	a b



CONCLUSIONES

La técnica que mostro mejor inhibición contra *E. coli* y *Salmonella sp* fue la de pozos con sobrenadantes no neutralizados y neutralizados del medio MRS en los muestreos de las 24-48 horas teniendo un mejor efecto en el no neutralizado.

En el medio LBS solo los sobrenadantes no neutralizados presentaron inhibición contra *E. coli* y *Salmonella sp*, de las 24- 48 horas.

Ninguno de los sobrenadantes mostro inhibición contra S. aureus.

BIBLIOGRAFÍA

- Coghetto, C. C., Brinques, G. B., Siqueira, N. M., Pletsch, J., Soares, R. M. D., & Ayub, M. A. Z. (2016). Electrospraying microencapsulation of Lactobacillus plantarum enhances cell viability under refrigeration storage and simulated gastric and intestinal fluids. *Journal of Functional Foods*, 24, 316–326. https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.03.036
- 2. Jurado-Gámez, H., Calpa-Yama, F., & A., C.-T. (2014). DETERMINACIÓN IN VITRO DE LA ACCIÓN PROBIÓTICA DE Lactobacillus plantarum SOBRE Yersinia pseudotuberculosis AISLADA DE Cavia porcellus, *61*(3), 241–257.
- 3. Vélez, M. P., De Keersmaecker, S. C. J., & Vanderleyden, J. (2007). Adherence factors of Lactobacillus in the human gastrointestinal tract. *FEMS Microbiology Letters*, *276*(2), 140–148. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00908.x

BIORREFINERÍA DEL NONI (Morinda citrifolia) PARA LA OBTENCIÓN DE PRODUCTOS BIOTECNOLÓGICOS.

Cuachayo Fabiola A, Sánchez Diana L, Campos Guadalupe, Montes César y Ramírez María L

Laboratorio de Investigación y Posgrado, Universidad Politécnica de Puebla, 3er Carril del Ejido Serrano S/N, San Mateo Cuanalá, Juan C. Bonilla, Puebla, CP 72640

RESUMEN

El noni (*Morinda citrifolia*) es un fruto poco conocido en México, en la Polinesia es más común su cultivo y se usa para elaboración de jugos y medicamentos¹. En nuestro país solo se cultiva en Veracruz, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit y Tabasco, reportándose un promedio de producción de 83.55 toneladas para el año 2015². Por otra parte, los productos biotecnológicos hoy en día son un campo atractivo de investigación e inversión debido a las cualidades que poseen, en el marco de una biorrefinería se pueden aprovechar y optimizar los recursos naturales sin dañar el medio ambiente. El presente trabajo propone la utilización del noni como materia para una biorrefinería, ya que se ha reportado que contiene más de 53 principios activos y se ha sido utilizado en la medicina tradicional debido a su actividad anti-fúngica, anti-bacteriana y anti-inflamatoria³. Se llevó a cabo un análisis proximal de los componentes de la fruta (cáscara, semilla y pulpa), que permitieron proponer la elaboración de productos de valor agregado. De la cáscara se obtuvo un antimicrobiano, la semilla se usó para la extracción de aceite y la pulpa para el ate y jugo. Los resultados muestran el potencial de este fruto para promover su cultivo en nuestro país y desarrollar procesos de biorrefinería.

INTRODUCCIÓN

El noni es encontrado comúnmente en las zonas tropicales. Es originario de la india, crece en diferentes partes del mundo, actualmente es encontrada en algunos países de América latina como; México, Panamá y Venezuela [1]. Contiene propiedades organolépticas poco aceptadas por sus consumidores, ya que presenta olor y sabor desagradable [2]. Es una fruta climatérica con vida poscosecha muy reducida, puede durar aproximadamente 12 días con una temperatura de 15 °C [3]. Es así, que la elaboración de cinco productos (antimicrobiano, jugo, ate, aceite y enzimas) del presente trabajo a base de noni, fue necesario que la fruta se encontrara en buenas condiciones fisicoquímicas [4]. El antimicrobiano en polvo fue elaborado con cáscara de noni, del cual se han presentado trabajos comparando el efecto antimicrobiano en algunos microorganismos como bacterias, el efecto antimicrobiano ha sido mucho más efectivo en presentación liquida que de polvo [5]. Los fermentados de jugo de noni, generalmente son utilizados como remedio casero, para quitar malestares, además se han elaborado aceites y algunos dulces, actualmente no se ha realizado un trabajo en donde se aproveche en su totalidad el fruto de noni, es decir cada una de sus componentes (semilla, cáscara y pulpa).). La elaboración de estos diferentes productos tienen la finalidad de comercializarlos y fomentar el cultivo de este fruto, para una mejora económica a los agricultores de Tlapanala, Puebla. El lugar de donde se obtuvo el fruto para la elaboración de los productos de interés.

TEORÍA Antecedentes

El noni posee propiedades que son consideradas como medicinales, sin embargo pertenece al grupo botánico del que no se ha estudiado lo suficiente y el uso más popular que tiene es en base a un jugo fermentado al que se le atribuyen propiedades para bajar de peso y reducir problemas con la diabetes, por otra parte el jugo se utiliza industrialmente para prolongar la vida anaquel de frutas exóticas, sin embargo las características que también posee en base a la cantidad de pectina [6] provoca un planteamiento de aprovechamiento para la realización de ate, por parte del antibacteriano se considera un alto potencial debido a la inhibición de bacterias tan estudiadas como es *E. coli* lo que generaría un interés en el área genética debido a la misma inhibición de crecimiento, en conjunto estas características generan un panorama altamente atractivo para la investigación del mismo.

Descripción botánica

El noni, proviene de la familia de las rubiáceas, crece en un pequeño árbol parecido a un arbusto, su piel es verde, tiene olor acre, y posee un sabor característico no agradable al paladar humano. Se le atribuye efectos relacionados con actividad antibacteriana, antiviral, antifúngica, antitumoral, analgésica, antiinflamatoria, e inmunoestimulante [7].y también cuenta con nutrientes benéficos para la salud, incluyendo sus antioxidantes, flavonoides, compuestos orgánicos, así como minerales, vitaminas y pequeñas cantidades de diversos elementos, el cual contiene 90% de agua y los componentes mayoritarios de la materia seca son sólidos solubles, fibra dietética y proteínas. El contenido proteínico de la fruta es de 11.3% de la materia seca del jugo y los principales aminoácidos son el ácido aspártico, el ácido glutámico y la isoleucina. El contenido de minerales es de 8.4% de la materia seca y los más importantes son potasio, azufre, calcio y fósforo, además cuenta con 160 compuestos fotoquímicos de los cuales los principales son fenólicos, ácidos orgánicos y alcaloides [8].

Principios activos

Se define que los principios activos, son sustancias químicas encontradas en las plantas que pueden ser usadas como remedios terapéuticos Autores mencionan que la fruta contiene 53 principios activos, los más relevantes son, la xeronina, proxeronina, proxeroninasa, damnacal, escopoletina. [9]. La fruta del noni contiene un precursor, que denominó proxeronina, que se convierte en el cuerpo en el alcaloide xeronina, debido a la acción de una enzima llamada por él proxeronina la xeronina podría modificar la estructura molecular de las proteínas y por tanto, tener una amplia gama de actividades biológicas, ya que cuando una proteína tal como una enzima, un receptor, o un transductor de señal no tiene la estructura apropiada, no funcionará adecuadamente, pero interactuará entonces con la proteína y la hará adoptar la estructura adecuada de manera que funcione correctamente [1]. Así surte efectos positivos en las células que hacen que la mayoría de la gente se sienta mejor. El danmacal, es una sustancia que inhibe el crecimiento de tumores cancerosos en conjunto con la xeronina, constituye un equipo en contra de la enfermedad, así que el danmacal actúa deteniendo el crecimiento de los tejidos y una vez deteniendo este proceso, la xeronina reparan las células de los tejidos dañados, hasta controlar su crecimientos aumentando la capacidad del sistema inmunológico. La escopoletina interfiere en la dilatación de los vasos sanguíneos y uniéndose a la serotonina consigue llevar la tensión artificial a sus niveles normales, mejorando así la circulación de la sangre y su oxigenación [9]. Gracias a estos compuestos activos el noni ocupa un honor dentro de sus compuestos utilizados en la medicina natural principalmente, por lo que es conocido como el árbol de 101 enfermedades.

PARTE EXPERIMENTAL Caracterización de la materia prima

La recolección de la fruta de noni se realizo en el municipio de Tlapanala, Puebla de un árbol con una altura de 2.30 metros. Cada fruta recolectada se midió y peso para realizar un promedio total de su característica física.

Análisis proximal

Se llevó el análisis proximal de acuerdo a las normas oficiales mexicanas indicadas en la Tabla 1. También se determinaron los azúcares reductores solubles con el método del DNS.

 Análisis
 Norma Oficial Mexicana

 Cenizas
 NMX-F-066-S-1978 [10]

 Proteína
 NMX-F-068-S-1978[11]

 Humedad
 NMX-F-083-S-1978 [12]

 Extracto Etéreo
 NMX-F-089-S-1978 [13]

 Fibra cruda
 NMX-F-090-S-1978 [14]

Tabla 1. Análisis proximal de Morinda citrifolia.

Elaboración de productos

3.3.1 Elaboración de ate a partir de la pulpa de Morinda citrifolia

Para la elaboración de un kilo gramo de ate de noni. Se comienza con un proceso de escaldado, con la finalidad de separar la pulpa, las semillas y la cáscara de la pulpa, posteriormente la pulpa (572.9 g) se somete a un proceso de mezclado con azúcar (526.3 g), jugo de limón (131.6 ml), pectina (139.5 g), grenetina (76.3 g) y agua (657.9 ml), para finalizar se vierte la mezcla en moldes del tamaño deseado y se deja reposar a bajas temperaturas.

3.3.2 Elaboración de Antibacteriano de cáscara de Morinda citrifolia.

La cáscara se sometió a un proceso de secado de 48 horas a una temperatura de 25 °C, una vez terminado el secado se trituró con un molino manual hasta convertirse en polvo. El polvo fue sometido a pruebas antibacterianas. Realizando una comparación con 3 cepas controles (*Salmonella sp, Pseudomona y E. coli*) inoculadas en medio nutritivo, con las cepas que contenían el antibacteriano en polvo, después de incubar por 24 horas a 25 °C.

3.3.3 Elaboración de aceite a partir de la semilla de Morinda citrifolia

La semilla se sometió a un proceso de secado de 24 horas a una temperatura de 25 °C, posteriormente se molió la semilla seca que se puso en un embudo de separación en él se agregó éter etílico grado reactivo en el cual se dejó reposar por un periodo de 4 días, la mezcla obtenida de esta maceración se separó por arrastre de valor, con la finalidad de separar el aceite del solvente.

3.3.4 Elaboración de jugo a partir de Morinda citrifolia

Para la elaboración del noni fue necesario colocar el noni completo sobre un recipiente hermético con un colador dentro del mismo para que realizara el proceso de fermentación, se dejó reposar por 2 meses, posteriormente, lo que se obtuvo de la fermentación se filtró y finalmente fue pasado a un proceso de pasteurización para que quedara libre de microorganismos.

RESULTADOS

Caracterización de la materia prima

En la Tabla 2 se observan las características físicas del noni y en la Tabla 3 la fracción

Noni	Altura (cm)	Ancho (cm)	Peso (g)
Verde-amarillo	7-9	4-6	7-100
Σ	0.43	0.39	2.11

Tabla 2. Caracterización física del noni

El noni tiene forma ovoide presenta una altura promedio de 9 cm, un ancho de 6 cm y pesa alrededor de 100 gramos según su tamaño. Su pulpa es transparente, gelatinosa, olor muy desagradable, las semillas son pequeñas con color café-negruzco.

La Tabla 3 muestra la composición del fruto, comparación del fruto mismo pulpa cáscara etc. De nuestro fruto. Estos resultados sirvieron para determinar los de productos biotecnológicos, que serían elaborados.

Cabe mencionar que hay escasa bibliografía sobre *Morinda citrifolia*, solo se encontró la de Soler-Morales [16] quien trabajó con pulpa de una especie de noni diferente a la de este trabajo, la *Morinda citrifolia lim* proveniente de Cuba. Al comparar los valores estos varían significativamente, posiblemente por la diferencia de especies usadas así como a la madurez y calidad de la materia prima. Los resultados que se obtuvieron de los análisis de DNS se expresan en gramos de azúcar por gramos en base seca, los cuales expresan que hay mayor contenido de azucares en la semilla que en las diferentes partes del fruto, en la bibliografía de Soler – Morales no se muestran resultados de alguna clase de azucares. En el caso de resultados de proteína varia en un total de 9.56% con respecto a la pulpa que se encuentra reportada, sin embargo, como podemos notar en la Tabla 2 la parte que posee mayor cantidad de proteína es la semilla.

Compuesto	Pulpa	Cáscara	Semilla	Soler- Morales, 2014 [4], pulpa
Humedad (%)	80.65	80.56	62.57	92
Proteína (%)	5.68	9.06	11.21	15.24
Cenizas (%)	10.32	11.37	2.81	5.40
Grasas (%)	2.37	3.32	3.56	3.78
Fibra (%)	14.87	13.12	11.17	25.06
Azucares reductores (g/g)	0.004	0.003	0.053	

Tabla 3 Análisis proximal de Morinda citrifolia

Elaboración de productos

En el Figura 1 se observa el diagrama de flujo del proceso de transformación para el noni, con las operaciones unitarias llevadas a cabo para la obtención de los productos de interés. Los productos se obtuvieron a partir de la pulpa de fruta, la cáscara, la semilla y el fruto completo.

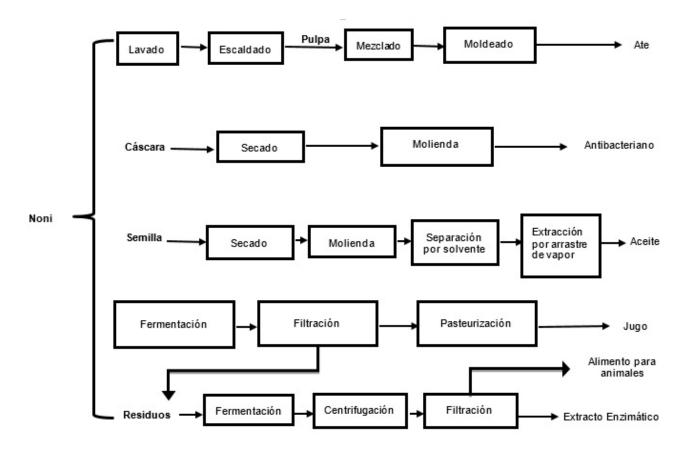


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de transformación del noni.

En la Tabla 4 se observan los rendimientos obtenidos de nuestros productos. De la pulpa se obtuvo el ate, el rendimiento de este producto es alto, puesto que no hubo demasiada pérdida de materia utilizada para su elaboración, la realización de este producto es rentable. Además de que da un valor agregado en el ámbito gastronómico exótico por ser un fruto poco comercial y conocido.

La actividad antimicrobiana de *Morinda citrifolia* se debe a la presencia de los compuestos fenólicos de la fruta como: la aucubina, Lasperulósido, alizarina, escopoletina y otras antraquinonas [15]. Se ha reportado que *Morinda citrifolia* inhibe el crecimiento de bacterias como *Staphylococcus aureus, Pseudomona aeruginosa,Proteus morganii, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Helicobacter pylori, Salmonella* y *Shigella*. Los resultados obtenidos en las pruebas de inhibición de las bacterias de interés médico utilizadas (*E. coli, Salmonella y Pseudomona*) arrojaron resultados positivos de su inhibición, ya que al compararse con el control sin el antimicrobiano se logró observar que no existía algún crecimiento de estos microorganismos, comparado estos resultados con nuestra referencia [16], El producto obtenido fue de alta eficacia y

útil para la inhibición de estos microorganismos. Los rendimientos en base seca son favorables para la producción del antimicrobiano, el cual es un producto de gran relevancia en el ámbito médico y en el control biológico. Por otra parte, de la cáscara se obtuvo el antimicrobiano en el cual los gramos obtenidos de producto son de 30 g, en donde el porcentaje en base seca es de 22.76%.

Tabla 4.	Rendimiento en	base seca de los	productos p	or kilogramo	de noni.

Producto	Rendimiento en base húmeda	Rendimiento en base seca
Ate	0.380 g/g pulpa	
Antimicrobiano		0.030 g/g cáscara
Aceite		1 ml/g semilla
Jugo	0.565 ml/kg pulpa	

Para el aceite se utilizó la semilla, en donde los gramos obtenidos para el producto es de 1 g, en este producto los rendimientos fueron muy bajos a lo esperado, porque el porcentaje en base seca es de 0.75%, en bibliografía menciona que para 2.4 ml de aceite de noni es necesario 50000 semillas [17], es decir; que no existe alto contenido de aceite en semillas por los bajos rendimientos, así que podríamos dar una propuesta de otro producto a base de semilla de noni, para no desperdiciar este componente, en donde se obtenga un rendimiento alto para su comercialización.

El fruto del noni entero; es decir, la semilla, cáscara y pulpa fue utilizado para la elaboración de jugo, el cual es el principal producto obtenido de dicho fruto. Se utilizó 1000 g para su elaboración de lo cual se obtuvieron 565.8 g de jugo, los porcentajes de rendimiento son más de la mitad del porcentaje total, es decir son favorables estos rendimientos para su comercialización. Según Potterat y Hamburger [18], no existen datos fidedignos de las ventas del jugo de noni, pero se calcula que pueden alcanzar ventas anuales de U\$ 1.3 billones. A nivel mundial son muchos los países que están comercializando los productos tanto a nivel local como internacional.

CONCLUSIONES

El presente trabajo pose un valor realmente significante, debido al enfoque que tiene como precursor de productos no realizados antes por la industria (a excepción del jugo que ya tiene uso tanto médico como industrial), el noni ha tenido uso a lo largo del tiempo, como suplemento alimenticio, sin embargo, la obtención de productos con características amenas para el consumidor puede considerarse como prioritario para el aprovechamiento total del mismo. Los datos obtenidos en el análisis proximal, nos permiten conocer características que se deben tomar en cuenta para la elaboración de productos de carácter biotecnológico. *Morinda citrifolia* es un producto del que resulta una opción altamente atractiva con respecto a alimentos y posiblemente aplicar esta actividad en control biológico, y por consiguiente disminuir la aplicación de agentes químicos en vegetales. Antimicrobiano en polvo presenta un color café obscuro, color textura (lo que genera

turbiedad en los medio de cultivo bacteriológicos) cabe mencionar la alta potencialidad que posee el noni como antimicrobiano. En el caso de la producción de ate se considera altamente atractiva sin embargo el olor que despide resulta ser no muy agradable al consumidor, por lo que la mezcla con el limón produjo una disminución en el aroma del mismo. La producción de aceite podría mejorar si se toma como base la cascara que pose mayor cantidad de grasas y no la semilla como se trabajó en el presente artículo. Las perspectivas de este trabajo son la mejora de cada uno de los subprocesos para aumentar los rendimientos de producción y la consideraciones que se deben tomar para que los productos que posean mejor aceptación con respecto al aroma.

BIBLIOGRAFÍA

- Rosas, M. E. (2014). Elaboración de un producto lácteo fermentado a base de Morinda citrofolia. Tesis para acreditar la experiencia recepcional, universidad veracruzana, México.
- 2. Lozano, A. K. (2012). Elaboración de un producto alimenticio a base de *Morinda Citofolia*. Universidad industrial de Santander, Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas.
- 3. Quito, L. S., Torres, G. S. (2007) Estudio de prefactibilidad técnico- económico de una planta para elaborar una bebida a base de noni (*Morinda Citrofolia*) y borojo (Borojoa patinol). Escuela politécnica nacional.
- 4. López-Vázquez T., González- cortés N., Jiménez-Vera R., Guzmán-Ceferino J. y May-Gutiérrez M.E. (2013). Comportamiento de los frutos de noni (*Morinda Citrolia L.*) a diferentes temperaturas de almacenamiento poscosecha. *ISSN 2007-7521. 7(2): 37-41*
- 5. Hernández, I. (2008), Estudio comparativo del efecto antimicrobiano del noni (morinda citrifolia) nacional e importado. Presentación 203510. 22 Enero. Delegación Miguel Hidalgo, México: Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
- 6. Chan-Blanco Yanine, Vaillant Fabrice, Pérez Ana Mercedes, Brat Pierre. (2007). Caracterizacion fisico-quimica y funcional del noni (Morinda citrifolia) cultivado en Costa Rica, *Revista Caribbean Food Crops Society 43 No.*
- Villacorta, G., Perez, A. (2011). Actividad Antioxidante "in Vitro" de las Hojas y Frutos de Morinda citrifolia Linn. Mediante el método de secuestro de radicales libres 1,1-difenil-2picrilhidrazilo (DPPH). Tesis para el título de químico farmacéutico, Universidad Nacional De La Amazonía Peruana. Perú.
- 8. Ulloa, A., Rosas, P., Ramírez, C., Ulloa, E. (2012). El noni: propiedades, usos y aplicaciones potenciales, *Revista Fuente Año 4 No.*
- 9. De la Torre., A (2001). Noni el árbol de la vida. Editorial wtf, Madrid.
- 10. Norma Mexicana NMX-F-066-S-1978. Determinación de cenizas en alimentos. Secretaria de comercio y fomento industrial dirección general de normas. Diario Oficial de la Federación de 7 abril 1961.
- 11. Norma Mexicana NMX-F-068-S-1980. Determinación de proteínas. Dirección general de normas. 4 agosto 1980.
- 12. Norma Mexicana NMX-F-083-1986. Determinación de humedad en productos alimenticios. Dirección general de normas.
- 13. Norma Mexicana NMX-F089-S-1978. Determinación de extracto etéreo (método Soxhlet) en alimentos. Dirección general de normas. Diario Oficial de la Federación de 7 abril 1961.
- 14. Norma Mexicana NMX-F-090-S1978. Determinación de fibra cruda en alimentos. Dirección general de normas. Diario Oficial de la Federación de 7 abril 1961.
- 15. Soler-Morales, O. Luis-Dominguez, P. Luis-Fonseca, P. (2014). Composicion química del harina de frutos de noni (Morinda citrifolia L). Granma ciencia. Vol 8.
- 16. Santamaría, J. "Evaluacion de la calidadde una formulacion de jugo a base de Morinda citrifolia (noni)," Universindad del Salvador, San Salvador, el Salvador, Agosto. 2009.
- 17. Empresa Morinda (2016) El poder del aceite de la semilla del noni.Disponible en https://www.morinda.com/esmx/news/4455624/EL%20PODER%20DEL%20ACEITE%20DE%20LA%20SEMILLA%20DE%20NONI. Accesado: abril 2017.
- 18. Potterat, O. y Hamburger, M. 2007. Morinda citrifolia (Noni) fruit phytochemistry, pharmacology, safety. Planta Med., no. 73(3). Nueva York, Estados Unidos. Georg Thieme Verlag KG Stuttgart p. 191-199.

LA GERMINACIÓN DEL AYOCOTE (PHASEOLUS COCCINEUS) Y LA EVALUACIÓN DEL PERFIL DE PROTEÍNAS

García-Barrientos R., García-Ignacio H.M., Grandes-Blanco, I.A Sánchez-Minutti L., Rodríguez Verastegui L.L. Tlecuitl-Beristain S.

Lab. Procesos Biotecnológicos. Universidad Politécnica de Tlaxcala. Av. Universidad Politécnica No. 1, San Pedro Xalcaltzinco, Tepeyanco, CP 90180 Tlaxcala, México. e-mail: raquel.garcia@uptlax.edu.mx.

RESUMEN

El ayocote es una leguminosa originaria de América Central, en México es consumida mayormente en las regiones centrales del país. La producción y el consumo son locales, se han realizado investigaciones relacionadas sobre el perfil proteico y lipídico de la semilla nativa, y de diversos tipos y localidades¹. El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar el perfil proteico de harinas de semilla del ayocote negro germinada y sin germinar, como un posible uso para mejorar las propiedades nutricionales. Se obtuvieron las muestras de ayocote negro cercano a un lugar de trabajo, se manejaron dos lotes, uno de semillas sin germinar y otro germinado, en el que las semillas se germinaron durante un periodo de 7 días. Se realizaron harinas y se determinó un análisis químico proximal, un análisis microbiológico, se fraccionaron mediante el método de Osborne, encontrándose que las mayoritarias correspondían a albuminas globulinas, y glutelinas, Las fracciones fueron analizadas mediante SDS-PAGE. Se encontraron cambios en el contenido químico proximal, los análisis microbiológicos no mostraron diferencias significativas. En el perfil electroforético se observaron cambios en los valores del peso molecular de las proteínas así como la permanencia de algunas cadenas poli peptídicas y desaparición en otras. El presente trabajo aporta información suficiente sobre el contenido de proteínas que hay en el ayocote negro y su posible consumo en el estadio germinado.

INTRODUCCION

Las leguminosas han desempeñado un papel muy importante en la historia del hombre, ya que de ellas ha obtenido alimentación, tanto humana como animal. A pesar de su gran importancia, de las 18,000 especies agrupadas en 650 géneros, unas cuantas son utilizadas con fines en la alimentación humana y animal. Dentro de algunas semillas usuales se encuentran: frijol, lenteja, cacahuate, haba, garbanzo, y soya. El frijol ayocote es una especie marginada que no se considera en las estadísticas oficiales. Es probable que su superficie sembrada y producción total se incluya en las cifras del frijol común debido, en parte, a que el fitomejoramiento se ha dedicado al frijol común, la especie de mayor demanda, ya que la del frijol ayocote no es generalizada. Aunado a lo anterior, la variabilidad genética de los diferentes tipos y especies de Phaseolus se ha estado perdiendo por causa de diversos factores, entre los que podríamos mencionar la modernización de la agricultura, que tiende al monocultivo de variedades mejoradas que satisfagan la demanda específica del consumidor por productos uniformes; los cambios en el uso del suelo agrícola a cultivos más rentables, o bien, el no cultivo de dichas tierras por abandono o migración.

TEORIA

El ayocote negro (*Phaseolus Coccineus L.*) es una leguminosa que se domesticó hace 2200 años en el valle de Tehuacán, Pue., encontrándose restos más antiguos en las cuevas de Ocampo, Tamaulipas con edad de 5500 y 7000 años a.C. También es conocido en distintos lugares de México como: Patol, frijolon, paky cimarrón, ayacote, ayecote, entre otros. Predominando en granos de tamaño grande y de colores negros, morados y blancos. Entre la gran variedad de leguminosas el ayocote es la segunda especie de mayor importancia para la alimentación de los mexicanos, por ello se estudió las propiedades fisicoquímicas observando las reacciones entre cada propiedad de las proteínas del ayocote

La germinación de las semillas es un proceso bioquímico donde se aprovechan los materiales de reserva que estas contienen para generar una nueva plántula. Tanto en el Occidente y el Oriente del planeta, se han consumido los germinados de diversas semillas debido al carácter nutricional

que presentan, los germinados se han orientado hacia las leguminosas tales como la alfalfa y la soya, siendo esta última utilizada en varios procesos en la fabricación de alimentos (Merino Sánchez, 1972; Castillo-Mendoza et al, 2006; Vargas-Vazquez, 2011). En México existen otras leguminosas de las cuales no se ha explorado su estudio en cuanto a la germinación y los cambios benéficos que esta podría ejercer sobre la salud humana. El presente trabajo tiene como objetivo estudiar los cambios que se generan en el perfil lipídico durante la germinación de la semilla de ayocote negro (Phaseolus coccineus L.), y su aprovechamiento como una alternativa en la generación de compuestos con actividad biológica (Salazar-Ruíz, 2009, Liang y Bun., 2015). Existen en México muchas variedades de frijol las cuales aún no han sido exploradas, por lo que surge el interés de estudiar una especie la cual sea consumida en el Estado de Tlaxcala y dar un aporte de información sobre su valor nutricional de esta, lo cual es el Ayocote Negro.

PARTE EXPERIMENTAL

Las semillas se obtuvieron de un lugar cercano al lugar de trabajo, en el municipio de Papalotla Estado de Tlaxcala (19°18'44"N 98°14'21"O). Las semillas se separaron de materia inerte, semillas picadas, posteriormemente se lavaron y fueron separadas en dos lotes, los cuales fueron rotulados de la siguiente forma: Lote A: Semilla sin Germinar y Lote B: Semilla Germinada. El Lote A, consistió en la semilla lavada y enjuagada con agua destilada. Mientras tanto el Lote B, las semillas lavadas, enjuagadas con agua destilada y remojadas en una solución de hipoclorito de sodio al 2% fueron preparadas para la germinación, estas se pusieron en remojo por 1 hr. Posteriormente las semillas fueron acondicionadas en un soporte húmedo de celulosa,y puestas en ausencia de luz, a una temperatura de aproximadamente 25°C. El periodo de germinación fue de 7 días, antes de empezar la actividad fotosintética, la cual fue calculada en estudios previos. Posteriormente se obtuvieron las harinas de cada lote, el tamaño de cada uno fue de 2 Kg (Figura 1).





Figura 1. Acondicionamiento y germinación del Ayocote

El lote A, fue remojada por 5 horas, para eliminar la cascara de la semilla manualmente, y se redujo su tamaño mediante una licuadora convencional y fue almacenada a temperatura ambiente hasta su estudio. La harina del Lote B fue obtenida a partir de la semilla germinada y descascarillada, fue molida en una licuadora convencional y posteriormente las muestras fueron secadas durante 24hrs, a 70°C reduciendo su tamaño nuevamente en una licuadora convencional hasta obtener harinas.

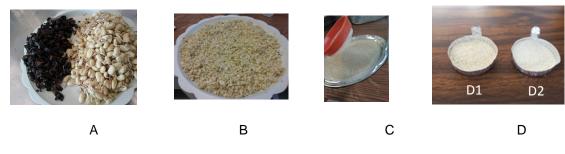


Figura 2. Obtención de Harinas

A: Semilla de ayocote germinada sin cascara; B: Semilla reducida de tamaño antes de secar; C: Reduccion de Tamaño de las Harinas; D: Harinas obtenidas D1:germinada, D2: sin germinar

Posteriormente de ambas harinas y manipuladas por separado se realizó un Análisis Químico Proximal encontrando diferencias en el contenido de ambas muestras. Encontrándose en el Lote A: Humedad 6.3%, Cenizas 3.8%, Grasa 5.35%, y Proteína 22%, y Carbohidratos 62%, mientras en el Lote B: 2.1%, Cenizas 5%, Grasas 5%, Proteina 15%, y 66% de hidratos de carbono. La disminución de proteínas en las muestras germinadas podría atribuirse a que muchas proteínas intervienen como agentes de almacenamiento y su papel es fundamental en el desarrollo y generación del germen.

Se realizó un análisis microbiológico para observar la calidad de las harinas y se realizaron cuenta total de enterobacterias y hongos y levaduras, de las cuales no se obtuvo alguna cuenta microbiana, lo que probablemente sea debido a la cantidad de agua presente en las muestras la cual es muy baja. Posteriormente se realizó el fraccionamiento por solubilidad de las proteínas de las harinas, mediante el Método de Osborne. En el cual se tomó una relación 1:19 W/V de harina y agua desionizada, se agitaron durante 30 minutos a 25°C, posteriormente se centrifugaron a 5000 rpm durante 20 minutos. El sobrenadante se separó, y el sedimento se lavó 2 veces con agua destilada, centrifugándose cada uno bajo las mismas condiciones. Se juntaron los sobrenadantes, y se llevaron a un volumen de 100ml, este volumen contenía el representativo del contenido de albúminas.

El producto sedimentado de la operación anterior se suspendió en 20 ml de solución de NaCl al 5% agitándolo durante 30 minutos y después se centrifugó por 30 minutos a 3500 rpm. El sobrenadante se separó y el residuo se lavó sucesivamente 2 veces con 20 ml de agua desionizada mediante agitación y centrifugación descrito anteriormente, los sobrenadantes recolectados, fueron llevados a un volumen de 100 ml, los cuales eran representativos del contenido de globulinas.

El residuo sólido se suspedió en etanol al 70 % agitándose y centrifugándose a las mismas condiciones de las operaciones anteriores, los sobrenadantes se llevaron también a un volumen de 100 ml, de los cuales contenian el representativo de las prolaminas.

El precipitado se trató con 20 ml de NaOH 0.1 N y se prosiguió de la misma forma que en los casos anteriores, obteniéndose así el contenido de glutelinas.

Las muestras de globulinas y glutelinas fueron dializadas para retirar el exceso de iones que alteraran la electroforesis, el exceso de las prolaminas fueron retiradas por rotavapor a 70°C, Posteriormente todas las fracciones fueron liofilizadas. Se determinó la concentración de proteína mediante el método de Biret (Gornall, 1949).

La concentración de las proteínas en ambos lotes fue del siguiente orden Albuminas>Globulinas>Globulinas>Prolaminas. Los resultados se muestran en la siguiente Tabla 1.

Proteínas	Contenido de proteína en Harinas (mg/ml)		
	Semilla Sin Germinar	Semilla	
		Germinada	
Albuminas	7.12	6.53	
Globulinas		0.53	
Glutelinas	0.2	0.2	
Prolaminas	0.35	<0.1	

Tabla 1. Contenido de proteína fraccionada en Harinas

Se realizó el analisis electroforético mediante el método descrito por Laemmli (1970), utilizando geles de tipo vertical con 12% de poliacrilamida utilizando una cámara de electroforesis Mini-Protean II Slab cell de Bio-Rad (Richmond, California). Se aplicó un marcador que contenían 6 proteínas de peso molecular conocido miosina 205 kDa, "-galactosidasa 116 kDa, fosforilasa b 97.4 kDa, albúmina bovina 66 kDa, albúmina de huevo 45 kDa, anhidrasa carbónica 29 kDa (Sigma, C3312).

Al terminar el proceso de separación los geles se tiñeron y posteriormente se destiñó empleando una solución al 40% de metanol y 10% de ácido acético. La imagen de los geles se analizó en un

autoanalizador de imágenes My gels (Telethon k.k.) para cuantificar los pesos moleculares de las bandas de las proteínas.

Los resultados mostraron diferencias entre las muestras germinadas y sin germinar, probablemente es debido a que muchas de estas proteínas son utilizadas como materia de reserva durante la germinación de la semilla, lo cual también es observado en la diferencia de concentración de las proteínas. Los valores de los pesos moleculares de las albuminas para ambas muestras fueron de 30 a 68 kDa, mientras que para glutelinas solo fueron detectadas en las muestras de semilla germinada con una banda de aproximadamente de 40 kDa, por otro lado las prolaminas hubo diferencia al encontrarse tres bandas en las semillas sin germinar mientras que en las germinadas solo fue una, esto probablemente sea debido a que este tipo de proteínas son consideradas de reserva, al igual que las glutelinas las cuales se encontró una banda de aproximadamente 37 kDa en semilla sin germinar.

CONCLUSIONES

El presente trabajo aporta información sobre el contenido de proteínas que hay en el ayocote negro de ahí la sugerencia en su posible consumo en el estadio germinado. Sin embargo algunos factores antinutricionales como el ácido fítico, y otros compuestos podrían ser estudiados en futuros estudios. Una de las alternativas para consumo podría ser germinada y cocido, sin embargo este estudio deja la puerta abierta a otros estudios relacionados con el ayocote.

BIBLIOGRAFIA

- 1. Espinoza-Pérez E. Clasificación de Poblaciones nativas de frijol común del centro-sur de Mexico por morfología de semilla. Rev.Ritotec Vol 29,1,2015, pp.29-38
- 2. Gornall A. J., Bardawill C. J., y David M. M. 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. Journal of Biological Chemistry, Vol, 177 pp. 751-766.
- 3. Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage t4. Nature, Vol. 227 pp. 680-685.
- Castillo Mendoza, Mónica; Ramírez Vallejo, Porfirio; Castillo González, Fernando; Miranda Colín, Salvador. 2006. Diversidad morfológica de poblaciones nativas de frijol común y frijol ayocote del oriente del Estado de México. Revista Fitotecnia Mexicana. Vol. 29 pp. 111-119
- 5. Vargas- Vázquez Patricia. (2011). Diversidad morfológica del frijol ayocote del Carso Huasteco de México. Revista mexicana de biodiversidad. Vol. 82 pp. 767-775
- Salazar Ruiz Régulo. 2009. Análisis de la diversidad genética de Phaseolus coccineus L. Tesis IPN
- 7. Merino Sánchez, Raúl. 1972. Evaluación de la calidad de semilla de frijol. Instituto interamericano de ciencias agrícolas de la OEA. Tesis
- 8. 8.- Liang, P.W y Bun N T., 2015. A dimeric Phaseolus coccineus lectin with antioxidative, antiproliferative and cytokine-inducing activities. International Journal of Biological Macromolecules Vol. 81 pp. 960-966

ULTRASONIDO-UV Y TRATAMIENTO TÉRMICO SOBRE LA CALIDAD FISICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE UN JUGO A BASE DE CHILACAYOTE

Rodríguez-Verástegui, L.L., Romero-Domínguez, A.C., Reyes-Farfán, S,. Tlecuitl-Beristain, S., Sánchez-Minutti, L., García-Barrientos, R.

Universidad Politécnica de Tlaxcala lizette.liliana@gmail.com

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del ultrasonido en combinación con la luz ultravioleta (US-UV) y el tratamiento térmico (TT) sobre el crecimiento celular de mesófilos, psicrófilos y hongos y levaduras de un jugo a base de chilacayote almacenado en refrigeración por 21 días. El TT ha sido por su eficacia el método para inactivar microorganismos y enzimas en jugos, sin embargo tiene efectos adversos sobre las características sensoriales y nutricionales¹. Se formuló un jugo a base de chilacayote como componente principal y una vez extraído y filtrado se sometió a TT y US-UV¹. Las variables de calidad medidas fueron sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), pH y se comparó de manera visual el color de los jugos. Se determinó la cuenta microbiana de mesófilos y psicrófilos en medio agar cuenta estándar y hongos y levaduras en medio Saboraud. Estas variables se determinaron en los días 0, 7, 14 y 21 de almacenamiento. El contenido de SST y AT se mantuvo en ambos tratamientos durante el almacenamiento, el color no se vio afectado por el TT comparado con los tratados por US-UV. El tratamiento US-UV logró una disminución de al menos 2 ciclos en el crecimiento microbiano de mesófilos y hongos y levaduras. El empleo de US-UV no mejoró el color, pero sí la calidad microbiológica del jugo a base de chilacayote.

INTRODUCCIÓN

La pasteurización térmica es el método más común para prolongar la vida útil de los jugos ya que inactiva enzimas como la polifenol oxidasa (PPO) o peroxidasa (PDO) y limita el crecimiento de microorganismos que afectan la calidad e inocuidad de la bebida. Sin embargo, los tratamientos térmicos pueden alterar las propiedades organolépticas y nutricionales de los jugos. La demanda de los consumidores ha aumentado el esfuerzo de la industria de los jugos para ofrecer productos que preservan su valor nutricional a través del desarrollo de tecnologías emergentes que causan el daño mínimo en la composición de los mismos. Entre estas tecnologías, se ha prestado especial atención a la aplicación del ultrasonido (US) (Andrade-Cetto, M. H. 2004)

El US se genera a partir de una corriente eléctrica con frecuencias de 20 a 100 kHz, está energía es convertida a sonido a través de un transductor. El sonido generado se propaga a través de los líquidos provocando cavitación. La cavitación en combinación con el calor permiten la conservación de los jugos al inactivar enzimas responsables del deterioro fisicoquímico, el mejoramiento de la calidad sensorial y prolongar la vida útil de los productos al inhibir el crecimiento microbiano en los jugos (Robles-Ozuna y Ochoa-Martínez, 2012). Sin embargo, de deben considerar ciertos factores durante la aplicación del US como son: la viscosidad, el contenido de sólidos suspendidos, el pH, la amplitud y frecuencia de las ondas, el tiempo, la temperatura y el tipo de proceso (continuo o discontinuo) (Anaya-Esparza et al., 2017).

La diabetes mellitus es el trastorno endocrino que afecta a más de 176 millones de personas en todo el mundo, según la Organización Mundial de la Salud (OMS). En México, la OMS estima que el número de pacientes diabéticos aumentará de más de 2 millones en 2002 a más de 6 millones en el 2030, lo que implicaría que en algunas décadas México podría tener la tasa más alta de diabetes en el mundo (Simpson, 2014).

En México, se dispone de datos limitados acerca de cómo los pacientes sobrellevan está enfermedad. En nuestro país, según los reportes de (Jia et al. 2003), existen más de 200 plantas que están consideradas por su poder de reducir la glucosa en sangre (hipoglucemiantes).

El chilacayote (*Cucurbita ficifolia*) pertenece a la familia de las cucurbitáceas, es una planta trepadora, de producción anual que puede medir hasta 10 m de largo. Es vellosa a suavemente pubescente con algunas espinas cortas y dispersas sobre partes de la vegetación Las flores son pentamerosas, solitarias y axilares. El fruto es globoso a ovoide-elíptico de pulpa dulce y las semillas son ovales-elípticas, aplanadas, y de un marrón oscuro a color negro o blanco crema (Purdue University, 2004). En México, esta planta se consume ampliamente y en varios platos y dulces; utilizando las semillas o frutos. Entre sus componentes principales están el calcio, la vitamina C, el hierro, fibra, tiamina y proteínas (1.2%) y aporta 14 kcal (Lorenc-Kubis et al., 2001).

El chilacayote se ha considerado en diversos estudios debido a sus propiedades hipoglucemicas, estudios de otros investigadores han identificado que el compuesto D-Quiro-Inositol en acción con compuestos flavonoides obtenidos del mismo fruto reguló los niveles de insulina de ratones de laboratorio (Figueroa-Torres, et al., 2015 y Moya-Hernàndez et al., 2015).

Por lo anterior se propone la formulación de un jugo a base de chilacayote, como alternativa de consumo para las personas diabéticas, para su posterior estabilización microbiológica y de calidad mediante el uso del ultrasonido y la luz UV.

TEORÍA

El jugo de chilacayote tratado con US-UV se conservará sus características de calidad y microbiológicas igual o mejor que el jugo pasteurizado.

DISEÑO EXPERIMENTAL

3.1 Material biológico y diseño de las formulaciones. Los frutos que se utilizaron para preparar las formulaciones de los jugos fueron adquiridos e en madurez comercial en un mercado local del Estado de Tlaxcala en los meses de enero a marzo del 2017. Todos los frutos se lavaron con agua potable y luego se sumergieron en agua clorada a 200 ppm de 3 a 5 minutos, posteriormente se extrajo el jugo de todos los frutos por separado y se formularon 6 combinaciones de jugo (formulaciones) como se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 28. Formulaciones realizadas incluyendo cada componente frutal utilizado.

Jugo 503	Jugo 504	Jugo 505	Jugo 506	Jugo 507	Jugo 508
Chilacayote Naranja Apio	Chilacayote Piña Apio	Chilacayote Sandía Naranja	Chilacayote Fresa Manzana	Chilacayote Manzana Naranja Pepino	Chilacayote Piña Manzana

La selección de las formulaciones se realizó en dos etapas. La primera etapa consistió en elegir 3 formulaciones, éstas se evaluaron por su aroma, sabor y color. En la segunda etapa el resto de las formulaciones se sometió a una prueba sensorial de preferencia de tres puntos, en donde: 1- me desagrada mucho, 2- me es indiferente, 3- me gusta mucho. Las pruebas de preferencia la realizaron 17 personas de entre 25 y 55 años de edad, algunos de ellos diabéticos o con presión arterial alta.

En la figura 1 se observa que las formulaciones con mayor preferencia fueron el 506 (chilacayote, fresa, manzana) y la 507 (chilacayote, manzana, naranja, pepino), sin embargo, se eligió la 507 por la disponibilidad de la materia prima.

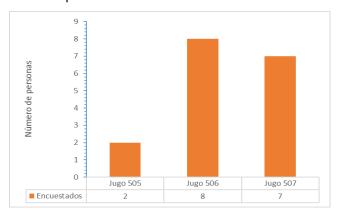


Figura 1. Preferencia de jugos hechos a base de chilacayote.

3.2 Aplicación de los tratamientos.

Tratamiento Térmico (TT) se vertió el jugo 507 en tubos falcón de 15 ml, en condiciones asépticas, se sumergieron en agua hirviendo por 10 minutos y pasado este tiempo se pasaron a un recipiente con hielo por otros 10 minutos. *Control (sin tratamiento alguno)*. Después de la extracción del jugo y formulación el jugo se vertió en tubos falcón y se refrigeró. *US-UV* consistió en sumergir una sonda ultrasónica de 10mm de diámetro, con las siguientes condiciones experimentales: frecuencia: 40kHz, amplitud: 50 %, tiempo de procesamiento: 40 minutos, temperatura inicial: 25°C y final: 44°C. Terminado el proceso se dejó 20 minutos en una campana de flujo laminar con la luz UV encendida. Después de tratados los jugos todos se almacenaron a 4°C por 21 días. Cada tubo falcón con jugo se consideró una unidad experimental y se evaluaron tres de cada tratamiento por tiempo de muestreo.

3.3 Parámetros de calidad. Se determinaron los parámetros destructivos y no destructivos de acuerdo con (Bosquez Molina, Pelayo Zaldívar, y Yáñez-López, 2015).

Parámetros no-destructivos. Se determinaron las dimensiones polares (DP) y ecuatoriales (DE) de los chilacayotes con un vernier y el peso de los mismos con una balanza granataria marca Velab.

Parámetros destructivos. Se determinaron al inicio del proceso en cada fruto a utilizar para la formulación del jugo, así como una vez obtenida la formulación y de cada jugo tratado a los diferentes días de muestreo.

Los parámetros evaluados fueron:

- a) Sólidos Solubles Totales (SST). Estos representan el % de sacarosa contenida en el jugo de los frutos. Se determinó en el jugo utilizando un refractómetro de mano marca ATAGO. Los resultados se expresaron en % SST.
- b) Acidez titulable. Los productos vegetales son particularmente ricos en ácidos orgánicos. La acidez titulable se determinó mediante volumetría. Se colocaron 5 mL del jugo en un matraz Erlenmeyer, se agregaron unas gotas (2 ó 3) de fenolftaleína y se tituló con una solución NaOH 0.1 N hasta el vire. Los resultados se expresaron en g de ácido cítrico / 100 ml de jugo para calcularla se utilizó la fórmula 1.

Donde:

%AT= Acidez titulable (en g de ácido cítrico / 100 ml de jugo V_{NaOH}= Volumen gastado de NaOH N_{NaOH}= Normalidad de NaOH meq. Ácido cítrico= miliequivalentes del ácido predomiante g o mL jugo= Gramos o mililitros de jugo 507 a titular

c) pH: La concentración de los iones ácidos e iones hidróxido en una solución están relacionadas mutuamente por medio del equilibrio de protólisis. El pH se determinó mediante un potenciómetro marca Chemical instruments and medical supplies.

- 3.3 Calidad Microbiológica. Se hicieron diluciones en una solución de 9 ml agua peptonada al 90% añadiendo 1ml de jugo concentrado y se homogeneizaron en un vórtex. Con esto se obtuvo la dilución madre (10^1), a partir de la cual se hicieron 4 diluciones más en función del microorganismo a estudiar, para la enumeración de cada grupo microbiano (enterobacterias, mesófilos, hongos y levaduras). Se preparó una batería de disoluciones y de cada una de ellas se pipeteó asépticamente una alícuota de 500µL para los cultivos de bacterias y 0.50µL en el caso de mohos y levaduras sobre 15ml del medio de cultivo apropiado en cada caso. Las condiciones de incubación y los medios de cultivo empleados para cada uno de los microorganismos fueron los siguientes: para mesófilos se empleó Agar Cuenta Estándar siendo incubados a 30°C durante 2-3 días; para las enterobacterias se utilizó Agar bilis rojo violeta siendo incubados a 37°C durante 48 horas. Por último, los hongos y levaduras se cultivaron en Agar Saboraud siendo incubados a 22°C durante 5 días los hongos y 7 días las levaduras. Todos los recuentos microbianos se expresan como UFC/ml. Se realizaron tres réplicas de cada repetición en cada salida para cada microorganismo (Castillejo et al. 2016).
- 3.4 Análisis estadístico. El experimento solo tuvo el factor tratamiento. El factor se evaluó mediante un análisis de varianza (ANOVA) con el programa Statgraphics Plus (vs. 5.1, Statpoint Technologies Inc., Warrenton, USA) con un nivel de significancia de p=0.05. Cuando hubo diferencias significativas se determinó mediante la prueba de Tukey.

RESULTADOS

4.1 Parámetros de calidad. El diámetro y peso de los frutos y vegetales utilizados para obtener el jugo 507 se observan en el cuadro 2.

Cuadro 2. Características físicas y químicas iniciales de los frutos y raíces utilizadas para la formulación del jugo 507.

FRUTO	DE/DP	PESO	рН	%AT (g de ácido cítrico en 100 mL de jugo)	%SST (g de sacarosa en 100 mL de jugo)
CHILACAYOTE	31.06±4.90 32.46±6.13	534.69±211.99	6.46±0	0.04±0.00	4.0±0.0
NARANJA	ND	ND	3.21±0	0.49±0.01	13.56±0.11
MANZANA	ND	ND	3.72±0	0.11±0.01	11.83±0.28
PEPINO	ND	ND	5.06±0	0.04±0.00	3.0±0
LIMÓN	ND	ND	1.8±0	0.42±0.01	7.83±0.28

DE. Diámetro Ecuatorial, DP. Diámetro polar, ND. No se determinó. Cada valor representa la media ± desviación estándar de tres repeticiones.

La norma del Codex Stan 247-2005 define que un jugo es "el líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas o frutas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados..." (Codex Stan, 2017). De acuerdo a lo establecido por la norma la formulación obtenida cumplió con la definición, pues, todos los productos hortofrutícolas presentaron madurez comercial y calidad en cuanto a olor, sabor y color característicos como lo reportan Bosquez Molina, Pelayo Zaldívar, y Yáñez-López (2015). Con base en el jugo 507 según la norma del Codex Stan 247 señala que el mínimo de SST que debe tener la naranja y la manzana es de 11.8 y 10 como valores mínimos, respectivamente. Sin embargo, al mezclar se obtuvo un contenido de sólidos cercano a 4%. A pesar de tener un contenido bajo de sólidos disueltos en su mayoría representados por la sacarosa presente el sabor del jugo 507 en el tiempo cero fue dulce, con olor a sandía verde, fresco al paladar, turbio y color verde claro.

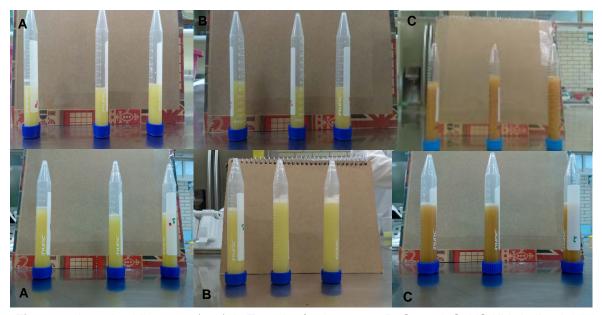


Figura 2. Jugo de chilacayote (507) A. Tratado térmicamente, B. Control, C. US-UV. Arriba. Inicial. Abajo. Final del almacenamiento refrigerado

Durante el almacenamiento refrigerado del jugo 507 se puede observar que el pH (cuadro 3) en el tratamiento US-UV fue estadísticamente diferente del TT y del control. En el jugo tratado térmicamente y el control, el pH disminuyó cerca de un 15% con respecto al valor inicial contrario a este resultado el jugo US-UV no mostró cambios en ninguno de los parámetros de calidad medidos, por lo cual mantuvo las características del jugo hasta el final del almacenamiento. (Cuadro 3).

Cuadro 3. Parámetros de calidad del jugo 507 tratado térmicamente, control y US-UV y almacenado por 21 días a 4°C.

TRATAMIENTO	DÍA	рН	%AT (g de ácido cítrico en 100 mL de jugo)	%SST (g de sacarosa en 100 mL de jugo)
	0	4.65±0 Ba	0.02±0.01 ^{Aa}	6.5±0 ^{Aa}
Tratamiento	7	3.9±0.11 ^{Ba}	0.03±0.01 ^{Aa}	7.06±0.11 ^{Aa}
Térmico	14	3.87±0.011 ^{Ba}	0.03±0.01 ^{Aa}	6.97±0.06 ^{Aa}
	21	3.95±0.02 ^{Ba}	0.02±0.01 ^{Aa}	7±0 ^{Aa}
	0	4.56±0 Ba	0.02±0.00 ^{Aa}	7.5±0 ^{Aa}
Control	7	4.00±0.01 ^{Ba}	0.02±0.001 ^{Aa}	6.77±0.23 ^{Aa}
Control	14	3.93±0.04 ^{Ba}	0.03±0.00 ^{Aa}	7.03±0.058 ^{Aa}
	21	4.02±0.03 ^{Ba}	0.03±0.02 ^{Aa}	7±0 ^{Aa}
	0	4.26±0.01 Aa	0.03±0.02 ^{Aa}	6.93±0.06 ^{Aa}
US-UV	7	4.23±0.03 ^{Aa}	0.03±0.01 ^{Aa}	6.93±0.06 ^{Aa}
03-07	14	4.23±0.03 ^{Aa}	0.03±0.01 ^{Aa}	6.57±0.11 ^{Aa}
	21	4.23±0.02 ^{Aa}	0.02±0.00 ^{Aa}	6.97±0.06 ^{Aa}

Letras diferentes mayúsculas denotan diferencias significativas entre tratamientos y minúsculas entre tratamientos por día de almacenamiento.

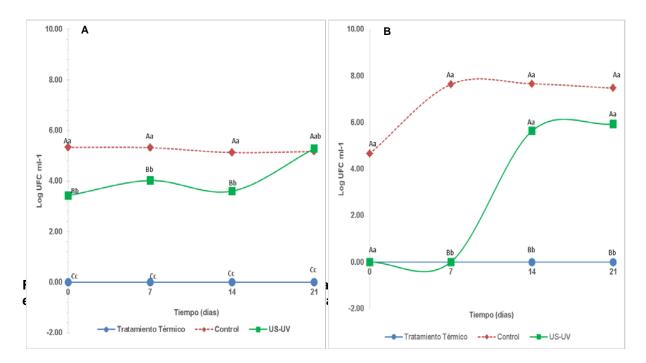
4.2 Calidad Microbiológica. De acuerdo a la NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometido a tratamiento térmico. Disposiciones y

especificaciones sanitarias, el límite máximo de mesófilos en un tratamiento de pasteurización para jugos es de 100 UFC/ml y para Hogos y Levaduras es de 25 UFC/ml estos valores traducidos en ciclos logarítmicos están entre 2 y 1.3, respectivamente.

La figura 3 y 4 muestran el crecimiento microbiano y con respecto a la antes mencionada, el jugo 507 con TT y con US-UV se encuentra dentro de los parámetros de calidad microbiológica; el jugo con TT no presentó crecimiento de ningún microorganismo en el almacenamiento. Sin embargo, el jugo tratado con US-UV después de los 7 días mostró crecimiento de enterobacterias y hongos y levaduras. El grupo de las enterobacterias es representado por *Escherichi coli*, Salmonella o Shigela. La presencia de estos microorganismos en el jugo pone de manifiesto deficiencias en la calidad microbiológica del jugo. Este efecto puede deberse a tres factores principales como: A) condiciones del tratamiento insuficientes, B) contaminación posterior al tratamiento, C) almacenamiento a temperaturas inadecuadas o inestables (Castillejo et al. 2016).

El crecimiento de mesófilos en el jugo tratado con US-UV no fue el esperado, pues, desde la evaluación del día cero se obtuvieron valores cercanos a 4 ciclos logarítmicos.

En comparación con otros estudios se ha observado que el solamente el tratamiento con US disminuyó al entre 1 y 9 ciclos logarítmicos la carga microbiana de jugos de naranja, manzana, caña, piña y granada, sin embargo la disminución no se define sobre qué tipo de microorganismos son (Anaya- Esparza et al., 2017). Otros autores han reportado la disminución de la población en casi 2 ciclos, con respecto a jugos sin tratamiento, de levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* cuando se aplicó un tratamiento de ultrasonido combinado con tratamiento térmico y un aceite esencial en jugo de natural de manzana y naranja (Sánchez-Rubio et al., 2016).



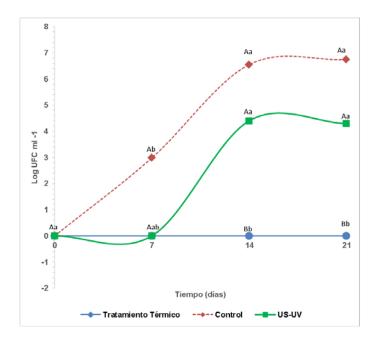


Figura 4. Crecimiento de enterobacterias en jugos a base de chilacayote con diferentes tratamientos de conservación.

CONCLUSIÓN

El tratamiento US-UV logró mantener la calidad microbiológica por 14 días, después de este tiempo la calidad del jugo 507 a base de chilacayote se vio afectado por el crecimiento de enterobacterias, hongos y levaduras y mesófilos. Estos resultados indican que el tratamiento US-UV tiene potencial de uso ya que logró disminuir en 2 ciclos logarítmicos la cuenta microbiana con respecto al control y mantuvo los parámetros fisicoquímicos casi intactos durante el almacenamiento sin embargo, las condiciones del tratamiento por ultrasonido y la preparación del jugo deben optimizarse para evitar contaminaciones asociadas al mal manejo de las buenas prácticas de higiene.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Andrade-Cetto, M. H. (2004). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(3), 325-348.
- 2. Anaya-Esparzal L.M., Velázquez-Estrada R.M., Roig, H. S. García-Galindo S.G., Sayago-Ayerdi E. y Montalvo-González L. (2017) "Thermosonication: An alternative processing for fruit and vegetable juices, *Trends Science and Food Technology*, *61*, 26-37.
- 3. Bosquez Molina, E., Pelayo Zaldivar, C., y Yañez López, M. (2005). Estudios fisiológicos y tecnología poscosecha de frutas y hortalizas, México: UAM. p.p. 21-23, 105-106.
- 4. Castillejo, N., Martínez-Hernández, G.B., Monaco, K., Gómez, P., Aguayo, A., Artés, F. y Artés-Hernández, F. (2016). Preservation of bioactive compounds of a green vegetable smoothie using short time—high temperature mild thermal treatment. Food Science and Technology International., 23(1), 46-60.
- 5. Codex, 2017. NORMA GENERAL DEL CODEX PARA ZUMOS (JUGOS) Y NÉCTARES DE FRUTAS (CODEX STAN 247-2005). En: www.fao.org/input/download/standards/10154/CXS_247s.pdf Consultada: 15/04/17
- Figueroa-Torres S.C., Bosquez-Molina E., López-Martínez L. X., Blancas-Flores, G. 2015. Caracterización Física Y Química De Frutos De Chilacayote (*Cucurbita ficifolia* Bouché) durante el crecimiento y desarrollo, asociada a su capacidad hipoglucemiante. En: Cuarto Simposium: Perspectivas la biotecnologia. Posgrado UAMI. p.p. 6.

- Moya-Hernández A., Bosquez-Molina E., Serrato-Díaz A., Blancas Flores G. 2015. Diversidad Genética De Frutos De Chilacayote (*Cucurbita ficifolia* Bouché) Mediante La Técnica De AFLP. En: Cuarto Simposium: Perspectivas la biotecnología. Posgrado UAMI. p.p. 9.
- 8. Flores G Jia, W., Gao, W., & Tang, L. (2003). Antidiabetic herbal drugs officially approved in China. Phytotherapy Research, 17, 1127–1134.
- 9. Lorenc-Kubis, A., Lopuska, A., Kalinowska, M., 2001. Immunologically related lectins from stems and roots of developing seedlings of Cucurbita ficifolia: purification and some properties of root and stem lectins. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 70, 31–37.
- 10. Purdue University, 2004. Web page: http://www.hort.purdue.edu/newcrop/ 1492/cucurbits.html (accessed May 2004).
- Robles-Ozuna, L.E., Ochoa-Martínez L.A. (2012). ULTRASONIDO Y SUS APLICACIONES EN EL PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS. Revista Iberoamericana de Tecnología. 109-122.
- 12. Sánchez-Rubio M., Taboada-Rodríguez A., Cava-Roda R., López-Gómez A., Marín-Iniesta F. (2016). Combined use of thermoultrasound and cinnamon leaf essential oil to inactivate *Saccharomyces cerevisiae* in natural orange and pomegranate juices. LWT-Food Science and Technology, 73, 140-146.
- 13. Simpson, R. (2014). The anti-diabetic potential of polysaccharides extracted from members of the cucurbit family: A review. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *3*, 106-114.

EFECTO DE DIFERENTES CONDICIONES DE EXTRACCIÓN EN EL RENDIMIENTO DE MUCÍLAGO DE OPUNTIA SPP.

Héctor Eduardo Martínez Flores, Ma. Guadalupe Garnica Romo, Eder Zavala Mendoza

Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo. Facultad de Químico Farmacobiología. Tzintzuntzan 173. Col. Matamoros. Morelia, Mich., México. C.P. 58240.

Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo. Facultad de Ingeniería Civil. Av. Francisco J. Múgica S/N Ciudad Universitaria. Morelia, Mich., México. C.P. 58030.

Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo. Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas. Morelia, Mich., México.

RESUMEN

El nopal es el nombre común de las cactáceas del género Opuntia (L) Miller, el cual se considera un vegetal de zonas áridas y semiáridas. La mayoría de las investigaciones se centran en Opuntia ficus-indica, aunque la concentración de mucílago en otros nopales representa un potencial aprovechable para las industrias alimentaria y farmacéutica, por lo que el objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de las diferentes condiciones de proceso de extracción de mucílago de cinco especies de Opuntia del estado de Michoacán, sobre su rendimiento y composición química. La caracterización de la materia prima y mucílago incluyo, análisis de proteína, cenizas, extracto etéreo, fibra dietética soluble, insoluble y total. La metodología de superficie respuesta fue usada para la optimización del proceso de extracción de mucílago. Asimismo, se cuantificó el rendimiento de mucílago en las especies de O. atropes, O. hyptiacantha, O. joconostle, O. Streptacantha, y O. tomentosa colectadas en el estado de Michoacán. Las condiciones optimizadas para cada una de las variables que intervinieron en el proceso de extracción de mucílago de nopal fueron: relación nopal: agua 1:8 (w/v), temperatura de extracción 83 °C, tiempo de extracción 2 h y tiempo de centrifugado de 15 min. La caracterización química mostró diferencias en los componentes químicos de las especies de Opuntia, particularmente en cenizas, proteína y fibra soluble e insoluble. Las condiciones del proceso permitieron obtener elevados rendimientos en O. joconostle con un 3.21%, seguida por O. atropes (2.62%), O. tomentosa (1.81%) y O. hyptiacantha (2.11%), sin diferencia significativa entre sus medias. Lo anterior pemite inferir que las diferentes especies de Opuntia estudiadas podrían representar un amplio potencial para ser aprovechadas en la obtención de mucílago.

INTRODUCCIÓN

El nopal es el nombre común de las cactáceas del género *Opuntia* (L) Miller. México es considerado su centro de biodiversidad, ya que de cerca de 200 especies que existen en el mundo, entre 83 a 105 se encuentran en el país (1). Las principales zonas de producción del país se localizan en Aguascalientes, Baja California, Distrito Federal, Jalisco, Oaxaca, Michoacán, Puebla, San Luis Potosí y Zacatecas. En Michoacán los nopales cultivados en 2009 ocuparon una superficie de 308 ha (2). Las especies más cultivadas son *O. atropes* y *O. tomentosa*. Algunas de las especies presentes de forma silvestre son: *O. atropes*, *O. tomentosa*, *O. robusta*, *O. fuliginosa*. *O. joconostle*, *O. streptacantha* y *O. jaliscana* (3), las cuales han sido poco estudiadas, y representan un gran potencial para su estudio, ya que traería consigo grandes beneficios tecnológicos, económicos, sociales y culturales. Se conocen casi 300 especies del género *Opuntia*.

Sin embargo, hay solo alrededor de 12 especies hasta ahora utilizadas por el hombre, ya sea para producción de fruta y nopalitos para alimentación humana, forraje o cochinilla para obtención de colorante. Las especies utilizadas para para producción de fruta son *O. ficus-indica*, *O. amyclaea*, *O. xoconostle*, *O. megacantha* y *O. streptacantha*. Como especies silvestres: *O. hyptiacantha*, *O. leucotricha* y *O. robusta*. La especie más ampliamente cultivada en distintas partes del mundo es *Opuntia ficus- indica* (4,5).

En el año 2005 había en México 276 agroindustrias del nopal: 26% producían artículos medicinales, 17% nopalitos en escabeche, 14% nopalitos en salmuera y 12% cosméticos. En la actualidad los productos naturales, como el nopal, están siendo estudiados por sus propiedades funcionales. Los compuestos funcionales son aquellos que tienen efectos beneficiosos para la salud y tanto los frutos como los cladodios del nopal son una fuente interesante de ellos, entre los que destacan la fibra, hidrocoloides (mucílagos), pigmentos (betalaínas y carotenoides), minerales (calcio, potasio), y vitaminas (vitamina C); estos compuestos son apreciados desde el punto de vista de una dieta saludable y como ingredientes (mucílago) para el diseño de nuevos alimentos.

Mucílago de nopal y método de extracción del mucílago

Polisacárido muy ramificado con una estructura de hasta 30,000 diferentes azúcares, su peso molecular oscila alrededor de $13x10^6$ g/mol (6). Su composición química se basa en cadena de monómeros, entre los que se encuentran: 47% de arabinosa, 23% de xilosa, 18% de galactosa, 7% de ramnosa y 5% de ácido galacturónico, respecto a su peso molecular (7). Las proporciones varían de acuerdo a factores como: variedad de nopal, edad, condiciones ambientales y proceso de extracción, entre otros (8). El mucílago puede ser agente espesante de amplio uso en la industria de alimentos y farmacéutica. Otra característica es que tiene un alto poder emulsionante. La alta concentración de mucílago encontrado en algunas especies de nopal, la conformación polimérica y las propiedades reológicas de este compuesto, sugieren un potencial considerable de estas cactáceas como materia prima en la elaboración de diversos productos o en la obtención de aditivos mejoradores de la textura de los alimentos. Este polisacárido puede ser utilizado en forma de polvo seco en la formulación de diversos productos.

El proceso de extracción del mucílago del nopal es similar al reportado por diferentes autores (4,9,10), únicamente varian las condiciones del proceso, como son: relación nopal:agua durante la molienda para la extracción del mucílago, temperatura de extracción y relación de precipitación de mucílago (etanol:solución con mucílago extraído). Los rendimientos de extracción reportados son de 0.33 g/100 g hasta 1.2 g/100 g. Todas las atractivas propiedades del mucílago del nopal y los resultados reportados por diferentes autores, podrían ser aprovechadas al máximo si se mejoran los rendimientos de extracción del mucílago. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue optimizar la metodología de extracción de mucílago de nopal de 5 especies de *Opuntia* del estado de Michoacán: *O. atropes*, *O. hyptiacantha*, *O. joconostle*, *O. streptacantha*, y *O. tomentosa*.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron cladodios de 5 especies silvestres de *Opuntia*: *O. atropes*, *O. hyptiacantha*, *O. joconostle*, *O. streptacantha*, *y O. tomentosa*, colectadas en el estado de Michoacán, de edad de 2 a 3 años, sanos y libres de plagas. El nopal limpio de cada especie se corto en rebanadas de 9 cm²

con espesor de 2 mm (1.056 g), y se colocaron en hileras con una separación de 0.5 cm en charolas y colocadas en un deshidratador solar. El material seco se pulverizo y empaco al vacío.

Extracción de mucílago y optimización del proceso de extracción del mucílago de nopal

Se uso el método de Rodríguez (10). Al nopal limpio, libre de espinas, se cortó en cuadros de 0.5 cm². Se molió en licuadora (relación nopal:agua 1:2 w/V) y se calentó a 80 °C por 1 h para extraer el mucílago; el material fue centrifugado a 3500 rpm por 20 min (Helmer Mod. Z 400 K). El mucílago extraído contenido en el sobrenadante, se precipitó con etanol al 96%, en proporción 4:1 (alcohol: mucílago) y se reposo 24 h a 22 °C. Se recuperó por decantación el mucílago aglomerado. El líquido restante se centrifugó (3500 rpm/15 min), el precipitado se recuperó y se colocó con el mucílago que se recobró por decantación. El mucílago se seco a 45 °C/6 h en horno.

Para encontrar puntos óptimos, se utilizó la metodología de superficie respuesta, considerando las variables de mayor influencia sobre la respuesta (rendimiento de mucílago, %) a optimizar: Relación nopal:agua (w/V), Temperatura de extracción (°C), Tiempo de extracción (h) y Tiempo de centrifugado (min). Con base en resultados de otros autores (10) se establecieron los límites del dominio experimental. Después, se eligió el diseño experimental Box Behnken (27 corridas experimentales, incluyendo 3 repeticiones en el centro). Para el experimento se trabajó con 200 g de cladodios de *O. tomentosa* de 2 a tres años de edad. *O. tomentosa*, se uso ya que es del que se obtuvo mayor rendimiento de extracción de mucílago en el proceso inicial de extracción, utilizando el método de Rodríguez (10). Las colectas se realizaron durante el mes de junio y julio, al término de la estación de primavera y a comienzos del verano. Los cladodios de junio y julio se caracterizaron por estar deshidratados, mostrando las enervaduras. Los cladodios colectados a principios del verano eran cladodios bien hidratados y carnosos. Los resultados obtenidos se ajustaron a un modelo de regresión de segundo orden con cuatro variables, empleando el software SAS JMP Statistical Discovery, software Minitab Statistical y Statgaphics P.

Optimización final del proceso de extracción de mucílago de nopal

Se usó un diseño experimental que permitió estudiar el efecto individual de las variables, así como la interacción de estas sobre la variable respuesta. Para el diseño experimental final en el proceso de extracción de mucílago de nopal, se seleccionaron solamente dos factores ya que ni el tiempo de centrifugación ni la relación alcohol:mucílago para el precipitado del mucílago, tuvieron efecto significativo. Las variables seleccionadas fueron: 1) Relación nopal: agua (N:A (w/V)) y 2) Temperatura de extracción (T.E. (°C)).

Para cada corrida se trabajo con con 100 g de cladodios de *O. tomentosa*, de 2 a 3 años de edad, provenientes de plantas de más de 5 años, colectadas del 23 de octubre al 14 noviembre de 2011, durante la estación de otoño (cladodios hidratados, carnosos). Con los resultados se ajustó un modelo de regresión lineal de primer orden con dos variables, el modelo se ajustó empleando los paquetes estadísticos: software SAS JMP Statistical Discovery, V 6 para Windows; software Minitab Statistical, V 16 y Statgraphics Plus para Windows V 2.1

Comparación medida en rendimiento de mucílago (%) entre el método optimizado y el inicial

El método optimizado de extracción de mucílago de nopal de cinco especies de *Opuntia* de Michoacán fue comparado con el método modificado por Rodríguez (10). Para ello, se trabajó con cladodios de *O. tomentosa* de 2 a tres años de edad, colectados durante febrero de 2012.

Posteriormente, se realizó la extracción del mucílago de nopal de las especies de *Opuntia*. por triplicado, de acuerdo a las condiciones establecidas en el método inicial y el optimizado. Los datos obtenidos fueron concentrados en una matriz y analizada estadísticamente usando el software SAS JMP Statistical Discovery. Para ello, primero se comprobó que los datos obtenidos de cada método se ajustaran a una distribución normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk, posteriormente se realizó un análisis de la varianza (ANOVA).

RESULTADOS

Extracción de mucílago en especies silvestres de opuntia de Michoacán

Para la extracción inicial de mucílago, la materia prima fue colectada en el mes de mayo de 2011, en estación de primavera, en condiciones secas y muy soleadas. El rendimiento de mucílago obtenido para las cinco especies se muestran en la Tabla 1. Se obtuvieron rendimientos superiores a los obtenidos por otros autores (3,8,10,11,12), particularmente como fue el caso de la especie *O. tomentosa* con un rendimiento de 1.85%. Los principales problemas detectados durante la extracción de mucílago, fueron la proporción nopal:agua (1:2, w:V), al ser poca la cantidad de agua para tener una adecuada molienda y extracción, y la alta temperatura de extracción (80 °C), que redujo la recuperación de mucílago y dificultó su posterior separación.

Optimización del proceso de extracción de mucílago de nopal

En la Tabla 2 se muestran los tres niveles de las cuatro variables que fueron incluidas en el diseño Box Behnken, utilizando la especie de nopal *O. tomentosa*, que fue la que presento el mejor rendimiento de mucílago obtenido.

Tabla 1. Rendimientos de mucílago de las cinco especies de Opuntia.

Especie	G/300 g de cladodio fresco	Rendimiento %
O. atropes	2.40	0.80
O. hyptiacantha	2.11	0.70
O. joconostle	5.07	1.69

O. streptacantha	1.31	0.44
O. tomentosa	5.54	1.85

Tabla 2. Diseño Box Behnken para la optimización inicial del proceso de extracción de mucílago de *Opuntia tomentosa* de Michoacán.

Corrida	N:A (w/V)	T.E. (°C)	t.E. (h)	t. C. (min)	% Rend.
1	1:5	65±2	2	-1	1.068
2	1:5	65±2	2	1	1.730
3	1:3	74±2	2	-1	1.924
4	1:5	74±2	3	-1	1.984
5	1:3	83±2	2	0	1.419
6	1:3	74±2	3	0	1.326
7	1:5	74±2	2	0	1.630
8	1:5	65±2	1	0	1.595
9	1:7	74±2	3	0	2.217
10	1:5	83±2	3	0	0.650
11	1:7	83±2	2	0	1.298
12	1:5	83±2	2	-1	1.087
13	1:5	65±2	3	0	0.838
14	1:5	74±2	3	1	1.011
15	1:3	65±2	2	0	0.868
16	1:5	74±2	2	0	1.642
17	1:5	83±2	1	0	1.720
18	1:7	65±2	2	0	0.999
19	1:5	74±2	1	-1	2.135
20	1:3	74±2	2	1	1.249

21	1:5	74±2	2	0	1.961
22	1:7	74±2	2	-1	1.216
23	1:3	74±2	1	0	2.026
24	1:5	83±2	2	1	0.436
25	1:7	74±2	1	0	0.623
26	1:7	74±2	2	1	0.963
27	1:5	74±2	1	1	0.816

(N:A (w/V)=Relación nopal: agua, T.E. (°C)= Temperatura de extracción, t.E. (h)= Tiempo de extracción, t. C. (min)= Tiempo de centrifugación y % Rend.=Rendimiento de mucílago en 100g de materia prima.

El rendimiento de mucílago de nopal fue influenciado significativamente por la temperatura de extracción en su término cuadrático, y por la interacción entre la relación nopal: agua y el tiempo de extracción (Tabla 3).

Tabla 3. Estimación de parámetros estadísticos para el rendimiento de mucílago de *Opuntia tomentosa* de Michoacán, optimización inicial.

Parámetro	Estimación	Error estándar	Razón t	Prob> t
Intersección	1.7443333	0.259024	6.73	<.0001*
N:A (w/V)	-0.124667	0.129512	-0.96	0.3548
T. E. (°C)	-0.040667	0.129512	-0.31	0.7589
t. E. (h)	-0.074083	0.129512	-0.57	0.5779
t. C. (min)	-0.267417	0.129512	-2.06	0.0612
N:A (w/V)*N:A (w/V)	-0.156083	0.194268	-0.8	0.4373
N:A (w/V)*T. E.(°C)	-0.063	0.224321	-0.28	0.7836
T. E. (°C)*T. E.(°C)	-0.458583	0.194268	-2.36	0.036*
N:A (w/V)*t. E. (h)	0.5735	0.224321	2.56	0.0252*
T. E. (°C)*t. E.(h)	-0.07825	0.224321	-0.35	0.7333
t. E. (h)*t. E.(h)	-0.054458	0.194268	-0.28	0.784

N:A (w/V)*t. C. (min)	0.1055	0.224321	0.47	0.6466
T. E. (°C)*t. C. (min)	-0.32825	0.224321	-1.46	0.1691
t. E. (h)*t. C. (min)	0.0865	0.224321	0.39	0.7065
t. C. (min)*t. C. (min)	-0.219708	0.194268	-1.13	0.2802

N:A (w/V=Relación nopal:agua, T.E. (°C)= Temperatura de extracción, t.E. (h)= Tiempo de extracción, t. C. (min)= Tiempo de centrifugación y % Rend.=Rendimiento de mucílago en 100 g de materia prima. * Significativo para *a* = 0.05.

Los parámetros determinados como significativos fueron incluidos en la ecuación del modelo para el rendimiento de mucílago de nopal, resultando la siguiente ecuación:

$$Y = 1.7443 - 0.4586X_2^2 + 0.5735X_1X_3$$

Donde X_1 =Relación nopal:agua (N:A (w/V)), X_2 = Temperatura de extracción (T.E. (°C)) y X_3 = Tiempo de extracción (t. E. (h))

La solución estimada por mínimos cuadrados, obtenida en JMP IN es:

Variable	Valor crítico
N:A (w/V)	0.3045602
T. E. (°C)	0.0701075
t. E. (h)	0.4815541
t. C. (min)	-0.493026

El valor previsto del rendimiento de mucílago de nopal en la solución para el modelo fue de 1.77%.

En la primera optimización el modelo ajustado no fue el más adecuado, al trabajarse con materia prima obtenida a finales de primavera y durante el verano, por lo que la estación fue otro factor que afecta el rendimiento. Sin embargo, la primera optimización ayudó a establecer la dirección en la cual la respuesta se aproxima más rápidamente a la condición óptima. Además, mediante esta primera optimización se pudo realizar un cribado de factores; de las cinco variables: Relación nopal:agua (N:A (w/V), Temperatura de extracción (T.E. (°C)), Tiempo de extracción (t.E. (h)) y Tiempo de centrifugación (t. C. (min)), se puso en consideración el Tiempo de centrífugado,

como variable que no ejerce influencia significativa sobre el rendimiento de mucílago. Por lo que se estableció un tiempo fijo de centrifugado de 15 min. Asimismo, la variable tiempo de extracción (t.E. (h)), se fijo en un tiempo de 2 h.

Optimización final del proceso de extracción de mucílago de nopal

Con lo anterior se tiene que las principales variables que ejercen influencia sobre el rendimiento de mucílago en el proceso de extracción son la relación nopal:agua (N:A (w/V)) y la temperatura de extracción (T.E. (°C)). Cada uno de estos factores, fueron evaluados con dos niveles de variación, que se establecieron de la siguiente manera: para la Relación nopal-agua: 1:6 y 1:8 (w/V) y para la Temperatura de extracción: 75 y 83°C. Usándose, un diseño experimental factorial 2² dando como origen una matriz de cuatro corridas experimentales, que se realizó por triplicado con tres puntos centrales, lo cual nos permitió una exploración más completa de la superficie de análisis (Tabla 4).

Tabla 4. Diseño factorial para la optimización final del proceso de extracción de mucílago de Opuntia tomentosa de Michoacán.

Corrida	N:A (w/V)	T. E.(°C)	N:A (w/V)	T.E. (°C)	Rend. %
1	1	-1	1:8	75±2	1.1651
2	1	1	1:8	83±2	1.5514
3	0	0	1:7	79±2	1.0921
4	-1	1	1:6	83±2	1.2024
5	-1	-1	1:6	75±2	1.0671
6	1	-1	1:8	75±2	1.177
7	-1	-1	1:6	75±2	1.0666
8	-1	1	1:6	83±2	1.1995
9	1	-1	1:8	75±2	1.1531
10	-1	-1	1:6	75±2	1.0059
11	0	0	1:7	79±2	1.0117
12	1	1	1:8	83±2	1.3514
13	0	0	1:7	79±2	1.0869
14	1	1	1:8	83±2	1.4814

15	-1	1	1:6	83±2	1.2526

N:A (w/V)=Relación nopal:agua, T.E. (°C)= Temperatura de extracción y % Rend.=Rendimiento de mucílago en 100g de materia prima.

Comparación medida de rendimiento de mucílago (%) entre el método optimizado y el inicial

En la Tabla 5 se pueden observar los rendimientos obtenidos para el método optimizado de extracción de mucílago de nopal de las especies *O. atropes*, *O. hyptiacantha*, *O. joconostle*, *O. streptacantha*, y *O. tomentosa* de Michoacán y el método inicial de Rodriguez (10), así mismo se observa el nivel de mejora (determinado con la ecuación 3) medido en porcentaje de rendimiento con respecto al método inicial. Se pudo corroborar que los rendimientos de mucílago son mayores en la metodología optimizada para todos los casos, presentando mayor rendimiento la especie *O. joconostle* con un 3.21 %, seguida por *O. atropes* y sin diferencia significativa en las medias, las especies *O. tomentosa* y *O. hyptiacantha*.

Tabla 5. Comparación de los rendimientos de extracción de mucílago de *O. atropes, O, hyptiacantha, O. joconostle, O. streptacantha, y O. tomentosa* de Michoacán, comparando los métodos de extracción inicial y optimizado.

Especie	Método inicial	Método Optimizado	
	% Rendimiento	% Rendimiento	
O. atropes	2.1201 b	2.6216 b	
O. hyptiacantha	1.5976 c	2.1103 c	
O. joconostle	2.3705 a	3.2144 a	
O. streptacantha	0.4225 e	0.6966 d	
O. tomentosa	1.3703 d	1.8102 c	

Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencia estadística en las medias, Tukey-Kramer HSD.

CONCLUSIONES

La optimización permitió realizar un cribado de variables que producen efecto sobre el rendimiento de mucílago, obteniendo las condiciones óptimas para cada una de las variables que intervienen en el proceso de extracción de mucílago de nopal. Teniendo los valores de las variables son Relación nopal:agua 1:8 (w/V), Temperatura de extracción 83 °C, Tiempo de extracción 2 h y Tiempo de centrifugado de 15min; se puede predecir un rendimiento superior al 1.51%. Durante la optimización se observó que la estación climática y el tipo de suelo afectan la producción de mucílago de nopal, lo que sugiere que las condiciones optimizadas establecidas pueden predecir

un rendimiento mayor en otra estación del año, sobre todo en condiciones climáticas con poca lluvia y muy soleadas. El rendimiento de mucílago en cuatro de las cinco especies, *O. atropes, O. hyptiacantha*, *O. joconostle* y *O. tomentosa* en el presente estudio fue superior a 1.8 %, comparado a los valores reportados por diferentes autores en el mundo es superior. Esto confirma la importancia del aprovechamiento integral y la industrialización de estas especies.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Chávez-Moreno, C. K., Tecante A., y Casas A., "The *Opuntia* (Cactaceae) and *Dactylopius* (Hemiptera:Dactylopiidae) in Mexico: a historical perspective of use, interaction and distribution". Biodivers Conserv, 2009, pp. 3337–3355.
- 2. SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2009. Con información de las Delegaciones de la SAGARPA.
- 3. Bravo-Hollis, H., Las cactáceas de México. 2ª ed Vol.1, U.N.A.M. México. 1978.
- 4. Cárdenas, A., Higuera-Ciapara, I. y Goycoolea, F., Rheology and agregation of cactus (*Opuntia ficus-indica*) mucilage in solution. J. Profess. Assoc. Cactus Develop. 1997, Cap.2. pp. 152-159.
- 5. Sáenz, C., Berger, H., Corrales, G.J., Galletti, L., García, C.V., Higuera, I., Mondragón, C., Rodríguez, A.F., Sepúlveda, E., Vanero, M.T., "Utilización agroindustrial del nopal". Reimpresión. Boletín de servicios de la FAO. Roma, Italia. 2006. p. 13.
- 6. Ruiz, H. F., Guerrero, B.J.A., "Aplicación de las películas comestibles a base de quimostato y mucílago de nopal en fresa (*Fragaria ananasa*) en refrigeración". Tesis de maestría. Ciencia en alimentos. Universidad de las Américas Puebla. Puebla., 2009, pp. 21-23.
- 7. Arizmendi, C.D., Optimización de dos compuestos plastificantes (glicerol y polietilenglicol) en la elaboración de una película plástica comestible obtenida a partir del mucílago de nopal de la especie *Opuntia* tomentosa Salm-Dyck. Universidad autónoma del Estado de México. Premio Nacional en Ciencia y Tecnología de los alimentos. México, D.F. 2004.
- 8. Abraján, V.M.A., "Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucílago del nopal (*Opuntia ficus-indica*) y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible". Tesis doctoral. Departamento de tecnología de alimentos. Universidad politécnica de Valencia. Valencia, España. 2008.
- 9. Sepúlveda, E., Sáenz, C., Aliaga, E., Aceituno, C., "Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp." J. Arid Environ., 2007, *68*, 534–545.
- 10. Sarahí Rodríguez González. Tesis "Caracterización química del mucílago de seis especies de Opuntia colectadas en Morelia, Michoacán y municipios aledaños". Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas. UMSNH. Obtención de grado: 19 Abril de 2013.
- 11. Sáenz, C., Sepúlveda, E., Matsuhiro, B., "*Opuntia* spp mucilage's: A functional component with industrial perspectives". J. Arid Environ., 2004, *57*, 275–290.
- 12. Majdoub, H., Roudesli, S. y Deratani, A., "Polysaccharides from prickly pear peel and nopals of *Opuntia ficus-indica*: extraction, characterization and polyelectrolyte behavior". Polymer International, 2001, 50: 552-560.

CARACTERIZACIÓN DE LA CERA DE ABEJA Apis Mellifera, PROCEDENTE DE PANALES FALSOS, POR MEDIO DE ESPECTROSCOPÍA RAMAN

Rafael Casillas Peñuelas, Laura Eugenia Pérez Cabrera, José Luis Quintanar Stephano, Claudio Frausto Reyes, Juan Manuel Bujdud, Martín Ortiz Morales, Rodolfo Martínez Manuel.

Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Departamento de Fisiología y Farmacología, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aquascalientes.

Centro de Investigaciones en Óptica, A.C. Unidad Aguascalientes.

RESUMEN

La cera, es una sustancia segregada por las glándulas ceríferas de las abejas (*Apis Mellífera*), en los segmentos 4º, 5º, 6º y 7º en posición ventral, en el segundo periodo de su fase adulta, justo después de ser nodrizas. Es una sustancia de composición muy compleja, con un elevado número de átomos de carbono. Es segregada en forma líquida, solidificándose a la temperatura interior de la colonia en forma de escamas, su uso dentro de la colonia, es principalmente la construcción de celdillas en el panal, cuya finalidad principal es almacenar alimento (polen y miel) y huevos, que finalmente se convertirán en abejas adultas. En una apicultura tecnificada, la utilización de hojas de cera estampada juega un papel muy importante, ya que ahorra trabajo a las abejas en la construcción de sus panales y a los apicultores con la movilización e intercambio de panales dentro de la colmena para llevar a cabo el buen funcionamiento de la colonia. Por lo anterior por medio de la técnica Raman se obtuvieron espectros de una cera natural 100% pura de abeja *Apis Mellifera* procedentes de paneles falsos, con el fin de prevenir posibles adulteraciones con parafinas en las hojas de ceras al momento de adquirirlas. Los resultados muestran que la espectroscopia Raman es una técnica eficiente y rápida para la caracterización de ceras, siendo una herramienta vital para los apicultores.

Palabras clave: Raman, cera de abeja, panal falso, adulteración.

INTRODUCCIÓN

La cera, es una sustancia segregada por las glándulas ceríferas de las abejas (*Apis Mellífera*),en los segmentos 4º, 5º, 6º y 7º en posición ventral, en el segundo periodo de su fase adulta, justo después de ser nodrizas. Es una sustancia de composición muy compleja, con un elevado número de átomos de carbono. Es segregada en forma líquida, solidificándose a la temperatura interior de la colonia en forma de escamas, su uso dentro de la colonia es principalmente la construcción de celdillas en el panal, cuya finalidad principal es almacenar alimento (polen y miel) y huevos, que finalmente se convertirán en abejas adultas. En una apicultura tecnificada la utilización de hojas de cera estampada juega un papel muy importante, ya que ahorra trabajo a las abejas en la construcción de sus panales y a los apicultores con la movilización e intercambio de panales dentro de la colmena para llevar a cabo el buen funcionamiento de la colonia, (Por y Root, 1914).

Esta actividad, es una práctica muy usual dentro de la apicultura, pero existe un riesgo muy alto, en el que, no existen técnicas rápidas para identificar posibles características en el reacomodo tridimensional de los compuestos principales que existen en la cera de abeja, influyendo notoriamente en las características físicas de las hojas de cera y finalmente impacta en la producción de huevos por parte de la reina, existiendo pocos o nulos trabajos relacionados con este tema, que puede ser una punto muy importante en el despoblamiento de colonias, (Aichholz y Lorbeer, 2000; Buchwald, 2006).

La caracterización de la cera de abeja *Apis mellifera*, procedente de panales falsos, se desarrolló por medio de espectroscopía Raman, evaluando panales falsos construidos por las abejas naturalmente. El objetivo de ésta investigación, fué determinar los espectros de un panal 100% de cera de abeja para tener la certeza de como es el comportamiento de la misma y poder tener datos científicos y puntos de referencia con ceras que pudieran sufrir posibles adulteraciones,

dando origen a registros o evidencias científicas. Obteniendo información de suma importancia para posteriormente evaluar hojas de cera elaborados por estampadores comerciales y así poder determinar si están adulteradas o no al momento de la compra / venta, de la misma cera y así dejar registros de proveedores confiables, y poder ofrecer productos de alta calidad e inocuidad alimentaria.

EXPERIMENTAL

Muestras de cera

Las hojas de cera evaluadas fueron producidas en apiarios del Sr Rito Casas Sandoval, ubicados en Sandovales, Aguascalientes. Los panales falsos elaborados por las abejas fueron colocados en marcos de madera, los cuales fueron removidos de la entretapa superior y cortados con cautela, para posteriormente colocarlos en bastidores de madera alambrados y sujetados por medio de ligas de látex a lo ancho del bastidor (ver Figura 1). Procurando evaluar el desarrollo de las celdillas día a día, para tener la certeza de que la cera utilizada para la construcción del bastidor, provenga única y exclusivamente de los tergitos de las mismas abejas.



Figura 1. Panales falsos elaborados por las abejas

Análisis por Espectroscopia Raman

Para la medición de los espectros Raman de la cera, se utilizó un sistema Micro-Raman (Renishaw, modelo 1000B) con una geometría de retroesparcimiento. El sistema utiliza una longitud de onda de excitación de 830 nm, un objetivo de microscopio DMLM (Leica) de 50x con tamaño aproximado de spot laser de 2 µm y potencia laser sobre la muestra de aproximadamente 10 mW. El sistema se calibró utilizando la línea Raman de 520 cm⁻¹ de una oblea de Silicio. Los espectros se obtuvieron considerando 60 segundos y una acumulación.

Procesamiento de Espectros

Los espectros obtenidos para las muestras de cera, fueron sometidos a una corrección de la línea base y se obtuvo un espectro promedio por muestra considerando seis espectros. Posteriormente los espectros de las ceras fueron normalizados en su pico máximo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2, se muestran los espectros Raman obtenidos de panales falsos elaborados por las abejas Apis Mellifera. Los espectros se obtuvieron desde la base de la pared hasta la cima de la celdilla. Si se observan las tendencias de los espectros obtenidos de la base hacia la cima, los picos Raman presentan una disminución de intensidad y un aumento de fondo de fluorescencia. Posiblemente esto se debe a la estructura de la cera; es decir, a la rapidez del reacomodo de las redes tridimensionales que se forman en la cera al momento de pasar de una fase liquida a una fase sólida (laminas) al momento de salir del abdomen de las abejas, para formar el opérculo y tapar las celdillas tanto de cría como de miel.

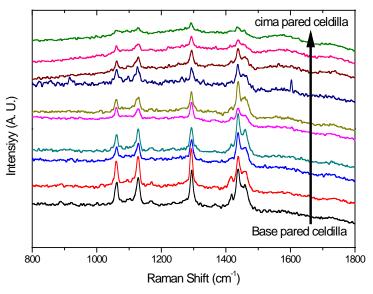


Figura 2. Evaluación por medio de espectroscopia Raman, de celdillas de abeja partiendo de la base del panal a la superficie.

También, en la Figura 3, se muestran los espectros Raman obtenidos de diferentes puntos a la mitad de la pared de la celdilla. Se puede observar casi el mismo perfil de intensidades de los espectros y la misma posición de los picos Raman. Estos espectros son datos interesantes para evaluar ceras provenientes de panales de una garantía inigualable que garanticen el 100% una cera natural.

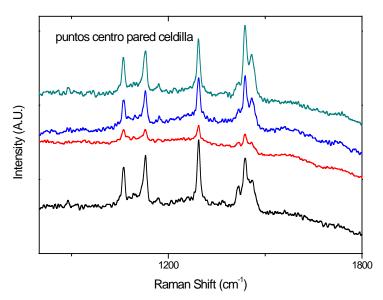


Figura 3. Evaluación por medio de espectroscopia Raman, de celdillas de abeja en el centro de la pared.

Las figuras 2 y 3, muestran que es posible, por medio de la espectroscopia Raman, realizar la caracterización de panales falsos provenientes del interior de una colmena, elaborados naturalmente 100% con cera de abeja; logrando un registro de características espectroscópicas específicas de acuerdo a su origen principalmente, (Svenjak, 2011; Yablanski, 2013). Esta técnica espectroscópica presenta la posibilidad de ser utilizada para determinar las características de un panal construido naturalmente por las abejas respecto a posibles adulteraciones. Punto de interés para el mercado apícola, por la gran variedad y diversidad de ceras y sobre todo por no tener la confiabilidad de ser cera 100% natural, teniendo la apicultura un gran problema a nivel nacional e internacional ya que la miel producida en México, tiene una gran demanda en mercados internacionales. Adicionalmente mediante este tipo de estudios se puede brindar y ofrecer productos con una calidad superior que conlleven y generen un valor agregado, al consumidor final, como pureza y origen botánico, (Anklam, 1998; Guyot et al, 1998; Koedam et al, 2002; Kaspar-Ruoff, 2006; Seher-Gok, 2014).

CONCLUSIONES

Los análisis Raman obtenidos en este trabajo son fundamentales para crear una base de datos de ceras elaboradas 100% con cera de abeja. Según las referencias consultadas por los autores de este trabajo estos son de los primeros trabajos a nivel mundial que se están llevando a cabo en esta área. Esto es muy importante para garantizar la calidad de los productos de la colmena, principalmente el uso y la calidad de la cera que en la actualidad, juega un papel muy importante y puede dar pie a la transmisión de enfermedades y al aporte de productos químicos, no gratos para las abejas, que contribuyen al despoblamiento de las colmenas.

BIBLIOGRAFÍA

Aichholz, R. y Lorbeer, E. (2000). Investigation of combwax of honeybees with high-temperature gas chromatography and high-temperature gas chromatographychemical ionization mass spectrometry. II. High-temperature gas chromatographychemical ionization mass spectrometry. J. Chromatogr. A 883, 75-88.

- 2. Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. Food Chemistry. 63 (4): 549-562.
- 3. Buchwald, R., Breed, M. D., Greenberg, A. R. and Otis, G. (2006). Interspecific variation in beeswax as a biological construction material. J. Exp. Biol. 209, 3984-3989.
- 4. Guyot, C., Bouseta, A., Scheirman, V., Collin, S. (1998). Floral origin markers of chestnut and lime tree honeys. J. Agric. Food Chem. 46 (2): 625-633.
- 5. Kaspar-Ruoff, W. (2006). "Authentication of the Botanical and Geographical Origin of Honey by Front-Face Fluorescence Spectroscopy," Agricultural and Food Chemistry, Germany.
- 6. Koedam, D., Jungnickel, H., Tentschert, J., Jones, G. R. and Morgan, E. D. (2002). Production of wax by virgin queens of the stingless bee Melipona bicolor (Apidae, Meliponinae). Insectes Soc. 49, 229-233.
- 7. Por, A y Root, E. (1914). El ABC y XYZ de la Apicultura. The Root Company. Medina Ohio, EUA. PP 65-75.
- 8. Seher Gok, M. (2014). Differentiation of Anatolian honey samples from different botanical origins by ATR-FTIR spectroscopy using multivariate analysis. El Servier, Ankara, Turkey.
- 9. Svenjak, L. (2011). Application of Infrared Spectroscopy in Honey Analysis. University of Zagreb.
- 10. Yablanski, T. (2013). Study of bee honey by spectral analysis in the near infrared spectrum. Agricultural Science and Technology, Bulgaria.

APLICACIÓN FOLIAR DE SILICIO Y CALCIO EN LA CONCENTRACIÓN DE SODIO EN HOJAS PEPINO (Cucumis sativus L.) BAJO ESTRÉS SALINO

Gustavo Eduardo González Terán, Libia I. Trejo-Téllez, Soledad García-Morales,

Alejandrina Ruíz-Bello, Fernando C. Gómez-Merino

Colegio de Postgraduados. g_eduardogt@hotmail.com;btlibia@colpos.mx; alexr@colpos.mx; fernandg@colpos.mx

Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. gmsoledad@gmail.com

RESUMEN

La salinidad es un problema creciente y es un factor limitante en la productividad de los cultivos. La acumulación de altos niveles de sodio (Na) en el medio de crecimiento es un caso común propiciado por la salinidad, y el que mayor impacto negativo tiene en el crecimiento y productividad de los cultivos. Elementos como el silicio (Si) y calcio (Ca) permiten sobrellevar problemas de estrés salino al disminuir la absorción de sales, evitando su posterior acumulación en hojas. Por ello, se estudiaron los efectos del calcio y silicio aplicados de manera separada y conjunta vía foliar, en la concentración de Na en hoja de pepino tratado con dos niveles de NaCl (0 y 100 mM) en la solución nutritiva. En plantas de pepino tratadas con 100 mM NaCl en la solución nutritiva, la adición conjunta de Si y Ca a concentraciones de 2 mM cada uno, redujo en 49.3% la concentración foliar de Na respecto al tratamiento testigo. La aplicación individual vía foliar de estos elementos, no tuvo influencia significativa en la concentración foliar de Na. Los resultados obtenidos permiten concluir, que en pepino en hidroponía, el suministro conjunto de Si y el Ca vía foliar inhibe el transporte de Na hacia las hojas.

INTRODUCCIÓN

La salinidad es uno de los tipos de estrés abiótico que ha reducido en manera significativa la producción agrícola en grandes extensiones alrededor del mundo (Yamaguchi y Blumwald, 2005; Nxele et al., 2017). Del total de tierras irrigadas, alrededor del 20 % presenta algún tipo de salinidad (Qadir et al., 2014). Proporción que va a la alza, pues la salinidad reclama cada año una mayor área, principalmente por el uso de aguas de mala calidad (Gupta y Huang, 2014). Lo cual es inevitable pues la agricultura de regadío crece en conjunto con el incremento de la población (Qadir y Oster, 2004).

La mayoría de los investigadores en el área, se enfocan en el estudio del efecto del NaCl, pues es bien documentado que uno de los iones más perjudiciales para el desarrollo de las plantas es el sodio. A su vez la sodificación es el proceso de salinización al que se le ha prestado menos atención y el menos comprendido en el desarrollo de suelos salinos (Pla, 2014). Los niveles de sodio en las tierras agrícolas están en incremento y se convierte en una seria amenaza para la agricultura mundial (Horie *et al.*, 2012).

El estrés por sales afecta el crecimiento de las plantas en tres formas: 1) reduce el potencial de agua del suelo, provocando un estrés osmótico; 2) ocasiona un desbalance iónico en las células, especialmente concentraciones bajas de potasio, calcio y nitrato, y 3) causa toxicidad de iones sodio y cloruro (Tavakkoli *et al.*, 2011).

En pepino, altas concentraciones de NaCl causan deficiencias de Ca y N, principalmente en hojas (Kaya y Higgs, 2002). La salinidad dominada por sodio no sólo reduce la disponibilidad de calcio, también reduce su transporte y movilidad a las regiones de crecimiento (Kaya y Higgs, 2002).

Existen elementos que ayudan a mitigar los efectos negativos causados por altas concentraciones de sales, dentro de los cuales encontramos al nitrógeno, calcio, potasio y silicio, entre los más estudiados.

El calcio participa en la adaptación de las plantas a las sales al reducir los efectos tóxicos del NaCl facilitando una mayor absorción de K⁺ respecto al Na⁺ (Parida y Das, 2005). El Ca reduce los efectos adversos de la salinidad en el crecimiento de las plantas e incrementa la absorción de potasio y reduce el contenido de Na en los tejidos vegetales (Dabuxilatu e Ikeda, 2005).

El Si por su parte ha mostrado tener efectos benéficos en diversas plantas, en especial aquellas que se encuentran sometidas a diferentes tipos de estrés abiótico o biótico (Trejo-Téllez *et al.*, 2016). A pesar de los efectos nocivos del NaCl en tallo y raíz, en el cultivo de pepino se ha demostrado que el Si minimiza considerablemente este efecto. Este elemento puede estar involucrado en actividades fisiológicas o metabólicas en la exposición de pepino a un estrés salino (Zhu *et al.*, 2004). Además el silicio reduce el transporte de cloruro en la planta (Shi *et al.*, 2013). También ha sido documentado que aumenta el uso eficiente del nitrógeno (Detmann *et al.*, 2012). Por tanto la aplicación de silicio puede ser una alternativa para incrementar la producción agrícola en suelos salinizados (Zhu *et al.*, 2015).

En el contexto anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación foliar de Ca, Si y de ambos de manera simultánea, en la concentración de Na en hojas de pepino en sistema hidropónico.

PARTE EXPERIMENTAL

Se produjeron plántulas de pepino de la variedad Modán en charolas de poliestireno de 128 cavidades. A los 35 días fueron trasplantadas a bolsas de polietileno de 35 x 35 cm (10 L) utilizando tezontle rojo como sustrato a una densidad de 3.1 plantas m⁻².

Los tratamientos estudiados fueron aplicaciones foliares de silicio y calcio a concentraciones de 2 mM cada uno, además de la combinación de silicio y calcio a concentración de 2 mM cada uno. La fuente de silicio utilizada fue dióxido de silicio (SiO $_2$) y la de calcio óxido de calcio (CaO). El testigo consistió en aspersiones de agua destilada. A cada tratamiento, incluyendo al testigo, se le adicionó Tween $^{®}$ 20 al 0.05 % como surfactante y se reguló el pH a 4 con H $_2$ SO $_4$ 0.5 N. Las aplicaciones se llevaron a cabo cada 7 días durante 5 semanas.

La condición de salinidad fue estudiada utilizando cloruro de sodio (NaCl) grado reactivo en dos concentraciones, 0 y 100 mM, adicionadas a la solución nutritiva Steiner al 100 % (Steiner, 1984), la cual se reguló a pH de 6.0 utilizando H_2SO_4 grado analítico sin diluir. La solución nutritiva se preparó con reactivos grado analítico en las siguientes concentraciones: 1.06 g L⁻¹ de Ca(NO₃)₂ 4 H_2O ; 0.30 g L⁻¹ de KNO₃; 0.14 g L⁻¹ de KH $_2PO_4$; 0.49 g L⁻¹ de MgSO $_4$ 7 H_2O y 0.26 g L⁻¹ de K $_2SO_4$. Los micronutrimentos fueron adicionados a partir de Tradecorp A-Z[®] a una razón de 0.0665 g L⁻¹ con lo cual se proporcionó: 5 mg L⁻¹ de Fe, 2.3 mg L⁻¹ de Mn, 0.46 mg L⁻¹ de Zn, 0.19 mg L⁻¹ de Cu, 0.43 mg L⁻¹ de B y 0.20 mg L⁻¹ de Mo.

Se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas completamente al azar. Consistió en dos parcelas grandes (PG) y cuatro parcelas pequeñas (PP) que fueron repetidas 5 veces. El factor salinidad se estudió en dos parcelas grandes, que consistieron en una condición sin salinidad (0 mM de NaCl) y una condición salina (100 mM de NaCl). Por su parte las parcelas pequeñas que se estudiaron dentro de cada parcela grande fueron las aplicaciones foliares de silicio (2 mM), calcio (2 mM), combinación de silicio y calcio (2 mM cada una) y el testigo que consistió en

aplicaciones de agua destilada. Cada unidad experimental estuvo representada por una planta de pepino por maceta, teniendo en total 40 unidades experimentales.

Para la determinación de Na se utilizó una digestión húmeda con ácido nítrico y perclórico (Alcantar y Sandoval, 1999), usando un espectrofotómetro de emisión atómica, con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES 725 Series Agilent; Mulgrave, Victoria, Australia).

Se realizó análisis de varianza utilizando el procedimiento PROC ANOVA y se verificaron los supuestos de normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk y homogeneidad de varianzas. En las pruebas estadísticas aplicadas se utilizó un nivel de significancia de α =0.05. En estos análisis se usó el software SAS (SAS, 2011). Para determinar el efecto de las combinaciones se realizó la prueba de comparación de medias a mano utilizando la metodología para el análisis LSD en parcelas divididas.

RESULTADOS

Se encontraron efectos significativos ($P \le 0.05$) de las aplicaciones foliares en el nivel de 100 mM de NaCl; mientras que en el nivel de 0 mM de NaCl, las aplicaciones foliares no mostraron tener tales efectos (**Cuadro 1**). Tal como se muestra en el **Cuadro 1**, la aplicación conjunta de Si y Ca permite disminuir en 49.3% la concentración de Na en hojas.

Cuadro 1. Concentración de Na en hojas de pepino con la aplicación de silicio, calcio y la combinación calcio+silicio vía foliar bajo condiciones de salinidad.

NaCl (mM)	Aplicación foliar	Concentración de Na
	Testigo	850 c ^z
0	2 mM Ca	930 c
	2 mM Si	813 c
	2 mM Ca + 2 mM Si	792 c
100	Testigo	26251 a
	2 mM Ca	23684 a
	2 mM Si	25502 a
	2 mM Ca + 2 mM Si	13296 b
	^y DMS	7788

²Valores con letras distintas dentro de la columna indican diferencias estadísticas significativas con base en la prueba de DMS (P≤0.05); ^yDMS: diferencia mínima significativa.

Shahzad *et al.* (2013) al experimentar con haba encontraron que el nivel de 100 mM de NaCl incrementaba la concentración de Na en la hoja, tal incremento se vio disminuido en 22% con la adición de Si (1 mM).

La absorción de Si por plantas incrementa la actividad de las PPiasas y ATPasas en vacuolas, con lo que se reduce la absorción de Na⁺ y por tanto se disminuye su efecto tóxico en hojas (Shaebi *et*

al., 2015). También puede estar involucrado el efecto del Si en la disminución de la transpiración y con ello en la disminución de la absorción de sales. Por su parte el Ca dentro de sus funciones participa en rutas de señalización (SOS) que permiten establecer homeostasis, al excluir Na⁺ y permitir el mantenimiento de K⁺ en citosol (Deinlein *et al.*, 2014).

CONCLUSIONES

Las aplicaciones foliares de Si y Ca de forma individual no muestran disminuir la concentración de Na en hojas del cultivar de pepino sometido a estrés. Por el contrario, las aplicaciones de Si y Ca de manera conjunta inhibe el transporte de Na⁺ a la parte aérea y por ende disminuye su concentración en hojas, logrando de esta forma evitar posibles daños en órganos fotosintéticamente activos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. A. Parida, Das A. B., "Salt tolerance and salinity effects on plants: A review", Ecotoxicology and Environmental Safety, Vol. 60, 2005, pp. 324-349.
- 2. A. Steiner, "The universal nutrient solution", in: ISOSC Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture, The Netherlands, 1984, pp. 633-649.
- 3. B. Gupta, Huang B., "Mechanism of salinity tolerance in plants: Physiological, biochemical, and molecular characterization", International Journal of Genomics, Vol. 2014, 2014, pp. 1-18.
- 4. C. Kaya, Higgs D., "Calcium nitrate as a remedy for salt-stressed cucumber plants. Journal of Plant Nutrition", Vol. 25, No.4, 2002, pp. 861-871.
- 5. Dabuxilatu, Ikeda, M., "Distribution of K, Na and Cl in Root and Leaf Cells of Soybean and Cucumber Plants Grown under Salinity Conditions", Soil Sci. Plant Nutr., Vol 51, No. 7, 2005, pp. 1053-1057.
- 6. E. Tavakkoli, Fatehi F., Coventry S., Rengasamy P., McDonald G. K., "Additive effects of Na⁺ and Cl⁻ ions on barley growth under salinity stress", Journal of Experimental Botany, Vol. 62, 2011, pp. 2189-2203.
- 7. G. G. Alcántar, Sandoval V. M., "Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal", (Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C. Publicación especial No. 10, 1999, Chapingo México).
- 8. K. C. Detmann, Araújo L., Martins S. C. V., Sanglard L. M. V. P., Reis J. V., Detmann E., Rodrigues F. Á., Nunes-Nesi A., Femie A. R., DaMatta F. A., "Silicon nutrition increase grain yield, which, in turn, exerts a feedforward simulation of photosynthetic rates via enhanced mesophyll conductance and alters primary metabolism in rice", New Phytol., Vol. 196, 2012, pp. 752-762.
- 9. L.I. Trejo-Téllez, F.C. Gómez, G. Alcántar, "Elementos benéficos", in Nutrición de cultivos. Segunda edición (Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México. 2016), Capítulo 3, pp. 58-101.
- 10. M. Qadir, Oster J. D., "Crop and irrigation management strategies for saline-sodic soils and waters aimed at environmentally sustainable agriculture", Science of the Total Environment, Vol. 323, 2004, pp. 1-19.
- 11. M. Qadir, Quillérou E., Nangia N., Murtaza G., Singh M., Thomas R. J., Drechsel P., Noble A. D., "Economics of salt-induced land degradation and restoration", Natural Resources Forum. Naciones Unidas, Vol. 38, 2014, pp. 282-295.
- 12. M. Sahebi, Hanafi M. M., Siti Nor A. A., Rafii M. Y., Azizi P., Tengoua F. F., Mayzaitul A. J. N., Shabanimofrad M., "Importance of silicon and mechanisms of biosilica formation in plants" BioMed. Research International, Vol. 2015, 2015, pp. 1-16.
- 13. M. Shahzad, Zörb C., Geilfus C.M., Mühling K. H., "Apoplastic Na⁺ in *Vicia faba* Leaves Rises After Short-Term Salt Stress and Is Remedied by Silicon", J. Agro. Crop Sci., Vol. 199, 2013, pp. 161-170.

- 14. S. I. Pla, "Advances in the prognosis of soil sodicity under dryland irrigated conditions", International Soil and Water Conservation Research, Vol. 2, 2014, pp. 50-63.
- 15. SAS. SAS Institute Inc., SAS/STAT Users Guide. Version 9.3". SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA, 2011.
- 16. T. Horie, Karahara I., Katsuhara M., "Salinity tolerance mechanisms in glicophytes: An overview with the central focus on rice plants", Rice, Vol. 5, No. 11, 2012.
- 17. T. Yamaguchi, Blumwald E., "Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities". Trends in Plant Science, Vol. 10, No.12, 2005, pp. 615-620.
- 18. U. Deinlein, Stephan A. B., Horie T., Luo W., Xu G., Schroeder J. I., "Plant salt-tolerance mechanisms", Trends in Plant Science, Vol. 19, 2014, pp. 371-379.
- 19. X. Nxele, Kleinb A., Ndimba B. K., "Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants", South African Journal of Botany, Vol. 108, 2017, pp. 261-266.
- 20. Y. Shi, Wang Y., Flowers T. J., Gong H., "Silicon decrease chloride transport in rice (*Oryza sativa* L.) in saline conditions", Journal of Plant Physiology, Vol. 170, 2013, pp. 847-853.
- 21. Y. X. Zhu, Xu X. B., Hu Y. H., Han W. H., Yin J. L., Li H. L., Gong H. J., "Silicon improves salt tolerance by increasing root water uptake in *Cucumis sativus* L". Plant Cell Rep., Vol. 34, 2015, pp. 1629-1646.
- 22. Z. Zhu, Wei G., Li G., Quian Q., Yu J., "Silicon alleviates salt stress and increase antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.)", Plant Science, Vol. 162, 2004, pp. 527-533.

SILICIO Y CALCIO VÍA FOLIAR EN LA CONCENTRACIÓN DE POTASIO Y CALCIO EN HOJAS PEPINO (Cucumis sativus L.) BAJO ESTRÉS SALINO

Gustavo Eduardo González Terán, Libia I. Trejo-Téllez, Soledad García-Morales,

Alejandrina Ruíz-Bello, Fernando C. Gómez-Merino

Colegio de Postgraduados. g_eduardogt@hotmail.com;btlibia@colpos.mx; alexr@colpos.mx; fernandg@colpos.mx

Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. gmsoledad@gmail.com

RESUMEN

La escasez de agua apta para uso en la irrigación agrícola, ha hecho necesario utilizar fuentes de agua subterránea de mala calidad, propiciando la acumulación de sales en el medio de crecimiento y dando origen a síntomas de salinidad que impactan en el crecimiento y rendimiento de cultivos no tolerantes a sales. Los efectos perjudiciales de la salinidad son causados principalmente por la presencia de iones cloruro (Cl⁻) y sodio (Na⁺), debido a que propician un desbalance iónico que se presenta como una disminución en la absorción y concentración de elementos esenciales, como potasio (K⁺) y calcio (Ca²⁺). Existen elementos que mitigan el efecto nocivo de las sales en los cultivos, y dentro los más estudiados se encuentran el silicio (Si) y calcio (Ca). En este estudio se investigó el efecto de la aplicación foliar de silicio (Si 2 mM) y calcio (Ca 2 mM) de manera individual y conjunta a plantas de pepino crecidas bajo condiciones normales y de alta salinidad (0 y 100 mM NaCl) en un sistema hidropónico bajo invernadero. Se observó que en condiciones normales la aplicación conjunta de Si y Ca y la de Ca de manera individual, incrementan la concentración foliar de K; mientras que la concentración foliar de Ca no es afectada por los tratamientos cuando las plantas no tienen estrés salino. Por otra parte, cuando el cultivo es sometido a estrés salino los tratamientos foliares individuales no afectan de manera significativa las concentraciones foliares de K y Ca, aunque al aplicarlos conjuntamente disminuyen la concentración tanto K como Ca en tejido foliar.

INTRODUCCIÓN

La salinidad del agua de riego se vuelve un aspecto importante, pues es el principal factor causante del ensalitramiento de suelos bajo irrigación (Qadir y Oster, 2004). Este problema se potencializa con el crecimiento de la población mundial, dado que por éste se han incrementado también las prácticas de irrigación con la finalidad de aumentar los rendimientos en áreas cada vez más reducidas (Pereira, 2016). Aunado a esto es bien sabido que, una vez utilizada el agua en la agricultura ésta no regresa en el mismo estado a los cuerpos subterráneos, pues por efecto de los fertilizantes y sales presentes en los suelos regresan cargadas de iones, propiciando de esta manera la salinización de las fuentes de agua que posteriormente se utilizan y tienen como efecto la salinización de los suelos (Mateo-Sagasta y Burke, 2010).

La degradación de las tierras irrigadas por causa de la salinización y sodificación se vuelven aspectos de suma importancia desde el punto de vista económico, social y medioambiental. Dentro de los procesos de salinización, la sodificación es al que se le ha prestado menos atención y a su vez el menos comprendido en el desarrollo de suelos salinos (Pla, 2014). Cerca del 30% de la superficie bajo riego del globo presenta problemas de salinidad en diferentes grados (Aceves, 2011).

Existen elementos que ayudan a mitigar los efectos negativos causados por altas concentraciones de sales, dentro de los cuales encontramos al nitrógeno, calcio, potasio y silicio entre los más estudiados.

El calcio (Ca²+) participa en la adaptación de las plantas a las sales al reducir los efectos tóxicos del NaCl al facilitar una mayor absorción de K+ respecto al Na+ (Parida y Das, 2005). El Ca²+ es un regulador de muchos procesos fisiológicos y bioquímicos en respuesta al estrés abiótico en las plantas (Bowler y Flurh, 2000). Asimismo, el Ca²+ participa en mecanismos regulatorios en las plantas en condiciones adversas causadas por estrés salino (Melgar *et al.*, 2007) y es un factor importante en la resistencia de las plantas a la salinidad (Mozaffari y Malakouti, 2006). El Ca²+ reduce los efectos adversos de la salinidad en el crecimiento de las plantas e incrementa la absorción de K+ (Dabuxilatu y Ikeda, 2005).

El silicio por su parte ha mostrado tener efectos benéficos en diversas plantas, en especial aquellas que se encuentran sometidas a diferentes tipos de estrés abiótico o biótico (Trejo-Téllez *et al.*, 2012; Ma, 2004). A pesar de los efectos nocivos del NaCl en tallo y raíz en el cultivo de pepino se ha demostrado que el silicio minimiza considerablemente este efecto. Pudiendo estar el Si involucrado en actividades fisiológicas o metabólicas en la exposición de pepino a un estrés salino (Zhu *et al.*, 2004). Además el silicio reduce el transporte de cloruro en la planta (Shi *et al.*, 2013) y aumenta el uso eficiente del nitrógeno (Detmann *et al.*, 2012). A pesar que el silicio es el segundo elemento más abundante en el suelo, éste no se encuentra comúnmente en forma de cristales de silicio puro, es encontrado usualmente formando complejos de minerales silicatados (Zhu y Gong, 2014). Por tanto la aplicación de silicio puede ser una alternativa para incrementar la producción agrícola en suelos salinizados (Zhu *et al.*, 2015).

En el contexto anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto la aplicación foliar de Ca, Si y de ambos elementos de manera simultánea, en la concentración de Ca y K en tejido foliar de pepino.

PARTE EXPERIMENTAL

Se produjeron plántulas de pepino de la variedad Modán en charolas de poliestireno de 128 cavidades. A los 35 días fueron trasplantadas a bolsas de polietileno de 35 x 35 cm (10 L) utilizando tezontle rojo como sustrato a una densidad de 3.1 plantas m⁻².

Los tratamientos estudiados fueron aplicaciones foliares de silicio y calcio a concentraciones de 2 mM cada uno, además de la combinación de silicio y calcio a concentración de 2 mM cada uno. La fuente de silicio utilizada fue dióxido de silicio (SiO_2) y la de calcio óxido de calcio (CaO). El testigo consistió en aspersiones de agua destilada. A cada tratamiento, incluyendo al testigo, se le adicionó Tween 20 al 0.05% como surfactante y se reguló el pH a 4 con H_2SO_4 0.5 N. Las aplicaciones se llevaron a cabo cada 7 días durante 5 semanas.

La condición de salinidad fue estudiada utilizando cloruro de sodio (NaCl) grado reactivo en dos concentraciones, 0 y 100 mM, adicionadas a la solución nutritiva Steiner al 100 % (Steiner, 1984), la cual se reguló a pH de 6.0 utilizando H₂SO₄ grado analítico sin diluir. La solución nutritiva se preparó con reactivos grado analítico en las siguientes concentraciones: 1.06 g L⁻¹ de Ca(NO₃)₂ 4H₂O; 0.30 g L⁻¹ de KNO₃; 0.14 g L⁻¹ de KH₂PO₄; 0.49 g L⁻¹ de MgSO₄ 7H₂O y 0.26 g L⁻¹ de K₂SO₄. Los micronutrimentos fueron adicionados a partir de Tradecorp A-Z[®] a una razón de

 $0.0665 \text{ g L}^{-1} \text{ con lo cual se proporcionó: } 5 \text{ mg L}^{-1} \text{ de Fe}, 2.3 \text{ mg L}^{-1} \text{ de Mn}, 0.46 \text{ mg L}^{-1} \text{ de Zn}, 0.19 \text{ mg L}^{-1} \text{ de Cu}, 0.43 \text{ mg L}^{-1} \text{ de B y } 0.20 \text{ mg L}^{-1} \text{ de Mo}.$

Se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas en completamente al azar. Consistió en dos parcelas grandes (PG) y cuatro parcelas pequeñas (PP) que fueron repetidas 5 veces. El factor salinidad se estudió en dos parcelas grandes, que consistieron en una condición sin salinidad (0 mM de NaCl) y una condición salina (100 mM de NaCl). Por su parte las parcelas pequeñas que se estudiaron dentro de cada parcela grande fueron las aplicaciones foliares de silicio (2 mM), calcio (2 mM), combinación de silicio y calcio (2 mM cada una) y el testigo que consistió en aplicaciones de agua destilada. Cada unidad experimental estuvo representada por una planta de pepino por maceta, teniendo en total 40 unidades experimentales.

Para la determinación de K y Ca se utilizó una digestión húmeda con ácido nítrico y perclórico (Alcantar y Sandoval, 1999), empleando un espectrofotómetro de emisión atómica, con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES 725 Series Agilent; Mulgrave, Victoria, Australia).

Se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias para las parcelas grandes y pequeñas con la prueba de LSD utilizando el procedimiento PROC ANOVA y se verificaron los supuestos de normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk y homogeneidad de varianzas con la el gráfico de predichos. En las pruebas estadísticas aplicadas se utilizó un nivel de significancia de α =0.05. En estos análisis se usó el software SAS (SAS, 2011). Para determinar el efecto de las combinaciones se realizó la prueba de comparación de medias a mano utilizando la metodología para el análisis LSD en parcelas divididas.

RESULTADOS

En el **Cuadro 1** se observa la existencia de diferencias estadísticas entre tratamientos en las concentraciones foliares de K y Ca.

Las aplicaciones foliares tuvieron efectos estadísticos significativos ($P \le 0.05$) y diferenciales en la concentración de K en el nivel de 0 y 100 mM de NaCl, y de Ca únicamente en el nivel de 100 mM de NaCl. Bajo una condición no salina (0 mM NaCl), la combinación de Si + Ca muestra incrementar en 36.9 y 26.2% la concentración de K y Ca, respectivamente, en comparación con el testigo. Por el contrario, cuando el cultivo es sometido a estrés salino esta combinación tiene efectos negativos significativos en la concentración de K y Ca, con reducciones del 57.5 y 61%, respectivamente, en comparación con el testigo.

Cuadro 1. Concentración de K y Ca en hojas de plantas de pepino con la aplicación de silicio, calcio y la combinación calcio+silicio vía foliar bajo condiciones de salinidad.

NaCl (mM)	Aplicación foliar	Concentración de K	Concentración de Ca
0	Testigo	8.409 c ^z	31.074 ab
	2 mM Ca	11.621 ab	37.240 ab
	2 mM Si	9.883 bc	31.948 ab
	2 mM Ca + 2 mM Si	13.338 a	42.140 a
	Testigo	3.338 d	34.674 ab
100	2 mM Ca	3.348 d	28.112 b
	2 mM Si	3.537 d	38.174 ab

823

2 mM Ca + 2 mM Si	1.419 e	13.536 c
y _{DMS}	0.53	12.57

^ZValores con letras distintas dentro de columnas indican diferencias estadísticas significativas con base en la prueba de DMS ($P \le 0.05$); ^yDMS: diferencia mínima significativa.

CONCLUSIONES

Efectos positivos de la aplicación foliar conjunta de Ca y Si en la concentración foliares de K y Ca en pepino, son observados solo bajo condiciones no salinas.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. A. Parida, Das A. B., "Salt tolerance and salinity effects on plants: A review", Ecotoxicology and Environmental Safety, Vol. 60, 2005, pp. 324-349.
- 2. A. Pereira, "Plant abiotic stress challenges from the changing environment". Front. Plant Sci., Vol. 7, 2016, 1123.
- 3. A. Steiner. "The universal nutrient solution", in: ISOSC Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture, The Netherlands, 1984, pp. 633-649.
- 4. C. Bowler, Flurh R., "The role of calcium and activated oxygen's as signals for controlling cross-tolerance", Trends and Plant Science, Vol. 5, 200, pp. 241-246.
- 5. Dabuxilatu, Ikeda, M., "Distribution of K, Na and CI in Root and Leaf Cells of Soybean and Cucumber Plants Grown under Salinity Conditions", Soil Sci. Plant Nutr., Vol 51, No. 7, 2005, pp. 1053-1057.
- G. G. Alcántar, Sandoval V. M., "Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal", (Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C. Publicación especial No. 10. 1999, Chapingo, México).
- 7. J. C. Melgar, Benlloch M., Fernandez-Escobar R., "Calcium starvation increase salts susceptibility to water stress", Journal of Horticultural Science and Biotechnology, Vol. 82, 2007, pp. 622-626.
- 8. J. F. Ma, "Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses", Soil Sci. Plant Nutr., Vol. 50, 2004, pp. 11-18.
- 9. J. Mateo-Sagasta, Burke, J., "Agriculture and water quality interactions". Informe temático SOLAW TR08. Roma, FAO. 2010.
- 10. K. C. Detmann, Araújo L., Martins S. C. V., Sanglard L. M. V. P., Reis J. V., Detmann E., Rodrigues F. Á., Nunes-Nesi A., Femie A. R., DaMatta F. A., "Silicon nutrition increase grain yield, which, in turn, exerts a feedforward simulation of photosynthetic rates via enhanced mesophyll conductance and alters primary metabolism in rice", New Phytol., Vol. 196, 2012, pp. 752-762.
- 11. L. I. Trejo-Téllez, Gómez-Merino F. C., Alcántar G. G., "Elementos benéficos", in: Nutrición de cultivos. Biblioteca básica de agricultura, Publicado por Colegio de Postgraduados, 2012, pp. 50-91.
- 12. M. Qadir, Oster J. D., "Crop and irrigation management strategies for saline-sodic soils and waters aimed at environmentally sustainable agriculture", Science of the Total Environment, Vol. 323, 2004, pp. 1-19.
- 13. N. E. Aceves, "El ensalitramiento de los suelos bajo riego". Segunda edición. Biblioteca básica de agricultura, Publicado por Colegio de Postgraduados, 2011, p. 2.
- 14. S. I. Pla, "Advances in the prognosis of soil sodicity under dryland irrigated conditions", International Soil and Water Conservation Research, Vol. 2, 2014, pp. 50-63.
- 15. SAS Institute Inc., SAS/STAT Users Guide. Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA, 2011.
- 16. V. Mozaffari, Malakouti M. J., "An investigation of some causes of die-back disorder of pistachio trees and its control through balanced fertilization in Iran". Acta Horticulturae, Vol. 276, 2006, pp. 301-305.

- 17. Y. Shi, Wang Y., Flowers T. J., Gong H., "Silicon decrease chloride transport in rice (*Oryza sativa* L.) in saline conditions", Journal of Plant Physiology, Vol. 170, 2013, pp. 847-853.
- 18. Y. X. Zhu, Xu X. B., Hu Y. H., Han W. H., Yin J. L., Li H. L., Gong H. J., "Silicon improves salt tolerance by increasing root water uptake in *Cucumis sativus* L". Plant Cell Rep., Vol. 34, 2015, pp. 1629-1646.
- 19. Y. Zhu, y Gong H., "Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants", Agron Sustain Dev., Vol. 34, 2014, pp. 455-472.
- 20. Z. Zhu, Wei G., Li G., Quian Q., Yu J., "Silicon alleviates salt stress and increase antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.)", Plant Science, Vol. 162, 2004, pp. 527-533.

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL EXTRACTO POLIMÉRICO EXTRACELULAR DEL GRANO DE KÉFIR DE AGUA

Lilia Hortencia Morales Ramos, Mario Alberto Hernández Torres, Lucia Leticia Palacios Cortéz, Katiushka Arévalo Niño, Isela Quintero Zapata.

Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. E-mail: oiramalbert@hotmail.com

RESUMEN

El Grano de Kéfir de agua, también conocido como tibico o búlgaro de agua, consiste en una asociación simbiótica de bacterias del ácido láctico (BAL) y levaduras, embebidas dentro de una matriz polimérica extracelular insoluble, de forma irregular y de aspecto gomosa. En él, se ha identificado a Lactobacilllus hilgardii como principal microorganismo productor de una sustancia polimérica extracelular a partir de la fermentación de azúcares, la cual confiere consistencia al grano. Recientemente, las sustancias poliméricas extracelulares de naturaleza polisacárido han sido ampliamente utilizadas en la industria de los alimentos, farmacéutica y biotecnológica en la producción de agentes espesantes, gelificantes, estabilizantes, cubiertas protectoras y películas inteligentes. Por ello, la producción del grano de kéfir de agua pudiera constituir una fuente asequible para la obtención de un polímero extracelular con potencial aplicabilidad industrial. Por tal motivo, esta investigación se planteó como objetivo obtener y caracterizar fisicoquímicamente el extracto polimérico extracelular del grano de kéfir de agua. La obtención del extracto polimérico extracelular del grano de tibico se llevó a cabo mediante hidrolisis ácida y precipitación alcohólica. Los análisis fisicoquímicos señalan que, la fracción sólida extracelular obtenida del grano de Kéfir de agua consiste principalmente de un polímero de naturaleza carbohidrato, no asociado a proteínas ni lípidos, con carácter hidrofílico y que en menor grado incluye moléculas de bajo peso molecular de identidad no precisa, características que lo convierten en un biopolímero con potencial interés industrial.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado la obtención de exopolímeros de naturaleza carbohidrato a partir de procesos fermentativos con bacterias productoras de ácido láctico (BAL). Por su versátil aplicabilidad en la industria alimentaria, farmacéutica y biotecnológica, los exopolisacáridos (EPS) son ampliamente demandados para la producción de agentes espesantes, gelificantes, estabilizantes; cubiertas protectoras para fármacos y películas inteligentes, respectivamente. Un ejemplo de bioproceso recientemente introducido en la industria alimentaria, para la producción de EPS es el sustentado por el grano de Kéfir de leche (Zajšek *et al*, 2013).

El grano de kéfir de leche, consiste en un consorcio microbiano formado principalmente por bacterias de los genero *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc y Streptococcus spp.* y levaduras de los géneros: *Kluyveromyces*, *Saccharomyces y Torulopsis*, que viven en asociación simbiótica en el seno de una matriz de naturaleza glucoproteica (Seher, 2015). En él, se ha reportado a *Lacotobacillus kefiranofaciens* como principal organismo productor de un glucogalactano soluble llamado kefirian (Zaišek *et al.*, 2013).

Tradicionalmente los granos de kéfir de leche son empleados para la preparación de una bebida láctea carbonatada de sabor ligeramente ácido con propiedades probióticas. De origen Cáucaso, su historia se remonta a la elaboración del "ayrag", bebida que se obtenía al dejar en reposo la leche cruda de los animales domésticos dentro de bolsas de piel de cabra, que nunca eran lavadas y que continuamente se iban llenando de leche conforme se producía la bebida. En cierto momento se observó que, la masa húmeda de aspecto gomosa y blanquecina recuperada de las bolsas de piel, eran capaces de fermentar la leche de cabra, camello, yegua y vaca, produciendo una bebida con mejor palatabilidad a la que se nombró como Kéfir, del turco Kief que significa "de agradable sensación" (Tratnik et al, 2006 y De Oliveria et al, 2013). Actualmente, el grano de kéfir de leche se ha logrado producir a partir de la fermentación de leche comercial pasteurizada e incluso, en algún momento de su desarrollo, pasó a cultivarse en agua azucarada, dando origen al Kéfir de agua o Kéfir de azúcar (Pidoux, 1989).

El grano de kéfir de agua, también conocido como tibico o grano búlgaro, se distingue del grano de kéfir de leche en su composición bioquímica y microbiológica. Los granos de Kéfir de agua, consisten de una asociación simbiótica entre bacterias del ácido láctico, bacterias acetogénicas y levaduras; embebidas en una matriz de polisacárido. En contraste con los granos de Kéfir de leche, los tibicos de agua, son de un color blanco-amarillo, casi translucidos, de aspecto gomoso y de forma irregular, semejante a pequeños trozos de coliflor con un diámetro variable entre 3 y 35 mm (Seher, 2015). En cuanto a la composición microbiológica, *Lactobacillus hilgardii* ha sido reportado como el organismo responsable de la producción de un $\alpha(1\rightarrow 6)$ glucano insoluble (Pidoux, 1989; Gulitz *et al*, 2011).

La producción del grano de kéfir de agua, es un proceso asequible que se logra, mediante la adición de los tibicos, que sirven como inóculo, a una mezcla de agua de grifo y azúcar refinada o no. Después de 48 a 96 horas de incubación anaeróbica a temperatura ambiente se obtiene un incremento en la masa de los granos de kéfir. En ese tenor, podría disponerse de un biopolímero con potencial aplicabilidad industrial. Por ello, esta investigación se emprendió con la finalidad de obtener mediante hidrolisis ácida y precipitación alcohólica el extracto polimérico extracelular del grano de kéfir de agua, así como caracterizarlo fisicoquímicamente.

PARTE EXPERIMENTAL Obtención de la muestra.

Los granos de kéfir de agua fueron obtenidos a partir de un cultivo casero que circula en el área metropolitana de Monterrey, N.L.

Fermentación.

Para la activación del consorcio microbiano, 100g de biomasa de Kéfir de agua (peso húmedo) fueron inoculados a un litro de medio de cultivo a base de piloncillo al 10 % p/v como principal fuente de carbono e incubado a 27±2°C durante 72 horas. Luego, los granos de kéfir fueron filtrados, lavados con agua de grifo y drenados. La producción de los granos de kéfir de agua se llevó a cabo en matraces Erlenmeyer con capacidad de 1000 mL mediante un procedimiento similar al descrito.

Obtención del extracto polimérico extracelular del grano de kéfir

La extracción del exopolímero del grano de kéfir de agua fue realizada mediante extracción ácida y precipitación alcohólica. En un matraz Erlenmeyer con capacidad de 1000 mL se colocó una masa de Kéfir de agua (peso húmedo). Luego, se añadió un volumen de solución acuosa de Ácido

sulfúrico diluido y la mezcla se calentó a 100°C sobre una plancha térmica con agitación continua hasta la disolución completa de los granos de Kéfir. Enseguida, se dejó reposar hasta tomar temperatura ambiente y se llevó a centrifugar a 7000 rpm durante 15 minutos a 24°C para la remoción del contenido celular. El exopolímero en el sobrenadante fue precipitado con 3 volúmenes de etanol absoluto frio y recuperado por centrifugación tras 24 horas en refrigeración a -20°C. El extracto polimérico fue recuperado y secado en un horno a 40°C por 48-72 horas. El porcentaje de rendimiento del extracto obtenido (peso seco) fue calculado a partir de seis repeticiones del proceso de extracción. Finalmente, el extracto sólido fue llevado a un molino de perlas con rotación constante a 40 rpm hasta la obtención de un polvo de partícula uniforme.

Caracterización fisicoquímica del extracto polimérico extracelular obtenido.

El contenido de azúcares totales del extracto obtenido fue determinado espectrofotométricamente por el método de Antrona, usando glucosa como estándar. La determinación de carbohidratos reductores se llevó a cabo mediante el método de DNS usando soluciones estándar de glucosa. (Plummer, 1978). El método de Bradford fue aplicado para la determinación de proteínas totales empleando albumina sérica bovina como estándar. El Índice de solubilidad en agua e Índice de absorción de agua, fueron determinados mediante el método descrito por Anderson y colaboradores con algunas modificaciones (Anderson *et al,* 1969). El % de Humedad y % de Cenizas se analizaron bajo los métodos 925.10 y 942.05 de la AOAC, respectivamente. Para medir el pH, se aplicó el método 981.12 de la misma asociación (AOAC, 2005). Se reportó el promedio de cinco repeticiones para cada proceso físico y químico.

RESULTADOS

La hidrólisis ácida permitió la obtención de un sólido de color blanco nacarado. El rendimiento obtenido para el extracto extracelular del grano de kéfir de agua fue del 15.28 gramos por 100 gramos de tibico (peso húmedo), superior a lo reportado por Zajšek y colaboradores (3.0-4.5 %) a partir de los granos de tibicos cultivados en leche de vaca ultrapasteurizada y obtenido aplicando un procedimiento diferente al descrito en esta investigación (Zajšek *et al*, 2011). La caracterización fisicoquímica para el material obtenido se presenta en la tabla No. 1.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica del extracto polimérico extracelular del grano de kéfir de agua.

Parámetro	Resultado	Coeficiente de Variación
% Rendimiento del extracto obtenido	15.28 ± 1.03	6.76
Azúcares Totales	0.64 ± 0.03 g	4.47
Azúcares Reductores	ND*	-
Proteínas Totales	ND*	-
Índice de Solubilidad en agua	$0.84 \pm 0.01 \text{ g/g}$	1.77
Índice de Absorción de agua	$1.17 \pm 0.02 \text{ g/g}$	1.47
% de Humedad	8.00 ± 0.20	2.50
% de Cenizas	0.29 ± 0.01	3.43
рН	2.55 ± 0.06	1.28

En ella se observa que, el contenido total de carbohidratos en el extracto obtenido fue superior a 0.60g. No se encontraron azucares reductores en la muestra, confirmando la presencia de un biopolímero en el extracto no susceptible a degradación durante el proceso de extracción ácida. Sin embargo, el producto obtenido mostró un pH promedio de 2.55 en solución, desconociendo si

es a consecuencia de la solución ácida empleada para la extracción o a la presencia de grupos funcionales ácidos en el polímero. Con respecto al contenido proteico, no se encontraron proteínas en la composición química del extracto. Por otra parte, cuando se evaluó la solubilidad del solido obtenido, se observó que más 80 % es soluble contrastando con lo informado por Stadie y su grupo de trabajo (Stadie *et al*, 2013). Además, se determinó que un gramo de extracto polimérico posee la propiedad de absorber 1.17 gramos de agua. En cuanto al contenido de humedad y cenizas se determinó un 8 % y 0.29 %, respectivamente.

CONCLUSIONES

Los datos obtenidos señalan que, el grano de kéfir de agua consiste principalmente de un polímero de naturaleza carbohidrato, no asociado a proteínas ni lípidos, de carácter hidrofílico y que en menor grado incluye moléculas de bajo peso molecular de identidad no precisa, características que lo convierten en un biopolímero con potencial aplicabilidad industrial.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Anderson, R., Conway, H.F., Pheiser, V.F. y Griffin, E.L. 1969. Gelatinisation of corn grits by roll and extrusion cooking. *Cereal Science Today*. 14: 4-12.
- 2. Association of Official Analytical Chemists. (2005). Official Methods of Analysis of AOAC International.
- 3. De Oliveira Leite, A. M., Lemos Miguel, M. A., Peixoto, R. S., Rosado, A. S., Silva, J. T., and Flosi Paschoalin, V. M. (2013). Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: A natural probiotic beverage. *Brazilian Journal of Microbiology*. 44: 341–349.
- 4. Gulitz A., Stadie J., Wenning M., Ehrmanna M.A. y Vogel R.F. (2011). The microbial diversity of water kéfir. *International Journal of Food Microbiology*. 151: 284–288.
- 5. Pidoux, M. (1989). The microbial flora of sugary kefir grain (the gingerbeer plant): biosynthesis of the grain from *Lactobacillus hilgardii* producing a polysaccharide gel. *MIRCEN Journal*. 5: 223–238.
- 6. Plummer, D.T. (1978). An Introduction to Practical Biochemestry. Inglaterra. McGraw-Hill Book Company.
- 7. Seher Arslan (2015) A review: chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir. *CyTA -Journal of Food.* 13(3): 340-345.
- 8. Stadie J., Gulitz A., Ehrmanna M.A. y Vogel R.F. (2013). Metabolic activity and symbiotic interactions of lactic acid bacteria and yeasts isolated from water kefir. *Food Microbiology*. 35:92-98.
- 9. Tratnik, L., Bozanic, R., Herceg, Z., and Drgalic, I. (2006). The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk. *International Journal of Dairy Technology*. 59: 40–46.
- Zajšek K., Goršek A. y Kolar M. (2013). Cultivating conditions effects on kefiran production by the mixed culture of lactic acid bacteria imbedded within kefir grains. Food Chemistry. 139: 970–977.
- 11. Zajšek K., Kolar M. y Goršek A. (2011). Characterisation of the exopolysaccharide kefiran produced by lactic acid bacteria entrapped within natural kefir grains. *International Journal of Dairy Technology*. 64(4): 544–548.

EVALUACIÓN DEL BIOL DE ESTIERCOL BOVINO, CAPRINO Y OVINO EN EL CULTIVO DE ESPINACA (Spinacea oleracea)

Aracely Cruz, Myrna Solís, Rigoberto Castro, Laura Barrera, Lilia Tapia, Aida Solís

Instituto Tecnológico de Tehuacán

Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

RESUMEN

Hoy en día se están buscando alternativas amigables con el ambiente, que permitan por un lado incrementar la producción agrícola y por otro, reducir el impacto negativo que ha traído a los ecosistemas el uso excesivo de fertilizantes. Una opción es hacer uso de la digestión anaeróbica, donde se ha reportado que el efluente, subproducto de la digestión anaeróbica tiene propiedades fertilizantes. En este trabajo se sometió a digestión anaeróbica estiércoles de vaca, cabra y oveja, previo ajuste de sólidos totales a 7% y pH a 7.5. Se monitoreó el pH, conductividad e índice de germinación; después de un mes, se usaron los bioles para el cultivo de espinaca. Se montaron macetas con semillas de espinaca y se aplicó biol al 20 y 40% de manera semanal, como control se usaron macetas únicamente con suelo agrícola y otro control aplicando fertilizante químico. En la semana 4 todos los bioles tuvieron Índices de germinación mayores al 80%, el biol proveniente del estiércol de vaca tuvo mayor contenido de nitrógeno comparado con el de los otros estiércoles. todos tuvieron similar contenido de P y K. En el cultivo de espinaca no hubo diferencia significativa en la altura de las plantas y peso de parte aérea aplicando el biol al 20 o 40%; el mayor desarrollo se encontró en las plantas donde se aplicó fertilizante químico, sin embargo estas plantas presentaron marchitez más pronto. Con la aplicación de todos los bioles se obtuvo mayor altura y peso aéreo que las plantas donde solo se usó suelo agrícola, demostrando el potencial fertilizante de los bioles.

INTRODUCCIÓN

La situación ambiental que vivimos en la actualidad requiere de la disminución de contaminantes en el planeta y el aprovechamiento de los residuos provenientes de las diferentes actividades económicas, bajo este enfoque la revaloración de subproductos es una temática que requiere de gran atención (Hernández, et al., 2014).

En la actividad ganadera como en cualquier otra actividad, se generan residuos como es el estiércol del ganado, estos residuos pueden contaminar al suelo, las aguas superficiales y subterráneas; al aire si estos son expuestos para su degradación a cielo abierto. La ganadería es una actividad complementaria a la agricultura, la oferta de estiércol y la demanda de fertilizantes orgánicos crean un equilibrio. Una práctica común es el uso de estiércol para fertilización, sin embargo utilizar el estiércol como abono sin un previo tratamiento puede ser agresivo con los cultivos y con el suelo (Flotats, et al., 1998).

El estiércol contiene un gran número de nutrientes para las plantas, pero este debe ser sometido a un proceso de descomposición para que dichos nutrientes pueden ser transformados en sales, las cuales serán aprovechadas por las plantas. Por ejemplo el nitrógeno orgánico debe ser convertido en nitrógeno amoniacal antes de ser absorbido por las plantas. Una tonelada de estiércol de vaca con un contenido del 50% de humedad contiene alrededor de 42 kg de nitrógeno, 18 kg de P_2O_5 y 26 kg de K_2O_6 , esto es de gran importancia si tomamos en cuenta que los volúmenes de estiércol que se acumulan en las zonas rurales son generalmente grandes (Sánchez y Hernández, 2011).

Una estrategia para el tratamiento del estiércol es utilizar la digestión anaerobia, éste proceso tiene por objetivo transformar material orgánico a formas gaseosas combustibles (biogás), el cual puede ser empleado como una fuente renovable de energía (Hernández et al., 2014) pero este proceso da como resultado otro producto de valor agregado, el biodigestato que puede ser usado como fertilizante. La digestión anaerobia es un proceso mediante el cual se puede tratar un sinfín de residuos orgánicos, por ejemplo el estiércol.

El proceso de la Digestión Anaerobia ayuda a contribuir con tres necesidades básicas: la primera es el mejoramiento de las condiciones sanitarias mediante el control de la contaminación, la segunda es la generación de energías renovables para actividades domésticas y la tercera es la obtención de materiales estabilizados (bioabono) como un fertilizante para cultivo. Por lo tanto podemos decir que la Tecnología de la Digestión Anaerobia juega un papel muy importante en el control de la contaminación ambiental y al mismo tiempo los productos obtenidos de este proceso son de mayor valor agregado (Varnero, 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

Digestión anaeróbica.

Este proyecto se realizó en dos etapas, la primera etapa es el proceso de digestión anaeróbica para producir el biogás y la obtención del Biol, y la segunda etapa es la aplicación del Biol en el cultivo de espinaca (*Spinacea oleracea*) para su evaluación.

Para el proceso de la Digestión Anaerobia y obtención de Biol se utilizaron 5 digestores por duplicado, tipo Bach de plásticos con capacidad de 10 litros. Los digestores se cargaron:

- 6 digestores con excretas de vaca
- 2 digestores con excretas de borrego y
- 2 digestores con excretas de chivo.

Los biodigestores fueron cargados a una capacidad del 70%, con 7% de sólidos base seca. La mezcla fue compuesta por estiércol y agua. Posteriormente se retiró el aire con una bomba de vacío, y se cerró herméticamente. El periodo de digestión fue de 7 semanas, en condiciones de invernadero. Se fueron tomando muestras de biogás y del Biol para llevar a cabo los análisis correspondientes. Una vez terminado el proceso de la digestión anaerobia se filtró el digestato para obtener la parte liquida de la digestión (biol). En la tabla 1 se resumen las condiciones utilizadas en cada tratamiento y la nomenclatura asignada a cada uno. Los experimentos se llevaron a cabo por duplicado.

Tabla 1. Condiciones y nomenclatura asignada a cada tratamiento

Tratamiento	Tipo de	ESTIERCOL (kg)	AGUA (L)	Carga total
	estiércol			%
San Simón (SSIMV)	Vaca	3.22	3.78	70
Tepetitla (TEPV)	Vaca	3.85	3.14	70
Tepetitla (TEPB)	Borrego	0.63	6.36	70
Tlaltepango (TLAV)	Vaca	3.43	3.56	70

Tlaltepango (TLAC) Chivo 1.20 5.79 70

Fuente: Elaboración Propia

Cada semana se tomaron muestras de 30 ml del líquido de digestión para llevar a cabo los siguientes análisis: pH, según la NMX-AA-008-SCFI-2000; conductividad electrolítica, según la NMX-AA-093-SCFI-2000. A la semana 0. 2, 4, 5, 6, y 7 se realizaron pruebas de fitotoxicidad calculando el índice de germinación (IG), según (Zucconi et al.1987).

Cultivo de espinaca.

El cultivo de espinaca fue utilizado para la evaluación del fertilizante líquido orgánico (Biol) utilizando este en dosis de 20 y 40%, como testigos se utilizó suelo sin fertilización y suelo con fertilización química. Para la siembra del cultivo se utilizaron bolsas negras con dimensiones de 20 x 20 cm con capacidad de 2.5 kg que es la cantidad requerida de suelo para cada planta de espinaca, se tamizaron 775 kg de suelo, y cada bolsa fue llenada a su máxima capacidad. Posteriormente se colocó una semilla de espinaca a una profundidad de 2 mm aproximadamente. Se realizaron riegos de acuerdo a la humedad del suelo, y para la semana 4 se aplicó Biol obtenido del proceso de Digestión Anaerobia, se realizaron 2 riegos por semana con 46 ml cada riego. El fertilizante químico se agregó de acuerdo a los requerimientos de N-P-K que necesita el cultivo, se realizaron 2 fertilizaciones, uno a la semana 3 y otro a la semana 6. A partir de la semana cuatro, se midieron dos variables en cada tratamiento, la longitud total de la parte aérea y el peso total fresco y seco.

RESULTADOS

El pH de los 5 tratamientos comienza cercano a 7.5 y empieza a bajar debido a la hidrolisis y formación de ácidos y posteriormente empieza a subir por el consumo de dichos ácidos para la formación de acetato y posteriormente metano (ver figura 1). En los tratamientos SIMV y TLAC este parámetro no disminuyó de 6.7, lo cual sugiere que se favoreció el proceso para la formación de metano. En el caso del tratamiento TEPB hubo valores de pH debajo de 6.3, pero al final el pH sí incrementó. TLAV y TEPV presentaron valor más bajos de pH final (5.6 y 5.4, respectivamente). En los tratamientos SSIMV, TLAC y TEPB se considera que las condiciones fueron favorables para la producción de metano, ya que de acuerdo con Soria et al. (2001) los valores óptimos de pH para la operación de un biodigestor oscilan entre 6.7 a 6.8 y de 7.4 a 7.5.

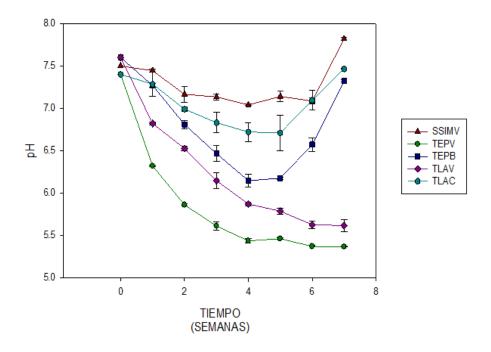


Figura 1. Comportamiento del pH durante la digestión aneróbica

La figura 2 muestra la conductividad electrolítica medida en los diferentes tratamientos, La conductividad eléctrica se mide como indicador del nivel de salinidad presente en alguna sustancia, refleja el contenido de sales soluble, por lo que si este contenido es alto tienen efectos fitotóxicos al ser utilizado como fertilizante en el crecimiento de las plantas (Varnero, 2011).

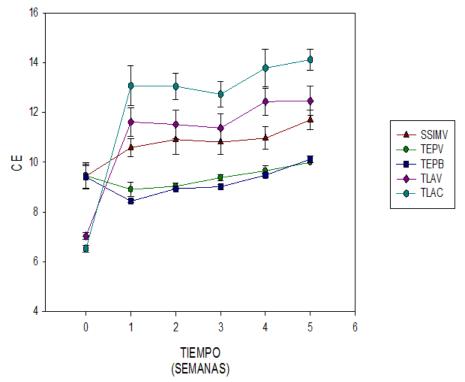


Figura 2. Conductividad electrolítica medida durante la digestión anaeróbica

La tabla 2 muestra el contenido de metano obtenido en cada digestor así como la prueba a la flama. Como se indicó arriba, los tratamientos donde el pH fue superior a 6 mostraron valores altos de metano y por ello fueron combustibles, no así TLAV y TEPV, cuyos valores de pH fueron muy bajos, afectando al consorcio metanogénico. Usando estiércol de vaca, borrego o cabra fue posible obtener biogás con al menos 40% de metano, lo importante es cuidar el valor del pH durante la digestión.

Tabla 2. Contenido de metano en el biogás y prueba a la flama

Tratamiento		Contenido de metano %		
	Semana 1	Semana 3	Semana 5	flama
SSIMV	14.856	19.269	59.392	POSITIVA
TEPV	0	1.687	2.20	NEGATIVA
TEPB	1.68	18.57	42.8	POSITIVA
TLAV	0	0	0	NEGATIVA
TLAC	0	13.283	48.2	POSITIVA

Fuente: Elaboración Propia.

En cuanto al índice de germinación se obtuvieron valores superiores al 80%, por lo que pueden ser usados en los cultivos; según Zucconi et al (1987), un IG superior al 80% indica que no tiene sustancias fitotóxicas o están en muy pequeña cantidad, si el IG es menor a 50% indica alta toxicidad por lo que no se recomienda su uso.

En la tabla 3 se resumen los parámetros medidos a las plantas, la longitud total y los pesos totales fresco y seco. Considerando la longitud aérea, en los tratamientos SSIMV y TEPV tanto al 20 como el 40% de biol se obtuvieron altura en las plantas iguales a las del tratamiento fertilizado químicamente. En peso total fresco fue mayor con el tratamiento químico, pero en todos los casos donde se utilizaron los bioles, los pesos fueron mayores que en el control suelo. En el peso total seco se obtuvo el mismo valor del fertilizante químico pero empleando el biol del tratamiento TLAC al 20% o 40% o el SSIMV al 40%.

Tabla 3. Parámetros medidos a las plantas de espinaca con cada tratamiento

TRATAMIENTO	Longitud aérea (cm)	Peso total fresco (g)	Peso total seco (g)
SSIMV 20%	17.7 ab	13.11 bc	1.68 cd
TEPV 20%	18.06 ab	10.33 bcd	1.23 de
TEPB 20%	15.87 b	10.69 bcd	1.62 cde
TLAV 20%	16.62 b	9.95 bcd	1.41 cde
TLAC 20%	17.15 b	14.33 b	2.45 ab
SSIMV 40%	17.52 ab	12 bcd	2.09 abc
TEPV 40%	17.52 ab	12 bcd	1.45 cde
TEPB 40%	16.73 b	10.05 bcd	1.77 bcd
TLAV 40%	16.82 b	9.69 cd	1.32 de
TLAC 40%	17.15 b	14.33 b	2.45 ab
SUELO	13.0 b	7.95 d	0.93 e
QUIMICO	22.53 a	26.86 a	2.67 a

Letras iguales en columna indican que no hay diferencia significativa

CONCLUSIONES

Usando estiércol de vaca, borrego o cabra fue posible obtener biogás con al menos 40% de metano, lo importante es cuidar el valor del pH durante la digestión anaeróbica para que esté en valores arriba de 6.3.

Los bioles de todos los tratamientos sirvieron como fertilizantes para el cultivo de lechuga, de tal forma que se favoreció el desarrollo de las plantas comparado con el testigo donde no se aplicaron, en algunos casos el desarrollo fue mayor con la aplicación de fertilizante químico.

No hay diferencia en aplicar los bioles al 20 o al 40%, los resultados son similares entre ellos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología así como al Instituto Nacional de las Mujeres por el apoyo brindado al proyecto titulado "Productos verdes para el empoderamiento de mujeres en comunidades rurales de Puebla y Tlaxcala".

BIBLIOGRAFÍA

- X. Flotats, A. Bonmatí, E. Campos, M. Antúnez, Codigestión anaerobia termofílica de purines de cerdo y lodos de planta depuradora de aguas residuales urbanas. V Congreso de Ingeniería Ambiental, Bilbao, 11-12 Marzo. 1997, Libro de comunicaciones.
- 2. S.C. Hernández, E.N. Sánchez, J.F. Beteau, D.L. Jiménez, Análisis de un Proceso de Tratamientos de Efluentes para Producción de Metano. Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial. Volume 11, 2, 2014, pp. 236-246.
- 3. S. Sánchez, M. Hernández, Alternativas de Manejo de la Fertilidad Del Suelo en Ecosistemas Agropecuarios. Pastos y Forrejes, Vol. 34, 4, 2011, pp. 375-392.
- 4. T. Varnero, Manual de Biogás. Proyecto CHI/DD/G32.Ministerio de Energía. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Global Environment Facility. http://www.fao.org/docrep/019/as400s/as400s.pdf.
- 5. F. Zucconi, A. Pera, M. Forte, M. de Bertoldi, Evaluating toxicity of inmature Compost, BioCycle, Vol 22,1987, 54-57.

PATRONES DE PFGE DE SEROTIPOS DE Salmonella entérica.

Gaspar Morales Romero, Juan José Valdez Alarcon, Ma. Aida Bejar Ubaldo; Paulina F. Rodríguez Flores

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. gmr_0123@hotmail.com

RESUMEN

Los serotipos de Salmonella enterica son las causantes de enfermedades gastrointestinales transmitidas por los alimentos, por ello, es importante poseer sistemas de vigilancia epidemiológica con herramientas de biología molecular como la electroforesis en gel de campos pulsados. Mediante esta técnica se considera obtener la diversidad genética de las cepas de S. enterica en el estado de Michoacán. Sin embargo, la relación genética de los 20 serotipos analizados establece su relación en brotes infecciosos. Lo cual permite distinguir que los serotipos son relacionados epidemiológicamente. Además, el índice de discriminación es mayor para el PFGE (D=0.96) que para la serotipificación (D=0.94), señalando al PFGE como una mejor herramienta para la discriminación de serotipos de S. enterica.

INTRODUCCIÓN

La Salmonella entérica es considerada como un patógeno importante y un problema de salud pública en el mundo, esto por generar enfermedades infecciosas transmitidas por los alimentos. Este patógeno puede causar diversas enfermedades tanto en humanos como en animales; Algunos de los síntomas que pueden presentarse son diarreas excesivas que puede contener sangre o moco, o en el caso de los animales enfermos, estos presentan un cansancio excesivo y pueden vomitar o tener fiebre; con lo cual se generan grandes pérdidas económicas por los tratamiento médicos (1,2,3).

La especie Salmonella enterica comprende seis subespecies, la más importante es la subespecie enterica, la cual han sido descritas alrededor de 1600 serotipos. La diferencia de estos serotipos son evaluados por la serotipificación, la cual consiste, en el uso de reacciones de aglutinación con antisueros específicos para los epítopos ("factores antigénicos somáticos") de los lipopolisacáridos o de los antígenos flagelares que aparecen en la superficie de la célula bacteriana, de acuerdo con el esquema de Kauffmann-White. Las investigaciones epidemiológicas han avanzado en las últimas dos décadas con las numerosas herramientas de la biología molecular; esto representa un avance revolucionario en los conocimientos y conceptos en la epidemiología molecular, ya que los sistemas de caracterización molecular permiten reconocer características genéticas de las poblaciones bacterianas que no son reveladas por las técnicas de laboratorio convencionales (4,5,6,7). Entre las técnicas más utilizadas de epidemiología molecular que es empleada por los laboratorios de referencia internacionales se ha considerado a la electroforesis en gel de campos pulsados (PFGE) como el estándar de oro para la caracterización de organismos patógenos de humanos. Por lo tanto, la caracterización genética por PFGE permite la diferenciación completa de la diversidad genética de los serotipos de S. enterica con mayor precisión y mayor velocidad, determinando su relación genética; por tal motivo, el PFGE debe ser utilizado para proporcionar una rápida visión general de la estructura de la población de S. enterica, que luego puede ser utilizada para seleccionar los serotipos particulares o genotipos particulares, los cuales serán relevantes para la comparación de la base de datos que establece y gestiona PulseNet International del Centro de Control y Prevención de Enfermedades [CDC, USA] (8,9,10). Esto nos permitirá realizar estudios de vigilancia epidemiológica y obtener información relevante de las serotipos predominantes en brotes infecciosos en el Estado de Michoacán.

PARTE EXPERIMENTAL

Las cepas de S. enterica fueron proporcionadas por el Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Michoacán, las cuales se encuentran serotipificadas por el esquema de Kauffmann-White. El análisis de polimorfismos de los serotipos de S. enterica, se realizó con la técnica de Electroforesis en Gel de Campos Pulsados (PFGE), en el equipo CHEF Mapper XR (Biorad), y el procedimiento operativo estandarizado para PulseNet de la CDC, con algunas modificaciones. Las cepas de Salmonella se cultivaron en 5 ml de medio líquido Caldo Soya Tripticaseína (BD Bioxon), y se incubó por 18 horas a 37° C. Posterior, se ajustó la densidad celular bacteriana a una Absorbancia de 0.8 a la longitud de onda 620 nm. Después, la suspensión celular bacteriana se mezcló con agarosa para PFGE (Sigma Aldrich), para la formación de bloques de agarosa y bacterias. Posterior se agregan 45 µL de Proteinasa K (Roche; 20 mg/ml), para la lisis bacteriana. Seguido de la lisis bacteriana se realizan lavados de los bloques con amortiguador TE, para eliminar desechos celulares. Posterior, se agregan 5 unidades de enzima de restricción Xbal (Promega), por cada bloque. Los bloques son colocados dentro de un gel de agarosa para realizar la corrida de electroforesis en campos pulsados con pulsos de tiempo inicial de 2.16 segundos, y el pulso de tiempo final de 63.8 segundos por 18 horas. Después de finalizar la electroforesis el gel se tiñó con bromuro de etidio (1 µg/mL, Sigma) por 30 minutos y se fotodocumentaron en el equipo Gel Doc XR+ System (Bio-Rad). El dendograma de similitud y análisis de los pulsotipos se elaboró con el software libre GelJ.

RESULTADOS

El resultado de los patrones de bandas que se obtuvieron por la macro-restricción de *Xba* I de los aislamientos de *S. enterica* mediante electroforesis en gel de campos pulsados (PFGE), generaron patrones de bandas con una resolución y bandas definidas, en este trabajo se analizaron 32 aislados de *S. enterica*, y estos aislados se identificaron en 20 serotipos diferentes, a su vez se observó la diversidad genética en 22 diferentes patrones de bandas de PFGE. Este análisis discrimino a 2 patrones de bandas, como los más repetidos y corresponde a los serotipos *S.* Muenchen, *S. D., S.* Manhattan, *S.* Duesseldorf, *S.* Oranienburg y *S.* Enteritidis (Datos no mostrados). Al contrario, en los carriles de restricción 4, 6 y 7, no se observan patrones de bandas, por lo tanto, se considera que el aislado *S.* Javiana no es tipificable para PFGE (Figura 1).

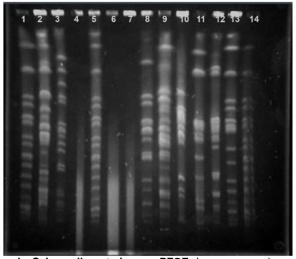


Figura 1. Patrones de bandas de Salmonella enterica por PFGE. Las cepas en los carriles de patrones de bandas, representan a los serotipos de Salmonella (1) Braenderup H9812; (2) Typhimurium; (3) London; (4) Javiana; (5) Braenderup H9812; (6) Javiana; (7) Javiana; (8) Give; (9) Typhimurium; (10) Agona; (11) Enteritidis; (12) Montevideo; (13) Braenderup; (14) Braenderup H9812, respectivamente.

El restante de los serotipos de *S. enterica* presenta una diversidad genética, que se observa por los diferentes patrones de bandas que resultaron o pueden considerarse como aislados no relacionados genéticamente. Por lo tanto, la capacidad de distinguir aislados no relacionados genéticamente por los pulsotipos de PFGE es determinada por el índice de poder de

discriminación, el cual en este análisis proporcionó valores de poder de discriminación para serotipificación de D=0.94 y para patrones de bandas, esto señalando el alto poder de discriminación del PFGE sobre la serotipificación, lo cual, demuestra que es una herramienta con una mayor capacidad de distinguir a los serotipos de *S. enterica*. En este estudio los serotipos comunes fueron S. Enteritidis (n=7; 21%), S. Give (n=3; 9%), *S. Rissen, S. Seftenberg, S. Oranienburg, S. C Antigeno Flagelar Rugoso* (n=2; 6%), respectivamente (Datos no mostrados). Al menos 14 serotipos diferentes están asociados a los 14 aislados restantes de *S. enterica*, y en la evaluación del PFGE, los patrones de bandas determinan su relación genética con algunos serotipos y su posible relación en brotes infecciosos en el estado.

CONCLUSIONES

En este trabajo se implementó el PFGE que es empleado a nivel internacional para la caracterización molecular de *Salmonella entérica*. Esto para dotar de un sistema de vigilancia epidemiológica en el estado de Michoacán, que permite analizar certeramente en casos de brotes infecciosos, como el caso de *S. Enteritidis*, que es considerada la cepa mas prevalente con un potencial patogénico que puedan presentar contingencias epidemiológicas por su diversidad genética. Además, se pudieron analizar aislados de *S. enterica* con técnicas de biología molecular para reconocer la prevalencia y predominancia en el estado de Michoacán.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Johnson TJ, Thorsness JL, Anderson CP, Lynne AM, Foley SL, et al. (2010) Horizontal Gene Transfer of a ColV Plasmid Has Resulted in a Dominant Avian Clonal Type of Salmonella enterica Serovar Kentucky. PLoS ONE 5(12): e15524. doi:10.1371/journal.pone.0015524.
- Gebru, E., Lee, J., Son, J., Yang, S., Shin, S., Kim, B, Kim, M., ParkS. Effect of probiotic-, bacteriophage-, or organic acid-supplementedfeeds or fermented soybean meal on the growth performance, acute-phase response, and bacterial shedding of grower pigschallenged with *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. J. Anim. Sci. 2010. 88:3880–3886
- 3. Achtman,M., Wain,J., Weill,F.-X., Nair,S., Zhou,Z., Sangal,V., Krauland,M.G., Hale,J.L., Harbottle,H., Uebeck,A., Dougan,J., Harrison,L.H., Brisse,S., *S. enterica* MLST Study Group. 2012. Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in Salmonella enterica. PLoS Pathogens. 8, e1002776.
- 4. Goering R. 2010. Pulsed field gel electrophoresis: A review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease. Inf. Genet. Evol. (10) 866–875.
- 5. Bacteriological Analytical Manual. BAM: Salmonella. http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm 070149.htm
- 6. Ribot EM, Fair MA, Gautom R, Cameron DN, Hunter SB, et al. (2006) Standardization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for the subtyping of Escherichia coli O157:H7, Salmonella, and Shigella for PulseNet. Foodborne Pathog Dis 3: 59–67.
- 7. Standard Operating Procedure for PulseNet PFGE of Escherichia coli O157:H7, Escherichia coli non-O157 (STEC), Salmonella serotypes, Shigella sonnei and Shigella flexneri. 2013.
- 8. Barrett TJ, Gerner-Smidt P, Swaminathan B. Interpretation of pulsed-field gel electrophoresis patterns in foodborne disease investigations and surveillance. Foodborne Pathog Disease. 2006;3:20–31.
- 9. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B. Guest commentary. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995;33:2233–2239

10. Wattiau, P., Boland, C., & Bertrand, S. (2011). Methodologies for Salmonella enterica subsp. enterica Subtyping: Gold Standards and Alternatives. Applied and Environmental Microbiology, 77(22), 7877–7885

CARACTERES CUALITATIVOS PARA EL ESTUDIO ETNOLOGICO DE GALLINA DE PATIO EN LA COMUNIDAD DE LA TRINIDAD TIANGISMANALCO, MPIO. DE TECALI, PUEBLA

Lázaro Galicia Cecilia, Vargas López Samuel, Ávila Benítez Raymundo.

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, FMVZ-BUAP, Tecamachalco, Puebla México.

mevet_lg@yahoo.com

Colegio de Postgraduados, Campus Puebla, Pue., México

RESUMEN

La gallina de patio ocupa el 38.0% dentro de las aves que conforman el traspatio rural (Jerez et al., 1994), contribuyendo a la alimentación de las familias rurales. Sánchez (1995), menciona que en los países desarrollados se ha iniciado la demanda por el consumo de alimentos ecológicos que provienen de ambientes sustentables y desde el punto de vista pecuario la gallina criolla cumple con estos requisitos de ahí la necesidad de su conservación como recursos genéticos, basados en el aspecto cultural, científico y económicos-productivos.

Para lograr lo anterior es necesario como primer paso una caracterización etnológica, que se realizó en la comunidad de La Trinidad encontrándose los siguientes resultados sobre los caracteres cualitativos: 1) el color del plumaje con mayor frecuencia es el rojo (46.38 %), 2) La creta, su forma principal es de tipo simple (93.62 %), 3) la presencia de plumas en la parte dorsal de la cabeza (copete), se presentó en el 5.2 % de la población de aves estudiada, 3) la presencia de plumas en las patas se presenta un reducido número de aves (1.45 %), 4) la ausencia de plumas en cuello (15.36%), es un indicador de la presencia de la raza cuello pelón, la cual es muy baja en la población de aves en estudio, 5) el color del tarso-metatarso es amarillo (55.75%), 6) el color dominante del pico es el amarillo (51.59%).

Esta diversidad en colores y formas, nos hace confirmar la presencia de diversidad genética y con ello confirmar la presencia de raza criolla en las zonas rurales, sin embargo es necesario seguir investigando hasta lograr una caracterización completa.

INTRODUCCIÓN

A nivel traspatio, las aves ocupan el primer lugar, por su presencia en el 93.5% de los hogares (Jerez *et al.*, 1994; (Vargas *et al.*, 2004). La parvada de aves en la avicultura de traspatio está constituida por los siguientes tipos de aves: gallinas (38.0%), gallos (8.0%), pollos (31.0%), quajolotes (22.0%), patos (1.0%) y gansos (Jerez *et al.*, 1994).

Safalaoh (1997) menciona que las aves criollas representan para la familia rural: a) Un valor de uso; ya que representan una fuente de proteína (huevo y carne), b) comercial por la venta de sus productos, c) cultural, debido a que los pollos blancos son usados en la medicina, por los médicos

tradicionales y también son utilizados en ceremonias religiosas. Siendo la primera la de mayor importancia debido a que la gallina de patio contribuye en la seguridad alimentaria propuestas por la FAO (Jiménez, 1994), que consiste en "lograr que toda la población tenga acceso económico y físico a los alimentos básicos que ellos necesitan".

Bebbington y Batterbury, (2001), señala que "todo individuo tiene la capacidad de construir sus propias estrategias" a partir de sus recursos físicos, intelectuales, financieros y culturales. Por lo que mejorar las condiciones de vida de las familias marginadas a partir de lo local es algo prioritario y de esta manera se coincide con lo señalado por Sierra (2002), quien establece que la crianza de gallina, es una alternativa para obtener proteínas (a través del huevo y carne), logrando así un desarrollo.

La FAO (1997) basado en el sistema de información sobre la diversidad de los animales domésticos (DAD-IS), menciona que en México existen 20 razas autóctonas en seis especies, dos de ellas corresponden a la gallina doméstica (*Gallus gallus domesticus*), Buche Pelón (pollos indígenas) y gallina criolla (de rancho). De acuerdo con Juárez *et al.* (2000), la población rural en países en desarrollo (como lo es México), depende considerablemente de la avicultura criolla como fuente de proteína. Sin embargo, Sánchez (1995), menciona que en los países desarrollados se ha iniciado la demanda por el consumo de alimentos ecológicos que provienen de ambientes sustentables y desde el punto de vista pecuario la gallina criolla cumple con estos requisitos.

En base a estas dos posibilidades (una como alimento de autoconsumo y la otra como una posibilidad de producción de huevo y carne para ser vendida a nichos de mercado) es necesario valorar la gallina criolla como recurso genético.

OBJETIVO

Tomando como base la propuesta de la FAO en 1974 donde hace un llamado a la conservación de los recursos genéticos, basados en el aspecto cultural, científico, económico-productivo para la producción artesanal, tradicional y de calidad (Francesch, 1998). Se planteó realizar una caracterización etnológica en la fase de caracteres cualitativos en la población de aves de gallinas de patio en la comunidad de La Trinidad Tianguismanalco, Puebla, para conocer la magnitud de la población de la gallina criolla y posteriormente realizar el diseño de planes de conservación, rescate, manejo y aprovechamiento de éstas.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se realizó en la comunidad de la Trinidad Tianguismanalco, municipio de Tecali de Herrera, en el estado de Puebla.

La recolección de datos se realizó con apoyo de una encuesta dividida en los siguientes apartados: a) la primera, contenía datos generales de la responsable de las aves, b) la segunda, datos sobre la caracterización fenotípica específicamente en el área de caracteres cualitativos.

El trabajo se realizó con 91 gallos y 254 gallinas criadas en los traspatios de las casas. Para el registro de información se marcó a cada una de las aves en estudio, con cinchos de plástico

Para la caracterización fenotípica, específicamente en los caracteres cualitativos se adaptaron metodologías generales clásicas, como la que propuso Estrada (2007) y Téguia *et al.* (2008). También se tomaron en consideración los lineamientos de la FAO en sus descriptores de especies avícolas FAO (1987).

Las variables cualitativas registradas en cada una de las aves fueron:

- a) En la cabeza: tipo de cresta, color de cresta, color de ojo, forma de la orejilla, color de pico, color de barbilla, presencia o ausencia de copete.
- b) En cuello: cuello desnudo o con pluma.
- c) En el cuerpo: color de pluma.
- d) En las patas: color de tarsos y dedos, presencia o ausencia de plumas en tarsos.

Como estrategia de confirmación de las variables cualitativas, se fotografió a cada animal desde diversos ángulos corporales.

El material utilizado fue:

- Una cámara digital.
- Cinchos para identificación individual.

La información recolectada fue vaciada y codificada en una hoja de cálculo de Excel para su análisis estadístico utilizando el paquete SAS (Statistical Analysis System) (SAS, 2003).

RESULTADOS

El color de **ojos** de las aves fueron naranja (70.14%), amarillo (7.54%), rojo (8.41%), café (6.96%), verde (5.51%), negro (0.58%) y miel (0.87%). El color se relaciona con las etapas de postura y la condición de alimentación de las aves (Nordby y Lattig, 1970), estableciendo que los ojos deben ser brillantes, prominentes, vivaces y amistosos, deben ser visibles desde diferentes ángulos.

Las formas de la **orejilla** son de media luna (31.3 %), tipo hoja (18.3 %), triangular (3.5 %), pendulosa (18.8 %), amorfa (14.5%), semicircular (7.3%) y circular (3.8 %). Con respecto al color correspondieron directamente al de la barbilla, salvo uno que presento orejilla blanca (Figura 1).

El color de la **barbilla** fue roja (77.4%), rojo obscuro (12.5 %), rojo vivo (7.0 %), blanca (0.3 %) y negra (0.29 %). Como lo señala Nordby y Lattig (1970) las orejillas deben ser de tamaño mediano, de forma uniforme y de color saludable, brillante y sano. Juárez *et al.* (2000) encontró que un 70% presentaba orejillas de color rojo y 28% blanco. En tanto que Orozco (1991), menciona que el color rojo de la barbilla es propio de las aves atlánticas o americanas, mientras que el color blanco es de las mediterráneas, por lo que Juárez *et al.* (2000) hipotetiza que las dos poblaciones han sido la base de la parvada de la gallina en nuestro país.



Figura 1. Orejilla de color blanco

El color dominante del **pico** es el amarillo (51.59%), el negro (24.64%), el blanco (3.69%), gris (1.45%) y café (20.58%). Sekeroglu y Aksimsek (2009) citan que el color de las patas y pico, y en general de toda la piel del ave depende de sustancia químicas como: melaninas y carotenoides, de ésta manera se pueden registrar los colores blanco (ausencia de pigmento), amarillo (lipocromos en la epidermis, melanina en la hipodermis), azul (ausencia de lipocromos y melanina en la hipodermis), negro (melanina en la epidermis e hipodermis).

El color de la **cresta** fue rojo (87.5 %), rojo obscuro (6.7 %), rojo vivo (2.0 %) y blanco (0.6 %) (Figura 2). El color de la cresta pálido, textura áspera y fría se relaciona con la ausencia de postura en las aves de línea comercial (Nordby y Lattig, 1970), en tanto que las gallinas con crestas de color rojo brillante y de textura cerosa indica buen nivel de postura







Rojo vivo

Rojo obscuro

Rojo

Figura 2. Color de la cresta en las gallinas

La cresta es un aditamento que está ausente en el 2.9 % de los gallos, al ser de pelea se las cortan. Cuando está presente su forma principal es de tipo simple (93.62 %) y en menores proporciones es de tipo dentado (1.45 %), rizada (0.87), en forma de fresa (0.87) y rizada con cuernos (0.29 %) (Figura 3). El tipo de cresta simple es el que predomina en las aves como lo señalan Juárez *et al.* (2000) y Espinoza (1991). Por su parte Crawford y Smith (1964), citan que la cresta de rosa se asocia a baja fertilidad, principalmente en machos en estado homocigoto (RR) que presentan una disminución en la viabilidad espermática



Figura 3. Tipos de cresta presentes en gallinas

La presencia de **plumas** en la parte dorsal de la cabeza, mejor conocido como "copete", se presentó en el 5.2 % de la población de aves estudiada, mientras que Juárez *et al.* (2000) encontraron un 3 % (Figura 4).



Figura 4. Copetes

La **ausencia de plumas en cuello** (15.36%), es un indicador de la presencia de la raza cuello pelón, la cual es muy baja en la población de aves en estudio. Así por ejemplo, Juárez *et al.* (2000) en sus estudio encontró que el 82.2% de las aves tenían un emplume completo y 10.4% presentaron un cuello desnudo; este último tipo de ave se encuentran más en las áreas tropicales.

El color del **plumaje** con mayor frecuencia es el rojo (46.38 %), seguido del negro (21.46 %). Con menor frecuencia se encontró el amarillo; en tanto que el gris y blanco se encuentran en una menor proporción (Figura 4), mientras Juárez *et al.* (2000), encontraron los mismos colores sólo que en otras proporciones. En relación al color, Mwanza (1991) menciona que el color negro en las gallinas, es un medio de defensa para sus depredadores, debido al mimetismo, pasan desapercibidas y Juárez *et al.* (2000) mencionan que el plumaje blanco y barreado es el resultado de los cruzamientos de criollos con líneas comerciales, mientras que el color giro o abedul, es el resultado de la cruza de criollas con las de combate.

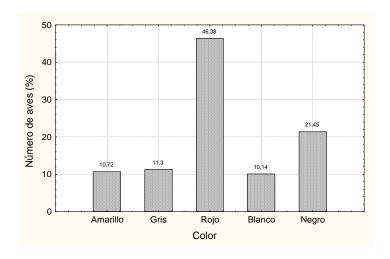
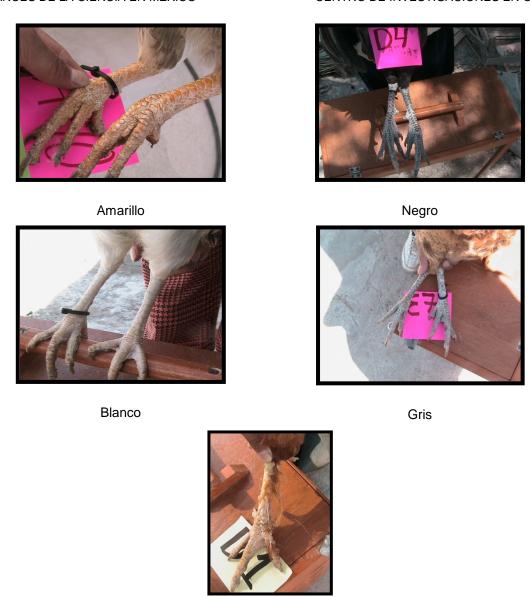


Figura 4. Color de pluma en aves de traspatio en la comunidad de La Trinidad Tianguismanalco, Tecali de Herrera, Puebla.

El color **del tarso-metatarso** es amarillo (55.75%), negro (25.5%), blanco (17.4%) y gris (1.5%). Juárez *et al.* (2000) encontró una proporción diferente en las coloraciones de los tarsos y menciona que no hay una relación del color del plumaje con el de los tarsos (Figura 5).

La **presencia de plumas en las patas** se presenta un reducido número de aves (1.45 %), la cual tiene relación con lo encontrado con Juárez *et al.* (2000), donde menciona que el 0.45% tienen plumas en las patas. La presencia de plumas en los tarsos es indicativo de la existencia de ancestros asiáticos, aunque también se hipotetiza que es un rasgo de adaptación de las gallinas para protegerse de los depredadores subiendo a ramas con espinas.



Presencia de plumas

Figura 5. Color y presencia de plumas en los tarsos en las gallinas criollas.

CONCLUSIONES

En base a la información cualitativa obtenida al clasificar por el color a la gallina de patio se encontró que predominan los colores rojo, negro, gris y amarillo, indicándonos una diversidad fenotípica coincidiendo con lo reportado por Rodríguez et al. (1996), Rejón et al. (1996), Barredo et al. (1991) donde citan la presencia de una amplia diversidad de aves en el traspatio en el medio rural de México debido a que la gallina criolla representa una fuente importante de proteína de origen animal en las explotaciones campesinas son las gallinas de traspatio (principalmente de carne y huevo (Pérez, 2004).

BIBLIOGRAFIA

- 1. Bebbington, A.J., S.P.J. Batterbury. 2001. Transnational Livelihoods and Landscapes: Political Ecologies of Globalization. Cultural Geographies, 8:369-380.
- 2. Crawford, R.D., J.R. Smith. 1964. Semen quality and the gene for rose comb in the domestic fowl. Poultry Science, 43:1551-1557
- 3. Espinoza, R.Y.A. 1991. Caracterización morfológica de la gallina mestiza del estado de Chiapas. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. p 45.
- 4. Estrada, M. A. 2007. Caracterización fenotípica, Manejo y usos del pavo doméstico (*Meleagris gallopavo*, *gallopavo*) en la comunidad indígena de Kapola en a sierra nororiental del Estado de Puebla, México. Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados. 93 p.p.
- 5. FAO. 1997. Domestic Animal Diversity Information System: FAO, Roma, htt://www.fao.org/dad-is/. Consultado el 21 de enero de 2008.
- 6. FAO: 1987. Banco de dato de recursos genéticos animales. 3. Descriptores de especies avícolas, Roma, Italia. Núm. 59, p.3.
- 7. Francesch, A. 1998. Funcionamiento de la conservación de razas de gallinas autóctonas en Cataluña. Archivos de zootecnia, 47: 141-148.
- 8. Jerez, S.M.P., J. Herrera H., M.A. Vásquez D. 1994. La gallina criolla en los Vallles Centrales de Oaxaca. Reporte de investigación / Instituto Tecnológico Agropecuario de Oaxaca No. 23, Centro de Investigación y Graduados. Nazareno, Xoxocatlán, Oaxaca. 89 p.
- Jiménez A. S. 1994. Algunas consideraciones generales sobre la Seguridad Alimentaria. Tercer Seminario Internacional de Nutrición; 1994 Ag; Riobamba (Ecuador). http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1409-14292003000200005&script=sci_arttext. Consultado en julio de 2009.
- 10. Juárez, C.,A., Manríquez. A.J.A., Segura. C.J.C. 2000. Rasgos de apariencia fenotípica en la avicultura rural de los municipios de la Rivera del Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. Livestock Research Rural Development. http://www.genetics.org/cgi/reprint/40/4/519
- 11. Mwanza, F. 1991. Cómo salvar las preciosas gallinas. CERES-FAO. 132: 25-27
- 12. Nordby, J.E., H.E. Lattig. 1970. Selección, preparación y exposición de las aves de corral. Ed Albatros. Buenos Aires Argentina. p 122.
- 14. Oliveri L. A. 1971. Genética, Biometría y Zootecnia Avícola. Albatros. Argentina. p 132.
- 15. Orozco, F. 1991. Razas. En: Mejora genética avícola. Agroguías Mundi-prensa. Madrid, España, pp. 28-30.
- 16. Rejón, A.M.J., A.F. Dájer A., N. Honhold. 1996. Diagnóstico comparativo de la ganadería de traspatio en las comunidades de Texán y Tzacalá de la zona henequera del estado de Yucatán. Veterinaria México, 27:49.55.
- 17. Rodríguez, B.J.C., C.E. Allaway, G.J. Wassink, J.C. Segura C., T. Rivera O. 1996. Estudio de la avicultura de traspatio en el municipio de Dzunnuncán, Yucatán. Rev. Veterinaria México, 27:215-219.
- 18. Safalaoh, A.Ch., 1997. Characteristics of indigenous chickens of Malawi. Animal Genetic Resource Information. FAO, Rome, N°22, pp. 61–69
- 19. Sekeroglu A., Aksimsek, S.D. 2009. Village chicken production in Turkey: Tokat province example. Tropical Animal Health and Production, 41:103-108.
- 20. Sierra, A. 2002. El concepto de raza: evolución y realidad. Archivos de Zootecnia, 50:547-564
- 21. Téguia, A., H. M. Ngandjou, H. Defang, J. Tchoumboue. 2008. Study of the live body weight and body characteristics of the African Muscovy duck (*Caraina moschata*). Tropical Animal Health and Production, 40:5-10.
- 22. Vargas L.S., C. Lázaro, J.S. Hernández. 2004. Estrategia de sobrevivencia de familias campesinas en zonas agroecológicas frágiles de Puebla, México. Memorias Congreso Internacional Agroindustria Rural y Territorio (Memorias en CD). 1-4 de diciembre de 2004. Toluca, Edo. de México, 15 p. Memoria de congreso internacional.

CARACTERES CUALITATIVOS PARA EL ESTUDIO ETNOLOGICO DE GALLINA DE PATIO EN LA COMUNIDAD DE LA TRINIDAD TIANGISMANALCO, MPIO. DE TECALI, PUEBLA

Lázaro Galicia Cecilia, Vargas López Samuel, Ávila Benítez Raymundo.

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, FMVZ-BUAP, Tecamachalco, Puebla México.

mevet_lg@yahoo.com

Colegio de Postgraduados, Campus Puebla, Pue., México

RESUMEN

La gallina de patio ocupa el 38.0% dentro de las aves que conforman el traspatio rural (Jerez et al., 1994), contribuyendo a la alimentación de las familias rurales. Sánchez (1995), menciona que en los países desarrollados se ha iniciado la demanda por el consumo de alimentos ecológicos que provienen de ambientes sustentables y desde el punto de vista pecuario la gallina criolla cumple con estos requisitos de ahí la necesidad de su conservación como recursos genéticos, basados en el aspecto cultural, científico y económicos-productivos.

Para lograr lo anterior es necesario como primer paso una caracterización etnológica, que se realizó en la comunidad de La Trinidad encontrándose los siguientes resultados sobre los caracteres cualitativos: 1) el color del plumaje con mayor frecuencia es el rojo (46.38 %), 2) La creta, su forma principal es de tipo simple (93.62 %), 3) la presencia de plumas en la parte dorsal de la cabeza (copete), se presentó en el 5.2 % de la población de aves estudiada, 3) la presencia de plumas en las patas se presenta un reducido número de aves (1.45 %), 4) la ausencia de plumas en cuello (15.36%), es un indicador de la presencia de la raza cuello pelón, la cual es muy baja en la población de aves en estudio, 5) el color del tarso-metatarso es amarillo (55.75%), 6) el color dominante del pico es el amarillo (51.59%).

Esta diversidad en colores y formas, nos hace confirmar la presencia de diversidad genética y con ello confirmar la presencia de raza criolla en las zonas rurales, sin embargo es necesario seguir investigando hasta lograr una caracterización completa.

INTRODUCCIÓN

A nivel traspatio, las aves ocupan el primer lugar, por su presencia en el 93.5% de los hogares (Jerez et al., 1994; (Vargas et al., 2004). La parvada de aves en la avicultura de traspatio está constituida por los siguientes tipos de aves: gallinas (38.0%), gallos (8.0%), pollos (31.0%), guajolotes (22.0%), patos (1.0%) y gansos (Jerez et al., 1994).

Safalaoh (1997) menciona que las aves criollas representan para la familia rural: a) Un valor de uso; ya que representan una fuente de proteína (huevo y carne), b) comercial por la venta de sus productos, c) cultural, debido a que los pollos blancos son usados en la medicina, por los médicos

tradicionales y también son utilizados en ceremonias religiosas. Siendo la primera la de mayor importancia debido a que la gallina de patio contribuye en la seguridad alimentaria propuestas por la FAO (Jiménez, 1994), que consiste en "lograr que toda la población tenga acceso económico y físico a los alimentos básicos que ellos necesitan".

Bebbington y Batterbury, (2001), señala que "todo individuo tiene la capacidad de construir sus propias estrategias" a partir de sus recursos físicos, intelectuales, financieros y culturales. Por lo que mejorar las condiciones de vida de las familias marginadas a partir de lo local es algo prioritario y de esta manera se coincide con lo señalado por Sierra (2002), quien establece que la crianza de gallina, es una alternativa para obtener proteínas (a través del huevo y carne), logrando así un desarrollo.

La FAO (1997) basado en el sistema de información sobre la diversidad de los animales domésticos (DAD-IS), menciona que en México existen 20 razas autóctonas en seis especies, dos de ellas corresponden a la gallina doméstica (*Gallus gallus domesticus*), Buche Pelón (pollos indígenas) y gallina criolla (de rancho). De acuerdo con Juárez *et al.* (2000), la población rural en países en desarrollo (como lo es México), depende considerablemente de la avicultura criolla como fuente de proteína. Sin embargo, Sánchez (1995), menciona que en los países desarrollados se ha iniciado la demanda por el consumo de alimentos ecológicos que provienen de ambientes sustentables y desde el punto de vista pecuario la gallina criolla cumple con estos requisitos.

En base a estas dos posibilidades (una como alimento de autoconsumo y la otra como una posibilidad de producción de huevo y carne para ser vendida a nichos de mercado) es necesario valorar la gallina criolla como recurso genético.

OBJETIVO

Tomando como base la propuesta de la FAO en 1974 donde hace un llamado a la conservación de los recursos genéticos, basados en el aspecto cultural, científico, económico-productivo para la producción artesanal, tradicional y de calidad (Francesch, 1998). Se planteó realizar una caracterización etnológica en la fase de caracteres cualitativos en la población de aves de gallinas de patio en la comunidad de La Trinidad Tianguismanalco, Puebla, para conocer la magnitud de la población de la gallina criolla y posteriormente realizar el diseño de planes de conservación, rescate, manejo y aprovechamiento de éstas.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se realizó en la comunidad de la Trinidad Tianguismanalco, municipio de Tecali de Herrera, en el estado de Puebla.

La recolección de datos se realizó con apoyo de una encuesta dividida en los siguientes apartados: a) la primera, contenía datos generales de la responsable de las aves, b) la segunda, datos sobre la caracterización fenotípica específicamente en el área de caracteres cualitativos.

El trabajo se realizó con 91 gallos y 254 gallinas criadas en los traspatios de las casas. Para el registro de información se marcó a cada una de las aves en estudio, con cinchos de plástico

Para la caracterización fenotípica, específicamente en los caracteres cualitativos se adaptaron metodologías generales clásicas, como la que propuso Estrada (2007) y Téguia *et al.* (2008). También se tomaron en consideración los lineamientos de la FAO en sus descriptores de especies avícolas FAO (1987).

Las variables cualitativas registradas en cada una de las aves fueron:

- e) En la cabeza: tipo de cresta, color de cresta, color de ojo, forma de la orejilla, color de pico, color de barbilla, presencia o ausencia de copete.
- f) En cuello: cuello desnudo o con pluma.
- g) En el cuerpo: color de pluma.
- h) En las patas: color de tarsos y dedos, presencia o ausencia de plumas en tarsos.

Como estrategia de confirmación de las variables cualitativas, se fotografió a cada animal desde diversos ángulos corporales.

El material utilizado fue:

- Una cámara digital.
- Cinchos para identificación individual.

La información recolectada fue vaciada y codificada en una hoja de cálculo de Excel para su análisis estadístico utilizando el paquete SAS (Statistical Analysis System) (SAS, 2003).

RESULTADOS

El color de **ojos** de las aves fueron naranja (70.14%), amarillo (7.54%), rojo (8.41%), café (6.96%), verde (5.51%), negro (0.58%) y miel (0.87%). El color se relaciona con las etapas de postura y la condición de alimentación de las aves (Nordby y Lattig, 1970), estableciendo que los ojos deben ser brillantes, prominentes, vivaces y amistosos, deben ser visibles desde diferentes ángulos.

Las formas de la **orejilla** son de media luna (31.3 %), tipo hoja (18.3 %), triangular (3.5 %), pendulosa (18.8 %), amorfa (14.5%), semicircular (7.3%) y circular (3.8 %). Con respecto al color correspondieron directamente al de la barbilla, salvo uno que presento orejilla blanca (Figura 1).

El color de la **barbilla** fue roja (77.4%), rojo obscuro (12.5 %), rojo vivo (7.0 %), blanca (0.3 %) y negra (0.29 %). Como lo señala Nordby y Lattig (1970) las orejillas deben ser de tamaño mediano, de forma uniforme y de color saludable, brillante y sano. Juárez *et al.* (2000) encontró que un 70% presentaba orejillas de color rojo y 28% blanco. En tanto que Orozco (1991), menciona que el color rojo de la barbilla es propio de las aves atlánticas o americanas, mientras que el color blanco es de las mediterráneas, por lo que Juárez *et al.* (2000) hipotetiza que las dos poblaciones han sido la base de la parvada de la gallina en nuestro país.



Figura 1. Orejilla de color blanco

El color dominante del **pico** es el amarillo (51.59%), el negro (24.64%), el blanco (3.69%), gris (1.45%) y café (20.58%). Sekeroglu y Aksimsek (2009) citan que el color de las patas y pico, y en general de toda la piel del ave depende de sustancia químicas como: melaninas y carotenoides, de ésta manera se pueden registrar los colores blanco (ausencia de pigmento), amarillo (lipocromos en la epidermis, melanina en la hipodermis), azul (ausencia de lipocromos y melanina en la hipodermis), negro (melanina en la epidermis e hipodermis).

El color de la **cresta** fue rojo (87.5 %), rojo obscuro (6.7 %), rojo vivo (2.0 %) y blanco (0.6 %) (Figura 2). El color de la cresta pálido, textura áspera y fría se relaciona con la ausencia de postura en las aves de línea comercial (Nordby y Lattig, 1970), en tanto que las gallinas con crestas de color rojo brillante y de textura cerosa indica buen nivel de postura







Rojo vivo

Rojo obscuro

Rojo

Figura 2. Color de la cresta en las gallinas

La cresta es un aditamento que está ausente en el 2.9 % de los gallos, al ser de pelea se las cortan. Cuando está presente su forma principal es de tipo simple (93.62 %) y en menores proporciones es de tipo dentado (1.45 %), rizada (0.87), en forma de fresa (0.87) y rizada con cuernos (0.29 %) (Figura 3). El tipo de cresta simple es el que predomina en las aves como lo señalan Juárez *et al.* (2000) y Espinoza (1991). Por su parte Crawford y Smith (1964), citan que la cresta de rosa se asocia a baja fertilidad, principalmente en machos en estado homocigoto (RR) que presentan una disminución en la viabilidad espermática



Figura 3. Tipos de cresta presentes en gallinas

La presencia de **plumas** en la parte dorsal de la cabeza, mejor conocido como "copete", se presentó en el 5.2 % de la población de aves estudiada, mientras que Juárez *et al.* (2000) encontraron un 3 % (Figura 4).



Figura 4. Copetes

La **ausencia de plumas en cuello** (15.36%), es un indicador de la presencia de la raza cuello pelón, la cual es muy baja en la población de aves en estudio. Así por ejemplo, Juárez *et al.* (2000) en sus estudio encontró que el 82.2% de las aves tenían un emplume completo y 10.4% presentaron un cuello desnudo; este último tipo de ave se encuentran más en las áreas tropicales.

El color del **plumaje** con mayor frecuencia es el rojo (46.38 %), seguido del negro (21.46 %). Con menor frecuencia se encontró el amarillo; en tanto que el gris y blanco se encuentran en una menor proporción (Figura 4), mientras Juárez *et al.* (2000), encontraron los mismos colores sólo que en otras proporciones. En relación al color, Mwanza (1991) menciona que el color negro en las gallinas, es un medio de defensa para sus depredadores, debido al mimetismo, pasan desapercibidas y Juárez *et al.* (2000) mencionan que el plumaje blanco y barreado es el resultado de los cruzamientos de criollos con líneas comerciales, mientras que el color giro o abedul, es el resultado de la cruza de criollas con las de combate.

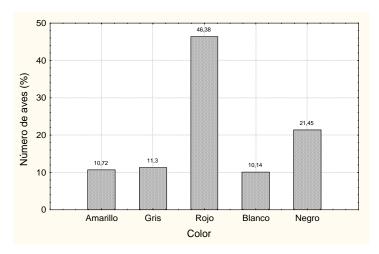


Figura 4. Color de pluma en aves de traspatio en la comunidad de La Trinidad Tianguismanalco, Tecali de Herrera, Puebla.

El color **del tarso-metatarso** es amarillo (55.75%), negro (25.5%), blanco (17.4%) y gris (1.5%). Juárez *et al.* (2000) encontró una proporción diferente en las coloraciones de los tarsos y menciona que no hay una relación del color del plumaje con el de los tarsos (Figura 5).

La **presencia de plumas en las patas** se presenta un reducido número de aves (1.45 %), la cual tiene relación con lo encontrado con Juárez *et al.* (2000), donde menciona que el 0.45% tienen plumas en las patas. La presencia de plumas en los tarsos es indicativo de la existencia de ancestros asiáticos, aunque también se hipotetiza que es un rasgo de adaptación de las gallinas para protegerse de los depredadores subiendo a ramas con espinas.



Figura 5. Color y presencia de plumas en los tarsos en las gallinas criollas.

CONCLUSIONES

En base a la información cualitativa obtenida al clasificar por el color a la gallina de patio se encontró que predominan los colores rojo, negro, gris y amarillo, indicándonos una diversidad fenotípica coincidiendo con lo reportado por Rodríguez *et al.* (1996), Rejón *et al.* (1996), Barredo *et al.* (1991) donde citan la presencia de una amplia diversidad de aves en el traspatio en el medio rural de México debido a que la gallina criolla representa una fuente importante de proteína de origen animal en las explotaciones campesinas son las gallinas de traspatio (principalmente de carne y huevo (Pérez, 2004).

BIBLIOGRAFIA

- 23. Bebbington, A.J., S.P.J. Batterbury. 2001. Transnational Livelihoods and Landscapes: Political Ecologies of Globalization. Cultural Geographies, 8:369-380.
- 24. Crawford, R.D., J.R. Smith. 1964. Semen quality and the gene for rose comb in the domestic fowl. Poultry Science, 43:1551-1557
- Espinoza, R.Y.A. 1991. Caracterización morfológica de la gallina mestiza del estado de Chiapas. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. p 45.
- 26. Estrada, M. A. 2007. Caracterización fenotípica, Manejo y usos del pavo doméstico (*Meleagris gallopavo*, *gallopavo*) en la comunidad indígena de Kapola en a sierra nororiental del Estado de Puebla, México. Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados. 93 p.p.
- 27. FAO. 1997. Domestic Animal Diversity Information System: FAO, Roma, htt://www.fao.org/dad-is/. Consultado el 21 de enero de 2008.
- 28. FAO: 1987. Banco de dato de recursos genéticos animales. 3. Descriptores de especies avícolas, Roma, Italia. Núm. 59, p.3.
- 29. Francesch, A. 1998. Funcionamiento de la conservación de razas de gallinas autóctonas en Cataluña. Archivos de zootecnia, 47: 141-148.
- 30. Jerez, S.M.P., J. Herrera H., M.A. Vásquez D. 1994. La gallina criolla en los Vallles Centrales de Oaxaca. Reporte de investigación / Instituto Tecnológico Agropecuario de Oaxaca No. 23, Centro de Investigación y Graduados. Nazareno, Xoxocatlán, Oaxaca. 89 p.
- 31. Jiménez A. S. 1994. Algunas consideraciones generales sobre la Seguridad Alimentaria. Tercer Seminario Internacional de Nutrición; 1994 Ag; Riobamba (Ecuador). http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1409-14292003000200005&script=sci_arttext. Consultado en julio de 2009.
- 32. Juárez, C.,A., Manríquez. A.J.A., Segura. C.J.C. 2000. Rasgos de apariencia fenotípica en la avicultura rural de los municipios de la Rivera del Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. Livestock Research Rural Development. http://www.genetics.org/cgi/reprint/40/4/519
- 33. Mwanza, F. 1991. Cómo salvar las preciosas gallinas. CERES-FAO. 132: 25-27
- Nordby, J.E., H.E. Lattig. 1970. Selección, preparación y exposición de las aves de corral. Ed Albatros. Buenos Aires Argentina. p 122.
- 35.
- 36. Oliveri L. A. 1971. Genética, Biometría y Zootecnia Avícola. Albatros. Argentina. p 132.
- 37. Orozco, F. 1991. Razas. En: Mejora genética avícola. Agroguías Mundi-prensa. Madrid, España, pp. 28-30.
- 38. Rejón, A.M.J., A.F. Dájer A., N. Honhold. 1996. Diagnóstico comparativo de la ganadería de traspatio en las comunidades de Texán y Tzacalá de la zona henequera del estado de Yucatán. Veterinaria México, 27:49.55.
- 39. Rodríguez, B.J.C., C.E. Allaway, G.J. Wassink, J.C. Segura C., T. Rivera O. 1996. Estudio de la avicultura de traspatio en el municipio de Dzunnuncán, Yucatán. Rev. Veterinaria México, 27:215-219
- 40. Safalaoh, A.Ch., 1997. Characteristics of indigenous chickens of Malawi. Animal Genetic Resource Information. FAO, Rome, Nº22, pp. 61–69
- 41. Sekeroglu A., Aksimsek, S.D. 2009. Village chicken production in Turkey: Tokat province example. Tropical Animal Health and Production, 41:103-108.
- 42. Sierra, A. 2002. El concepto de raza: evolución y realidad. Archivos de Zootecnia, 50:547-564
- 43. Téguia, A., H. M. Ngandjou, H. Defang, J. Tchoumboue. 2008. Study of the live body weight and body characteristics of the African Muscovy duck (*Caraina moschata*). Tropical Animal Health and Production, 40:5-10.
- 44. Vargas L.S., C. Lázaro, J.S. Hernández. 2004. Estrategia de sobrevivencia de familias campesinas en zonas agroecológicas frágiles de Puebla, México. Memorias Congreso

Internacional Agroindustria Rural y Territorio (Memorias en CD). 1-4 de diciembre de 2004. Toluca, Edo. de México, 15 p. Memoria de congreso internacional.

PRODUCCIÓN DE POLI-β-HIDROXIBUTIRATO (PHB) CON CEPAS DE ESCHERICHIA COLI MODIFICADAS GENÉTICAMENTE

Martinez Ayala Itzel g. Sierra Martinez Pavel, Moreno Godinez Ma. Elena, Martinez Jimenez Alfredo, Huerta-Beristain Gerardo.

Facultad de Ciencias Químico Biológicas – UAGro. Av. Lázaro Cárdenas S/N. Ciudad Universitaria. Chilpancingo, Guerrero. México.

Unidad de Investigación Especializada en Microbiología – UAGro. Av. las colinas S/N. Petaquillas, Guerrero. México.

Email.: hbgerardo@gmail.com

RESUMEN

El polihidroxibutirato (PHB) es un polímero biodegradable con propiedades fisicoquímicas similares a los plásticos derivados del petróleo, el cual las bacterias acumulan en condiciones de escasa nutrición como reserva de carbono y energía. Existen bacterias naturalmente productoras de PHB, sin embargo estas tienen limitaciones para ser utilizadas en la industria, como son largos tiempos de duplicación, producción de phb depolimerasa, incapacidad para metabolizar azúcares de cinco carbonos, etc., Por otro lado, existen microrganismos como Escherichia coli que tiene la habilidad de utilizar hexosas y pentosas, tolera diferentes condiciones de estrés y puede ser modificada genéticamente debido a que se cuenta con su genoma secuenciado. En este sentido, en el presente trabajo, se evaluó la producción de PHB en las cepas KO11 pgi-, KO11 E35 y KO11 PPAL- derivadas de Escherichia coli KO11 transformadas con el plásmido pPHB_{Av} que contiene el operón de síntesis de PHB de Azotobacter vinelandii. El crecimiento, consumo de azúcares y producción de PHB fueron avaluados en cultivos con las cepas transformantes (KO11 pgi-/pPHB_{Av}, KO11 E35/pPHB_{Av} y KO11 PPAL-/pPHB_{Av}) en medio M9 suplementado con glucosa 10 g/L y 0.1 mM de IPTG. Las cepas en las cuales se incrementó la expresión de los genes de síntesis de PHB mostraron una mayor velocidad específica de crecimiento (µ) en comparación con el control y las no inducidas. De las tres cepas evaluadas, KO11 pgi-/pPHB_{AV} con IPTG mostró una mayor concentración de PHB (0.635 mg/L) en comparación con KO11 E35/pPHB_{AV} y KO11 PPAL- $/pPHB_{Av}$.

INTRODUCCIÓN

La ingeniería en vías metabólicas ha contribuido en el diseño de biocatalizadores para obtener metabolitos de interés industrial, para generar sustitutos de productos derivados de los combustibles fósiles, con el objetivo de reducir la contaminación y disminuir costos de obtención. Uno de estos metabolitos es el polihidroxibutirato (PHB).

El PHB es un polímero biodegradable el cual tiene propiedades fisicoquímicas similares a los plásticos derivados del petróleo, el cual las bacterias acumulan en condiciones de escasa nutrición como reserva de carbono y energía. Ha sido producido industrialmente desde hace 30 años, sin embargo, por su alto costo de obtención, no ha sido utilizado ampliamente. Cabe mencionar que pueden utilizarse sustratos económicos con la finalidad de reducir costos de producción, por ejemplo: aguas residuales domésticas, bagazo de agave, entre otras (Verlinden *et al.*, 2007; Ceyhan y Ozdemir, 2011).

A pesar de que existen microorganismos que son naturalmente productores de PHB, como *Azotobacter vinelandii* y *Ralstonia eutropha*, estos microorganismos tienen algunas limitaciones para ser usados en la industria como: largos tiempos de duplicación, incapacidad para metabolizar azucares de cinco carbonos, producción de enzimas de tipo hidrolasa (PHB depolimerasa), entre otras (Wisselink *et al.*, 2007; Cuervo *et al.*, 2009).

Las cepas KO11 *pgi*-/pPHB_{AV}, KO11 E35/ pPHB_{AV} y KO11 PPAL-/pPHB_{AV} fueron desarrolladas con la finalidad de incrementar el flujo de carbono hacia la síntesis de etanol, no obstante se ha observado que estas modificaciones en el metabolismo central generan niveles altos de NADPH y piruvato, precursores de la síntesis de PHB. Esto también ha sido reportado por Centeno-Leija y colaboradores en el 2013 donde observaron un incremento del 73% el rendimiento de producción de PHB en medio mínimo con glucosa, mediante la sobreexpresión del gen *gapN* que codifica para una gliceraldehido 3-fofato deshidrogenasa dependiente de NADP+ de *Streptococcus mutans*, la cual genera incrementos en los niveles de NADPH y la disponibilidad de acetil-CoA hacia la vía de síntesis de PHB en una cepa transformante de *E. coli* MG1655/pPHB_{AV} inactivada en el operón *ackA-pta* de la vía de síntesis de acetato.

Por tanto en este trabajo se evaluó la producción de PHB mediante la expresión de genes que codifican para enzimas de las vías de síntesis de PHB en las cepas obtenidas mediante transformación: KO11 *pgi-*/pPHB_{Av}, KO11 E35/ pPHB_{Av} y KO11 PPAL pPHB_{Av}. Esto con la finalidad de identificar la cepa que tenga una mejor producción, pudiendo en un futuro ser utilizada para producción a nivel industrial.

PARTE EXPERIMENTAL

Cepas y plásmido: A partir de la cepa hospedera (*E. coli* XL1-Blue/pPHBAv), se realizó la extracción del plásmido pPHBAv por la técnica de miniprep por lisis alcalina (Maniatis, 1989). Dicho plásmido fue facilitado por el laboratorio de Ingeniería de vías metabólicas del Instituto de Biotecnología de la UNAM. Las cepas y plásmido empleados en este trabajo, así como sus características se enumeran en la cuadro 1. Se preparon células competentes de las cepas para realizar transformaciones, de acuerdo al protocolo descrito para la técnica de CaCl2 (Mandel e Higa, 1970).

Cuadro 1. Cepas y plásmidos utilizados en este trabajo.

Cepas	Genotipo	Referencia
E.coli KO11 pgi-	E.coli W pfl::pdc adhB, Δfrd, Δpgi	Huerta-Beristain, 2009
E.coli KO11 E35	E.coli W pfl::pdc adhB, Δfrd, Δpgi. Evolucionada	Huerta-Beristain, 2009
E.coli KO11 PPAL-	KO11 E35 Δ <i>pta-ack</i> , Δ <i>idh</i>	Huerta-Beristain, 2009
E.coli XL1-Blue	Célula hospedera del plásmido pPHB _{AV}	Centeno-Leija et al., 2014
E. coli KO11 pgi- /pPHB _{AV}	KO11 <i>pgi</i> - conteniendo el plásmido pPHB _{AV}	Este trabajo
E. coli KO11 E35/pPHB _{AV}	KO11 E35 conteniendo el plásmido pPHB _{AV}	Este trabajo
E. coli KO11 PPAL-/pPHB _{AV}	KO11 PPAL- conteniendo el plásmido pPHB _{AV}	Este trabajo

Plásmidos	Características	Referencia
pPHB _{AV}	Derivado de pTrc99A que contiene los el operón <i>phb</i> BAC con los genes <i>phb</i> B _{Av} - <i>phb</i> A _{Av} - <i>phb</i> C _{Av} bajo el promotor <i>trc</i> y resistencia a ampicilina.	Centeno-Leija et al., 2014.

Medios y condiciones de cultivo: El desarrollo del inoculo se realizó en matraces de 500 mL con 200 mL de medio M9 con 5 g/L de glucosa. Se incubo a 37°C, 120 rpm durante 16 horas; después de este tiempo las células fueron cosechadas por centrifugación a 8000 rpm por 3 minutos. Se centrifugaron los mililitros necesarios para alcanzar una DO_{600nm} inicial en el cultivo fresco de 0.1. La determinación de PHB se llevó a cabo en matraces de 500 mL con 200 mL de medio suplementado con glucosa 10 g/L, incubándose a 37°C en agitación a 120 rpm. La ampicilina y el IPTG fueron adicionados en la concentración de 200 μg/mL y el 0.1 mM.

Análisis de metabolitos: Las muestras de obtenidas de los cultivos fueron centrifugadas (8000 rpm, 5 min) y guardadas a -20°C para análisis posteriores. Para cuantificar crecimiento celular se monitoreo por densidad óptica DO_{600nm} en un biofotómetro (Eppendorf AG 22331 Hamburg). La concentración de glucosa fue determinado por HPLC utilizando una columna Aminex HPX-87H y H₂SO₄ 5 mM como fase móvil (0.8 mL/min) a 50°C. La detección de los compuestos se realizó con un detector IR 30°C 32X. El análisis y procesamiento de datos se realizó con el sistema Milenium (Versión 3.01 Waters).

Cuantificación de PHB: Al finalizar el tiempo de cultivo, se centrifugo (2000 rpm, 8 min) la cantidad final fue aproximadamente 150 mL). El pellet se lavó con 10 mL de solución salina y se centrifugo a 2200 rpm por 10 minutos. Posteriormente el pellet fue resuspendido en 5 mL de hipoclorito de sodio al 4% y después incubado a 37°C por 10 minutos en agitación. El extracto fue centrifugado a 2200 rpm durante 20 minutos y el pellet se lavó con 10 mL de éter etílico. Finalmente se centrifugo a 8000 rpm y el PHB purificado fue secado a peso constante (105°C por 24 horas) (Ceyhan y Ozdemir, 2011).

RESULTADOS

Obtención de las cepas $E.~coli~KO11~pgi-l~pPHB_{Av}$, $E.~coli~KO11~E35/~pPHB_{Av}$ y $E.~coli~KO11~PPAL-l~pPHB_{Av}$. A partir de la cepa E.coli~XL1-Blue/ $PPHB_{Av}$, se obtuvo el plásmido $PPHB_{Av}$, con el cual las cepas de E.~coli~KO11~pgi-, $E.~coli~KO11~E35~y~E.~coli~KO11~PPAL-fueron transformadas, obteniendo las cepas transformantes <math>E.~coli~KO11~pgi-l~pPHB_{Av}$, $E.~coli~KO11~E35/~pPHB_{Av}$ y $E.~coli~KO11~PPAL-l~pPHB_{Av}$. Para validar la presencia de los plásmidos en las diferentes cepas transformantes, se realizó la extracción, digestión y electroforesis en gel de agarosa de plásmidos transformados.

Cultivos de las cepas *E. coli* KO11 pgi- $pPHB_{Av}$, *E. coli* KO11 E35/ $pPHB_{Av}$ y *E. coli* KO11 pgi- $pPHB_{Av}$. El crecimiento, consumo de glucosa y producción de PHB fueron evaluados en las cepas transformantes *E. coli* KO11 pgi- $pPHB_{Av}$, *E. coli* KO11 E35/ $pPHB_{Av}$ y *E. coli* KO11 pgi- $pPHB_{Av}$ en medio M9 suplementado con glucosa 10 g/L con 0.1mM y sin IPTG. Todos los cultivos fueron comparados con las cepas sin transformar (control).

La biomasa generada por las cepa E. coli KO11 pgi-/pPHB $_{Av}$ con IPTG alcanza concentraciones ligeramente más altas (0.8 g/L) que en la cepa control (0.6 g/L), sin embargo este incremento fue mayor en la cepa transformante en presencia de IPTG (3 g/L) a las 50 h de iniciado el cultivo

(figura 1). El consumo de glucosa en *E. coli* KO11 *pgi-*/pPHB_{Av} con y sin IPTG fue de 5.9 y 4.2 g/L respectivamente, en ambas cepas fue menor con respecto a la cepa control (6.3 g/L). Respecto a la velocidad especifica de crecimiento (μ) es similar en la cepa transformante con IPTG respecto al control (0.11 y 0.10 h⁻¹) pero mayor comparando con la transformante sin IPTG (0.06 h⁻¹) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Velocidad especifica de crecimiento (µ) de las cepas en estudio y el control

Сера	μ (h ⁻¹)	Valor de <i>p</i>
E. coli KO11 pgi-	0.10±0.013	0.0075*
E. coli KO11 pgi-/pPHB _{Av}	0.06±0.007	*1
E. coli KO11 pgi-/pPHB _{Av} +IPTG	0.11±0.009	*
E. coli KO11 E35	0.04±0.016	0.0005*
E. coli KO11 E35/pPHB _{Av}	0.08±0.006	*2
E. coli KO11 E35/pPHB _{Av} +IPTG	0.13±0.006	*
E. coli KO11 PPAL	0.01±0.016	0.1562
E. coli KO11 PPAL/pPHB _{Av}	0.06±0.032	
E. coli KO11 PPAL/pPHB _{Av} +IPTG	0.12±0.041	

^{*}mostró diferencia significativa en análisis de varianza con valor <0.05. Test de Bonferroni indica diferencias significativas entre: *1 *pgi*- y *pgi*-/pPHB_{Av} 0.015 ; *pgi*-/pPHB_{Av} y *pgi*-/pPHB_{Av+}IPTG: 0.045. *2 E35 y E35/pPHB_{Av} +IPTG 0.005 y E35/pPHB_{Av} y E35/pPHB_{Av} +IPTG 0.006.

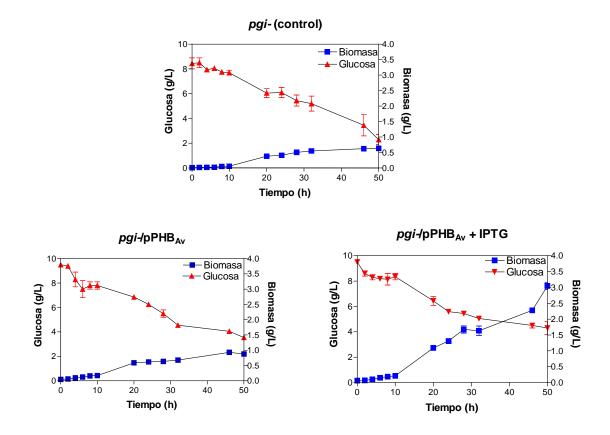


Figura 1. Cinéticas de crecimiento y consumo de glucosa de las cepas *E. coli* KO11 *pgi-*, *E. coli* KO11 *pgi-*/pPHB_{Av} y *E. coli* KO11 *pgi-*/pPHB_{Av} más inductor. Se muestran datos de triplicados (biomasa) y duplicados (glucosa) y su desviación estándar.

En la figura 2, se muestra la biomasa generada por *E. coli* KO11 E35/pPHB_{Av} sin IPTG a las 28 horas muestra concentraciones similares (0.6 g/L) respecto al control (0.6 g/L), por el contrario, *E. coli* KO11 E35/pPHB_{Av} con IPTG tiene una concentración de biomasa elevada (2 g/L) respecto al control. El consumo de glucosa por *E. coli* KO11 E35/pPHB_{Av} con y sin IPTG fue menor (5.25 g/L y 4.35 g/L) respectivamente en comparación del control (6.6 g/L). Respecto a μ , en *E. coli* KO11 E35/pPHB_{Av} con IPTG es mayor (0.13 h⁻¹) comparada con *E. coli* KO11 E35/pPHB_{Av} sin IPTG y el control (0.08 y 0.04 h⁻¹) respectivamente. (Cuadro 2).

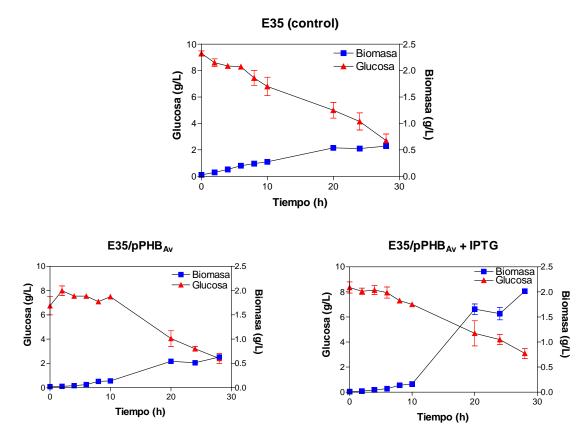


Figura 2. Cinética de crecimiento y consumo de glucosa de las cepas *E. coli* KO11 E35, *E. coli* KO11 E35/pPHB_{Av} y *E. coli* KO11 E35/pPHB_{Av} con inductor. Se muestran datos de triplicados (biomasa) y duplicados (glucosa) y su desviación estándar.

E. coli KO11 PPAL-/pPHB_{Av} sin IPTG muestra a las 46 horas, respecto al control, una ligera disminución en cuanto a concentración de biomasa (0.3 y 0.5 g/L respectivamente) (Figura 3); Sin embargo, *E. coli* KO11 E35/pPHB_{Av} con IPTG tiene una concentración de 0.7 g/L, mayor comparando con los dos anteriores. En consumo de glucosa, *E. coli* KO11 PPAL-/pPHB_{Av} con IPTG muestra un consumo mayor (6.9 g/L) comparando con *E. coli* KO11 PPAL-/pPHB_{Av} sin IPTG y el control (5.57 y 5.45 g/L respectivamente. *E. coli* KO11 PPAL-/pPHB_{Av} con y sin IPTG tienen una μ 0.12 y 0.06 h⁻¹ respectivamente (Cuadro 2).

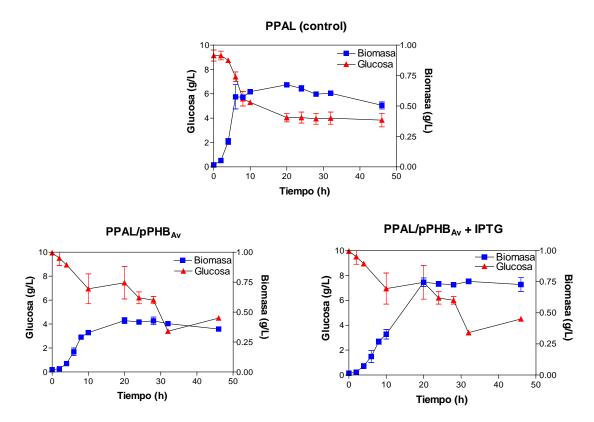


Figura 3. Cinética de crecimiento, consumo de glucosa y producción de etanol y ácido acético de las cepas *E. coli* KO11 PPAL *E. coli* KO11 PPAL /pPHB_{Av} y *E. coli* KO11 *PPAL*-/pPHB_{Av} más inductor. Se muestran datos de triplicados (biomasa) y duplicados (glucosa) (KO11 PPAL /pPHB_{Av} + IPTG se muestra datos de una corrida*) y su desviación estándar.

Producción de PHB: De acuerdo a la figura 4, la cepa E. coli KO11 pgi-/pPHBAv + IPTG muestra mayor concentración de PHB en comparación con E. coli KO11 pgi-/pPHBAv (0.635 y 0.012 mg/mL respectivamente). Respecto a E. coli KO11 E35/pPHBAv, podemos observar que la cantidad de PHB producido es menor (0.048 mg/mL) respecto a E. coli KO11 E35/pPHBAv más IPTG (0.508 mg/mL). Interesantemente, caso contrario sucede en E. coli KO11 PPAL-/pPHBAv más IPTG, debido a que se cuantifico una cantidad menor (0.039 mg/mL) respecto a la cepa sin inductor (0.112 mg/mL).

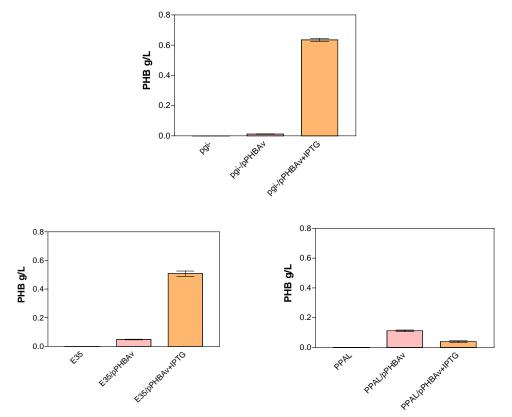


Figura 4. Concentración de PHB cuantificada en cada una de las cepas en estudio.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron las cepas transformantes KO11 pgi-/pPHBAv, KO11 E35/ pPHBAv y KO11 PPAL-/pPHBAv. De las tres cepas evaluadas, KO11 pgi-/pPHB_{Av} con IPTG mostró una mayor concentración de PHB (0.635 mg/L) en comparación con KO11 E35/pPHB_{Av} y KO11 PPAL-/pPHB_{Av}.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Verlinden, R., Hill, D., Kenward, C., Wlilliams, C., Radecka, I. (2007). Bacterial synthesis of biodegradable polyhydroxyalkanoates. *Journal of Applied Microbiology*. 102(6),1437–1449.
- 2. Ceyhan, N., Ozdemir, G. (2011). Poly-β-hydroxybutyrate (PHB) production from domestic wastewater using Enterobacter aerogenes. African Journal of Microbiology Research, 5(6), 690–702.
- 3. Wisselink, H., Toirkens, M., Franco, M., Winkler, A., van Dijken, P., Pronk, J., Van Maris, A. (2007). Engineering of Saccharomyces cerevisiae for efficient anaerobic alcoholic fermentation of L-arabinose. Applied and Environmental Microbiology, 73(15), 4881–4891.
- 4. Cuervo, L., Folch, J., Quiroz, R. (2009). Lignocelulosa como fuente de azúcares para la produccion de etanol. Bio Tecnología, 13(3), 11-25.
- Centeno-Leija, S., Huerta-Beristain, G., Giles-Gomez, M., Bolivar, F., Gosset, G., Martinez, A. (2014). Improving poly-3-hydroxybutyrate production in Escherichia coli by combining the increase in the NADPH pool and acetyl-CoA availability. Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology, 105(4), 687–696.

- 6. Maniatis T., Fritsch E. F., Sambrook J. 1982. Molecular cloning: A laboratory manual. Cold Spring N. Y.Cold spring harbor laboratory press. pp. 68-69.
- 7. Mandel M, Higa A. (1970). Calcium-dependent bacteriophage DNA infection. J Mol Biol. Oct. 14; 53 (1):159-62
- 8. Huerta-Beristain, G. Modificación del metabolismo central del carobono mediante la introducción de la vía de Entner-Doudoroff de Zymomonas mobilis en Escherichia coli etanologénica. [Tesis de Doctorado]. México: Universidad Nacional Autonoma de México. (2009).

¿CÓMO OBTENER ALIMENTOS SANOS Y NUTRITIVOS?

Eugenia Erica Vera Cervantes, Olga Leticia Fuchs Gómez, Yadira Navarro Rangel, Ramsés Eduardo Salazar Vera

Facultad de Ciencias de la Computación BUAP, eevclibra@gmail.com

Facultad de Ciencias de las Matemáticas, letyfuchs@gmail.com

Facultad de Ciencias de la Electrónica BUAP, <u>ynavarro44@gmail.com</u>

Oviedo Schonthal, ramseseduardo05@gmail.com

RESUMEN

Introducción: En Puebla enfrentamos un grave problema de mala alimentación, por esto se estudian los hábitos de alimentación y necesitamos saber cómo obtener alimentos nutritivos. Método. En este trabajo se creó un cuestionario de hábitos de alimentación que se emplea para indagar cómo es la alimentación de las personas y como obtener alimentos nutritivos, de los datos obtenidos se realiza una descripción de los resultados. Resultado. Se muestra donde encontramos los alimentos nutritivos y como son los hábitos nutritivos de una muestra de personas.

INTRODUCCIÓN

Hay ciertos alimentos que deben estar presentes en nuestras comidas del diario, debido a que los nutrientes que contiene son tan completos.

El objetivo de este trabajo es mostrar si la mayoría de las personas consume una variedad de alimentos. Qué alimentos compran las personas. Como es su alimentación. Donde obtienen alimentos sanos y nutritivos.

TEORÍA

Diferencia entre nutrición y alimentación.

Alimentación. Es un proceso que consiste en la elección, preparación e ingestión de los alimentos. Nutrición. Es un proceso por el que el organismo transforma los alimentos a través de cuatro procesos: digestión, respiración, circulación y excreción, para que sus componentes puedan ser utilizados por las células.

La diferencia radica en que se nutre un cuerpo por medio de la alimentación, pero esta alimentación tiene que ser balanceada, sino no es nutritiva.

Si no satisfacemos las necesidades nutrimentales de nuestro organismo, resultarán afectadas diversas funciones, como: deterioro en los huesos, deterioro de las células, deterioro de las neuronas, mal funcionamiento del sistema digestivo, mal funcionamiento del sistema nervioso, problemas en la piel, daño en el hígado, deterioro de la vista.

Los nutrientes son los encargados de suministrar a nuestro organismo los materiales necesarios para la construcción, mantenimiento, renovación y reparación del cuerpo humano, así como de regular las numerosas reacciones químicas que en él se producen.

El exceso en el consumo de ciertos alimentos puede alterar nuestra salud y en algunos casos ponernos en riesgo de padecer enfermedades graves como: el exceso de sal, azúcar y grasas puede desatar enfermedades como la diabetes, el sobrepeso y la hipertensión.

AZÚCAR: El dulce excesivo causa más muertes La diabetes es una de las enfermedades principales que desencadena el consumo de azúcar. Ésta a su vez desencadena problemas como ceguera, alteraciones renales e incluso amputaciones de las extremidades.

GRASAS: Las grasas trans son analizadas. Este producto es uno de los principales ingredientes de la industria de alimentos procesados. Pero es también causante del aumento de enfermedades cardiovasculares y obesidad.

Sal: La presión alta es frecuente en el país.]] El consumo excesivo de la sal eleva la presión arterial. De allí se desencadenan otras enfermedades como la hipertensión, infartos, retención de líquidos, enfermedades renales, problemas cardiovasculares y cerebrovasculares.

El cardiólogo Marco López señala que también las hemorragias y los problemas circulatorios están relacionados con la mala alimentación, sobre todo con el consumo excesivo de grasas y de sal. "No se debe consumir más de 5 gramos de sal al día, contenidos en los diferentes alimentos", dice Ximena Caamaño, nutricionista. Para la especialista, el exceso de sodio es perjudicial para el organismo, más cuando la persona tiene una vida sedentaria. La anemia por falta de hierro, Osteoporosis falta de calcio, Pelagra o inflamación de la piel, pérdida de memoria causada por falta de vitamina B, enfermedades de los ojos por falta de vitamina A, enfermedades de los nervios, Agotamiento crónico, nerviosismo por falta de vitamina B, mal funcionamiento del metabolismo por falta de vitamina D.

No todos los nutrientes son iguales. Los nutrientes esenciales son sustancias que el cuerpo no puede producir o lo hace de forma insuficiente y deben obtenerse de la dieta, mientras que los nutrientes no esenciales son producidos por el organismo a partir de otros componentes. El cuerpo metaboliza los nutrientes de formas diferentes.

Los nutrientes se dividen en dos grandes grupos: macronutrientes y micronutrientes.

Los Macronutrientes aportan energía y materiales básicos que el cuerpo necesita para crecer y cuidarse: Carbohidratos, hidratos de carbono o glúcidos, proteínas, grasas o lípidos

Los micronutrientes son principalmente las vitaminas, los minerales y los oligoelementos.

La Clasificación de los micronutrientes

- 1. Vitaminas: hidrosolubles, liposolubles.
- 2. Minerales: macrominerales, oligoelementos.

¿Cómo se aprovechan los nutrimentos en nuestro organismo?

Los alimentos se comienzan a digerir en la boca, donde las enzimas de la saliva empiezan a romper las moléculas complejas en más simples. Los alimentos masticados pasan a través del esófago y del estómago con una mínima digestión adicional. En el intestino delgado, se descomponen en moléculas más simples, que luego son absorbidas a través de las paredes de dicho intestino dentro del torrente sanguíneo y son utilizadas por el cuerpo como nutriente.

Los hidratos de carbono

Los carbohidratos se comienzan a digerir en la boca, donde las enzimas de la saliva empiezan a romper las moléculas complejas en azúcares más simples. Los carbohidratos masticados pasan a través del esófago y del estómago con una mínima digestión adicional. En el intestino delgado, se descomponen en moléculas de azúcar más simple, que luego son absorbidas a través de las paredes de dicho intestino dentro del torrente sanguíneo y son utilizadas por el cuerpo como combustible o enviadas para su almacenamiento en el hígado para su uso en un momento posterior. La fibra, las paredes celulares no digeribles que se encuentran en alimentos de carbohidratos de origen vegetal tales como las arvejas, arroz integral y pan integral, pasa a través del tracto digestivo esencialmente sin digerir.

Las proteínas

Las proteínas se encuentran en la carne, los huevos, los productos lácteos y las arvejas y son utilizadas por el cuerpo para construir el músculo y los órganos. Las moléculas de proteínas son muy grandes. Masticar ayuda a descomponer las proteínas en partículas más pequeñas para la digestión. La digestión química de proteínas comienza en el estómago, donde las enzimas comienzan a suavizar dichas moléculas. Un número de enzimas, incluidas las sustancias del páncreas, luego rompen las proteínas en sus componentes aminoácidos en el intestino delgado. Los aminoácidos se absorben a través de la pared de dicho intestino en el torrente sanguíneo y se distribuye por todo el cuerpo para reparar lesiones y reemplazar las células que mueren.

Las grasas

Las grasas y los aceites no se disuelven fácilmente en los jugos digestivos acuosos del tracto intestinal. La bilis, producida por el hígado y almacenada en la vesícula, se puede unir a moléculas de agua y grasa. La bilis rompe conglomerados de grasa en el tracto digestivo en pequeñas partículas emulsionadas, donde la lipasa, una enzima que digiere la grasa, puede romperla. Las partículas de grasa rotas - ácidos grasos y colesterol - son absorbidos a través de las paredes intestinales hacia la corriente sanguínea, donde se acumulan en las venas torácicas y son transportadas a las zonas de depósito de grasa de todo el cuerpo para ser almacenadas y utilizadas para combustible cuando sea necesario.

Las vitaminas

Como los alimentos se descomponen por los jugos digestivos, los intestinos también absorben las vitaminas necesarias para su uso en una variedad de funciones corporales, desde la lucha contra la inflamación a la reparación de daños en los nervios. Las vitaminas solubles en agua, tales como el complejo B y C sólo se absorben a través de las paredes intestinales en la medida en que el cuerpo tenga una necesidad inmediata de ellas; cualquier exceso se excreta en la orina, y nuevas cantidades de estas vitaminas deben ser consumidas cada día para una óptima salud. Las vitaminas solubles en grasa como la A, D, E y K se absorben a través de las paredes intestinales y se almacenan en el hígado y en el tejido adiposo, o en la grasa del cuerpo, para su uso cuando sea necesario.

¿Qué sucede con la glucosa que no es usada por el cuerpo y qué órganos participan en esta transformación?

El exceso de este tipo de alimentos en la dieta es responsable del aumento de peso.

La glucosa, es transportada al interior celular por medio de proteínas específicas que facilitan el transporte localizadas en la membrana celular. Estas proteínas, reconocen a la glucosa y a otras aldohexosas, e incrementan la velocidad del paso de glucosa hacia adentro o afuera de la célula, según sean las necesidades energéticas del organismo. Cuando el organismo se encuentra en reposo, los carbohidratos no utilizados inmediatamente, son introducidos al interior celular para almacenarse en forma de glucógeno en los animales o almidón en los vegetales. En condiciones de alta demanda energética -ejercicio- primeramente se utilizan las reservas internas de las células y posteriormente, en el caso de los animales, el hígado que es el órgano de almacenamiento de carbohidratos, secreta glucosa al torrente sanguíneo para mantener la glicemia en niveles normales.

DESARROLLO

Alimentos nutritivos en Puebla

A continuación les presentamos algunos alimentos principales para una buena salud.

Las espinacas: las puedes incluir en la comida diaria ya que disminuye la posibilidad de que padezcas de una degeneración de la vista que puede causar ceguera irreversible en las personas mayores.

Los tomates: Lo puedes utilizar para combatir caspa, tina y sarna, si lo cocina con un poco de aceite este caretoide se absorbe más fácil, el tomate rojo tiene una gran cantidad de betacaroteno.

Huevo: Contiene vitamina a, complejo b, la yema tiene 16% de vitaminas como la a, e y d que disuelven la grasa, además contiene dos caretoide que le permiten prevenir la degeneración de la vista, el omega 3, presente en el huevo, es fundamental para desarrollo del cerebro, los ojos y el sistema nervioso de los niños, en los embarazos previene la preeclampsia y el riesgo de un parto prematuro, se recomienda comer 5 huevos por semana.

Las papas: Son ricas en vitamina c, potasio y sodio, las puedes utilizar para aliviar el dolor y la inflamación, y para bajar de peso y reducir los infartos.

Toronja, naranja, piña, fresa, kiwi, mandarina: Cualquiera de estas frutas son ricas en vitamina c, se ocupan para disminuir el colesterol, dolor de garganta, problemas de encías, y molestias corporales y para aliviar la inflamación de pies, en el caso de la toronja contiene en su pulpa licopeno que ayuda a combatir el cáncer.

El brócoli: contiene mucha fibra, ácido fólico, acido patogénico y vitamina c, calcio y potasio, se utiliza para que puedas prevenir el colesterol, y las infecciones causadas por hongos, para la úlcera y combatir los dolores lumbares, calambres abdominales y la artritis, contiene un compuesto llamado sulfato glucosilonate que puede ayudar a prevenir el cáncer de seno.

La zanahoria: Contiene un alto contenido de fibra dietética, potasio y yodo, estimula a la producción de leche materna y es alcalina, previene el cáncer, ayuda a disminuir la artritis y le permite sanar más rápido de los golpes.

La soya: Es nutritiva debido a su alto porcentaje de proteínas, carbohidratos, ácidos grasos esenciales, fibra y vitamina b, tiene varios minerales como el potasio, fósforo, hierro, magnesio y cobre, ayuda a reducir el colesterol y desórdenes cardiacos y puede evitar la osteoporosis.

Alimentación de las personas en Puebla

Para conocer los hábitos de alimentación de las personas de Puebla se les aplicó una encuesta a una muestra de 150 personas al azar y nos dicen lo siguiente:

El 67% las personas desayunas diariamente, 27% a veces y 7% no desayuna. Son 53% personas que prefieren desayunar cereal y 47% personas que prefieren desayunar huevo, tocineta, tostadas o sandwish. Si no están en su casa 27% personas prefieren ir a un subway, 13% personas a una panadería, 27% no desayunan y 33% visitan un restaurante. En una merienda 87% personas prefieren comer fruta, 7% persona empanadilla y otra cualquier snak. Para almorzar 33% personas prefieren una simple ensalada, 13% ir a un fast food y 53% comer en casa. Para cenar 40% personas prefieren carnes o mariscos, 27% prefieren sopa, 33% personas ensalada. 80% personas prefieres tomar agua, 7% refresco y 13% gatorade cuando tienen sed. Consumes bebidas alcohólicas 27% personas, 40% no consumen y 33% a veces consumen. Normalmente, cuando están aburridos en casa 7% persona consume cualquier comida en microonda, 3 comen snacks, 11 personas lo que encuentren en la nevera. El fast food favorito de 40% personas es subway, de 33% es Burger King o Mc Donal y 27% KFC o Pollo Tropical. Un viernes en la noche, salen con mucha prisa hacia el cine y no comen, el 73% de las personas comen pop corn, nachos o cualquier dulce y 27% esperan que termine la película para comer afuera. Si andan una tarde por el pueblo y les da mucha hambre, 27% personas compran hot dog, una hamburguesa, 67% personas buscan la cafetería más cercana y 7% imposible comer en un pueblo. 67% personas han tenido una buena enseñanza en cuanto a la buena alimentación, 7% no han tenido una buena enseñanza y 27% regular. 80% personas consideran que sus padres se preocupan por tu buena alimentación, 7% persona considera que no y 13% regular. 73% personas hacen ejercicio para practicar deporte, 7% de las persona para quemar calorías y 20% no hacen ejercicio. 13% personas se consideran flacos, 20% obesos y 67% normales. 60% personas consideran que comen según la pirámide alimentaria y 40% que no. Todos creen que la sociedad no se está alimentando adecuadamente debido a que tenemos malos hábitos, cada vez queremos comida rápida y no hay una cultura alimenticia. Los lugares que conocen en puebla de comida nutritiva son: La Zanahoría y 67% "0% natural", Nuttrisa y subway

Establecimientos o lugares en Puebla que ofrecen alimentos nutritivos

Visitamos la tienda de la colonia y concluimos que la mayoría de los productos que se vende no son alimentos nutritivos, son alimentos procesados como papas, refrescos, chicharrones, etc.

Algunos alimentos tienen un bajo contenido de nutrientes y alto costo, por ejemplo las bebidas gaseosas (bebidas embotelladas con gas), paletas o chupetes helados y dulces, que contienen esencialmente azúcar y por lo tanto son malos para los dientes. Estos alimentos no deberían ofrecerse con frecuencia a los niños, es mejor limitarlos a un consumo esporádico y ocasiones especiales.

Algunos alimentos fortificados con micronutrientes, como la sal y los alimentos básicos (como harinas de cereales) fortificados con hierro y otros nutrientes, que usualmente no cuestan mucho más que las variedades no fortificadas, pueden proporcionar algunas ventajas nutricionales a un costo aceptable.

Los lugares de comida nutritiva en Puebla son: La Zanahoría y 100% natural, Nuttrisa y subway.

En casa consigo alimentos nutritivos

Se realizó una observación diaria de los alimentos que consumen en casa y como los obtienen y quien los obtiene.

Los alimentos los compran las amas de casa en el mercado cada domingo compran: pollo, carne, pescado, verduras, frutas, queso, etc. y los guardan en refractarios de plástico duro y de vidrio para que se conserven, cada día sacan del refrigerador verduras, carne y preparan la comida y así lo hace durante toda la semana, los viernes se termina lo que compraron, entonces el sábado y domingo comen en la calle. Consideramos que las amas de casa se preocupa por que la comida sea fresca y que contenga alimentos nutritivos.

Sin embargo los abuelos tienen árboles de diferentes alimentos como árbol de limón, aguacate, jitomates y verduras como rábanos, cada vez que necesitan algo lo cortan de sus árboles.

CONCLUSIONES

Consideramos que los lugares donde encontramos los alimentos nutritivos son en el mercado, pero si contamos con un área de jardín podemos crear algún huerto de verduras y tomar los alimentos de ahí.

También conocimos los hábitos alimenticios de algunas personas y concluimos que prefieren la comida rápida por la vida tan agitada que llevamos, consideran que hace falta una cultura de una buena alimentación y que persisten los malos hábitos alimenticios.

Sin embargo la mayoría de las personas conocen lugares donde ofrecen comida nutritiva en Puebla son: La Zanahoría y 100% natural, Nuttrisa y subway, consideramos que es bueno que existan lugares que proporcionan alimentación nutritiva, sin embargo debemos seguir inculcando la buena alimentación en nuestra gente.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Proyecto de integración y aplicación. http://www.encolombia.com/museos-huerto.htm
- 2. Fundación Campaña de alimentación saludable MAPFRE
- 3. Aporta (2017) Alimentación por la educación.

MANEJO COMERCIAL POSTCOSECHA DE PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS EN SALINAS, SAN LUIS POTOSÍ

Carmen Adriana Salinas López, Edgar Alejandro Berrospe Ochoa, Laura Araceli López Martínez

Coordinación Académica Región Altiplano Oeste, UASLP. edgar.berrospe@uaslp.mx

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue evaluar el manejo postcosecha de productos hortofrutícolas que es implementado a nivel comercial en la ciudad de Salinas. San Luis Potosí, mediante la realización de encuestas, recursos digitales y georeferenciación como instrumentos de trabajo, para establecer productos comercializados, condiciones de manejo, consumo y desperdicio. Para la realización del trabajo se tomó una muestra aleatoria de 50 empresas que ofertan productos hortofrutícolas, las cuales fueron entrevistadas del 1º al 25 de febrero de 2017, registrando: ubicación geográfica, tamaño de punto de venta, lugar de abastecimiento, regularidad de abastecimiento, clientes principales, especies vegetales comercializadas, manejo de cadena de frío, desperdicios y capacitación. El 46% de los puntos de venta ocupan superficies de entre 10 y 20 m², surtiéndose principalmente de la ciudad de San Luis Potosí (52%) de forma regular cada 3^{er} día (60%), para atender principalmente al mercado doméstico (90.91%). Como productos hortofrutícolas comercializados se encontraron 8 especies de hortalizas, 11 frutas y 4 legumbres. Solo el 14% de las empresas han recibido capacitación sobre el manejo postcosecha, sin embargo el 60% cuenta con refrigeración doméstica. Se observó que el 84% de las empresas pierden un 25% de los productos hortofrutícolas desde la compra en el punto de abastecimiento y que el 72% de éstas tienen un 25% de pérdida posterior por maltrato del cliente. Se concluye que los habitantes de la ciudad de Salinas basaron su alimentación en el mes de febrero de 2017 en 23 especies hortofrutícolas y que las empresas comercializadoras perdieron el 43.75% por desperdicio y mal manejo postcosecha.

INTRODUCCIÓN

La población mundial actual es de alrededor de 7500 millones de habitantes de los cuales la población mexicana representa el 1.64 % (FAO, 2017) y de ésta el 2.3% se ubica en el estado de San Luis Potosí y en específico 1.6% del total estatal vive en la ciudad de Salinas (INEGI, 2015); estos habitantes para su subsistencia requieren del suministro de diversos satisfactores, dentro de los cuales se encuentran los alimentos.

La FAO (2017) pronostica que para el año 2050 la población se incrementará en un 34%, donde el 70% radicará en zonas urbanas, por lo que se necesitará aumentar la producción actual en un 70% para satisfacer la demanda de alimentos.

Actualmente se estima que los países desarrollados tienen una pérdida *per cápita* de alimentos de 95 a 115 kg año⁻¹, por lo cual se considera que las altas perdidas se deben al comportamiento del consumidor y a la falta de coordinación entre los diferentes actores de la cadena de suministro, así como a la prácticas mercadológicas basadas en estándares que eliminan productos potencialmente comestibles pero con atributos de calidad no aptos para su comercialización (FAO, 2012).

Salinas, San Luis Potosí es una ciudad ubicada en las coordenadas 22°37'39" N y 101°42'52" O a una altitud de 2,070 msnm, con una población de 35 mil habitantes (INEGI, 2017), donde los principales vegetales producidos son alfalfa (1.6%), cebolla (2.3%), chile verde (1.9%), frijol (61.2%), maíz forrajero (1.5%) y de grano (31.4%), jitomate (0.06%) y tuna (0.1%) (SIAP, 2017). Sin embargo, se desconoce el consumo, manejo postcosecha y desperdicio de los productos hortofrutícolas en esta ciudad, lo que representa un problema de vacío de conocimiento en la

cadena de suministro; por lo cual, el objetivo del presente estudio fue evaluar el manejo postcosecha de productos hortofrutícolas que es implementado a nivel comercial en la ciudad de Salinas, San Luis Potosí, mediante la realización de encuestas, recursos digitales y georeferenciación como instrumentos de trabajo, para establecer productos comercializados, condiciones de manejo, consumo y desperdicio.

La información presentada en el presente estudio evidencia: a) el consumo de productos hortofrutícolas; b) el mercado atendido principalmente por las empresas hortofrutícolas; c) el tamaño de las empresas comercializadoras; d) la cantidad de empleados por empresa; e) los lugares de abastecimiento; f) uso de la cadena de frío; g) grado de capacitación técnica en el manejo hortofrutícola; h) tiempos de abastecimiento; e i) desperdicios. Lo anterior, fue base para la identificación de problemáticas que causan la perdida de alimentos y a la vez fundamenta la realización de futuros estudios que promuevan la disminución de la perdida de alimento en la ciudad de Salinas, San Luis Potosí, generando información valiosa para la generación de nuevas investigaciones y paquetes tecnológicos que serán dirigidos a disminuir las perdidas postcosecha de alimentos que en este momento representan un volumen tal que si es gestionado correctamente cubrirá las necesidades de alimento para una población creciente, garantizando la seguridad alimentaria para el año 2050.

PARTE EXPERIMENTAL

El presente estudio se realizó en la ciudad de Salinas, San Luis Potosí, la cual se localiza en las coordenadas geográficas 22°37'39" N y 101°42'52" O a una altitud de 2070 msnm, del 1° al 25 de febrero de 2017. Debido a la nula información estadística sobre la cantidad de expendios hortofrutícolas, se tomó una muestra aleatoria de 50 empresas de forma arbitraria, a la cuales se les aplico un cuestionario, registrando el nombre del establecimiento, las coordenadas geográficas mediante GPS (datos no presentados), superficie del local, número de empleados, lugar de abastecimiento de mercancías y principales clientes, así como, se cuestionó sobre el manejo de la cadena de frío en frutas y hortalizas, cursos de capacitación, lapsos de abastecimiento de mercancías, cantidad de mercancía eliminada durante el abastecimiento, cantidad de mercancía eliminada durante la exposición y venta de los productos. Además mediante inspección visual se registró la presencia de especies vegetales y refrigeradores.

Los datos recabados fueron digitalizados con apoyo del software Microsoft Excel y analizados mediante el programa estadístico SAS System utilizando el procedimiento PROC FREQ.

RESULTADOS

Como resultado del trabajo elaborado se observó que el 46% de los expendios de productos hortofrutícola en la ciudad de Salinas ocupan una superficie para la venta de entre 10 y 20 m², seguidos de establecimientos con una superficie menor a 10 m² (24%) (Figura 1). Los establecimientos con estas dimensiones fomentan el aumento en la humedad relativa, factor importante para la conservación de productos hortofrutícolas al disminuir la deshidratación, pero a su vez generan condiciones para el establecimiento de enfermedades postcosecha imperceptibles pero que afectan la vida de anaquel del producto para el consumidor final sí no son tomados en consideración. Por otra parte, también promueven factores como aumento en la temperatura debida al clima de la región, así como al propio producto y a la presencia de consumidores y trabajadores del expendio, generando calor latente que es transferido a los productos, aumentando así la tasa respiratoria y a la vez generando gases como etileno que en conjunto aceleran la maduración y senescencia de las frutas y hortalizas. Por lo anterior, es necesario ahora conocer el comportamiento climático y atmosférico, así como su interacción con los productos hortofruticolas en este tipo de unidades comercializadoras, además de sondear la presencia de patógenos que favorencen la perdida postcosecha en frutas y hortalizas.

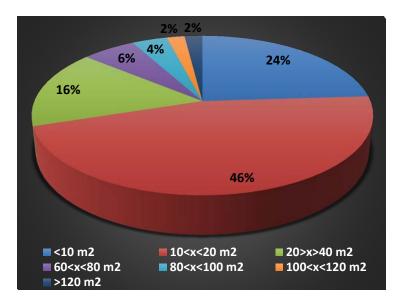


Figura 1. Tamaño de expendios hortofrutícolas en la ciudad de Salinas, S. L. P.

La mayoría de los expendios hortofrutícolas (48%) son atendidos por un solo trabajador, seguido por un 26% de establecimientos que cuentan con dos individuos como personal operativo (Figura 2). Estos establecimientos son atendidos principalmente por el propietario del negocio y en su caso con ayuda de un familiar. Solo el 10 % de los expendios hortofrutícolas son dirigidos entre 4 a 7 personas, indicando su alto volumen de comercialización. Sin embargo, el 86% de los establecimientos reconocieron no tener una capacitación en el manejo postcosecha evidenciando un problema de conocimiento; por lo anterior, es necesaria la capacitación en el manejo y conservación de los productos hortofrutícolas a nivel de expendio al por menor.

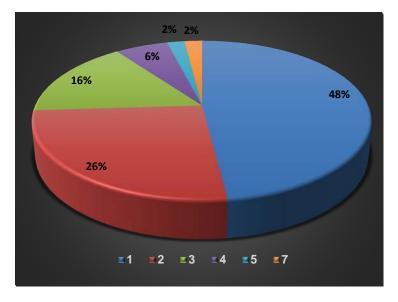


Figura 2. Empleados que atienden la empresa hortofrutícola en la ciudad de Salinas, S.L.P.

Del muestreo efectuado se pudo observar que el 60% de los expendios cuentan con un refrigerador domestico que es empleado para la conservación de los productos comercializados, indicando un manejo intuitivo para extender la vida de anaquel de las frutas y hortalizas.

La mayoría de los expendios hortofrutícolas (90.91%) atiende principalmente al mercado doméstico, sin embargo se observó que el 5.45% de expendios son proveedores de expendios

menores de la región (Figura 3). Estos establecimientos son el último eslabón de la cadena de distribución alimentaria, caracterizando a la ciudad como centro de consumo final.

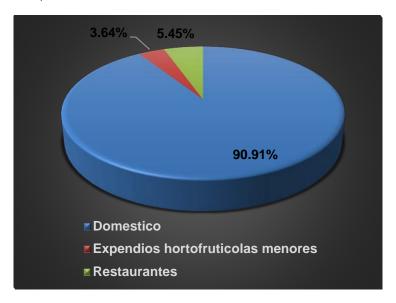


Figura 3. Principales clientes de expendios hortofrutícolas en la ciudad de Salinas, S.L.P.

Prácticamente la mitad de los expendios hortofrutícolas (52%) suelen abastecerse directamente de la ciudad de San Luis Potosí, seguidos por un 36% que se abastecen en la misma ciudad (Figura 4). Cabe señalar que la distancia promedio entre la capital Potosina y la ciudad de Salinas es de 98.7 km, aproximadamente 1 h 5 min si se viaja a una velocidad promedio de 90 km h⁻¹. Por lo anterior y considerando la distancia y el tiempo de transporte, se generan otras interrogantes como: ¿qué efecto tiene las condiciones de las vías de comunicación en el daño mecánico de los productos hortofrutícolas?, ¿cómo afecta el diseño de los vehículos empleados para la transportación de alimentos frescos en la vida de anaquel de los productos hortofrutícolas?, ¿qué fitopatógenos son adquiridos durante la transportación de productos hortofrutícolas a la ciudad de Salinas?

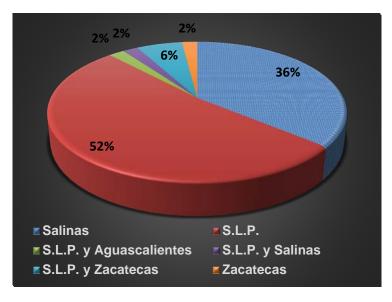


Figura 4. Lugar de abastecimiento de productos hortofrutícolas.

El muestreo evidenció que el 60% de los expendios hortofrutícolas se abastecen con frecuencia cada tercer día y solo el 36% lo realiza de forma semanal (Figura 5). Esta información recabada es un punto inicial para establecer la dinámica de consumo de alimentos frescos en la región, ya que genera un cuestionamiento que es importante conocer para comprender el consumo de frutas y hortalizas en la zona, ¿por qué más de la mitad de los expendios hortofrutícolas se abastecen cada tercer día?

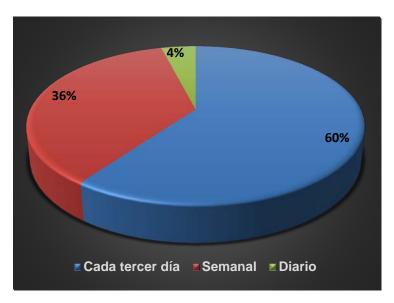


Figura 5. Tiempo de reabastecimiento de productos hortofrutícolas en la ciudad de Salinas, S.L.P.

El 85% de los expendios hortofrutícolas declararon tener una pérdida del 25% de la mercancía adquirida debido a su mal estado desde el centro abastecimiento (Figura 6). Estas pérdidas son consecuencia de deficientes manejos postcosecha efectuados desde la zona de producción, que además prevalecen durante la cadena de abastecimiento, deteriorando el producto de tal manera que al ser adquirido por el último eslabón de la cadena (expendios hortofrutícolas de la ciudad de Salinas) las pérdidas de frutas y hortalizas son efecto de impactos mecánicos, mal manejo de temperaturas, empaque y embalaje deficiente, exposición a etileno y falta de manejo de la cadena de frío, aunado al desconocimiento de los procesos de maduración de las frutas y hortalizas.

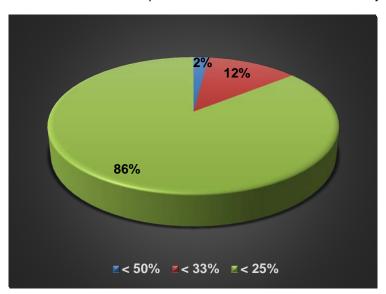


Figura 6. Desperdicio debido al mal estado del producto hortofrutícola al momento de la compra en el centro de abastecimiento.

El 72% de las empresas en la ciudad de Salinas declararon haber tenido un 25% de pérdidas de productos hortofrutícolas posteriores debido al maltrato por parte del consumidor final (Figura 7). Uno de los usos y costumbres del consumidor de Salinas de frutas y hortalizas es el escoger el alimento de forma manual, causando daños mecánicos por compresión e inclusive por caídas, infringiendo así daños celulares y por ende un aumento en la respiración y producción de etileno, lo que se traduce en una perdida acelerada de la calidad (Scherrer *et al.*, 2009).

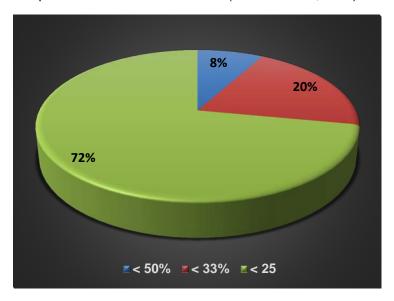


Figura 7. Desperdicio de productos hortofrutícolas en expendio debido al maltrato por el consumidor.

Siete hortalizas y una oleaginosa son los productos del campo que se comercializaron en la ciudad de Salinas (Figura 8), siendo el jitomate la hortaliza de mayor presencia (19.3%), seguida de la lechuga, la zanahoria y la cebolla con 17.54, 14.04 y 13.45 % respectivamente. De las hortalizas comercializadas el jitomate, la cebolla y el chile, se producen en la región, produciendo en total 800, 28183 y 7161 ton respectivamente (SIAP, 2017), satisfaciendo el mercado local (sí se considera solamente el volumen producido y no la estacionalidad de producción). Sin embargo, se tiene que importar lechuga, zanahoria, papa, acelga y cacahuate para satisfacer la demanda.

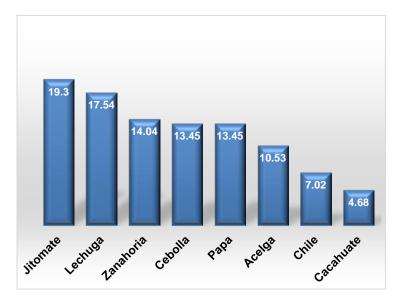


Figura 8. Porcentaje de presencia de hortalizas y oleaginosas en expendios hortofrutícolas de la ciudad de Salinas, S.L.P.

En la ciudad de Salinas se comercializaron principalmente 11 frutas (Figura 9) siendo el plátano (19.62%), la manzana (19.14%) y la naranja (16.75%), las frutas con mayor presencia en los establecimientos hortofrutícolas. De las frutas demandadas durante el mes de febrero de 2017, el 100% se tuvo que importar debido a que en la región no se producen, lo cual representa una dependencia alimentaria con el exterior.

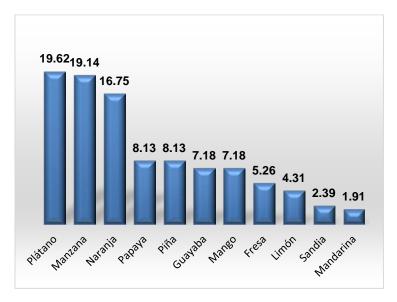


Figura 9. Porcentaje de presencia de frutas en expendios hortofrutícolas de la ciudad de Salinas, S.L.P.

En relación de legumbres comercializadas se registraron cuatro especies (Figura 10), donde el 55.32% de los establecimientos comercializan alguna variedad de frijol, siendo esta especie la de mayor importancia para la región. De estas legumbres comercializadas en el mes de febrero de 2017 en la ciudad de Salinas, solo el frijol es producido en la región, generando 5255 ton (SIAP, 2017), lo cual satisface las 360 ton necesarias para ser consumidas al año, considerando a este cultivo como independiente alimentariamente hablando. Sin embargo, el garbanzo, el haba y la

lenteja se tienen que importar para satisfacer la demanda, por lo cual se considera que en relación de estos últimos cultivos se tiene dependencia alimentaria.



Figura 10. Porcentaje de presencia de legumbres en expendios hortofrutícolas de la ciudad de Salinas, S.L.P.

CONCLUSIONES

Los habitantes de la ciudad de Salinas basaron su alimentación en el mes de febrero de 2017 en 23 especies hortofrutícolas, de las cuales solo 4 especies son producidas en la región con capacidad de garantizar la soberanía alimentaria. Sin embargo, 19 especies vegetales tuvieron que ser importadas para satisfacer la demanda local de alimentos provocando una dependencia alimentaria con el exterior. Aunado a lo anterior, las empresas comercializadoras de productos hortofrutícolas pierden hasta un 43.75% por desperdicio y mal manejo postcosecha, originados por un deficiente manejo postcosecha durante la cadena de abasto de alimentos y malos hábitos de compra principalmente.

BIBLIOGRAFÍA

- FAO. "Cómo alimentar al mundo en 2050". Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. FAO, 2017. 28 pp. Consultado el 20 de abril de 2017 en: www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/synthesis_papers/Cómo_alimentar_al_mundo_en_2050.pdf
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. "Anuario estadístico y geográfico de los Estados Unidos Mexicanos". 2015. Consultado el 25 de abril de 2017 en: www.inegi.gob.mx
- 3. J. Gustavsson, C. Cederberg, R. van Otterdijk y A. Meybeck. "Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo". Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. FAO, 2012. ISBN: 978-92-5-307205-7
- 4. C. R. Scherrer M., L. Loss S., L. Cunha dos S., C. Salete A., C. Pereira K. and R. Joao B. "Postharvest mechanical damage affects fruit quality of 'Montenegrina' and 'Rainha' tangerines", Pesq. Agropec. Bras., Brasilia, Vol 44,12, 2009, pp. 1636-1640
- 5. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. "Bases de Datos en Linea". SIAP, 2017. Consultado el 25 de abril de 2017 en www.siap.gob.mx

TRABAJO COMPARTIDO PARA ELABORAR ALIMENTO CANINO

María Emelia Zamora López, Heraclio Victoria Moreno, Lydia María Pérez Díaz, Veronica Machorro Sánchez, Beatriz Espinoza Aquino, Verónica Santacruz Vázquez y Francisco Silverio Zuñiga Sanchez

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Instituto ,Tecnológico de Puebla. <u>emezlo@yahoo.com.mx</u>

RESUMEN

Es común que en la mayoría de los hogares se tenga un sobrante de los alimentos que se preparan diariamente, este alimento se dirige al consumo de las mascotas; generalmente perros, si la cantidad de sobrantes alimenticios en una casa es abundante el o los animales no alcanzan a consumirlo en un solo día; entonces los residuos son enviados a la basura. Tomando en cuenta lo anterior, se pensó en generar una croqueta que pudiera conservarse durante un mayor tiempo sin perder su valor nutricional, los resultados obtenidos fueron positivos. Los animales comen con agrado estas galletas, los parámetros obligados en cuanto a los análisis de alimentos como son los bromatologicos indican estar dentro de la norma establecida por los organismos internacionales. En conclusión, al hacer este alimento para los perros a partir de los desechos de comida de las casas, se está generando un ahorro económico para las familias, y de igual forma proporcionando un alimento balanceado, al mismo tiempo nutritivo para nuestras mascotas.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con Andrés Pascoe Rippey, En America Latina y el Caribe millones de personas pasan hambre los niños, tienen desnutrición crónica, lo que los hace sufrir daños irreparables en su desarrollo. Esto se debe en gran medida al alto costo de los alimentos y a la falta de empleos bien remunerados. Datos de la FAO explican que en México se pierden por malos manejos en los alimentos hasta un 20% entre el productor y el consumidor esto, aunado a los desperdicios generados en los hogares, casas distribuidoras de alimentos como los restaurantes, comedores y expendios en las calles a estos alimentos se les podría dar un servicio útil.

En países desarrollados, las cifras son alarmantes, indican por ejemplo que en la gran Bretaña se desperdician cada año más de cuatro millones de toneladas de alimentos (verduras, frutas, papas y pan etc.) esos alimentos van a tiraderos convencionales, sin darles una utilidad. Ni que decir de los EUA donde un estudio de la Universidad de Arizona dice que entre un 40 y 50 % de los alimentos que se cosechan se pierden anualmente antes de que puedan aprovecharse como alimento.

Los seres humanos somos responsables de alguna manera de tales desperdicios, ya que mucha gente que posee el poder económico tiene la cultura de comprar en exceso comestibles, sobre todo aquellos que ya están elaborados envasados solo para calentar. En parte porque en la familia los padres trabajan, comen afuera del hogar y no les da tiempo de preparar los alimentos, se compran vegetales, frutas carnes pan etc. Pero cuando ellos consideran que no están frescos los tiran a la basura normalmente y si son cereales pastas, latas aceites los guardan cuando revisan ya caducaron y van a la basura. (Vivero, 2017).

El gobierno se ha dado a la tarea de planear como reducir los desperdicios de alimentos y como aprovechar al máximo estos y se planearon los "Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), darán forma a los planes nacionales de desarrollo durante los próximos 15 años. Desde erradicar la pobreza y el hambre hasta combatir el cambio climático y proteger nuestros recursos naturales, la alimentación y la agricultura están en el centro de la Agenda 2030". (FAO, 2016).

TEÓRIA

Alimentos para perros.

Las formulaciones de alimentos para perros están elaboradas por diferentes empresas, para cubrir nutricionalmente las necesidades de todo tipo de animales tomando en cuenta, razas sean pequeñas o grandes para hembras en gestación, destete de animales etc., también se cuida que la alimentación sea tipo de varios tipos de sensación dura o suave seca tipo croqueta dura en forma de huesos (viene en diversos tamaños) o blanda y jugosa tipo atún, trozos de carne etc., a estos alimentos es común que les adicionen Sojo de mantequilla de Maní, mermeladas. Otros alimentos están elaborados para fácil digestión formulado también para apoyar la función renal de los animales ya que se encuentra libre o bajo en nivel de fosforo y proteínas esto ayuda a reducir la formación de oxalato de calcio, la comida de los animales tiene aroma para abrir el apetito de los canes, los alimentos se diseñan para disminuir o aumentar el peso de los animales las dietas se encuentran cuidadosamente balanceadas para poden elegir el alimento saludable que requiere la mascota, calorías, proteínas, grasas , vitaminas, minerales etc. comida completa.

Existen alimentos comerciales para todas las necesidades económicos y muy caros aquellos que son elaborados sin colorantes artificiales, sabores o conservadores para que los animales tengan una vida saludable bien nutrida que se refleje en su actividad física estado de ánimo, desarrollo cerebral, pelaje y piel saludable. (doggiedoor, 2017)

Las tablas de composición de alimentos son utilizadas, entre otras cosas, para hacer una comparación de la energía y nutrientes que estos tienen y planificar la alimentación individual y colectiva de personas y animales sobre todo cuando estos se encuentran enfermos. La composición es muy variada. Depende, de la variedad de las plantas y animales, del tipo de cultivo, la zona, fertilización, frescura de la comida, así como de las condiciones de alimentación animal (Sonja, 2005)

Diversas tablas de composición de alimentos de reconocido prestigio internacional, (Moreiras, 2008) incluyen los alimentos que mayormente son elegidos para consumirse por los humanos y que son objeto de un número considerable de consultas. En ellas se especifican las cantidades de nutrientes que se encuentran en los alimentos así como las diversas fuentes que los proporcionan entre ellas, las fuentes Españolas, Francesa y Norte Americanas con datos interpretados científicamente que ayudan a conocer ¿cuáles son las características nutricionales de los alimentos que se consumen?. Entre otras quienes y cuanto de ácido fólico total y la vitamina B12 se obtuvieron entre otros datos, "de las tablas Macanche y Widdowson (1978) y de la tabla Renaud (1986) se recogió la información sobre colesterol y ácidos grasos. Los contenidos en fibra de los alimentos ricos en ésta, son datos obtenidos de las tablas de A.E. Bender (1986)". (Novartis 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

Como se ha visto alimento para perros hay en forma muy variada y lo pueden adquirir todos los días de diversos precios y necesidades las personas que tienen suficiente economía. Las personas con bajo nivel económico preparan los alimentos en casa y la comida que sobra, de los diversos platillos se junta y se les da de comer a los animales si no es suficiente se prepara (adicionando algo más de otros alimentos) para dar de comer a las mascotas. Las familias pobres no les alcanza para satisfacer completamente sus necesidades alimentarias por tanto, no hay comida para las mascotas y estas se encuentran en las calles buscando un poco de comida y creando un foco de infección a la población ya que muchos de estos animales no se les prodiga ningún cuidado pueden estar enfermos y dejan sus heces en la calle. A medida que crece la población humana, y de animales hay un decremento en los alimentos a nivel nacional, por lo que hay que tomar en cuenta este fenómeno.

El trabajo que se hace tiene la importancia de conservar los desperdicios de los alimento de casa por más tiempo de conservación al prepararlos en forma de croqueta. Lo primero que se hizo fue recolectar los alimentos por un periodo de una semana figura 1 conservándolos dentro del refrigerador para que no se descompusieran. Al término de la semana se elige dentro de los desperdicios la parte de alimentos que no pueden ser molidos en la licuadora como los huesos,

figura 2 se someten a hervido, molienda y nuevamente a hervido hasta que tenga una consistencia semidura.



Fig. 1 y 2 Fotos propias del autor

El alimento desde que se hierve antes de moler ya se puede servir a las mascotas sin embargo lo que se requiere es su conservación por más tiempo así es que se coloca con una cuchara en un recipiente para hornear el material puede ser de vidrio o de aluminio figura 3, al cual se le pone un poco de mantequilla para que el alimento no se pegue, se mete a la estufa durante 30 min a una temperatura de 150 grados y listo ya está el alimento preparado para cortarse en raciones.





Fig. 3 y 4 Fotos propias del autor.

RESULTADOS

Elaborar el alimento requiere de paciencia para ser experto en ello, Residuos de alimento es casi seguro que hay en la mayoría de las casas, El inconveniente puede ser que en algunos hogares, no se cuente con la presencia de refrigeradores sin embargo, al procurar de estos alimentos a los animales se les cuida su dieta alimentaria ya que tiene un buen aporte de vitaminas, proteínas y minerales en este caso los alimentos que tenía esta mezcla fueron entre otros. Verduras, carne de pollo, de puerco así como pan blanco de trigo y tortillas, las galletas como se muestra en las figuras 3 y 4.se unieron en el horno quedando como una tarta que posteriormente se cortó, este alimento les gustó mucho a los perros a los que se les dio, movían su cola querían ya que se lamian el hocico

CONCLUSIÓN.

Los alimentos no deben ir a la basura se deben aprovechar lo máximo para evitar su encarecimiento, si tenemos mascotas en casa como perros o gatos estos desperdicios para los humanos, los animales pueden aprovecharlos, además de cuidar su salud.

BIBLIOGRAFIA

- 1. J.L.Vivero (2017) bajado de: https://issuu.com/joseluisvivero/docs/desperdicio-de-alimentos-en-epoca-de-crisis-fao el 15 noviembre 2016
- 2. O. Moreiras Tuni (2008) Tablas de composición de alimentos Olga editorial Piramide
- 3. S. Carlsson (2005) Tabla de combinaciones de Alimentos editorial Hispano Europea
- 4. Bajado de: http://www.doggiedoor.com.mx/alimentos-y-premios-para-perro/alimento-para-perro.html el 10 de enero 2017.
- 5. Bajado de: www.fao.org/3/a-mr830s.pd el 23 de diciembre del 2016
- 6. Novartis Bajado de <u>file:///E:/ANEXO%20II%20tablaNUTRICIONAL%20-de-alimentos-</u>COCINADOS.pdf el 06 de abril de 2017.

EVALUACIÓN SENSORIAL DE ALIMENTOS NUTRICIONALES CON PROPIEDADES PROTEICAS Y LIPÍDICAS FUNCIONALES

Vidal-Quintanar, Reyna Luz., Del Castillo-Ortega Marisol y Rouzaud-Sandez, Ofelia

Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, de la Universidad de Sonora. Departamento de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad de Sonora. Rosales s/n Colonia Centro, Hermosillo Sonora Mex. 83000. rvidal@guaymas.uson.mx

RESUMEN

La formulación de nuevos productos de panificación, deben aportar micronutrientes y nutrientes funcionales; así como también, presentar características sensoriales específicas. El objetivo es mostrar la aceptación sensorial de formulaciones con ingredientes funcionales del alimento y el desarrollo de características sensoriales novedosas para el consumidor. Por ello, las metodologías sensoriales son relevantes en caracterizar galletas y barras suplementadas con ácidos omega tres, antioxidantes y proteína. Para ello se usaron las pruebas de diferencia como triangular, dúo trio y ordenamiento; además de, un método para la preferencia, con jueces entrenados y consumidores. Adicionalmente, se usó a la metodología descriptiva, para caracterizar sensorialmente a la textura, sabor, olor y color. Observándose que la prueba triangular mostró mayor eficiencia que la prueba dúo-trio tanto para establecer diferencias (p<0.05) entre los tratamientos; como para, seleccionar a los jueces para la metodología descriptiva. Por otro lado, la prueba de ordenamiento mostró mayor sensibilidad para establecer el orden diferencial respecto a textura entre tratamientos; que en los casos donde se usó al sabor o color como determinantes sensoriales. Por otro lado, la metodología descriptiva resultó altamente eficiente (p<0.05) para establecer diferencias entre los atributos que conforman las características de sabor y olor. Mientras, al evaluar textura (p<0.05) mostró interacciones para medir los efectos relacionados tanto con la composición de la formula, como con los cambios sensoriales desarrollados por el proceso o el almacenamiento. En conclusión ambos tipos de pruebas discriminativas y descriptivas son necesarias para predecir aspectos sensoriales determinantes de calidad de barras nutricionales de cereales.

INTRODUCCIÓN

El concepto de alimentos funcional nació en Japón en la década de los ochentas. Estos deberían contener nutrientes que cubrieran las necesidades nutricionales básicas y funcionales de la población adulta para mantener la salud y con ello se redujera el gasto en salud. Esto llevo a que las investigaciones se centraran en identificar a los componentes biológicamente activos en los alimentos que estuvieran relacionados en mejorar las condiciones físicas y mentales; además, en probar la participación de dichos componentes en ciclos biológicos específicos. Incluyendo a estudios en las que dichos elementos reduzcan el riesgo a contraer enfermedades crónicas. El resultado fue que los componentes estaban presentes en ingredientes de diferentes fuentes; productos animales, vegetales, granos enteros y frutas. De ahí que, el nacimiento de nuevas fórmulas, donde se mezclan componentes e ingredientes, aplicables a condiciones específicas para promover la problemática en salud (Sloan, 2016). Los granos y cereales aportan proteína, antioxidantes, fibra soluble e insoluble, minerales y vitaminas del complejo B, capaces de contribuir en la resolución de problemas del metabolismo de lípidos, mejorar el funcionamiento intestinal, reducir la carga oxidativa en la dieta del consumidor, entre otras funciones (Prasad, et al. 2015). Sin embargo, la proteína en las fórmulas de cereales puede meiorarse tanto en cantidad y calidad con aislados y concentrados proteicos. Respecto a lípidos en nuevos desarrollos tecnológicos de alimentos funcionales, las semillas aportarán fuentes balanceadas de ácidos grasos, además de características agradables en sabor y olor de los productos de panificación (Dyson, and Beckman 2010).

Objetivo: Medir los efectos del contenido proteico y grasa polinsaturada en cuatro tratamientos de barras de cereales, sobre las características sensoriales, usando metodología discriminativa y

descriptiva en un laboratorio computarizado y finalmente evaluar la aceptación o rechazo medida con consumidores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción de los tratamientos. La composición química se evaluó bajo los lineamientos de la metodología oficial de la Asociación Americana de Químicos Cerealeros (AACC 2000). Los tratamientos seleccionados fueron cuatro barras de cereales etiquetados como; BC2, E13, F10, P23

Evaluación método discriminativo: prueba triangular se realizó con un panel de 40 personas; formado con 50% hombres y 50 mujeres con edades entre 23 y 35 años de edad. La evaluación descriptiva método cualitativo y cuantitativo se realizó con 8 descriptores usando la prueba lineal estructurada de 15 cm (ISO13299:2003), marcada en los extremos con menor a mayor intensidad. El tamaño del panel fue de 12 personas, con 4 horas de entrenamiento previo. Se ejecutaron los perfiles sensoriales de olor, sabor, textura; además de elementos comerciales como son la satisfacción y probabilidad de compra. La evaluación de aceptación general se realizó con la prueba de escala categórica (ISO13299:2003) y la ordenada para probabilidad de compra de 4 puntos (ISO 8587-2006). El tamo del panel en este caso comercial fue de 100 consumidores. La captura de datos sensoriales se ejecutó de manera computarizada utilizando el Paquete Fizz-Sensory, Versión 2.5.2. El análisis estadístico de los datos para diferenciar entre los tratamientos en cada tipo de prueba fue la distribución de media por el método Tukey, corrida con el paquete del mismo programa Fizz-Sensorial Versión 2.5.2 actualización del 2015.

RESULTADOS

Las barras nutricionales mostraron cantidades crecientes de proteína: BC2<F10<E13<P23. Mientras que la textura medida en Newton en un texturómero mostraron un orden decreciente de P23>F10>E13>BC2. Por otro lado el aw fue mayor para BC2 (0.69), seguido de P23 (0.54), E13 (0.49) y la menor para F10 (0.48). La captura de los resultados sensoriales se realizó con luz roja para enmascarar las características de presentación en cuanto al color y aspecto visuales de tamaño de partícula (Figura 1).



Figura 1. Módulos Computarizados de Captura de Datos.

Todas las combinaciones fueron significativamente diferentes (N= 40 jueces; P <0.0001 ***).

La percepción obtenida con dos tipos de jueces de las barras que aportan nutrientes proteicos y omega tres, no estableció una relación directa entre las características sensoriales y la satisfacción

de consumo. Sin embargo, los cuatro tratamientos fueron significativamente diferentes como lo muestra la Figura 2.

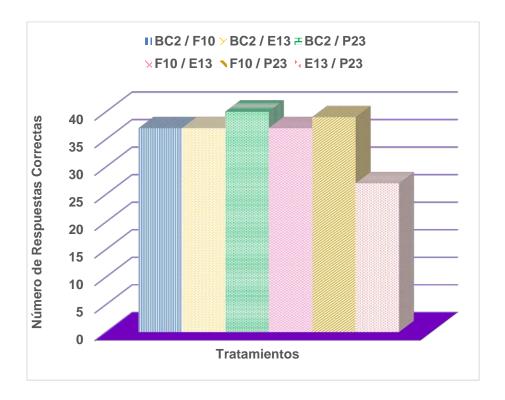


Figura 2. Análisis discriminante de tratamientos usando la prueba triangular.

Esto visualiza efectos negativos en algunos de los atributos de la textura relacionados con la composición. Si bien es cierto, las barras contienen diferente proteína y fuente grasa, la etiqueta no muestra parámetros descriptivos que guíen al consumidor a seleccionar alimentos con componentes que satisfagan sus demandas nutricionales específicas. En lo general los jueces establecieron los atributos que describen las características sensoriales predominantes relacionadas con la textura para la selección de barras nutricionales de cereales. Sin embargo, los jueces entrenados establecieron una relación significativa entre las percepciones que establece por un lado la humead y por otra la estructura organizacional de los componentes entre los tratamientos.

La Tabla 1 muestra a los atributos con diferencias significativas en las características de olor, sabor y textura. Por otro lado, el olor y sabor mostraron una disminución de la intensidad en tres atributos al aumentar de proteína. En general, la proteína presente modificó los perfiles de textura volviendo las barras menos suaves. Las barras en referencia a atributos de olor (rancio y oxidado) y sabor (salado y ácido) los jueces manifestaron valores presentes en la zona de baja intensidad de la escala lineal usada (Figura 3). Implicando que la formulación y proceso se ejecutó con la estandarización ideal para imprimir calidad comestible adecuada en los cuatro tratamientos estudiados. Entre ellos los de olor a ranció y/o oxidado; en sabor, el amargor residual, salado o ácido; y entre los de textura en cohesividad, adhesividad y partículas entre los dientes. Referente a la preferencia y orden de compra cada panel presento diferente orden de selección. En el laboratorio los panelistas entrenados mostraron (p<0.05) el orden de: BC2 > F10 > E13 > P23. Mientras que, los consumidores comerciales presentaron su preferencia (p<0.05) con leves cambios en la selección de los tratamientos y es: BC2 > E13 > F10 > P2.

Tabla 1. Comparación de medias para los atributos que mostraron diferencias significativas entre Tratamientos para las características sensoriales de olor, sabor y textura de barras

nutricionales de cereales.

Característica Sensorial	TRATAMIENTOS				
Atributos	BC2	F10	E13	P23	DMS
Olor/	4.44 a	2.41 ab	1.10 b	1.63 b	1.80
A frutas	± 2.7	± 2.4	± 1.7	± 2.1	1.00
	1.78 a	1.32 b	4.36 b	2.41 b	1.82
A Nueces	± 2.0	± 1.5	± 2.9	± 2.19	
	4.45 a	1.30 b	2.54 b	2.83 ab	1.69
Harina integral	± 3.1	± 1.5	± 2.0	± 2.3	
Sabor/	5.73 a	5.22 ab	4.01 bc	3.62 c	1.50
Dulzor	± 2.2	± 2.1	± 2.4	± 2.6	
	5.07 a	3.36 ab	1.39 bc	1.05 c	2.10
A frutas	± 2.7	± 2.8	± 2.1	± 2.2	
Textura /	2.89 ab	4.18 a	2.26 b	3.80 a	1.84
Número de fracturas	± 2.2	± 2.7	± 1.7	± 2.9	
	3.31 c	4.09 ac	5.87 a	5.20 ab	1.37
Saliva necesaria	± 2.1	± 1.8	± 2.1	± 2.5	
A	3.17 c	3.61 c	5.12 b	6.72 a	1.48
Arenosidad					

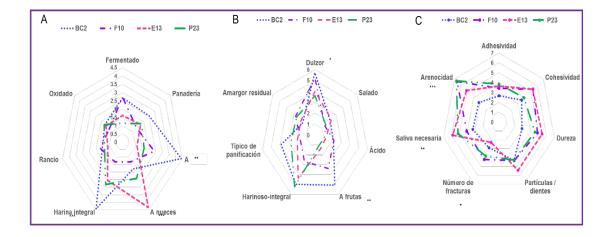


Figura 3. Análisis descriptivo para los tratamientos usando la prueba del perfil en una escala lineal acotada a 10 cm. (N= 12 jueces). A= olor, B= sabor, C= textura.

CONCLUSIONES

Ambos tipos de jueces, con entrenamiento y comerciales, utilizaron los atributos de textura para establecer diferencias entre las barras funcionales nutricionales; entre ellos, la rigidez de la estructura al aumentar el contenido de proteína. Manifestado que las diferencias significativamente (p<0.05), de los atributos de número de fracturas, saliva necesaria para la formación del bolo y arenosidad percibida en la cavidad bucal, crecen con el aumento de proteína en la barra.

El atributo de dureza mostro un aumento no significativo al aumentar la proteína de la barra; sin embargo, los comentarios de satisfacción y preferencias de los consumidores comerciales fue para la barra de trigo integral baja en proteína por su consistencia suave, debido a mayor contenido de humedad y aw disponible.

La preferencia (p<0.05) observada para las barras nutricionales en ambiente descriptivo y cuantitativo de los atributos se presentó en el siguiente orden; BC2 > F10 > E13 > P23. Mientras que el comercial medido como probabilidad de compra las diferencias significativas (p<0.05) se presentaron con leves cambios; BC2 > E13 > F10 > P23.

La aplicación técnica de los resultados sensoriales de estas barras nutricionales sugieren modificaciones en el perfil de textura; la suavidad de las barras alta en proteína, podría mejorarse con cambios en el contenido y disponibilidad de humedad. Por otro lado, la formula podría incluir a componentes específicos para disminuir la compactación y aumentar la flexibilidad de la matriz proteica, imprimiendo suavidad adicional a las barras.

AGRADECIMIENTOS

Financiamiento del proyecto: USO313002166.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Sloan, E. 2016. Top ten products. Food Technology. 70(4):28-36.
- 2. Dyson, T. and Beckman, M. 2010. New cereals products for new consumers. Proceeding 96(3):5929-5936.
- 3. Prasad, R, Jha, A., Sabikhi, L., Arvind, K., Unnikrishnan. 2015. Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods- a review. J. food Science and Technology. 52(2):662-675.
- 4. AACC. 2001, Official Methods and Recommended Practices of the American Association of Cereal Science, AACCI, St. Paul Minnesota.

EVALUACIÓN DE DIFERENTES ABONOS EN LA EMERGENCIA DEL RÁBANO EN LA CIÉNEGA, MALINALTEPEC, GUERRERO.

Lucelia Mora Ojendiz, Berbelis Arellano Roque y Cesar Cristobal Hernandez.

Universidad Intercultural del Estado de Guerrero

RESUMEN

El rábano es una hortaliza de gran importancia a nivel mundial, es una planta comestible que pertenece a la familia de las crucíferas, la producción de la raíz puede variar entre 28 a 30 días, según la variedad de la semilla, estas conservan su viabilidad de 3 a 4 años. Para su desarrollo prefieren suelos arenosos y con gran nivel de materia orgánica, el riego puede efectuarse de 2 a 3 días.

La agricultura orgánica (cultivos asociados, descanso de los suelos, rotación de cultivos, uso de abonos orgánicos, como estiércol de animales, entre otros) fue practicada por nuestros ancestros y mantenida por los pequeños productores, logrando un equilibrio con su medio a través del uso sustentable de los recursos.

El presente trabajo se llevó a cabo en la comunidad de La Ciénega, con el objetivo de evaluar los efectos que producen los abonos en la emergencia del cultivo de rábano. Para tal efecto se prepararon cuatro camas biointensivas con las siguientes mediciones, 6 m de largo por 1 m de ancho, a una profundidad de 60 cm.

Los tratamientos utilizados fueron lombricomposta, composta, tierra de bosque más estiércol de caprino, fertilizante químico (nitrato de amonio) y un testigo, en donde por cada tratamiento se realizaron tres repeticiones.

En los resultados obtenidos se observó que el T3 (tierra de bosque más estiércol de caprino), fue el que mejor respuesta presentó en la emergencia del rábano.

INTRODUCCIÓN

El rábano es un alimento con un bajo aporte calórico gracias a su alto contenido en agua, además de contener cantidades de minerales dentro de los que se destacan, el potasio y el yodo que aparecen en cantidad superior a la de la mayoría de hortalizas, el calcio, el fosforo, el potasio y el magnesio que también está presente pero en menor proporción.

El presente trabajo de investigación, se desarrolló en la comunidad La Ciénega con la finalidad de evaluar la efectividad que producen diferentes abonos en la emergencia de las plantas, en la altura de la planta y el diámetro del tallo, en el cultivo de rábano (*Raphanus sativus*), a los 18 días después de la siembra.

Se plantea esta investigación, debido a que nos permitirá identificar el abono más óptimo para el desarrollo de las plántulas de rábano (Raphanus sativus), además la información le será útil, para

aquellos pequeños productores que siembran hortalizas para el autoconsumo, ya que no se genera gasto alguno en la obtención de los abonos orgánicos, esto se debe a que los podemos preparar utilizando insumos que hay en nuestras huerta o patios; así mismo se pueden utilizar los desechos de comida, estiércol de animales entre otros.

Los datos obtenidos muestran que entre los tratamientos empleados el que obtuvo mejores resultados en las variables evaluadas en el cultivo de rábano fue el tratamiento tres (tierra de bosque más estiércol del chivo).

TEORÍA

Las hortalizas son una parte muy importante de la dieta. Casi todas son ricas en caroteno y vitaminas C y contienen importantes cantidades de calcio, hierro y otros minerales. Su contenido de vitaminas B generalmente es pequeño. Por lo general, suministran sólo un poco de energía y muy poca proteína. Una gran proporción de su contenido consiste en residuo no digerible, que agrega volumen o fibra a las heces (Bustamante, 2006).

El rábano (*Rapahus sativus* L.) es una hortaliza de raíz de fácil cultivo, que no ocupa mucho espacio y crece con gran rapidez muy apreciada por su color escarlata y su sabor picante. Son oriundos de Asia, sin embargo, se cultivan desde la antigüedad tanto en Grecia como en Egipto desde el tiempo de los faraones, en la actualidad es una hortaliza que se cultiva a nivel mundial. De dicha hortaliza se consume generalmente la raíz, aunque en países como Egipto se consumen las hojas, en la India se consumen sus vainas carnosas y en China el aceite extraído de sus semillas (Nasevilla, 2010).

Los abonos orgánicos también se conocen como fertilizantes orgánicos de origen natural. Proporcionan nitrógeno, para producir las proteínas que la planta requiere para su crecimiento; fósforo, para que la planta aproveche los nutrientes del suelo; y potasio, para transportar adecuadamente los nutrientes en la planta. Éstos son los elementos principales que le darán equilibrio a nuestro huerto (SEMARNAT, 2009).

PARTE EXPERIMENTAL

Aun cuando el trabajo de investigación sólo se evaluó el desarrollo del rábano, este se realizó en campo abierto utilizando camas biointensivas, para lo cual se realizaron las siguientes actividades:

Trazado de las camas: se trazaron los límites de las camas con dimensiones de 1m de ancho por 6m de largo, posteriormente se colocaron estacas en cada esquina de la cama utilizando rafia para su delimitación, el espacio entre camas (pasillo) fue de 50 cm.

Preparación de camas biointensivas: para la preparación de las cinco camas biointensivas se utilizaron materiales como pala recta, bieldo jardinero, rastrillo y una tabla (para darle forma y nivelar la cama) y se realizaron las siguientes actividades:

- Una vez trazadas las camas se aflojaron los primeros 30 centímetros del suelo con ayuda del bieldo jardinero.
- La excavación se realizó por zanjas de 30 cm de profundidad y 40 cm de ancho, la tierra que se sacó se colocó a un lado de la cama.
- Los otros 30 cm, solo se aflojaron con un bieldo jardinero, para obtener así los 60 cm de profundidad.
- Se procedió a excavar las siguientes zanjas, de la misma forma hasta terminar las camas.
- Una vez terminadas las camas se nivelaron con la ayuda de un bieldo.

Aplicación de abonos

Una vez terminadas las camas se aplicaron los s abonos correspondientes a cada tratamiento;

A la primera cama se le agrego aproximadamente 25 kg de composta.

A la segunda cama, se la aplicó 25 kg de lombricomposta.

A la tercera cama se le agregó dos cubetas de cuarenta kilos de tierra de bosque combinada con estiércol de caprino (chivo).

A la cuarta cama se le agregaron 48 g de fertilizante químico.

A la quinta cama (testigo) no se le agregó absolutamente nada.

Por último, una vez aplicado los abonos correspondientes a cada cama, estos se incorporaron con ayuda de un bieldo jardinero. Es importante mencionar que se realizó una sola aplicación de abonos, esto se debe a que el cultivo es de ciclo corto.

Los tratamientos empleados en esta investigación se muestran en el cuadro 1, en donde se pueden apreciar los abonos utilizados como tratamientos en este trabajo.

Tratamientos	Descripción de los tratamientos
T1	Composta
T2	Lombricomposta
T3	Tierra de bosque más estiércol de chivo
T4	Fertilizante químico (nitrato de amonio)
T5	Testigo

Cuadro 1. Tratamientos a evaluar para la emergencia de las plantas de rábano.

Variables agronómicas evaluadas: las variables agronómicas evaluadas en este trabajo de investigación fueron las siguientes:

Emergencia de plántulas

Para esto fue necesario realizar observaciones diarias, con el fin de conocer los días a emergencia en cada tratamiento.

Altura de la planta (mm)

Se midió la altura de las plantas del cultivo de rábano, a los 18 días después de la siembra, donde se tomaron 10 plantas por cada repetición, siendo un total de 30 plantas por tratamiento, la medición se realizó desde la base del tallo hasta el ápice, utilizando una regla graduada, con el propósito de identificar el efecto de cada sustrato empleado.

Diámetro del tallo (mm)

Para esta variable se midió el diámetro de la base del tallo de 10 plantas por cada repetición, con un total de 30 plantas por sustrato, a los 22 días después de la siembra utilizando un vernier digital. **Promedio de hojas por planta** Otra de las variables evaluadas fue el número de hojas promedio, para esto se contabilizaron todas las hojas formadas completamente de 10 plantas por cada repetición, evaluando así un total de 30 plantas por tratamiento, la evaluación se realizó a los 18 días después de la siembra.

RESULTADOS

Emergencia de plántulas

De acuerdo a las observaciones realizadas diariamente, se obtuvo que el 100 % de las semillas que fueron abonadas con composta emergieron a los cuatro días después de la siembra, mientras que las que fueron abonadas con lombricomposta emergieron el 100 % entre los cuatro y cinco días después de la siembra, en cambio las que fueron abonadas con tierra de bosque más estiércol de chivo se observó que germinó el 100 % entre los cuatro y seis días, de esta manera se observó que las que fueron abonadas con fertilizantes químicos lograron el 70 % de emergencia entre los cuatro y ocho días, por último en el testigo se obtuvo el 100 % entre los cuatro y seis días después de la siembra.

Altura de la planta

Para la altura de la planta los tratamientos 2 y 3 estadísticamente son iguales, sin embargo es importante mencionar que el tratamiento 3 (tierra de bosque más estiércol) numéricamente presentó mejores resultados obteniendo un promedio de 0.38 mm en esta variable.

En cuanto a los tratamientos 1, 4 y 5 estadísticamente resultaron ser iguales no mostrando diferencia entre ellos, pero claramente se observa que el tratamiento 1 correspondiente a la composta obtuvo una mejor respuesta con 0.24 mm, mientras tanto el tratamiento 4, fue el que obtuvo menor respuesta con 0.20 mm (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comparación de medias de la variable altura de la planta de rábano (*Raphanus sativus, L*).

Tratamientos	Altura de la planta (mm)
1	0.24 b
2	0.28 a
3	0.38 a
4	0.20 b
5	0.21 b

T1= Composta, T2= Lombricomposta, T3= Tierra de monte más estiércol de chivo, T4= Nitrato de amonio y T5= Testigo.

Promedio de hojas por planta

El cuadro 3 muestra que los tratamiento 1, 2 y 3 estadísticamente son iguales, sin dejar de mencionar que numéricamente el tratamiento 3 (tierra de bosque más estiércol de chivo), obtuvo el mejor valor con 1.76, considerándose como el mejor tratamiento.

En cuanto a los tratamientos 4 y 5 estadísticamente pertenecen a un grupo diferente al de los anteriores, pero entre ellos se consideran iguales, es decir que no existe diferencia, sin embargo el tratamiento 5 (testigo) es el que menor respuesta favorable obtuvo con un promedio de 0.56.

Cuadro 3. Comparación de medias de la variable promedio de hojas por planta.

Tratamientos	Promedio de hojas por planta
1	1.73 a
2	1.50 a
3	1.76 a
4	0.73 b
5	0.56 b

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales estadísticamente. LSD= 0.05T1= Composta, T2= Lombricomposta, T3= Tierra de monte más estiércol de chivo, T4= Químico y T5= Testigo.

Diámetro del tallo

El cuadro 4 muestra la comparación de medias para el diámetro del tallo, encontrándose que los tratamientos 1 y 3 estadísticamente no presentaron diferencia, considerándose como iguales, pero es conveniente recalcar que el tratamiento 3 numéricamente fue mejor con un promedio de 2.37 mm.

Por su parte el tratamiento 2 (lombricomposta), obtuvo 1.84 mm en esta variable siendo menor que los tratamiento anteriores. En cuanto a los tratamientos 4 y 5, estadísticamente son iguales con un nivel de confianza del 99%, pero no podemos obviar que el tratamiento 4 (químico), presento mejor comparación del tratamiento 5 (testigo). Siendo este último el que menor promedio presento en cuanto al diámetro del tallo se refiere.

Cuadro 4. Comparación de medias de la variable diámetro del tallo en rábano (*Raphanus sativus*, *L*.).

Tratamientos	Diámetro del tallo
1	2.08 a
2	1.84 b
3	2.37 a
4	1.31 c
5	1.20 c

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales estadísticamente. LSD= 0.05T1= Composta, T2= Lombricomposta, T3= Tierra de bosque más estiércol de chivo, T4= Químico y T5= Testigo.

CONCLUSIONES

La capacidad de germinación, así como los días de germinación de las plántulas de rábano, varían en función de la temperatura, la calidad de las semillas y la fertilidad del suelo. En el presente trabajo de investigación la composta fue favorable en la emergencia de las plántulas del rábano (*Raphanus sativus L.*), ya que estas emergieron el 100% a los cuatro días después de la siembra, por lo tanto podemos concluir que la composta tiene los nutrientes que necesitan para su germinación.

Mientras tanto, para el caso de las demás variables agronómicas evaluadas como el número total de hojas, diámetro del tallo y altura de la planta, el tratamiento que mejor respuesta obtuvo fue el tratamiento 3 (tierra de bosque más estiércol de chivo).

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Bustamante, S. C. A. (2006). Producción de hortalizas orgánicas en barbacoas o canteros, pp. 12.
- 2. Nasevilla, B. J F. (2010). Estudio de las características físico-químicas y nutricionales de dos ecotipos de rábano (*Raphanussativus*L.). Tesis previa a la obtención del título de ingeniero en industrialización de alimentos, pp. 32 41.
- Ormeño, D. M. A y Ovalle, A. (2007). Preparación y aplicación de abonos orgánicos, pp. 29
- 4. SEMARNAT (2009). El huerto familiar Biointensivo: introducción al método de cultivo Biointensivo, alternativa para cultivar más alimentos en poco espacio y mejorar el suelo, México, pp. 39.

DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE COMPUESTOS DERIVADOS DEL 2-AMINOBENZOTIAZOL

Bautista Ramírez María Esther, Gómez y Gómez Yolanda, Cruz Alejandro, Abraham Balderas López

Instituto Politécnico Nacional

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología

Departamento de Bioprocesos

Departamento de Ciencias Básicas maestherbr@gmail.com

RESUMEN

Los radicales libres son especies químicas que contienen electrones no apareados, por lo cual son altamente inestables y causan daño a otras moléculas debido a su reactividad. Producen peroxidación lipídica, daño a proteínas y DNA por lo cual son causantes de un gran número de enfermedades. Los benzotiazoles son moléculas de gran interés debido a su gran diversidad de actividades biológicas que presentan, tales como antioxidantes, anti-inflamatorias. hipoglucemiantes y anticancerígenas por lo que en este trabajo determinamos la actividad antioxidante in vitro de 9 compuestos derivados del 2-aminobenzotiazol (Fig.1) utilizando varios ensayos tales como la captación del radical 2-2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), del ABTS (2,2'azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio), peróxido de hidrógeno (H₂O₂), decoloración del β-caroteno y se determinó la actividad quelante del ion ferroso. Todos los compuestos presentaron la capacidad de captar el radical DPPH, el compuesto 4 presentó la mejor actividad (15.85%), para el ABTS el compuesto 5 presentó la mejor actividad (29.56%), para la prueba del H₂O₂ el compuesto 4 fue el mejor (51.73%), para la actividad quelante el 6b presento la mejor actividad (9.22%), para la inhibición del Fcaroteno el compuesto 5 presentó un 93%. Por lo que los compuesto 4 y 5 pudieran utilizarse como antioxidantes y el 6a presenta cierta actividad quelante.

Fig.1. Compuestos 4,5 y 6a

INTRODUCCIÓN

El consumo de oxígeno inherente al crecimiento celular genera una gran cantidad de especies reactivas de oxígeno (ROS), los ROS son producidos de forma normal y continuamente por el cuerpo e incluyen especies como el radical superóxido (O2°) hidroxilo (OH) y especies tales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el singulete de oxígeno (1O_2). Los ROS provocan peroxidación lipídica de la membrana celular, producen daños a las biomoléculas tales como los ácidos nucleicos, lípidos, proteínas, carbohidratos y pueden causar mutaciones a nivel de DNA (T. Ak, 2008). El daño que producen los radicales libres incluye enfermedades del hígado, el cáncer, Alzheimer, artritis, inflamación, diabetes, Parkinson, arteroesclerosis y SIDA. Por lo que para prevenir estas enfermedades se utilizan antioxidantes que son moléculas que previenen la oxidación de otras moléculas. Entre los antioxidantes naturales tenemos la vitamina E, C y poliofenoles y/o flavonoides y los sintéticos como el hidroxibutilanisol (BHA) y hidroxibutiltolueno. La actividad antioxidante de una muestra no puede ser determinada basándose solo en un ensayo de prueba por lo que en la práctica se realizan muchos modelos de pruebas in vitro para evaluar la actividad antioxidante de la muestra de interés; sin embargo, es necesario considerar que los modelos presentan diferentes variaciones que dificultan un poco la comparación de los resultados entre un método y otro (M. Joon-Kwan, 2009)

Benzotiazoles como antioxidantes

Karali reportó que conjugados espiro [benzotiazol-indol] presentan actividad antioxidante en los sistemas Fe³⁺/ascorbato, inhibición de la lipoperoxidación, captación del radical DPPH, el compuesto **9** mostró mayor potencia antioxidante al introducir un grupo metilo o halógeno. Tzanova reportó una serie de 5-hidroxibenzoil-benzotiazolonas como compuestos antioxidantes determinados por métodos *in vitro* con poder antioxidante para la reducción del fierro (FRAP). Aminobenzotiazoles que tienen ácidos tiosulfónicos presentaron actividad antioxidante usando los radicales DPPH y ABTS. El compuesto **10** mostró fuertes propiedades antioxidantes, las aminas y amidas derivadas de este compuesto no presentaron actividad antioxidante. Otros compuestos como los benzotiazol-tiazolodindiona-2-acetamidas,2-hidrazino-benzotiazoles, bis-benzotiazol-pirazolinas, cumarin-benzotiazoles y pirazolil-benzotiazoles, benzotiazol-hidrazonas se evaluaron usando diferentes métodos antioxidantes como DPPH, captación del superóxido e inhibición de la lipoperoxidación, presentando gran actividad antioxidante. (R.S. Keri, 2015)

Síntesis de los derivados del 2-aminobenzotiazol

En los siguientes esquemas se muestran las reacciones generales que representan las rutas para la síntesis de los compuestos **1-8** derivados del 2-aminobenzotiazol.

Esquema 1 Síntesis del ditiometilcarboimidatobenzotiazol 2

Esquema 2. Síntesis del 3-metil-2-iminobenzotiazol 3

Esquema 3. Síntesis de la bis-benzotiazol isotiourea 4 y la guanidina tris-benzotiazol 5

Solve
$$\frac{H_2N}{N}$$
 COONa

R = H, Me, Ph

 $\frac{H_2N}{R}$ COONa

 $\frac{a \ b \ c}{H \ R}$ COONa

 $\frac{a \ b \ c}{H \ R}$ COONa

Esquema 4 Síntesis de isotioureas 6a-c derivadas del benzotiazol y amino ácidos

$$\begin{array}{c|c}
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & &$$

Esquema 5. Síntesis de 2-iminobenzotiazol-azolinas 7a y 7b

Esquema 6. Síntesis de tris isotiourea benzotiazol 8

PARTE EXPERIMENTAL

Captación del H₂O₂

La capacidad de captar el peróxido de hidrógeno puede medirse utilizando el método de Ruch et al.(1989). Se prepara una solución de peróxido de hidrógeno (40 mM) en un buffer de fosfatos (50 mM pH 7.4). Se determina la absorbancia a 230 nm. Los extractos y el control BHT tenian una concentración de 1.0 mg/ml . El % de captación= [(Ac-Am)/Ac]X100 donde Ac es la absorbancia del control y Am es la absorbancia de la muestra.

Actividad quelante

La ferrozina forma un complejo violeta a rojo formando quelatos con el Fe²⁺. Esta reacción se inhibe en la presencia de otros agentes quelantes, disminuyendo la absorbancia de la muestra. La actividad quelante se determina usando el método de Dinis et al (1994), se añade 0.4 ml de la muestra a una concentración de 1 mg/ml a 0.2 ml de una solución de cloruro férrico (0.2 mM). La reacción comienza por la adición de 0.4 ml de ferrozina (5 mM), la reacción se ajusta con 4 ml de etanol dejando reposar a temperatura ambiente por 10 min y se determina la absorbancia a 562 nm. Se utilizó EDTA como control. El % de inhibición del complejo Fe²⁺-ferrozina fue calculado como sigue:

% de efecto quelante del Ion $Fe^{2+}=(1-Am/Ac)X$ 100 donde Am absorbancia de la muestra y Ac absorbancia del control (T.C. Dinis, 1994)

Decoloración del Caroteno

Se disolvieron 2.0 mg de β -caroteno en 10 mL de cloroformo y 1 mL de esta solución se introdujo con una pipeta en un frasco de fondo redondo que contenía 20 mg de ácido linoléico y 200 mg de Tween 40. Tras retirar el cloroformo por evaporación, se añadieron 50 mL de agua destilada al frasco mientras se removía enérgicamente. Después se introdujeron con una pipeta 5 mL de la mezcla en tubos de ensayo que contenían 0.2 mL del extracto (100 µg/mL a 1000 µg/mL) y se agitaron. En una muestra se midió la absorbancia inmediatamente con el espectrofotómetro a 470 nm, y en las demás se midió la absorbancia tras 10 min, 20 min, 30 min y 90 min de incubación a baño María a 50 °C. Cada una de las muestras se comparó con una emulsión preparada de la forma descrita pero sin β -caroteno (blanco). La lectura de absorbancias de las mezclas, en cada lapso de tiempo, se realizó con un espectrofotómetro. La actividad antioxidante es calculada como porciento de inhibición (1%) relativo al control usando la siguiente ecuación:

 $I\%=[1-(Ami-Am_{90})/Aci-Ac_{90})]$ Donde Ami es la absorbancia de la muestra inicial, Am_{90} es la absorbancia de la muestra a los 90 min, Aci es la absorbancia del control inicial y Ac_{90} es la absorbancia del control a los 90 min(A. Kabouche,2007 y R.M. Pérez, 2003)

Determinación de la Capacidad antioxidante con el radical ABTS.

Se preparó una solución con el reactivo ABTS a 7 mM con agua destilada y se mezcló 1:1 con una solución de persulfato de potasio a 2.45 mM; se dejó reposar 16 horas en la oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente se diluyo con alcohol hasta una absorbancia de 0.7 (\pm 0.01) a una longitud de 754 nm. Se tomó 980 \Box del radical ABTS $^+$ y 20 \Box de la muestra previamente diluida 1:10 y se midió su absorbancia. Se realizó una curva tipo con Vitamina C a las concentraciones de 0.02, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16 y 0.2 mg/ml. (Y. Choy, 2007).

Determinación de la capacidad antioxidante con el radical DPPH.

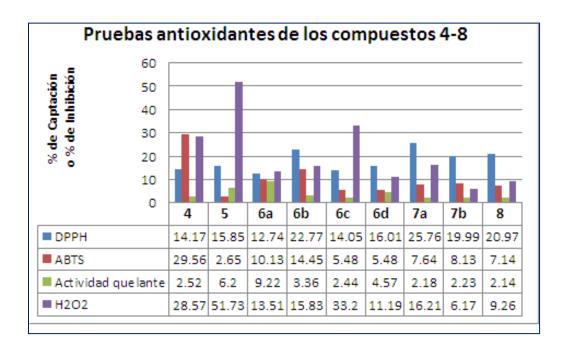
Se preparó una solución con el radical 2-2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) a una concentración $6x10^{-5}$ M en metanol, se pesan 0.0118g del radical DPPH para 500 ml de metanol, protegiéndolo de la luz, posteriormente se midió la absorbancia del radical a 517 nm. Para realizar la prueba se añadió 2 mL del radical DPPH y 50 μ L de la muestra previamente diluida 1:10 se agito y se esperó durante 30 minutos para finalmente medir la absorbancia a una longitud de 517 nm. La curva tipo se realizó con vitamina C a las concentraciones de 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125, 0.015625, 7.8125 x 10^{-3} mg/ml

RESULTADOS

En la tabla 2. Se muestran los compuestos derivados del 2-minobenzotiazol a los cuales se determinó la actividad antioxidante.

Compuesto	Estructura	Compuesto	Estructura
4	SCH ₃ N S N CH ₃	6d	SO ₃ -Na ⁺
5	S N CH ₃ N N S N N N	7a	S N N O O O Na
6a	S N N SCH ₃ H-N O O- Na ⁺	7b	S N N S HN O O O Na
6b	S N N SCH ₃ H-N O H ₃ C O Na ⁺		S N H ₃ CS N SCH ₃
6c	S N N SMe H-N O Ph H O Na ⁺	8	N N N N N N S N S S C H S S C H S S C H S S C H S S C H S S C H S S C H S S C H S S C H S

En la gráfica 1. Se muestran los resultados obtenidos de los compuestos probados con los diferentes métodos antioxidantes DPPH, ABTS, actividad quelante y captación del H_2O_2 . Todos los compuestos mostraron baja captación del H_2O_2 el compuesto 5 fue el que presentó la mayor captación (51.73 %) y el compuesto 7b la menor (6.17 %)



Gráfica 1. % de Captación o inhibición de los diferentes compuestos en las diferentes pruebas antioxidantes.

Para la actividad quelante, el compuesto **6a** fue el que presentó la mayor inhibición (9.22 %) y el compuesto **8** la menor (2.14 %). En la prueba de captación para el ABTS el compuesto **4** fue el que presentó la mayor captación (9.22 %) y el compuesto **5** la menor (2.65 %). En la prueba del DPPH se observa un mayor % de captación del radical comparado con el % de captación para el ABTS debido a que el DPPH es una prueba utilizado para compuestos poco hidrosolubles; como es el caso de los benzotiazoles. En la prueba de captación para el radical DPPH, el compuesto **7a** fue el que presentó la mayor captación (25.76 %) y el compuesto **6a** la menor actividad (12.74 %). La prueba del ⊡aroteno sólo se realizó al compuesto **4**, debido a que fue el único compuesto que presentó la capacidad de inhibir esta reacción y en la tabla 3 se muestran los valores de absorbancia desde el tiempo 0 al minuto 90 y el % de inhibición fue del 93% para el compuesto **4**.

Tabla 3 Actividad inhibidora de la decoloración del β-caroteno para el compuesto 4

Tiempo (min)	Absorbancia (470nm)	Absorbancia(470 nm)
	Compuesto 4	Control
0	0.49	0.31
10	0.42	0.30
20	0.42	0.30
30	0.42	0.30
90	0.42	0.30

% de inhibición=[1- (0.49-0.42)/0.31-0.30]=93%

CONCLUSIONES

Todos los compuestos presentaron la capacidad de captar el DPPH, el compuesto $\bf 5$ presento la mejor actividad (15.85%). Para el ABTS el compuesto $\bf 4$ fue el que presentó mejor actividad (29.56%). Para la prueba del H_2O_2 el compuesto $\bf 5$ fue el que presentó mejor actividad antioxidante (29.56%). En la actividad quelante el compuesto $\bf 6a$ fue el que presentó mejor actividad (9.22%). En la Inhibición del $\bf \beta$ -caroteno el compuesto $\bf 4$ fue el que presentó mejor actividad.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. A. Kabouche, Z. Kabouche, M. Ozturk, U. Kolal, G. Topcu,"Antioxidant abietane diterpenoids from salvia berrielieri". Food Chem.102, 2007, pp 1281-1287.
- 2. M. Joon-Kwan, S. Takayuki, "Antioxidant assays for plant and food components", J Agric Food Chem 2009, 57, pp 1655-1666
- 3. R.M., Pérez, R.Vargas, F.J Martínez, E.V García, B. Hernández, "Actividad antioxidante de los alcaloides de Bocconia arborea. Estudio sobre seis métodos de análisis". Ars Pharma, 44, 2003, pp 15-21.
- Ruch, R.J., Cheng, S.J., Klauning, J.E., 1989. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant cathechins isolated from Chinese green tea. Carcinogen 10,1003-1008.
- R.S. Keri, M.R. M. R. Patil, S.A. Patil, S. Budagumpi,"A comprehensive review in current developments of benzothiazole-based molecules in medicinal chemistry", Eur J of Med Chem, 89,2015, pp 207-251.
- 6. T. Ak, I. Gülcin, "Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin" Chem Biol Int, 174, 2008, pp. 27-37.
- 7. T.C. Dinis, V.M.C Madeira, L.M. Almeida, "Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyradical scavengers". Arch. Biochem.Biophy.315, 1994, pp 161-169.
- 8. Y. Choy, H.S. Jeong, J. Lee J, Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chem* 103, 2007, pp130-138.

COMBATE DE PULGÓN AMARILLO CON DOS MANEJOS EN CUATRO VARIEDADES DE SORGO

Lourdes Icxel Cornejo Mendez, Erandi Natalia García Vázquez, Vianney Montoro Torres y Luis Alberto Noriega González.

Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Roque. Carretera Celaya – Juventino Rosas Km 8.

RESUMEN

El pulgón amarillo (Melanaphis sacchari) puede atacar en todas las etapas del cultivo de sorgo, pero el daño económico se presenta en etapas reproductivas donde el rendimiento se afecta significativamente. Las variedades meioradas que se siembran en el Estado de Guanajuato, son susceptibles al ataque de este insecto y el abuso de insecticidas afecta la disminución de las poblaciones de insectos benéficos. El objetivo de la presente investigación fue identificar el genotipo con mayor resistencia al ataque de pulgón amarillo y el número de insectos benéficos con manejo sustentable y convencional. El trabajo experimental se estableció en el Instituto Tecnológico de Roque, bajo condiciones de riego en el ciclo Primavera - Verano 2016. Los materiales genéticos utilizados en esta evaluación fueron cuatro híbridos de sorgo. DAS-4202 (T3-Sustentable y T8-Convencional), DAS-4255 (T1-Sustentable y T7-Convencional), cobalto (T2-Sustentable y T5-Convencional) y San Jerónimo (T4-Sustentable y T6-Convencional); se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cinco repeticiones. Las variables analizadas fueron cantidad de pulgones por hoja, crisomélidos y crisoperlas por metro cuadrado. Se desarrollaron diez muestreos semanales, y se realizó un análisis combinado. El análisis de varianza logró detectar diferencias altamente significativas, para las variables analizadas. Los tratamientos 4 y 6, presentaron valores menores a 10 pulgones por hoja, sin embargo en el tratamiento 8 se observaron más de 90 pulgones por hoja en promedio. Los mejores tratamientos para la presencia de crisomélidos fueron 1, 6 y 7, con valores de cinco y cuatro crisomélidos por m², y para el número de crisoperlas por m², los tratamientos presentaron un comportamiento similar con tres insectos benéficos por m².

INTRODUCCIÓN

El sorgo dentro de los cereales es el quinto más producido en el mundo con 56 millones de toneladas métricas en el 2009 según FAOSTAT (2017), siendo Estados Unidos, India, México y Nigeria los principales países productores. Estos países juntos aportan aproximadamente la mitad de la producción mundial (Chuck et al., 2011). La FAO (2015) menciona que México en el año 2014 ocupó el segundo lugar en producción a nivel mundial con 8,394,057 toneladas, lo que no asegura el abasto de éste grano básico pero disminuye la dependencia de importación para complementar la demanda, y estas cifras procuran alentar para alcanzar la autosuficiencia del país en la producción de éste cultivo, a su vez, estabilizar la economía evitando los precios de importación que pueden llegar a ser elevados en determinada época del año y por consiguiente los precios de los alimentos industriales balanceados para la alimentación pecuaria. En el estado, el sorgo se cultiva en 34 municipios, involucrando a 37,915 unidades de producción que durante el ciclo Primavera - Verano 2014 y 2015 sembraron 260,250.0 y 241,628.0 ha de este cultivo, respectivamente. El cultivo del sorgo en Guanajuato aporta el 19.03% de la producción nacional de este grano y a nivel estatal alcanza un valor de la producción de \$3,346.63 millones de pesos. Esta actividad económica beneficia de manera directa a más de 65 mil familias guanajuatenses (Yáñez, 2016). El sorgo es un cultivo competitivo debido a su alta rentabilidad y tolerancia a la seguía, además de presentar características deseables para su uso en la alimentación humana y ganadera (Montes et al., 2010). La FAO (1995), considera al cultivo de sorgo como uno de los cultivos más tolerantes a la seguía, ya que requiere de poca cantidad de humedad durante su crecimiento y presenta rendimientos aceptables en condiciones donde otros cultivos no lo hacen. Con el crecimiento actual de la población a nivel mundial y la reducción en la disponibilidad de agua, el sorgo se presenta a corto plazo como un cultivo de importancia en la sobrevivencia humana. El estado de Guanajuato enfrenta la problemática sanitaria con la plaga de pulgón amarillo del sorgo (Melanaphis sacchari), que con el paso del tiempo se han ido agravando y afectando de manera considerable la producción de sorgo en la entidad, alcanzando un daño estimado a nivel nacional de poco más de 2 millones de hectáreas afectadas, con un valor monetario cercano a \$20'890,234.64 (miles de pesos) lo anterior basado en datos de SENASICA (2015). Para el año 2015 se registró un incremento de la temperatura base de 8.7 °C, lo que origino condiciones favorables para su reproducción desde principios del año (SAGARPA, 2015). A causa de esto, la producción de sorgo en Guanajuato disminuyó considerablemente, ya que en muchas parcelas los rendimientos cayeron entre un 30% y 70% de la producción esperada y en algunos casos donde no se atendió la plaga la producción se redujo hasta en un 100% (CESAVEG, 2015). El pulgón amarillo provoca daños directos e indirectos, los primeros son ocasionados debido a la extracción de la savia de las plantas de las cuales se alimentan y a la inoculación de saliva tóxica, produciendo como consecuencia de ello: marchitamiento, clorosis, manchas, disminución en los rendimientos; y ante graves ataques (dependiendo de la especie de que se trate y el estado fenológico del cultivo) hasta la muerte de las plantas. Los daños indirectos los ocasionan cuando los pulgones que se encuentran atacando el cultivo son transmisores o vectores de virus, provocando enfermedades virósicas que hacen disminuir sus rendimientos (Dughetti, 2012). En casos extremos, el pulgón amarillo puede provocar la pérdida total del cultivo (Castillo, 2015).

TEORÍA

El sorgo es una planta cuyo origen, según los expertos, se encuentra en África; sin embargo, diferentes culturas antiquas de Asía como India, Asiria y China lo han cultivado desde épocas milenarias. La llegada al continente americano fue probablemente durante el siglo diecisiete, aunque realmente el proceso de producción comercial se dio durante el siglo posterior, en los Estados Unidos (ASERCA, 1997). Los primeros informes muestran que el sorgo existió en India en el siglo I d. C. esculturas que lo describen se hallaron en ruinas asirías de 700 años a.C. Sin embargo, el sorgo quizás sea originario de áfrica Central- Etiopía o Sudán, pues es allí se encuentra la mayor diversidad de tipos. El sorgo como cultivo doméstico llegó a Europa aproximadamente hacia el año 60 d.C. pero nunca se extendió mucho en éste continente. No se sabe cuándo se introdujo la planta por primera vez en América. Las primeras semillas probablemente se llevaron al hemisferio Occidental en barcos de esclavos procedentes de África (Vargas, 2009). La planta de sorgo presenta las siguientes características botánicas: raíces adventicias, fibrosas y desarrollan numerosas laterales. La profusa ramificación y amplia distribución del sistema radicular es una de las razones por las cuales el sorgo es tan resistente a la falta de agua. Los tallos son cilíndricos, erectos, sólidos y pueden crecer a una altura de 0.60 m. a 3.50 m. estando divididos longitudinalmente en canutos (entrenudos). Las hojas aparecen alternas sobre el tallo, todas las variedades varían en el tamaño de sus hojas. Las hojas del sorgo se doblan durante periodos de sequía, características que reduce la transpiración, contribuye a tan peculiar resistencia de la especie a la sequía. La inflorescencia del sorgo se denomina con el nombre de panícula. El color de la semilla, ya sea blanco, rojo, amarillo o café proviene de complejos genéticos que envuelven al pericarpio. La mayor parte del cariópside es endosperma, el

cual se compone de almidón casi en su totalidad (Gutierrez, 2003). El cultivo de sorgo se destaca por su mayor adaptación y mejor respuesta en condiciones edafoclimáticas limitantes, dando estabilidad de rendimientos en situaciones productivas de menor potencialidad. La expansión de la agricultura y la intensificación de la producción ganadera, ha conducido a una mayor utilización de áreas marginales con limitantes edafoclimáticas importantes. Entre las climáticas, se destacan deficiencias hídricas estacionales, determinadas por el régimen de lluvias desfavorable y/o manejo poco eficiente del aqua: entre las edáficas, especialmente en áreas deprimidas y asociadas a la proximidad de la capa freática, altos contenidos de sales solubles y/o sodio intercambiable. El sorgo juega un rol importante, porque además de usar esta especie como recuperadora, por su capacidad de producir un balance positivo del carbono preservando la estructura física del suelo, se utiliza como forraje (Giorda & Ortiz, 2012). El sorgo representa el grano forrajero con mayor presencia en nuestro país, ya que es el principal ingrediente en la formulación de alimentos balanceados en el sector pecuario. La superficie dedicada a este cultivo alcanzó un promedio de 2 millones de hectáreas en los últimos diez años, con un volumen cercano a los 6.5 millones de toneladas anuales. El rendimiento alcanzó en los últimos cinco años entre 3.7 y 3.9 ton/ha. Tamaulipas es el principal productor nacional, al concentrar el 40.3% del volumen y el 38.2% del valor generado en 2012. Otras entidades con una producción importante de sorgo son: Guanajuato, Michoacán, Sinaloa, Nayarit y Jalisco. El 28% de la superficie se cultiva bajo la modalidad riego, de la cual se obtiene el 49% del volumen y valor generados. Asimismo, el 53% de la superficie se cultiva en el ciclo Primavera-Verano y el 47% restante en el Otoño-Invierno (FIRA, 2014). El estado de Guanajuato es una de las entidades agrícolas más importantes del país. Este estado ocupa el 2do. Lugar nacional en producción de sorgo con una participación del 24%, Las condiciones del suelo y clima en el estado son propicias para el desarrollo agrícola (Bernal et al., 2015). El pulgón amarillo es un insecto pequeño que se encuentra principalmente en el envés (debajo de las hojas del sorgo). Cuando recién llega al cultivo se pueden encontrar en pequeños grupos de adultos sin alas de color amarillo a café claro, posteriormente se pueden apreciar también las crías de éstos primeros adultos, que son las ninfas, de tamaño más pequeño y de color verde pálido a amarillo más dispersas por las hoja . En poco tiempo los pulgones, tanto adultos como ninfas pueden cubrir toda la cara inferior de la hoja, apareciendo también adultos con alas que posteriormente se dispersan por toda la parcela. En infestaciones altas se puede localizar también en la panoja. Cada pulgón puede producir hasta 80 pulgones de dos a tres semanas. Una parte de estos pulgones desarrollan alas y se dispersan aprovechando las corrientes de viento, lo cual les permite invadir nuevas zonas de cultivo. El pulgón se alimenta de la savia que la planta necesita para crecer, desarrollarse y formar los granos. La pérdida de savia por la alimentación del pulgón en las hojas reduce la absorción de nutrientes que podrían ser utilizados para mantener sana a la planta y el llenado de grano. El estrés en la planta puede causar que la panoja no emerja, tener un pobre llenado de grano y reducciones en el rendimiento hasta de un 100%. Las infestaciones severas de pulgón causan que las hojas se cubran con una sustancia pegajosa y brillante (mielecilla), la cual está compuesta por azúcares de la planta y agua. La mielecilla es soluble en agua y puede ser lavada por la lluvia o por riego de aspersión. Si la mielecilla se deja en la planta, finalmente se seca. Sin embargo en la mayoría de los casos la mielecilla favorece el crecimiento de un hongo llamado fumagina, de color negro que cubre la superficie de la hoja provocando que las hojas se sequen y se mueran rápidamente, lo cual afecta la formación de los granos de la panoja (CESAVEG, 2016). A finales del 2013 se detectó una alta infestación de pulgones en parcelas de sorgo durante el ciclo P-V en el Norte de Tamaulipas. Los daños provocados por el pulgón fueron severos y las pérdidas se estimaron entre 30 y 100%. Éste insecto fue identificado como el "pulgón amarillo" Melanaphis sacchari y representó una nueva plaga en ésta región. El origen de ésta especie se localiza en África y actualmente se distribuye en diversos países de Asia, Australia, el Caribe, Centro y Sudamérica. Se desconoce cómo llegó al Noreste de México. Simultáneamente, el pulgón amarillo se reportó en los estados de Texas, Louisiana y Mississippi, E.UA., causando también pérdidas importantes en sorgo (Maya & Rodríguez, 2014). La producción de sorgo en el estado de Guanajuato se ha visto comprometida debido a que se han detectado brotes importantes del pulgón amarillo (Melanaphis sacchari), que con el paso del tiempo se han ido agravando y afectando de manera considerable la producción de sorgo en la entidad, alcanzando un daño estimado a nivel nacional de poco más de 2 millones de hectáreas afectadas, con un valor monetario cercano a \$20'890,234.64 (miles de pesos) lo anterior basado en datos de SENASICA (2015). A pesar de las acciones fitosanitarias tomadas por el Gobierno Federal, para agosto del 2015 se esperó una pérdida del 50% de las 653,257 hectáreas sembradas con sorgo en el estado de Guanajuato (La Jornada, 2015). Este brote repentino, que no solo afecta al estado de Guanajuato sino también a Coahuila, Durango, Jalisco, Nayarit, Nuevo León, San Luis Potosí, Sinaloa y Tamaulipas es una problemática urgente tanto en el ámbito de sanidad y seguridad alimentaria como en el ámbito económico del país. El control integrado para esta plaga se describe a continuación: control cultural (eliminación de plantas hospederas como malezas, socas, disminuir la densidad de siembra, realizer buena preparación de suelo, selección del hibrido adecuado) (Calero, 2015), control biológico (Se han documentado más de 47 especies de enemigos naturales atacando a M. sacchari en todo el mundo, éstos juegan un papel muy importante, ya que frecuentemente mantienen las poblaciones de áfidos por debajo de los umbrales económicos en el cultivo de sorgo. Algunos agentes identificados como eficientes en el control de pulgón amarillo son: Aphelinus maidis, Enrischia, Exochonus concavus, Leucopus spp., Lioadalia flavomaculata, Lysiphlebus testacieps. L. dehliensis (Singh et al., 2004). Se ha dado énfasis al uso de depredadores, como catarinas (Coleóptera: Coccinelidae), crisopas (Neuroptera: Chrysomelidae y Hemerobiidae) y sírfidos (Díptera: Syrphidae) como agentes que causan mayor mortalidad en las poblaciones de pulgón amarillo. Asimismo, se ha encontrado que el hongo entomopatógeno Verticillium lecanii es un importante agente de control biológico en Estados Unidos (SENASICA, 2014), control químico (ingredientes activos como: Flupyradifurone, Sulfoxaflor, Imidacloprid, Thiametoxam y Spirotetramat (CESAVEG, 2016). La idea de adoptar sistemas sustentables requiere que la unidad agrícola sea considerada sistema global, en el que la investigación y la producción busquen no solamente resultados en relación a altos rendimientos en cada rubro, sino en optimizar al sistema como un todo. Lo que se necesita para el diseño de sistemas agrícolas sustentables es una transformación agroecológica de los monocultivos que se logrará favoreciendo la diversidad vegetal en los campos así como la heterogeneidad del paisaie. una estrategia que representa una ruta sólida para aumentar la productividad, la sostenibilidad y la resiliencia de la producción agrícola a la vez que reduce los impactos socio-económicos y ambientales no deseados debidos al cambio climático (Sutherst et al., 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

El experimento se estableció en la Comunidad de San Cayetano, en el predio conocido como la recibidora (parcelas de investigación del ITRoque), en el Municipio de Celaya, Guanajuato. Sus coordenadas geográficas se encuentran determinadas por los siguientes valores: Longitud (dec): -100.819722. Latitud (dec): 20.603333. La localidad se ubica a una altura de 1760 msnm. El clima en esta zona, presenta una temperatura máxima de 25.5 ° C y la mínima de 16° C, la media anual es de 20.85 °C, es un clima semi seco y semi cálido, con una precipitación pluvial promedio de 575.3 mm anuales (SEINTBA, 2012). El suelo que predomina es el Vertisol Pélico. El experimento se condujo bajo condiciones de punta de riego. El manejo agronómico de los cuatro materiales genéticos de sorgo evaluados en esta investigación, se llevo a cabo de forma convencional y sustentable. El manejo convencional consistió en fertilización sin argumento técnico como se

realiza en la zona, con 20 kg de semilla como densidad de siembra, en monocultivos y con aplicaciones químicas para el control de pulgón amarillo. Para el manejo sustentable se realizó un análisis de suelo y se aplicó la fertilización integral en base a los requerimientos del cultivo utilizando fertilizantes químicos, biofertilizantes y ácidos fúlvicos, se combino en este un insecticida granulado sistémico a base de imidacloprid. Se utilizaron 16 kg de semilla como densidad de siembra y se colocaron cultivos atrayentes de insectos benéficos como girasol y cilantro; así como de repelencia de plagas como la chía. Se realizaron monitoreos semanales para pulgón amarillo mediante la técnica de cinco de oros, se tomaron 50 plantas por parcela para realizar la estimación del umbral económico (50 pulgones por hoja en el 20% de las plantas con presencia), utilizando la tarjeta de monitoreo recomendada por el CESAVEG (Figura 1), con este mismo método se realizó la estimación de insectos benéficos.

Se instalaron trampas amarillas con agua y jabón e implementaron aplicaciones de productos biorracionales como jabones y extractos vegetales (Cola de caballo y Piretrina natural). Para el manejo de gusano cogollero se realizarón aplicaciones quimicas con Palgus insecticida de bajo impacto contra insectos benéficos, utilizando el monitoreo para realizar las aplicaciones. Se utilizaron boquillas especificas para realizar las aplicaciones cono hueco para controlar pulgón amarillo y cono lleno para gusano cogollero. Los materiales genéticos utilizados en este trabajo fueron las variedades: DAS-4202 (de ciclo intermedio, con altura de planta de 1.65 metros, de color de grano café y panoja semi-abierta, con 135-145 días a cosecha), DAS-4255 (de ciclo intermedio y altura de planta de 1.30 metros, el color de grano es rojo, con panoja semi-compacta. Los días a la cosecha son 140 días), Cobalto (de ciclo intermedio y altura de planta de 1.65 metros, con color de grano rojo pálido con un tipo de panoja semi- abierta y 145 días a cosecha), San Jerónimo (con ciclo intermedio-tardío, altura de planta de 1.70 metros, con un color de grano bronceado y panoja semi-abierta, con 160 días a la cosecha). Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cinco repeticiones.

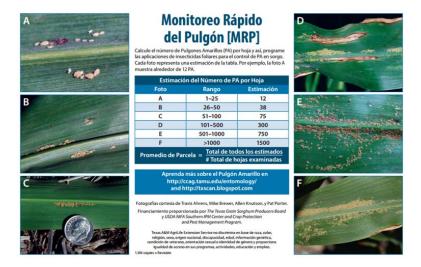


Figura 1. Tarjeta de monitoreo para determiner el umbral económico para la plaga de pulgón amarillo del sorgo.

Las variables analizadas fueron número de pulgones por hoja, número de crisomélidos y crisoperlas por metro cuadrado (Figura 2). Se desarrollaron diez muestreos de forma semanal, y se realizó un análisis de varianza combinado.



Figura 2. Monitoreo de pulgón amarillo e insectos benéficos como crisomélidos y crisoperlas en el cultivo de sorgo.

RESULTADOS

El análisis de varianza combinado a través de diez muestreos logró detectar diferencias altamente significativas, para las variables analizadas. El tratamiento 4 (genotipo San Jerónimo y manejo sustentable), y el tratamiento 6 (genotipo San Jerónimo con manejo convencional), presentaron valores menores a 10 pulgones por hoja, esto indica que nunca sobrepasaron el umbral económico. Sin embargo en el tratamiento 8 sembrado con DAS-4202 y manejo convencional se observaron valores superiores a 90 pulgones por hoja en promedio (Figura 3). Los valores medios para esta variable presentó un rango de 6 a 95 pulgones por hoja. La Figura 3 muestra que el genotipo San Jerónimo presentó el mejor comportamiento para ambos manejos para esta variable, debido probablemente al vigor que presenta la planta. En general el manejo sustentable afecto de manera positiva sobre la presencia de pulgón amarillo.

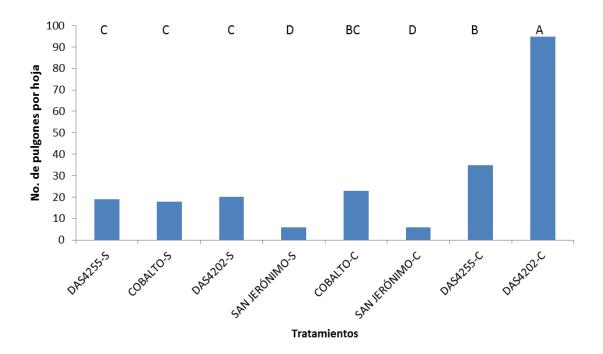


Figura 3. Número de pulgones por hoja en el cultivo de sorgo con dos manejos y cuatro variedades. Instituto Tecnológico de Roque, Primavera – Verano 2016. S=Manejo Sustentable y C=Manejo convencional.

Los mejores tratamientos para la variable presencia de crisomélidos fueron el 1, 6 y 7, con valores de 5 y 4 crisomélidos por m². El tratamiento 8 presentó un valor medio de 1 crisomélido por m², este comportamiento presenta una relación con la afectación por el pulgón amarillo (Figura 4). Como se esperaba la mayor cantidad de insectos benéficos se presentaron en los tratamientos convencionales y en los primeros muestreos debido que las aplicaciones químicas se realizaron cuando se sobrepaso el umbral económico, posterior a esta se disminuyeron notablemente los crisomélidos. Sin embargo los tratamientos sustentables se mantuvieron estables durante la fenología del cultivo debido a que no se realizaron aplicaciones químicas.

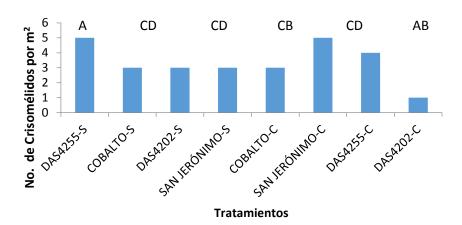


Figura 3. Número de crisomélidos por m² en el cultivo de sorgo con dos manejos y cuatro variedades. Instituto Tecnológico de Roque, Primavera – Verano 2016. S=Manejo Sustentable y C=Manejo convencional.

Para la variable número de crisoperlas por m², los tratamientos presentaron un comportamiento similar con tres insectos benéficos por m², sin embargo el tratamiento 8 presento el valor minimo con 1 insecto benéfico por metro cuadrado, y fue estadísticamente diferente al resto de los tratamientos.

CONCLUSIONES

El genotipo San Jerónimo fue el más sobresaliente bajo las dos condiciones de manejo y en esta zona productiva de sorgo, debido a la presencia mínima de pulgón amarillo y el número de crisomélidos y crisopas por m². El manejo sustentable fue más económico con respecto al convencional y representa una excelente estrategia para controlar de manera agroecológica a las plagas de los cultivos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. ASERCA, 1997. El sorgo mexicano: entre la autosuficiencia y la dependencia externa, México: s.n.
- 2. Bernal, G., Ivonne, P. & Delgado, R., 2015. *Transformación e innovación de granos: El sorgo para la elaboración de cerveza artesanal.*, Cuernavaca, Morelos: AMECIDER-CRIM, UNAM.
- 3. Calero, M., 2015. *Manejo Integrado de plagas del sorgo en Guanajuato,* Guanajuato, Guanajuato: Comisión Estatal de Sanidad Vegetal.
- 4. Castillo, H., 2015. *El pulgón amarillo: una nueva plaga del sorgo en México,* Rio Bravo, Tamaulipas.: CIR-NORESTE, INIFAP, SAGARPA..
- 5. CESAVEG, 2016. Manejo fitosanitario del sorgo. Guía para el manejo del pulgón amarillo del sorgo, Irapuato, Guanajuato.: Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato, A.C.Chuck, H., E. Pérez, C., E. Heredia, O. & S.O. Serna, S., 2011. Sorgo como un cultivo multifacético para la producción de bioetanol en México: Tecnologías, avances y áreas de oportunidad, Monterrey, Nuevo León.: Departamento de Biotecnología e Ingeniería de Alimentos. Tecnológico de Monterrey.
- 6. Dughetti, A., 2012. *Pulgones, clave para identificar las formas ápteras que atacan a los cereales*, Argentina, Buenos Aires.: Red de Información Agropecuaria Nacional.
- FAO, 2015. La alimentación y la Agricultura, claves para la ejecución de la Agenda 2030 para el desarrollo sostenible., Roma: Oganización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura.
- 8. FAOSTAT, 2017. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Aagricultura. [En línea] Available at: http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC [Último acceso: 117 Febrero 2017].
- 9. FIRA, 2014. Panorama Agroalimentario. Sorgo 2014. México D.F. Financiera Rural.
- 10. Gutiérrez, J. M., 2003. *El cultivo de sorgo (Sorghum Vulgare Spp.),* Saltillo, Coahuila.: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- 11. Maya, V. & Rodríguez, Á., 2014. *Pulgón Amarillo, Nueva plaga del sorgo en Tamaulipas.*, Tamaulipas, Ciudad Victoria.: CESAVETAM, INIFAP Y Secretaría de desarrollo rural

- Tamaulipas.Montes, N. y otros, 2010. Sorgo [Sorghum bicolor (L.) Moench] blanco: alternativa para la alimentación humana, Río Bravo, Tamaulipas.: INIFAP.
- 12. SEINTBA S.C., 2012. *Manifestación de impacto ambiental hidráulico. Modalidad particular.*, Celaya, Guanajuato: Steel Technologies de México S.A de C.V.
- 13. SENASICA, 2015. *Pulgón amarillo (Melanaphis sacchari (Zehntner),* Coyoacán, Mexico, D.F.: Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria.
- 14. Singh, B., Padmaj, P. & Seetharama, N., 2004. *Biology and management of the sugarcane aphid, Melanaphis sacchari (Zehntner) (Homoptera:Aphididae), in sorghum: a review,* Rajendranagar, Hyderabad, Andhra Pradesh. India: National Research Centre for Sorghum.
- 15. Sutherst, R. W. y otros, 2011. Adapting to crop pest and pathogen risks under a changing climate.. *Wiley Interdisciplinary Reviewss: Climate Change*, 10(102), pp. 220-237.
- 16. Vargas, G., 2009. Producción y comercialización de Sorgo Grano en México y en el Estado de Puebla: Caso DDR Izúcar de Matamoros, Saltillo, Coahuila: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- 17. Yáñez, R., 2016. Avances en la investigación en el manejo integrado del pulgón amarillo del sorgo, Celaya, Guanajuato.: INIFAP, CESAVEG, Fundación Guanajuato Produce A.C. SAGARPA y SDAyR.

IMPLEMENTACIÓN DE UN PROCESO DE REFINACIÓN DE GRASA DE AVESTRUZ PARA SU USO EN COSMETOLOGÍA

Florencia del Carmen Salinas Pérez, Guillermo Octavio Mendoza González, Carmen Maritza Miramontes López, Leticia Flores-Alatorre Hernández y Lorena Elizabeth Chávez Güitrón.

Universidad Tecnológica de Tecámac. Irnchavez@yahoo.com

RESUMEN

La grasa de avestruz se utiliza en la industria cosmetológica, como humectante por ser un aceite fino y de fácil absorción por la piel, además que este tiene propiedades de regeneración celular. Con este producto se elaboran jabones, cremas, champús, entre otros. Para utilizar esta grasa en la elaboración de cosméticos se requiere utilizar procesos que eliminen las impurezas que contiene. El objetivo de este proyecto fue implementar un proceso de refinación de grasa que no utilice solventes, con el fin de obtener un aceite libre de impurezas y de substancias nocivas para la salud. Se caracterizó el aceite de avestruz determinando sus propiedades fisicoquímicas, según la NOM-089-SSA1-1994. Se utilizó un procedimiento de refinación de la grasa modificado de acuerdo a lo reportado por (Pineda Reyes, 2010). Se realizaron tres repeticiones utilizando 10 muestras de 50 g/repetición. Para caracterizar la grasa se evaluaron las siguientes variables: pH, densidad relativa, porcentaje de ácidos grasos, porcentaje de rendimiento de la grasa e índice de acidez y de refracción. Las variables se evaluaron por un ANOVA y prueba de Tukey. Los resultados fueron: pH 7, densidad relativa de 0.918±0.0008, porcentaje de ácidos grasos 0.822±0.091, índice de acidez 1.64±0.183, índice de refracción 1.46 ±0.002, el rendimiento fue de 57.78 ± 1.734 (%). Los resultados obtenidos de las pruebas fisicoquímicas se encuentran en los parámetros aceptados por la NOM-089-SSA1-1994.

INTRODUCCIÓN

El avestruz (*Struthio camelus*) ha sido un animal cuya función principal para los antepasados fue su aprovechamiento como alimento y la utilización de la piel para protección y vestido. A lo largo del tiempo las nuevas generaciones han diversificado su uso para la producción de carne de avestruz y huevo y la producción de aceite de avestruz, recurso valioso para la industria farmacéutica y cosmética debido a sus propiedades particulares relacionadas con efectos potenciales sobre la salud y ventajas terapéuticas

La extracción del aceite de avestruz rico en ácidos grasos involucra el uso de solventes o la aplicación de calor, donde la temperatura es un factor crítico para su composición, los solventes generan diversos inconvenientes químicos afectando la calidad del aceite. Actualmente existen diferentes métodos de extracción como Baño María asistido con vacío, Rotavapor, Fusión Húmeda, Baño Ultrasónico y Microondas, los cuales tienen ventajas y desventajas. Dos parámetros importantes que se deben plantear para los distintos métodos son rendimiento y calidad del aceite.

Al no existir un método estandarizado para la extracción del aceite de avestruz y considerando que existen factores que pueden variar su composición afectando las propiedades terapéuticas y nutricionales, en este proyecto se utiliza temperatura de 75° sobre grasa macerada en condiciones de baño maría durante 3 horas, la justificación de este método es minimizar una posible degradación química (Isomerización), manteniendo los compuestos bioactivos caracterizados por su insolubilidad en agua pero solubles en disolventes.

TEORÍA

En bioquímica, grasa es un término genérico para designar varias clases de lípidos, aunque generalmente se refiere a los acilglicéridos, ésteres en los que uno, dos o tres ácidos grasos se unen a una molécula de glicerina, formando monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos respectivamente. Las grasas están presentes en muchos organismos formando parte de sus teiidos.

El tipo más común de grasa es aquél en que tres ácidos grasos están unidos a la molécula de glicerina, recibiendo el nombre de triglicéridos o 'triacilglicéridos' (Stryer *et al.*, 2008).

Los triglicéridos sólidos a temperatura ambiente son denominados grasas, mientras que los que son líquidos son conocidos como aceites. Mediante un proceso tecnológico denominado hidrogenación catalítica, los aceites se tratan para obtener mantecas o grasas hidrogenadas. Aunque actualmente se han reducido los efectos indeseables de este proceso, dicho proceso tecnológico aún tiene como inconveniente la formación de ácidos grasos cuyas insaturaciones (dobles enlaces) son de configuración grasas trans (Stryer *et al.*, 2008). Todas las grasas son insolubles en agua y tienen una densidad significativamente inferior.

Químicamente, las grasas son generalmente triésteres del glicerol y ácidos grasos. Las grasas pueden ser sólidas o líquidas a temperatura ambiente, dependiendo de su estructura y composición. Aunque las palabras "aceites", "grasas" y "lípidos" se utilizan para referirse a las grasas, "aceites" suele emplearse para referirse a lípidos que son líquidos a temperatura ambiente, mientras que "grasas" suele designar los lípidos sólidos a temperatura ambiente. La palabra "lípidos" se emplea para referirse a ambos tipos, líquidos y sólidos. La palabra "aceite" se aplica generalmente a cualquier sustancia grasosa inmiscible con agua, tales como el petróleo y el aceite de cocina, independientemente de su estructura química.

Las grasas forman una categoría de lípidos que se distinguen de otros lípidos por su estructura química y sus propiedades físicas. Esta categoría de moléculas es importante para muchas formas de vida y cumple funciones tanto estructurales como metabólicas. Las grasas constituyen una parte muy importante de la dieta de la mayoría de los seres heterótrofos (incluidos los seres humanos) (Sacks & Katan, 2002).

Ácidos Grasos

Fisiológicamente, existen dos ácidos grasos que son verdaderamente " esenciales" que forman parte de la grasa de avestruz identificados como Ácido Linoleico (LA) y el Ácido Alfa-Linolenico (ALA).

El cuerpo no puede fabricar estas grasas por sí sólo, por lo que son esenciales para nuestra salud. Un cuerpo saludable usa LA y ALA para producir otros ácidos grasos que, a su vez, produzcan compuestos beneficiosos llamados eicosanoides o prostaglandinas. Cada uno de los ácidos grasos derivativos juegan específicos papeles en el mantenimiento de la buena salud y son incluidos en la terminología de ácidos grasos esenciales.

Métodos de Extracción de ácidos grasos (Aceites esenciales)

Los métodos de extracción de ácidos grasos para su selección deben considerar dos parámetros importantes rendimiento de aceites esenciales y calidad de aceite, ya que no deben contener impurezas o trazas de solvente debido a su aplicación en productos farmacéuticos y cosméticos.

No hay método estandarizado para obtener aceite de avestruz; por lo general los métodos utilizados dependen de las posibilidades tecnológicas regionales o de necesidades del mercado; entre los más comunes tenemos el método tradicional y la extracción con solventes. El método tradicional requiere un tratamiento térmico a ebullición que ablanda el tejido adiposo permitiendo la salida del aceite; sin embargo, la temperatura es un factor crítico en la composición y/o proporción del producto final, debido a que los ácidos grasos sufren de reacciones de descomposición al someterlos a temperaturas elevadas en presencia o en ausencia de oxigeno; por ejemplo, la degradación de los ácidos grasos saturados en presencia de oxigeno forman monohidroxiperóxidos, cuya ruptura produce sustancias de peso molecular bajo, responsables de ciertos olores característicos; algunas de estas sustancias son semejantes a las que se identifican en reacciones de oxidación de los ácidos grasos insaturados, esto demerita la composición original del aceite. Otros métodos alternativos son: baño maría asistido con vacío, rotavapor, fusión húmeda, baño ultrasónico y microondas.

PARTE EXPERIMENTAL

Proceso de Refinación a Baño María

Para llevar a cabo el proceso de refinación se utilizó un procedimiento modificado de acuerdo al proceso propuesto por (Pineda Reyes, 2010). Se procesaron diez muestras de 50 g y se realizaron tres repeticiones del proceso. La grasa de avestruz se maceró en un mortero con pistilo para disgregar el tejido adiposo. Posteriormente el macerado se colocó en un baño maría a 75°C durante 3 horas 30 min, posteriormente se filtró en un embudo Büchner conectado a un matraz kitasato asistido con una bomba de vacío.

Obtención del porcentaje del rendimiento

Para la obtención del rendimiento de dicho proceso después de filtrar las muestras se procedió a seguir la siguiente fórmula:

Rendimiento (%)= <u>gramos de aceite</u> *100 gramos de muestra

Debido a la ausencia de una Norma Oficial Mexicana (NMX) que evalué los aceites de grasas animales para su utilización en la industria cosmética, se utilizaron las metodologías sugeridas por las NMX para aceites vegetales de uso comestible; tomando como referencia el estudio de Amaya et al., 2007 que establecieron los procedimientos de análisis de la grasa por procedimientos que establecen las normas de su país.

Por lo anterior se realizaron las pruebas fisicoquímicas a la grasa de avestruz sugeridas en la NMX-F-223-1985, también se determinó el índice de refracción de acuerdo con la NMX-F-074-S1981, además de la determinación del porcentaje de ácidos grasos.

CARACTERIZACIÓN DE LA GRASA DE AVESTRUZ

Para la determinación del pH de cada una de las muestras se siguió el procedimiento cuando se utiliza un potenciómetro, por la viscosidad de dicho fluido no se pudo cuantificar el valor del pH con el potenciómetro para lo cual se cuantificó con una tira reactiva de pH.

Densidad relativa

Esta prueba establece la relación de la masa de un volumen dado de una sustancia y la masa de un volumen igual de agua en las mismas condiciones de presión y temperatura, para dicha determinación se siguió el procedimiento que menciona la NMX-53 F-075-1987 para aceites vegetales.

Porcentaje de ácidos grasos

Para la determinación de los ácidos grasos se consideró la metodología descrita en la norma NMX-F-101-SCFI-2012, Alimentos – aceites y grasas vegetales o animales – determinación de ácidos grasos libres - método de prueba.

Índice de acidez.

Para la obtención de la acidez se prosiguió a trabajar según la metodología que establece la NMX-F-101-1987. Entre mayor acidez tenga una muestra el grado de rancidez es mayor. La norma establece que se debe obtener el porcentaje de ácidos grasos libres utilizando como referencia al ácido oleico.

Índice de refracción

El índice de refracción en un aceite indica el cambio de dirección que experimenta una onda al pasar de un medio a otro distinto para lo cual se utilizó el protocolo experimental según la NMX-F-074-S-1981.

RESULTADOS

Rendimiento de la grasa de avestruz.

Refinación de grasa la tabla 1 muestra la media ± error estándar (X±E.E.) del porcentaje de refinación de la grasa de avestruz.

Tabla 1. Rendimiento en la obtención de la grasa de avestruz

NÚMERO DE REPETICIÓN					
1 2 3					
54.2±2.62 a	60.4±1.02 b	57.78±1.73 b			

^{*}Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05).

En el proceso de estandarización de esta técnica se observaron diferencias significativas (P<0.05) entre las 3 refinaciones. Estas diferencias pudieron ser ocasionadas por la estandarización de la técnica, ya que en la primera repetición se observó un menor rendimiento en la obtención de la grasa de avestruz que en las otras dos repeticiones.

pН

El potencial de hidrógeno de las 3 mediciones fue de 7.0±0, no existió diferencia significativa (P>0.05) en el pH entre las diferentes repeticiones.

Densidad relativa

En la tabla 2 se observa la densidad relativa de la grasa de avestruz.

Tabla 2. Densidad relativa de grasa de avestruz

NÚMERO DE REPETICIÓN					
1	2	3			
0.918±0.00008	0.918±0.0007	0.917±0.0008			

El rango de esta medición fue de 0.917 – 0.918. No existió diferencia significativa (P>0.05) en la densidad relativa entre las diferentes repeticiones.

Determinación del porcentaje de ácidos grasos

La Tabla 3 muestra el porcentaje de ácidos grasos (X±E.E.) de las muestras de grasa de avestruz.

Tabla No. 3 Porcentaje de ácidos grasos

NÚMERO DE REPETICIÓN					
1 2 3					
0.897±0.091	0.785±0.091	0.785±0.0915			

El rango promedio de las tres repeticiones fue de 0.785 - 0.897%. No existió diferencia significativa (P<0.05) en la densidad relativa entre las diferentes repeticiones. El rango de ácidos grasos

obtenido en este estudio (0.78-0.897) indica que el ácido oleico se encuentra en una mayor proporción en esta grasa.

Índice de acidez

La tabla 4 indica el índice de acidez en las tres repeticiones. El rango de índice de acidez de las tres repeticiones fue de 1.57 - 1.79 mg KOH /mL de aceite. No existieron diferencias significativas (P<0.05) entre las repeticiones.

Tabla 4. Índice de acidez de la grasa de avestruz.

NÚMERO DE REPETICIÓN					
1 2 3					
1.79±0.183	1.57±0.183	1.57±0.183			

El índice de acidez obtenido se encontró en un rango de 1.57 -1.79, lo anterior indica que el grado de rancidez no es elevado, por lo que el aceite tiene las características adecuadas para su utilización en la industria cosmética.

Determinación del índice de refracción

La tabla No. 5 muestra el índice de refracción de las 3 repeticiones (X±E.E.). El rango del índice de refracción de las 3 repeticiones fue de 1.466 – 1.467. No existieron diferencias significativas (P>0.05) entre las repeticiones.

Tabla No. 5 Índice de refracción

NÚMERO DE REPETICIÓN					
1 2 3					
1.46±0.0002	1.4668±0.0002	1.466±0.0002			

Pineda Reyes, 2010 estandarizó el proceso de refinación de grasa de Emú sin el uso de solventes. Este método de obtención de la grasa de avestruz realizado en este estudio utiliza el calentamiento de la muestra en baño maría, con este proceso se obtuvo un rendimiento del 32% \pm 2. En el estudio realizado con grasa de avestruz se estandarizó el proceso de refinación por medio del calentamiento de la grasa a baño maría en un rango de temperatura de 77 - 80°C y posteriormente filtrando la grasa mediante una bomba de vacío de 2 HP, el promedio del porcentaje de rendimiento obtenido fue de 66 \pm 2. El proceso de refinación de la grasa de avestruz estandarizado en este estudio tuvo un porcentaje mayor de rendimiento que el obtenido por Pineda Reyes.

Márquez et al., 2007, realizaron el proceso de rompimiento celular con una procesadora doméstica para facilitar la extracción del aceite de Nandú. De igual forma Pineda Reyes, 2010 menciona el proceso de rompimiento celular para la extracción del aceite de Emú. En el presente proyecto se realizó una maceración de las muestras en un mortero con pistilo, hasta observar la disgregación completa de la grasa de avestruz. El proceso de macerado previo a la exposición del tejido adiposo a baño maría permitió obtener un mayor rendimiento en la obtención del aceite.

Márquez *et al.*, 2007 utilizó una temperatura en el baño maría de 100°C, para lograr que el aceite de Ñandú alcanzara una temperatura de 70°C. Pineda Reyes, 2010 estableció una temperatura similar a la utilizada por Márquez *et al.*, 2007. En este proyecto se mantuvieron las mismas condiciones de temperatura en el baño maría que utilizo Márquez *et al.*, 2007, las muestras de grasa de avestruz alcanzaron un rango de temperatura de 75 – 80°C y el tiempo promedio del proceso de refinación de la grasa de avestruz fue de 210 minutos.

Ramírez 2008, indica que el índice de refracción es un parámetro de suma importancia para la industria de los aceites, ya que este valor establece la relación que existe entre el peso molecular y el grado de saturación de la cadena de ácidos grasos. Los aceites animales deben contar con un rango en el índice de refracción de 1.45 a 1.50. El valor promedio del índice de refracción de la grasa de avestruz obtenido en este estudio fue de 1.46 ±0.00021. Pineda Reyes 2010, demostró que el índice de refracción para el aceite refinado de Emú es de 1.46. El índice de refracción obtenido en este estudio fue de 1.46 ±0.00021, permite caracterizar al aceite de avestruz. Este índice se encuentra en un rango acorde con el grado de saturación que tienen las cadenas de ácidos grasos. Con lo que se hace evidente que las grasas analizadas en este estudio son de tipo animal.

Debido a que no existen actualmente una Norma Oficial Mexicana que establezca los parámetros en el caso de las grasas animales, para las siguientes variables fisicoquímicas: Ïndice de ácidez, porcentaje de ácidos grasos, densidad relativa, índice de refracción y pH, se sugiere evaluar un número mayor de muestras para generar una propuesta de párametros para las variables anteriormente mencionadas.

CONCLUSIONES

Se implementó un método de refinación de grasa de avestruz con calentamiento por medio del baño maría y refinación con una bomba de vació.

El proceso de refinación de grasa de avestruz implementado tuvo un rendimiento promedio del 57.4%.

Las pruebas fisicoquímicas realizadas en este estudio demuestran cuales son los parámetros que podrían ser considerados para la propuesta de una Norma Oficial Mexicana para la utilización de grasas animales en la industria cosmética.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Amaya, L., Díaz, F., Moncada, M., García, N., & Guerrero, G. E. (2007). Obtención del aceite de las semillas de *Luffa cylindrica* y evaluación de su potencial uso en la industria cosmética.
- 2. Márquez, R., Repiso, L., Sala , A., Sallé , L., & Silvera , C. (2007). Estudio de una tecnología de extracción y fraccionamiento de aceite de ñandú de alta calidad para su utilización en la industria cosmética y farmacéutica. *Publicación anual del laboratorio tecnológico del Uruguay*, 4 6.
- 3. Pineda Reyes, A. M. (2010). Extracción de aceite de Emú sin el uso de solventes. En A. Pineda Reyes, Caracterización del Perfil de Ácidos Grasos del Aceite de Emú (págs. 13-15). México D.F: IPN.
- Sacks, F. M., & Katan, M. (2002). Randomized clinical trials on the effects of dietary fat and carbohydrate on plasma lipoproteins and cardiovascular disease. The American journal of medicine, 113(9), 13-24.
- 5. Stryer, L., Berg, J. M., & Tymoczko, J. L. Bioquímica. 5ª edició. Ed. Reverté. Barcelona (2008). Devlin T. *Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas*.
- 6. Pineda Reyes, A. M. (2010). Extracción de aceite de Emú sin el uso de solventes. En A. Pineda Reyes, Caracterización del Perfil de Ácidos Grasos del Aceite de Emú (págs. 13-15). México D.F: IPN.
- 7. Ramírez López G. 2008. Tecnología de aceites y grasas. Universidad de Antioquia. Departamento de Farmacia. Consultado el 29/0417. http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/44587/mod_page/content/1/A ceites_y_grasas_2008.pdf

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA FLORA MICROBIANA ASOCIADA A QUERATOCONJUNTIVITIS INFECCIOSA BOVINA EN MICHOACÁN, MÉXICO

Ríos-Alanís AM, Herrera-Camacho J, López-Meza JE, Segura-Correa JC.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-Universidad Michoacana De San Nicolás de Hidalgo Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales

Universidad Michoacana De San Nicolás de Hidalgo

Universidad Autónoma de Yucatán, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias.

RESUMEN

La enfermedad ocular más común que afecta a los bovinos en el mundo es la Queratoconjuntivitis Infecciosa Bovina (QIB), la cual se ha asociado a la bacteria *Moraxella bovis*. En el presente estudio se estimó la prevalencia de QIB en las cuencas lecheras del altiplano Michoacano y la región de la Ciénega y se identificó el agente causal de la enfermedad. Se obtuvieron muestras oculares de 17 bovinos que presentaban QIB de una población de 761 cabezas. De estas muestras se obtuvieron 38 aislados, los cuales se caracterizaron mediante tinción de Gram y la identificación de los aislados se realizó mediante la amplificación por PCR de una región del gen ribosomal 16S, a la cual se le determinó la secuencia de nucleótidos y se usó para realizar comparaciones en la base GenBank. La incidencia de QIB fue de 2.23% y se identificó la microbiota bacteriana asociada a ella, así como, a *M. bovoculi* como posible agente causal de la enfermedad. Hasta nuestro conocimiento el presente estudio es el primero de este tipo que se ha realizado en México, por lo que es necesario ampliar la investigación para determinar la incidencia de la QIB y la microbiota asociada a ella.

INTRODUCCIÓN

La Queratoconjuntivitis Infecciosa Bovina (QIB) es una enfermedad causada principalmente por la bacteria Gram negativa *Moraxella bovis*, la cual es de distribución mundial y provoca pérdidas económicas asociadas al tratamiento y reducción de la productividad de los bovinos; afectando al sector ganadero (Sosa *et al.*, 2015).

En México, aunque es una enfermedad enzoótica en las diferentes regiones geográficas, su aparición se asocia a las condiciones ambientales y a la presencia estacional de vectores. En los estados del norte del país interviene la intensa radiación solar, en el altiplano se asocia a vectores (moscas) y tolvaneras y en los estados del sur influye principalmente la presencia de vectores (Gasque, 2008). Sin embargo, se desconoce, el impacto de esta patología sobre la producción animal (Infante et al., 2000; Zamora et al., 2010).

Algunos estudios han estimado que se pierden entre 10 y 20 kg de carne por animal (Martirena y Turrens, 2013). En Estados Unidos de Norteamérica, se ven afectadas más de 10 millones de cabezas de ganado anualmente (Hare *et al.*, 2008), estimándose pérdidas de más de 200 millones anuales (Addison, 2011).

La bacteria *M. bovis* se ha aislado en el 85% de los animales enfermos y a partir de ella se puede reproducir la enfermedad en 80 a 90% (Gasque, 2008), sin embargo, se han identificado otros agentes patógenos que pueden agravar el cuadro clínico (Blood y Radostits, 1992; Turquieto *et al.*, 2008). Al respecto, la flora bacteriana normal de la conjuntiva en bovinos se ha estudiado poco, de tal forma que no existen parámetros fenotípicos y genotipicos que permitan comparar la flora bacteriana del ojo de bovinos clínicamente sanos y aquellos animales con QIB. Hare *et al* (2008) y Sosa (2013) identificaron la flora bacteriana asociada a casos clínicos de QIB, obteniendo un 67% de bacterias Gram negativas y 70% de bacterias Gram positivas respectivamente.

En México no se ha documentado sobre la investigación del agente causal de QIB, no obstante, se tiene conocimiento su existencia al observar bovinos con lesiones oculares características de la enfermedad, similar situación prevalece en Michoacán.

En el presente estudio se identificó la microflora ocular asociada con QIB y a *Moraxella bovoculi*, como posible agente causal en casos clínicos observados en dos Cuencas Lecheras de Michoacán, en las localidades de Uruétaro, Marcos Castellanos, Sahuayo, Emiliano Zapata y Villa Madero durante los meses de julio a diciembre de 20015.

TEORÍA

La principal bacteria responsable de la QIB es *Moraxella bovis*, cocobacilo, que pertenece a la familia *Moraxellelaceae*, clase Proteobacteria (Baptista, 1979); se considera un patógeno oportunista, identificado en la conjuntiva y secreciones nasales de bovinos sin signología clínica o historia clínica de infección ocular (Pugh *et al.*, 1986).

Entre los factores que se asocian a la patogenicidad de *Moraxella spp.*, se encuentran la expresión de fimbrias, lipopolisacáridos, proteínas de membrana externa (OMP), hemolisinas, fosfolipasas, sistemas de adquisición de hierro y enzimas proteolíticas (Postma *et al.*, 2008).

Esta bacteria, vive en el suelo o en las plantas y es mediante el viento, las patas de las moscas, esta última considerada como un factor importante en la transmisión ya que puede vivir hasta tres días en ella (Blood y Radostits, 1992; Infante *et al.*, 2000), o por contacto directo de animales portadores que es depositada en el ojo (Gerhardt *et al.*,1982), esta invade las glándulas lagrimales y el tarso; y aquellas bacterias que poseen fimbrias, que son pili tipo IV, se adhieren a la capa externa de la córnea (Minatel y Corbellini, 2007), provocando daño a la integridad de esta, además de que secretan una citotoxina β-hemolítica, que afecta la córnea y a los leucocitos (Postma *et al.*, 2008). En las primeras 12 horas se observan erosiones microscópicas en la córnea, sin evidencia de una respuesta inflamatoria (Bretschneider y Pérez, 1996).

Los signos clínicos tempranos son epifora, fotofobia y blefaroespasmo, seguido por uno o dos días, con la opacidad en el centro de la córnea, que puede progresar a ulceración causando ceguera temporal o permanente por descemetocele y ruptura de la córnea (Blood y Radostits, 1992; Odeón *et al.*, 2006, Minatel y Corbellini, 2007). Se ha descrito que en el transcurso de un mes el 100% del ganado podría presentar la signología (Baptista, 1979).

El diagnóstico se obtiene mediante la observación de los signos clínicos, la lesión patognomónica es la úlcera en el centro de la córnea y es necesaria la confirmación en el laboratorio para conocer el tipo de cepa actuante, el espectro antigénico y la sensibilidad a los antibióticos (Turquieto *et al.*, 2008).

La presentación de la enfermedad es aguda y tiende a difundirse rápidamente (Infante et al., 2000), si bien, *M.bovis* es el microorganismo más común y que provoca las lesiones más severas, se han identificado otros agentes patógenos como *Herpesvirus bovino 1 (BoHV-1), Branhamella ovis, Chlamydia, Escherichia coli, Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus y Pasteurella sp., que pueden agravar la enfermedad (Blood y Radostits, 1992; Gasque, 2008; Turquieto <i>et al.*, 2008).

La flora bacteriana normal de la conjuntiva en las diferentes especies animales se ha estudiado poco, de tal forma que no existen parámetros fenotípicos y genotípicos que permitan comparar la flora bacteriana del ojo de bovinos clínicamente sanos y aquellos animales con QIB, Wilcox (1970), comparó la flora bacteriana del saco conjuntival de bovinos clínicamente sanos y bovinos afectadas con QIB, evaluando las características de las colonias, la tinción Gram, morfologia y pruebas bioquímicas, asignando género y en la medida de lo posible la especie. En ambos grupos aisló *M. bovis, M. liquefaciens, M. nonliquefaciens, Acinetobacter* sp, *N. catarrhalis, Actinobacillus* sp., bacilos Gram negativos no identificados, Corynebacterias, *Bacilos* sp, *Strep. faecalis*, y cocos Gram positivos no identificados. En las vacas con QIB *Proteus* sp también fué aislasdo. En animales sanos se encontraron *Moraxella* no clasificada, Coliformes y *Staph. aureus*.

En similares circunstancias para la identificación de microorganismos presentes en bovinos con QIB, Spradbrow (1967) aisló en alto porcentaje varias especies de *Neisseria* y en menor proporción *Achromobacter*, *Haemophilus*, *Micrococcus*, *Corynebacterias* y *Moraxella bovis*, esta última únicamente en dos hatos de 25 que incluyó el estudio.

En 1986 Barbar y colaboradores identificaron a *M bovis*, *M. catarrhalis* y a *Mycoplasma bovoculi* como parte de la flora bacteriana normal en terneros sanos; por su parte, en 1989 Sarma y colaboradores aislaron *Streptococcus spp., Mannaheimia haemolytica, Corynebacterium bovis y Micrococcus spp.*, ambos autores citados por Sosa (2013).

Hare et al (2008) aislaron Exiguobacterium acetylicum, Arthrobacter gandavensis,. Arthrobacter luteolus, Pseudomonas spp, Aeromonas spp y Acinetobacter spp en casos clínicos de QIB.

En un estudio similar realizado por Sosa (2013) en Uruguay en el que analizó fenotípica y genotípicamente los componentes de la biota bacteriana asociada a brotes de QIB identificó a

Staphylococcus pasteuri, Streptococcus pluranimalium, Granulicatella spp., Pasteurella multocida, Trueperella pyogenes, Acinetobacter spp., Pantoea spp. y Pseudomonas, Aeromicrobium, Microbacterium, Acetobacter y Arthrobacter también a Desemzia incerta y Cellulomonas spp. Pertenecientes a la biota ambiental.

PARTE EXPERIMENTAL

La identificación de los animales se realizó mediante visitas y observación de los diferentes hatos, seleccionando a aquellos con signología ocular uni o bilateral, sugerente de QIB como epifora, conjuntivitis, opacidad corneal, blefaroespasmo, fotofobia y ulcera corneal (Blood y Radostits, 1992; Odeón et al., 2006; Minatel y Corbellini, 2007). Previo a la toma de muestras de los ojos, afectados y sanos, se realizó antisepsia de la región periocular con gasa impregnada con cloruro de benzalconio jabón al 10% y solución cloruro de sodio al 0.9%. La muestra se tomó de la superficie ventral del ojo, entre el globo ocular y el saco conjuntival con hisopo estéril, el cual se depositó en un tubo con medio estéril Cary Blair (COPAN Italia S. P. A.) y se transportó a una temperatura de 5°C para su procesamiento en el Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en Morelia, Michoacán.

Adicionalmente, a los propietarios de cada unidad de producción se les aplicó un cuestionario para el registro del expediente clínico, lo que permitió identificar a cada uno de los casos clínicos seleccionados.

La siembra de las muestras colectadas se realizó distribuyendo el hisopo impregnado de contenido ocular en cajas Petri con agar sangre como medio de cultivo e incubadas a 37°C por 24 h.

Transcurrido el tiempo de incubación se realizó la observación macroscópica de las colonias formadas y se seleccionaron aquellas grises-blanquecinas, redondas, de 1 a 3 mm, convexas con o sin halo de hemolisis, características que pudieran asociarse con *M. bovis*.

Las colonias seleccionadas se depositaron, con el asa Henle, en tubos Falcon de 15 ml con 2.5 ml de caldo Luria Bertani (LB) e incubadas por 24 h a 37°C en agitación continua. Transcurrido este tiempo la muestra fue utilizada para realizar la tinción de Gram y la extracción de ADN.

La diferenciación de las bacterias en Gram positivas y Gram negativas se realizó mediante observación en el microscopio óptico con objetivo 40x, tomando como referencia la coloración de las bacterias azules positivas y rojas negativas.

Del caldo LB se utilizó una muestra de 1.5 ml en tubos Eppendorf y fue centrifugada a 12,000 rpm por 5 min, la pastilla resultante se resuspendió en 450 µl de solución TE (Tris 10 mM-EDTA 1mM pH 7.5) y se adicionó 20 µl de lisozima (20 mg/ml) incubándose 15 min a 37°C. Se adicionó 50 µl de solución SDS (dodecilsulfato sódico) al 10% y se incubó a 37°C por 15 min. Se agregó 100 µl de solución NaCl 5M e incubó a 65°C por 5 min, luego se adicionó 80 µl de solución CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio) 10%/NaCl 0.7M e incubó por 10 min a 65°C. Enseguida se adicionó 500 µl de fenol:cloroformo:alcohol isoamílico en relación 24:24:1, una vez mezclado se adicionó 5 µl de bromuro de etidio (10 mg/ml) continuando con la centrifugación a 10,000 rpm por 5 min. Finalmente se colectó la fase acuosa en tubos nuevos. El ADN se precipitó con un volumen de etanol absoluto (aprox. 1000 µl) e incubó por 20 min a -80°C, el ADN se colectó por centrifugación a 12,000 rpm, a 4°C por 15 min. La pastilla resultante se lavó con 200 µl de etanol al 70%, nuevamente se centrifugó a 13,000 rpm, a 4°C por 3 min, el procedimiento se realizó dos ocasiones. Se retiró el etanol y la pastilla se dejó secar a temperatura ambiente por unos minutos. Posteriormente, el ADN se resuspendió en 45 µl de agua desionizada y se colocó 15 min a 37°C. La integridad del ADN se verificó por electroforesis en geles de agarosa 1%.

La identificación de los aislados correspondientes se llevó a cabo por análisis molecular amplificando una región del gen ribosomal 16S, cuyo tamaño del producto fue aproximadamente 1.5 kb. Se utilizaron los siguientes oligonucleótidos (Elim Biopharmaceuticals Inc USA): Directo 5-AGAGTTTGATCCTGGCTGAG- 3' y Reverso 5- GGTTACCTTGTTACGACTT- 3'.

La amplificación por PCR se llevó a cabo con 50 ng de ADN genómico, el cual se mezcló con 2 μ l de Buffer 10X (Tris-Cl 100 mM, KCl 500 mM); MgCl $_2$ 1.5 mM; dNTP's 2 mM (dATP, dCTP, dGTP y dTTP), 1 μ l de Taq ADN polimerasa (1 U/ μ l) y se adicionó agua destilada estéril hasta un volumen final de 20 μ l. Como control negativo de las reacciones se empleó agua para PCR en lugar de ADN. La reacción de amplificación se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones: Un paso inicial de 95°C por 5 min; posteriormente se realizaron 30 ciclos con el siguiente programa: 30 seg a 95°C

para la desnaturalización del ADN, posteriormente 30 seg a 58°C para el alineamiento de los oligonucleótidos, la extensión se llevó a cabo a 72°C durante 1.5 min. Al final se le dió una extensión de 5 min a 72°C. Se revisó y analizó la integridad de los productos de PCR mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1%.

Los productos de la amplificación se remitieron para su secuenciación a la empresa Elim Biopharmaceuticals, Inc., atendiendo las especificaciones para su envío e incluyeron los oligonucleótidos utilizados para la amplificación (León Galván, 2015).

Los electroferogramas derivados de la secuenciación se interpretaron mediante el programa Mega 7.0.7 (DNASTAR). Las secuencias obtenidas del gen ARNr 16S se compararon con las disponibles en la base de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information) para evaluar la identidad de los aislados a través de la opción BLAST (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/seguence-analysis/).

Para el análisis de los datos se realizaron medidas descriptivas consistentes en la estimación de frecuencias.

RESULTADOS

Las muestras se colectaron de 17 animales, de los cuales 15 presentaron lesión unilateral y dos animales lesiones en ambos ojos. Las 34 muestras cultivadas correspondieron a 15 de ojos clínicamente sanos y 19 de ojos con lesiones. Se aislaron 38 colonias, 13 de ojos clínicamente sanos y 25 con lesiones con características morfológicas asociadas a *Moraxella* (Tabla 1).

En el presente estudio la identidad de los aislados de las lesiones oculares asociadas a QIB fue diversa, predominando las bacterias Gram positivas en 74%; similar al 70% informado por Sosa (2013) y en humanos con conjuntivitis (Hernández y Quintero, 2003). Se atribuye la mayor presencia de estas bacterias a la resistencia ante condiciones secas y adversas de este género por poseer una pared celular más gruesa y rica en peptidoglicano (Nanclares, 2016).

Tabla 1. Número de muestras obtenidas del cultivo de aislados oculares en agar sangre (M1-M38) y microorganismos identificados mediante la secuenciación de los 38 aislados asociadas a queratoconjuntivitis infecciosa bovina.

Anim al	Tipo de lesión	Registr o de la muestr a	Característi ca del ojo	Tinción Gram	Microorganismo identificado
1	Bilateral	M1	LESIÓN	+	Staphylococcus saprophyticus
		M2	LESIÓN	+	Rhotia nasimurium
		M3	LESIÓN	+	Staphylococcus saprophyticus
		M4	LESIÓN	+	Staphylococcus saprophyticus
2	Unilateral	M5	SANO	+	Bacillus toyonensis
		M6	SANO	-	Pseudomonas aeruginosa
3	Unilateral	M7	SANO	+	Staphylococcus saprophyticus
		M8	LESION	+	Staphylococcus saprophyticus
4	Unilateral	M9	SANO	+	Staphylococcus saprophyticus
		M10	SANO	+	Enterococcus mundtii
5	Bilateral	M11	LESIÓN	+	Staphylococcus agnetis
		M12	LESIÓN	+	Staphylococcus agnetis
		M13	LESIÓN	-	Moraxella bovoculi
		M14	LESIÓN	-	Moraxella bovoculi
		M15	LESIÓN	+	Streptococcus uberis
6	Unilateral	M16	LESIÓN	-	Mannheimia granulomatis
		M17	LESIÓN	+	Streptococcus uberis
		M18	LESION	+	Streptococcus uberis
7	Unilateral	M19	LESION	+	Arthrobacter luteolus
		M20	SANO	+	Bacillus aerius
8	Unilateral	M21	SANO	-	Moraxella equi

		M22	LESION	+	Arthrobacter gandavensis	
9	Unilateral	M23	LESION	+	Arthrobacter luteolus	
10	Unilateral	M24	SANO	+	Streptococcus dysgalactiae	
		M25	LESION	+	Peptoniphilus indolicus	
11	Unilateral	M26	LESION	+	Bacillus pumilus	
		M27	SANO	-	Moraxella bovoculi	
12	Unilateral	M28	SANO	-	Pseudomonas zhaodongensis	
		M29	LESION	-	Moraxella bovoculi	
13	Unilateral	M30	SANO	+	Staphylococcus agnetis	
		M31	LESION	-	Corynebacterium aquilae	
14	Unilateral	M32	LESION	-	Enterobacter mori	
		M33	LESION	+	Staphylococcus chromogenes	
		M34	SANO	+	Streptococcus suis	
15	Unilateral	M35	LESION	+	Staphylococcus chromogenes	
16	Unilateral	M36	LESION	+	Staphylococcus haemolyticus	
		M37	LESION	+	Staphylococcus agnetis	
17	Unilateral	M38	SANO	-	Acinetobacter Schindler	

En el grupo de las Gram positivas, la flora bacteriana más abundante estuvo representada por *Staphylococcus saprophyticus* con una frecuencia del 15%, *Staphylococcus agnetis* 10.25%, *Streptococcus uberis* 7.59%, *Staphylococcus chromogenes y Arthrobacter luteolus* con una frecuencia cada uno de 5.12%, *mientras que Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus suis*, *Enterococcus mundtii*, *Bacillus aerius*, *Bacillus toyonensis*, *Bacillus pumilus*, *Rhotia nasimurium*, *Arthrobacter gandavensis*, *Peptoniphilus indolicus* y *Corynebacterium aquilae* se encontraron en frecuencia de 2.56% cada uno. Por otro lado, el 26% restante correspondió a bacterias Gram negativas, predominado *Moraxella bovoculi* con una frecuencia del 10.25%, mientras que el resto de microorganismos identificados (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas zhaodongensis*, *Mannheimia granulomatis*, *Acinetobacter Schindler*, *Enterobacter mori y Moraxella equi*) tuvieron una frecuencia de 2.56% (Tabla 2).

Tabla 2. Frecuencia de asilamiento de la microbiota asociada a queratoconjuntivitis infecciosa bovina en 38 aislados

Microorganismo identificado	PORCENTAJE
Acinetobacter Schindler	2.56
Rhotia nasimurium	2.56
Bacillus toyonensis	2.56
Pseudomonas aeruginosa	2.56
Enterococcus mundtii	2.56
Mannheimia granulomatis	2.56
Bacillus aerius	2.56
Moraxella equi	2.56
Arthrobacter gandavensis	2.56
Streptococcus dysgalactiae	2.56
Peptoniphilus indolicus	2.56
Bacillus pumilus	2.56
Pseudomonas zhaodongenisis	2.56
Corynebacterium aquilae	2.56
Enterobactter mori	2.56
Streptococcus suis	2.56
Staphylococcus haemolyticus	2.56
Arthrobacter luteolus	5.12
Staphylococcus chromogenes	5.12

Streptococcus uberis	7.59
Staphylococcus agnetis	10.25
Moraxella bovoculli	10.25
Staphylococcus saprophyticus	15.00

Respecto a la distribución de las bacterias en ojos sanos y aquellos con lesiones características de QIB, se identificó mayor presencia de microorganismos en los ojos lesionados (25) predominando sobre la menor proporción de estos en ojos sanos (13). Los resultados se atribuyen a que en la córnea lesionada los mecanismos inmunes se encuentran alterados favoreciendo la invasión de otros agentes infecciosos oportunistas.

En los estudios donde se ha identificado la microflora bacteriana en bovinos asociada a QIB se ha obtenido amplia diversidad y al compararlas con el presente estudio, se encontró similitud en algunas especies o géneros entre los que se pueden citar a *Acinetobacter* spp (Wilcox, 1970; Hare *et al.*,2008, Sosa, 2013), Bacilos sp, Corynebacterias (Spradbrow,1967; Wilcox,1970), Sarma y colaboradores citados por Sosa (2013) aislaron principalmente *Streptococcus spp*, en otro estudio se obtuvieron *A. gandavensis, A. luteolus, Pseudomonas spp.* (Hare *et al.*, 2008, Sosa, 2013), *Arthrobacter* (Sosa, 2013), *M. bovoculi* (Angelo *et al.*, 2007; Libardoni, 2012; Sosa y Zunino, 2013). Diferencias entre estudios pudiera atribuirse a que en cada región geográfica la microbiota ambiental es diferente.

CONCLUSIONES

Algunas de las bacterias que se aislaron en este estudio se han asociado como agentes etiológicos de conjuntivitis y queratitis en bovinos, otros son microorganismos presentes en la conjuntiva de animales sanos, o habitan la piel y fosas nasales y ascienden al ojo provocando infección debido a que son oportunistas, considerando que normalmente no se asocian con enfermedad ocular bovina o bien, su diseminación se ve favorecida por las condiciones ambientales de una granja.

Se requiere realizar mayor investigación e identificar la microflora ocular en bovinos sanos, así como, la frecuencia de aislamiento del género *Moraxella* en animales sanos y en QIB.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. B. Addison. Research shows new emerging strain of pinkeye. Progressive Cattleman. 2011, pp 22-23
- 2. J.A. Angelos , Spinks PQ, Ball LM, George LW(2007c) *Moraxella bovoculi* sp. nov., isolated from calves with infectious bovine keratoconjunctivitis. Int J Syst Evol Microbiol. 57:789-795.
- 3. P.J. Baptista PJ. (1979). Infectious bovine Keratoconjunctivitis, a review. Br . Vet. J. Vol. 135, 3, 1979, pp 225-242.
- 4. D.C. Blood, O.M. Radostits. Enfermedades causadas por bacterias. En Medicina Veterinaria. Séptima edición. Vol I. Madrid Interamericana. McGraw-Hill, 1992, pp 750-753.
- 5. G. Bretschneider, S.E. Pérez SE. (1996). Queratoconjuntivitis Infecciosa Bovina: Tipos de vacunas y su evaluación. Tesina de grado. FCV-UNCPBA Tandil, 1996, pp 1-56.
- 6. R. Gasque. Queratoconjuntivitis infecciosa bovina. Enciclopedia Bovina. Enfermedades de los bovinos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UNAM. 2008. www.fmvz.unam.mx/fmvz/e bovina/ Fecha de consulta: 12 de enero 2015
- 7. R.R. Gerhardt, J.W. Allen W.H. Greene. The role of face files in an episode of Infectious Bovine Keratoconjunctivitis. J Am Vet Med Assoc. Vol. 180, 2, 1982, pp 156-159.
- 8. W.R. Hare, P.G. Hoyt, C. Hohn, J.A Higgins (2008). Ribosomal RNA-based analysis of the bacterial flora from the conjunctivae of cattle whit bovine keratoconjunctivitis (BKC). Vet Microbiol. Vol. 131, 1, 2008, pp 358-368.

- 9. P. Hernández, G. Quintero. Etiología bacteriana de infecciones oculares externas. Nova Publicación Científica. Vol. 1, 1, 2003, pp 57-64.
- 10. F. Infante, G. Flores, NA Falcón, AF Infante. Control de un brote de Queratoconjuntivitis Infecciosa Bovina mediante el control de las moscas en estadio larvario. Med. Vet. Vol 17, 11, 2000, pp 273-276.
- 11. F. Libardoni, Ch. Scherer, L. Farias, A. Vielmo, C. Balzan, A. Vargas (2012). *Moraxella bovoculi* in cases of infectious bovine keratoconjunctivitis in Rio Grande do Sul, Brazil. Pesq. Vet. Bras. Vol. 32, 8, 2012, pp 743-746.
- 12. M.J. Martirena, M. Turrens. Descripción clínica de las lesiones oftalmológicas, producidas en un brote de quertoconjuntivitis bovina infecciosa en terneros de destete precoz. Tesis de grado, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República (Uruguay) 2013.
- 13. L. Minatel, C. Corbellini. Efecto de la deficiencia de cobre sobre el desarrollo de Queratoconjuntivitis Infecciosa Bovina en terneros desafiados experimentalmente con *Moraxella bovis*. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Área de Patología Básica, 2007, pp 1-101.
- 14. D.A Nanclares. Evaluación de las bacterias aisladas de material particulado PM2.5 captado en tres estaciones de la Red de Monitoreo de Calidad de Aire del Área Metropolitana Valle de Aburrá. Tesis de Magíster. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Minas, Escuela de Geociencias y Medio Ambiente Medellín, Colombia. 2016.
- A. Odeón, F. Paolicchi, G. Cambessies , J. Margueritte. Queratoconjuntivitis Infecciosa Bovina. [publicación en línea]. Disponible desde Internet en: http://www.produccionbovina.com/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/ojo/83queratoconjuntivitis.htm. 2006.
- 16. G.C. Postma, J.C. Carfagnini; L. Minatel. Moraxella bovis pathogenicity: An update. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. Vol. 31, 6, 2008, pp 449-58.
- 17. G.W. Pugh, T.J. McDonald (1986). Identification of bovine carriers of Moraxella bovis by comparative cultural examination of ocular and nasal secretions. Am J Vet Res. Vol. 47, 11, 1986, pp 2343-2347.
- 18. V. Sosa, P. Zunino. Diversity of *Moraxella spp*. Strains recovered from infectious bovine Keratoconjunctivitis cases in Uruguay. J Infect Dev Ctries Vol 7, 11, 2013, pp 819-824
- 19. V. Sosa. Bases Microbiológicas de la Queratoconjuntivitis Infecciosa Bovina en Uruguay. Tesis de doctorado PEDECIBA. Área Biología. Sub-área Microbiología. Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 2013. Montevideo-Uruguay.
- V. Sosa, A. Umpierrez, S. Acquistapace, P. Zunino. Virulence genes in Moraxella spp. isolates from infectious bovine keratoconjunctivitis cases. J Infect Dev Ctries. Vol. 9, 2015, pp 1028-1032.
- 21. P.B. Spradbrow (1967). A microbiological study of bovine conjunctivitis and Keratoconjunctivitis. Aus Vet J. Vol. 43, 2, 19637, pp 55-58.
- 22. E. Turquieto, R. Chayer, MC Jorge, J. Passucci. Queratoconjuntivitis bovina actualización y análisis de casos entre 2002 y 2006 en Argentina. Disponible en el URL: www.produccion-animal.com.ar Fecha de consulta: 13 de mayo de 2014. 2008.
- 23. G.E. Wilcox (1970).Bacterial flora of the bovine eye with special reference to the Moraxella and Neisseria. Aust Vet J. Vol 46, 6, 1970, pp 253-256.
- 24. Q.M.A. |Zamora, AJ. Aguilar, HL. Sumano. Eficacia clínica del florfenicol oftalmico vs florfenicol parenteral en el tratamiento de queratoconjuntivitis infecciosa bovina. Revista Vet. Méx. Vol 41, 3, 2010, pp 219-225.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO A 2°C EN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE *Psidium quajava L .*

María De Jesús Juárez Ayala, Consuelo de Jesús Cortes Penagos, Liliana Avilés Alvarez Berenice Ya huaca Juárez, Raúl cortes Martínez, José Saúl Padilla Ramírez.

Facultad de Químico Fármaco Biología De La Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). ccpenagos@yahoo.com

RESUMEN

Determinar el efecto de la temperatura de almacenamiento a 2°C en la capacidad antioxidante <u>Psidium guajava</u>, por su alto contenido de antioxidantes es útil en el tratamiento de cáncer y diabetes mellitus, mediante el análisis basados en la transferencia de electrones, determinada en la reducción de un oxidante con el cambio de color al momento de ser reducido, que es equivalente a la concentración de antioxidantes. El manejo pos cosecha, transporte, almacenamiento y los cambios fisicoquímicos que sufren los frutos perecederos correspondientes a la etapa de maduración, en la cual, se encuentran, determina su calidad, al llegar al consumidor.

La evaluación se realizó con la pulpa fresca en comparación a la pulpa almacenada a 2°C durante 15 días, de <u>Psidium guajava</u>, en etapa rayada, los resultados del análisis estadístico de Tukey HSD (P> 0.005) aplicado a las variables, indican que la capacidad antioxidante para la pulpa fresca: DPPH (517.53 \pm 2.28° mg/100 g), ABTS (811.43 \pm 0.06° mg/100) Poli fenoles(810.03 \pm 0.23° mg EAG/100g) y ácido ascórbico (188.73 \pm 0.54 mg/100g), y para pulpa almacenada a 2°C: DPPH (491.00 \pm 1.81° mg/100 g), ABTS (693.53 \pm 0.49° mg/100) Poli fenoles(692.00 \pm 2.28° mg EAG/100g) y ácido ascórbico (138.7 \pm 2.51° mg/100g), lo cual indica que existe una variación significativa, la temperatura a 2°C reduce la capacidad antioxidante.

Palabras Clave: Antioxidante.

INTRODUCCIÓN

<u>Psidium guajava L.</u> es un fruto que pertenece a la familia **Myrtacea**, comprende una gran variedad de árboles y arbustos, por lo que ofrece posibilidades para el desarrollo y producción ,a través de la selección de plantas , la obtención de frutos de calidad , que cumplan con los parámetros fisicoquímicos establecidos para su consumo en fresco. En México las principales regiones productoras Talpa de Allende en Jungapeo, Mich., Coatepec de Harinas, Estado de México, y en Juchipila, Zac, la FAO indica que representa en 22 % de la producción mundial.

La guayaba (<u>Psidium guajava L</u>.) es un fruto climaterio, caracterizado por ser un antioxidante, utilizado en el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas, diabetes mellitus y el cáncer.

La capacidad antioxidante es un parámetro útil para caracterizar los compuestos que inhiben las reacciones de oxidación por medio del rompimiento de la cadena de reacción evitando el daño a

los distintos sistemas biológicos. Las metodologías para determinar la capacidad antioxidante se basan en colocar un pro-oxidante, un radical libre capaz de producir un daño en el sustrato que es inhibido por un antioxidante. Esta inhibición es cuantificada como capacidad antioxidante. Los análisis basados en la transferencia de electrones, la capacidad antioxidante es determinada en la reducción de un oxidante con el cambio de color al momento de ser reducido, que es equivalente a la concentración de antioxidantes presentes en la muestra del fruto, incluyen la determinación de poli fenoles totales (PT), DPPH, ABTS y β- Carotenos.

TEORÍA

Los cambios abióticos producidos en los ecosistemas, como cambios drásticos de temperatura, irradiación excesiva producto de la modificación de las estaciones del año, por la contaminación ambiental, generan un desequilibrio modificando los ciclos fisicoquímicos a nivel celular en los organismos vivos, por lo que se originan radicales libres altamente reactivos, como mecanismo de defensa en respuesta el tejido celular produce antioxidantes, que son compuestos reactivos derivados del oxígeno, relacionados directamente con la inhibición total o parcial, de los mecanismos de oxidación de las Biomoléculas (Carbohidratos, Proteínas, Lípidos, Aminoácidos), desencadenando la degeneración celular progresiva en la plantas y en los seres humanos asociado a enfermedades crónico neurodegenerativas, razón por la cual, es importante la evaluación de la capacidad antioxidante y de su contenido en frutos, debido a la función que presentan en la calidad de la salud humana.

PARTE EXPERIMENTAL

El análisis experimental se determinó a 1 - 2,5 g de pulpa fruta fresca y pulpa congelada a 2°C almacenada durante un periodo de 15 días, de <u>Psidium guajava L.</u>, Elegido al azar con n = 30. Las variables evaluadas en la Determinación de la Actividad Antioxidante, fueron sometidas a análisis de varianza (ANOVA) con prueba de Tukey-Kramer a $P \le 0.05$.

Determinación de actividad antioxidante

3.1.1 DPPH

Se tomaron 3.8 ml de reactivo DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazilo) 100, posteriormente se adicionaron 200 μ L de extracto de la muestra para leer en el espectrofotómetro λ = 517nm, utilizando como blanco metanol 80%, tomar lectura de la absorbancia a los tiempos 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 30 y 60 minutos. Se reporto como μ g/100 g muestra.

3.1.2 ABTS**

Se utilizó solución de ácido 2,2'-Azinobis-(3-etibenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS) al 7mM y per sulfato de potasio 2.45 mM. Se elaboró una mezcla proporción 1:1 de Azinobis y persulfato (se recomienda 2.5ml c/u), la cual, se dejó reposar la mezcla a 4 °C por 12-14 horas.

Posteriormente se diluyo la solución Stock con etanol hasta obtener una absorbancia de 0.7 (\pm 0.02) a λ = 734 nm a 30 °C, equilibrada, utilizando como blanco etanol. Se tomaron 30 μ L de la solución de extracción y mezclar con 970 μ L del ión ABTS+, realizar las lecturas cada minuto (tiempo 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 min).

1.1.3 POLI FENOLES

Se tomaron 100 μ L (0.1ml) de solución de extracción (solución madre) y se adicionaron7,400 μ L (7.4ml) de agua destilada, 500 μ L (0.5 ml) del Reactivo Folín-Ciocateau y 2000 μ L (2 ml) de

Carbonato de Sodio al 20 %, se dejó reposar durante en obscuridad. Leer λ = 765 nm, se utilizó agua destilada como blanco, los resultados son reportados como mg AG/100g parte comestible.

3.1.4 ACIDO ASCÓRBICO

Solución extractora (500 ml).

 ${\rm HPO_3}$ Se pesaron 15 g y se disolvieron en 40 ml de ácido acético glacial; Se añadieron 200 ml de ${\rm H_2O}$ destilada, se agitó hasta una mezcla homogénea que se llenó hasta 500 ml. Se filtró y se almacenó a 8°C. 2,5 g de pulpa de fruta fresca se añadieron 5 ml de solución de extracción a continuación se homogeneizaron en vórtice durante un minuto y luego se centrifugaron 15 minutos a 5000 rpm, se tomaron 3 ml y se tituló con indo fenol para presentar coloración rosada marrón durante más de 15 segundos. Los resultados se expresan en mg de Vit.C / 100 g.

RESULTADOS

Los parámetros determinados en la evaluación de la capacidad antioxidante para la pulpa fresca en comparación a la pulpa almacenada a 2°C durante 15 días, de *Psidium guajava L*, en etapa rayada, en base a los resultados del análisis estadístico de Tukey HSD (P> 0.005) aplicado a las variables (TABLA 4.4), ambas muestras presentan mayor concentración de poli fenoles, pero existe una variación significativa en la capacidad antioxidante de la pulpa fresca en comparación de la pulpa almacenada a 2°C durante 15 días, presentando una disminución en la concentración de cada uno de los parámetros evaluados.

TABLA 4.4 Parámetros de la Actividad Antioxidante evaluados en la pulpa de fruta fresca y pulpa congelada a 2°C almacenada durante un periodo de 30 días, de <u>Psidium guajava L.</u> ± Desviación Estándar, columna literal igual indica que no presenta ninguna diferencia estadística (P <0,05).

MUESTRA	DPPH	ABTS	POLIFENOLES	ACÍDO ASCORBICO
	[mg/100 g]	[mg/100 g]	[mg EAG/100g]	[mg/100g]
PULPA FRESCA	517.53±2.28 ^A	811.43 ± 0.06 ^B	810.03 ± 0.23 ^A	188.73 ± 0.54 ^B
PULPA ALMACENADA (2°C)	491.00±1.81 ^B	693.53 ± 0.49 ^A	692.00 ± 2.28 ^B	138.7 ± 2.51 ^A

CONCLUSIONES

La guayaba (<u>Psidium guajava L.)</u> se caracteriza por ser un antioxidante, utilizado en el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas, diabetes mellitus y el cáncer. La capacidad antioxidante es un parámetro útil para caracterizar los compuestos que inhiben las reacciones de oxidación por medio del rompimiento de la cadena de reacción evitando el daño a los distintos sistemas

biológicos. La evaluación de cada uno de los parámetros de la actividad antioxidante para la pulpa fresca en comparación a la pulpa almacenada a 2°C durante 15 días, de <u>Psidium guajava L</u>, en etapa rayada, en base a los resultados del análisis estadístico de Tukey HSD (P> 0.005) aplicado (**TABLA 4.4**), presentan una variación significativa en la capacidad antioxidante de la pulpa fresca en comparación de la pulpa almacenada a 2°C durante 15 días, el efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento genera una disminución de la capacidad antioxidante de los frutos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. http://www.inifap-nortecentro.gob.mx/files/tecnologias/tg0083.pdf
- 2. www.sifupro.org.mx/.../001853-001797-protocolo variedades custado 10-junio-14 6:24
- 3. www.sinarefi.org.mx (SINAREFI 2010)
- 4. Propiedades Fisicoquímicas De Cinco Variedades De Guayaba Adaptadas A La Región Productora De Zitácuaro Michoacán. Cortes Consuelo, Cazares Alejandra, Yahuaca Berenice, Juárez Ma. De Jesús. Bolivia: Ecorfan-Bolivia, 2015, Vol. 2. 3.
- 5. "Oxidative Stress And Chronic Degenerative Diseases A Role For Antioxidants". [Aut. Libro] José A. Morales-González. Biochemistry, Genetics And Molecular Biology. S.L., 2013.
- Caracterización De La Pulpa De Guayaba (Psidium Guajava L.) Tipo "Criolla Roja". G., M. L. Medina B. Y F. Pagano. Caracas :Revista De La Facultad De Agronomía, 2003, Vol. 20.

ELABORACIÓN Y PRODUCCIÓN DE HONGO SETA PARA DESHIDRATARLO Y UTILIZARLO COMO SUPLEMENTO ALIMENTICIO

Osvaldo Mondragón Frías, Refugia Pérez Sánchez.

Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Departamento de Ciencias Básicas. refugiap@yahoo.com

RESUMEN

La producción de hongo seta en México data de tiempo muy remoto, existiendo una gran diversidad de especies comestibles, en nuestra época el hongo más conocido y consumido es el champiñón, y recientemente se ha intentado producir más el hongo seta. El hongo seta ha formado parte de la dieta humana pues contiene de un 24-44 % de proteína y alto contenido de vitaminas. Se han probado diversos sustratos y métodos de producción del hongo seta para elegir el más adecuado, económico y fácil de conseguir, el procedimiento de producción desde la obtención del inoculo a nivel laboratorio para posteriormente ser trasferido al sorgo previamente tratado. Posteriormente se inocula a la paja a la que se le ha dado un tratamiento térmico para eliminar la flora microbiana silvestre y se ha dejado incubando para que el micelio del hongo invada todo el sustrato, una vez obtenido este producto se pone a fructificar en invernadero, se pretende realizarlo en este tipo de instalaciones, ya que se tendrá un ambiente controlado para evitar la presencia de plagas. El producto obtenido por el momento se ha deshidrato utilizando la radiación solar para posteriormente ser molido y de esta forma obtener el subproducto. La siguiente etapa es realizar pruebas para crear una sopa instantánea. A partir de la cepa obtenida en tubo se ha propagado en placa en un medio selectivo. Se estandarizo la producción por métodos biotecnológicos y se obtuvieron polvos para realizar las pruebas en la elaboración de una sopa. Palabras clave: hongo seta, cultivo, producción.

INTRODUCCIÓN

En México muchas especies de hongos han sido reportadas como comestibles y algunas de ellas se consumen desde tiempos prehispánicos, sin embargo, a pesar del enorme conocimiento tradicional sobre los hongos, no existen evidencias del cultivo de tales organismos por parte de los diferentes grupos indígenas que habitaron la América precolombina (Gaitán-Hernández, 2006) El cultivo de hongos comestibles en Latinoamérica inicia a finales de los años treinta y su crecimiento ha sido extraordinariamente lento durante los siguientes años debido a razones diversas como es el poco consumo de éste producto, la nula información y difusión respecto al cultivo y el hermetismo total por parte de los pocos productores en ese tiempo (Fernández-Michel, 2004).

En México el cultivo de hongos esta poco desarrollado o se realiza de manera empírica y el champiñón es el hongo comestible más conocido y que tiene una gran importancia económica y que se produce de manera biotecnológica y con métodos estandarizados y controlados. Sin embargo el hongo seta ya se está introduciendo en el consumo de la población, pero su elevado costo impide su consumo frecuente, es por eso que se requiere de mayor producción para disminuir costos, así también utilizar desechos agroindustriales para su producción que contengan principalmente lignina, celulosa y hemicelulosa, pero de fácil adquisición, tales como residuos orgánicos de la industria hortícola, floricultura, hojarasca de parque y jardines, rastrojo de maíz, frijol y haba, y finalmente paja de trigo o cebada.

El cultivo de los hongos comestibles tiene relevancia social, económica, cultural y ecológica, pues desde hace tiempo en México se han utilizado como alimento del ser humano, estos hongos

crecen de manera natural en la corteza de los árboles, del maguey o de materia orgánica en descomposición. A los hongos se les adjudican ciertas propiedades que la población los está consumiendo con mayor frecuencia, de tal forma que en el futuro se mejorará el rendimiento y la eficiencia en su producción, además de ser objeto de una intensa comercialización.

Producir hongos para el consumo es una alternativa que puede tener una familia, pues no se requiere de muchos conocimientos porque se puede comprar el micelio que está en el sorgo, además de que se puede utilizar para el consumo familiar, permite que personas de la tercera edad se sientan ocupados al realizar esta actividad, además se puede inducir a los niños en el cultivo. El hongo así producido no contiene fertilizantes ni sustancias químicas que eliminen a las plagas, por lo que se considera orgánico, además no requiere de condiciones ambientales muy exigentes para su desarrollo. Una vez concluido la cosecha del hongo los residuos pueden utilizarse para la elaboración de composta, además se utilizan residuos agrícolas para su cultivo y su producción puede ser en todo el año ya que no requiere de energía luminosa.

De manera general los hongos son muy comunes en la naturaleza y los tenemos microscópicos y macroscópicos y su función es la degradación de la materia orgánica para su reintegración como nutrientes a los vegetales, pero muchos de ellos son utilizados para el consumo humano pues son considerados de buena calidad nutricional y con propiedades anticancerígenas, antibióticas que reducen el colesterol y la hipertensión arterial, antitrombóticas, antidiabéticas y dado que la población Mexicana tiene un número bastante considerable con las enfermedades metabólicas, su consumo puede ayudar a disminuir este problema de salud, además de que se puede utilizar como suplemento dietético (Mora & D, 2007). El valor nutricional de los hongos comestibles es notable, ya que contiene una gran cantidad de proteínas hasta de un 35 % en base seca, además de contener vitaminas como la B1, B2, B12, C,D, Niacina y el ácido pantoténico, así como ácidos grasos insaturados y un bajo contenido calórico (SAGARPA).

Las proteínas de los hongos poseen los nueve aminoácidos esenciales en la dieta para el ser humano, así mismo, estudios realizados sobre el valor nutricional del hongo seta, muestran que se trata de un alimento de excelentes propiedades nutritivas por su alto contenido de proteínas, carbohidratos, fibras, vitaminas y minerales. El contenido de grasas varia de 1.6 a 2.2% en base a su peso seco. Dentro de este porcentaje puede distinguirse el ácido oleico (79.4%), el ácido palmítico (14.3%) y el linoleico, ácido graso esencial para la dieta humana (6.3%). El porcentaje de carbohidratos en relación al peso seco, varía entre 57.6 y 81.8 %. Especial interés se ha puesto en la caracterización de los polisacáridos liposolubles, ya que han demostrado efectividad en la inhibición del desarrollo de tumores. El bajo contenido de carbohidratos hace de estos hongos sean un alimento bajo en energía. El contenido de fibra es variable, en promedio contiene entre 7.5 y 8.7% que se encuentra entre los límites aceptables. Las vitaminas, factores importantes e insustituibles en el desarrollo del organismo humano, también se encuentran contenidas en una apreciable cantidad, sobre todo aquellas pertenecientes al complejo B, así como altas cantidades de minerales como fosforo sodio y potasio, y menores cantidades de hierro y calcio (Herrera R. V., 2006)

Los hongos son organismos unicelulares, pluricelulares o dimórficos y son heterótrofos. El cuerpo vegetativo de los hongos filamentosos está compuesto por hifas, que en conjunto conforman al micelio. En el caso de los macroscópicos del micelio está representado por una masa algodonosa y por lo regular blanquecina que forman un cuerpo de reproducción. Dentro de los hongos macroscópicos se encuentran ascomicetos y basidiomicetos, los cuales presentan una producción asexual y/o sexual (Koneman, 1997).

Basidiomicetos. Las esporas son las que dan el nombre al grupo, las basidioesporas, producidas exógenamente en órganos especializados llamados basidios. En los basidiomicetos superiores se producen cuatro basidioesporas típicamente y los basidios se encuentran en líneas aserradas o las laminillas de los grandes basidiocarpos carnosos (Stamets, Mycomedicinal and information booklet on medicinal mushroom, 2003).

Pleurotuses un hongo saprofito, crece de forma natural sobre los árboles principalmente en ambientes húmedos presentandoun tejido delgado y blanco (rosado P. djamor). El píleo cuando madura adquiere forma de concha, las láminas son blancas o crema (rosadas P. djamor) en las cuales se disponen los basidios no tabicados con cuatro basidioesporas, posee un píleo regularmente de 4 a 14cm de diámetro, aunque ocasionalmente pueden ser mayores de acuerdo a las condiciones de fructificación (Stamets, Growing gourmet and medicinal mushroom, 2000)(Herrera M. U., 1990).

Una gran gama de enfermedades y plagas pueden ser causa de severos problemas en el cultivo de hongos, y el manejo de las mismas es un factor importante en la producción exitosa de la seta. Las razones principales para la existencia de la mayoría de estas enfermedades y problemas en el cultivo son:

- a. Condiciones de cultivo tales como temperatura y humedad excesivas
- b. Falta de instalaciones y equipamiento para el adecuado control del medioambiente,
- c. Además, si no está en un ambiente cerrado (invernadero) las plagas son fácilmente atraídos a las instalaciones que se utilizan para cultivar el hongo de forma continua.

Para diferentes especies de *Pleurotus* en estado totalmente maduro del cuerpo fructífero se han realizado análisis bioquímicos para determinar su valor nutritivo, reportándose lo siguiente: Humedad 88.9%, y estando deshidratada la seta: proteína 25.8%, lípidos 4.1%, fibra cruda 8.6%, minerales (cenizas) 11.8%, carbohidratos totales 45.6% aportando 260.7 kal/100g (Garcha).

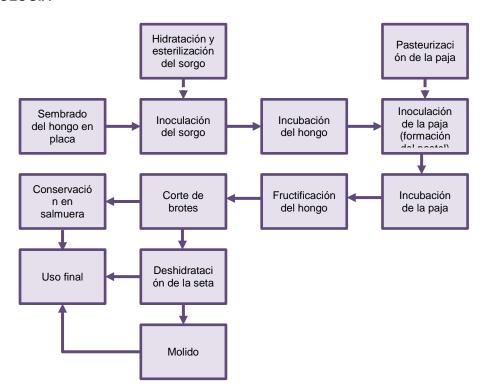
Aunque varios hongos han sido altamente valorados durante mucho tiempo como alimentos, tónicos y, en algunos casos, como medicamentos, los hongos se han tornado más populares en los años recientes, esto se va corroborado por el incremento en la demanda de mayores volúmenes de producción. Su popularidad es derivada de tres características altamente deseables para un alimento: (1) poseer un remarcable y característico sabor; (2) son nutritivas, no sólo porque son ricas en proteínas, con niveles significantes de lisina y metionina (los cuales se encuentran pobremente en vegetales), fibras, minerales, y vitaminas, pero también por aquello que no tienen (sodio, grasas, colesterol, ni alto contenido calórico); (3) pueden ser fácilmente procesadas, secadas, conservadas en vinagre o enlatadas permitiendo maximizar al transporte y almacenaje.

Además de estas características, numerosos hongos comestibles han sido utilizados tradicionalmente por sus propiedades medicinales (Chihara, 1992), reportó que el extracto con agua caliente de algunos basidiomicetos marcadamente inhibía el crecimiento del sarcoma, *Pleurotusos treatus* fue efectivo en 5/10 ratones.

Los hongos del genero *Pleurotus* obtienes los nutrientes necesarios para su crecimiento de la superficie sobre la que se desarrollan. La celulosa y la lignina son degradadas por ellos, y éstas se encuentran presentes en diversos sustratos de menor cuantía obtenidos de la agricultura y desechos agroindustriales (bagazo de caña de azúcar maguey tequilero, henequén, pulpa de café, etc.) y/o forestales (aserrín y viruta de diversas maderas) (Gaitán-Hernández, 2006).

Un tratamiento de calor previo al sustrato es indispensable para su utilización, esto con el fin de reducir en la mayor media la flora bacteriana nociva presente, así evitando la competencia por los nutrientes y promoviendo las condiciones libres de estrés para *Pleurotus*.

METODOLOGÍA



Propagación de la cepa. A partir de una cepa pura del hongo Pleurotus se propago en una placa con agar de papa y dextrosa (PDA) de la marca Bioxon para multiplicarlo y utilizarlo como inóculo en el sorgo. Se sembraron varias placas de Petri con el PDA por estría simple y se incubaron a 28 °C en una estufa, por 15 días o hasta que se observe que hay un crecimiento blanquecino abundante.

Se dejó remojar el sorgo por 24 horas con agua para eliminar un poco el polvo y la basura que tiene, se enjuago una vez para que quedara un poco más limpio y se colocó en bolsas de polipapel nuevas y resistentes al calor para ser esterilizados en una autoclave, una vez terminado el proceso se dejó enfriar para proceder a inocular.

Inoculación en el sorgo. Una vez frío el sorgo se procedió a inocularlo con cuadritos de agar que tiene el hongo de la placa de agar de papa, este procedimiento se realizó en condiciones asépticas frente a un mechero y con una mesa previamente desinfectada con benzal y lo más rápido posible para evitar contaminaciones de hongos del medio ambiente, posteriormente se dejó a temperatura ambiente por un mes o hasta que el sorgo se observara blanco.

Preparación del sustrato. Se utilizó paja por ser de fácil adquisición en nuestra localidad, aunque se están probando otros sustratos, para ello la paja se cortó en pequeños trozos para que sea fácil de manipular y de colocar en las bolsas, la paja se dejó remojarse en una tina para eliminar un

poco de tierra por 24 horas con agua, estas bolsas se colocaron en una autoclave para darle un tratamiento térmico y así disminuir la carga microbiana silvestre.

Posteriormente en una mesa de acero inoxidable previamente desinfectada con benzal se colocó la paja ya fría y se inoculo con el sorgo que ya tiene el micelio del hongo, adicionado de carbonato de calcio para ser dejada a temperatura ambiente y en condiciones de obscuridad, la persona que realizo este procedimiento utilizó guantes de latex y cubrebocas.

Se revisaron periódicamente las bolsas hasta que se notara la presencia de primordios del hongo, y en ese momento se realizó un orificio para permitir el desarrollo del hongo. Dado que se está cultivando a nivel doméstico por el momento las bolsas utilizadas con paja fueron de dos kilogramos y se procedió a colgarse, aunque se pueden depositar sobre una mesa para ser regadas por lo menos tres veces al día.

En una bolsa pueden aparecer varios primordios, pero solo se hicieron cinco orificios para el desgarre de la bolsa, el lugar en donde se dejó la fructificación es una habitación cerrada y techada de lámina para que se tenga una temperatura de 28 °C y un ambiente húmedo. El riego se realizó inicialmente con un atomizador, pero actualmente se tiene un sistema de riego por aspersión.

RESULTADOS

Sembrado del hongo en placa con agar de papa y dextrosa.



Figura 1. Inoculación de la cepa pura en agar de papa y dextrosa en incubado a 28 °C

Inoculación del sorgo previamente preparado.



Figura 2. Inoculación en condiciones asépticas del sorgo previamente remojado y pasteurizado

Incubación de la bolsa a 28 °C, hasta que se observe que el hongo ha invadido el sorgo.





Figura 3. Revisión periódica del sorgo con la invasión del micelio, hasta que esté totalmente blanco

Inoculación con sorgo de la paja. Se empaqueta en bolsas plásticas la paja y el sorgo, en un acomodo de capas para favorecer la rápida invasión de todo el sustrato, a este acomodo se le denomina *pastel*.

Fructificación del hongo. De manera inicial, el hongo tal como se muestra en la figura se puede comer crudo, este hongo con pocos días de crecimiento presenta un tejido muy blanco y para algunos que previamente lo degustaron les pareció un sabor agradable.



Figura 4. Corte de los brotes para ser consumidos, dependiendo de la especie es el color de los brotes.



Figura 5. Corte de los brotes para ser consumidos crudos y a manera de botana

Desarrollo del hongo por más tiempo para obtener más producto.



Figura 6. Mayor crecimiento del hongo para después ser cortado y deshidratado

Conservación en salmuera del hongo. Otro grupo de bolsas se dejó que se desarrollaran más tiempo para obtener mayor cantidad y se procedió a realizar una salmuera para darles otro sabor, además de conservarlo por más tiempo.



Figura 7. Colocación del hongo en salmuera a diferentes concentraciones

Molido del Hongo previamente deshidratado.



Figura 8. Molido del hongo previamente deshidratado para ser utilizado como un sustituto de pan.

Aun cuando se tuvieron algunos inconvenientes de contaminación por hongos del medio ambiente como *Penicillium sp* que se encuentran en el medio ambiente, se ha logrado estandarizar el cultivo del hongo.

Se eligió la paja por ser un sustrato de fácil adquisición y económico, aunque dejamos abierta la posibilidad de utilizar otros desechos industriales como el rastrojo de maíz. Se obtuvieron los siguientes productos que pueden ya utilizarse tales como los brotes pequeños, el producto en fresco, el producto deshidratado y el producto en polvo.

CONCLUSIONES

- Se obtuvo el producto en las siguientes presentaciones, crudo y fresco, deshidratado y en polvo.
- El proyecto pretende realizar una serie de pruebas para obtener una sopa instantánea, a partir del polvo deshidratado.

- Los comensales que probaron un filete de pescado empanizado con polvo de hongo seta les pareció un sabor agradable.
- En nuestro caso requerimos de cantidades considerables para la venta y realización de pruebas.
- Al producto terminado nos falta la realización de pruebas sensoriales.

BIBLIOGRAFÍA

- Chihara. (1992). Inmunopharmacology of Lentinan a polysaccharide isolated from Lentinus edodes. Its plication as a host defense potentiator. *International journal of orirntal medicine*, 57-77.
- 2. E V Crisan, A. S. (1978). Nutritunial value of edible mushroom. *the biology and cultivation of edible mushroom.*
- 3. Fernández-Michel, F. (2004). *Guía práctica de producción de setas (Pleurotus spp.).* Jalisco, México: Fungitec asesorías.
- 4. Gaitán-Hernández, R. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas, Aislamiento, Slembra y Producción*. Veracruz: Instituto de ecología.
- 5. Garcha, S. (s.f.). Nutritional importance of mushroom. *Mushroom biology and Mushroom Products* .
- 6. Herrera, M. U. (1990). EL reino de los hongos micología básica y aplicada. México: UNAM .
- 7. Herrera, R. V. (2006). proyecto de inversión de una unidad productora de setas en el minicipio de las Vigas, Veracruz. *Tesis*. Veracruz, Xalapa.
- 8. Jae-Soon, C. (2005). Manual del cultivador de hongos, Cultivo de hongo ostra. MushWorld.
- 9. Koneman, E. (1997). *Micología Práctica de laboratorio*. Buenos Aires, Argentina: Medica Panamericana.
- 10. Mora, V., & D, M.-C. (2007). Investigaciones básicas, aplicadas y socioeconómicas sobre el cultivo de setas (Pleurotus) en México. *ECOSUR*, 7-26.
- 11. SAGARPA. (s.f.). Producción de hongo seta (Pleurotus ostreatus). *Programa de apoyo al desarrollo social*.
- 12. Stamets, P. (2000). Growing gourmet and medicinal mushroom. Toronto: Ten Speed Press.
- 13. Stamets, P. (2003). *Mycomedicinal and information booklet on medicinal mushroom.* Olympia.

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE FRACCIONES DE CHIRIMOYA (Annona cherimola) y GUANABANA (Annona muricata)

E. G. Ramos-Ramírez, M. P. Méndez-Castrejón, D. Pérez-Valdez, J. A. Salazar-Montoya

Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, Col. San Pedro Zacatenco, C.P. 07360. México D.F. <u>eramos@cinvestav.mx</u>

RESUMEN

Los frutos de chirimoya (Annona cherimola) y guanábana (Annona muricata) son climatéricos (Márquez, 2009) y en diversos estudios se les atribuyen propiedades nutracéuticas. En este trabajo se evaluaron las características químicas de las pulpas y semillas de estos frutos. La materia prima fue limpiada y se acondicionó para separar sus fracciones en pulpa y semillas, para el análisis. En las muestras frescas se determinó: pH, acidez y grados Brix. Todas las fracciones de los frutos fueron secadas, molidas y desengrasadas para poder realizar el análisis químico proximal (AOAC 1990). También se establecieron las condiciones para el análisis de su contenido de ácidos grasos, por cromatografía de gases. De los resultados obtenidos se destaca en guanábana el análisis del pH (5.96 a 6.61), así como el índice de madurez, los cuales demostraron una mayor madurez para este fruto al momento de su análisis. La grasa total en pulpa de chirimoya fue mayor que en quanábana (4.78% > 1.85%, respectivamente) y en contenido de proteína fue similar (8.92%). El contenido de cenizas y fibra cruda fue menor al 8.0% y azúcares totales mayor en guanábana (81.65%). Estos valores de variedades mexicanas fueron superiores a los reportados por otros estudios para ambas especies. En endospermo destaca el contenido de grasa mayor al 30% y de proteína mayor al 25%, en ambas especies; y solo para guanábana un contenido de azúcares totales de 42.69%. En chirimoya predominaron los ácidos oleico y linoleico y en guanábana los ácidos palmítico y esteárico. El contenido de proteínas y ácidos grasos de interés nutricional posibilita el aprovechamiento integral de ambas especies en alimentos funcionales.

INTRODUCCIÓN

La familia *Annonaceae* pertenece al reino *Plantae*, división *Magnoliophyta*, clase *Magnoliopsida* y orden *Magnoliales*, las cuales presentan alrededor de 130 géneros y aproximadamente 2300 especies ubicadas en el trópico y algunas zonas subtropicales (Figura 1) del planeta (Agustín et al., 2014). De acuerdo a la explicación dada por Chatrou (1999), dentro de la familia *Annonaceae*, existen algunos géneros que producen frutos comestibles. La distribución del género *Annona* se ubica principalmente en el Neotrópico, habiendo alrededor de 900 especies en esta zona, de las cuales, unas 450 en la zona Afrotropical y el resto de ellas en la región Indomalaya.



Figura 1. Distribución geográfica de la familia *Annonaceae* (Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales [IECA], 2013).

Agustín et al. (2014) reportaron la existencia de 14 géneros y 63 especies de la familia *Annonaceae* en México considerando que, entre éstas, algunas son de mayor importancia económica (Tabla 1).

Nombre común Distribución en México Especie A. cherimola Mill Chirimoya Chis, Gto, Gro, Hgo, Mex, Mich, Mor, Jal, Oax, Pue, Ver, Yuc A. muricata L. Guanábana Col, Sin, Nay, Mich, Jal, Ver, Oax, Chis, Tab, Yuc A. squamosa L. Saramuyo Chis, Camp, Yuc, Q.Roo A. purpurea Chincuya Col, Sin, Nay, Mich, Jal, Ver, Oax, Chis, Tab, Camp, Yuc A. reticulata L. Anona colorada Ver, Tab, Chis, Mich, Oax, Yuc A. globiflora Sch. Anona de monte Tamps, SLP, Ver, Hgo A. diversifolia Saff. llama Col, Gro, Mich, Mex, Oax, Chis

Tabla 1. Anonas de importancia económica en México

De acuerdo con Agustín et al. (2014) de las 63 especies sólo, Guanábana, Chirimoya, Ilama y Saramuyo son comercializadas principalmente a nivel local.

El Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) reportó en 2014 la producción agrícola en México para Chirimoya, Guanábana y Saramuyo. La guanábana fue el fruto con mayor superficie sembrada y cosechada (2886 Ha y 2,379.36 Ha, respectivamente) y en ese año contó con una producción de 20,760.31 Ton; le sigue la chirimoya con 68 Ha sembradas y 64 Ha de superficie cosechada y una producción de 410.95 Ton; finalmente, está el Saramuyo con 42 Ha sembradas y cosechadas y 395.40 Ton a nivel nacional. A pesar de ser el fruto con menor producción y cosecha de las tres, el Saramuyo tuvo el mayor rendimiento (9.41 Ton/Ha) comparado con la Guanábana (8.72 Ton/Ha), y la Chirimoya (6.42 Ton/Ha). El valor de la producción en el ciclo agrícola de referencia, para las tres especies fue de aproximadamente ciento cuarenta y seis millones de pesos, de los cuales el 98% lo aporta el estado de Nayarit.

En cuanto a las características que presentan los frutos del género *Annona*, se describen a continuación las dos especies importantes desde el punto de vista comercial: *A. muricata* (guanábana) y *A. cherimola* (chirimoya).

La chirimoya (Figura 2) es un futo de forma cónica o acorazonada, con piel suave, blanda y delgada; coloración verde claro con escamas en la superficie de la cáscara, que se oscurecen al madurar. Su pulpa es blanca, muy perfumada, cremosa y de fácil digestión, en donde se encuentran las semillas de color negro brillante con forma alargada y aplastada (Díaz, 2004).

La guanábana (Figura 3) suele tener un tamaño mayor que el resto de las anonáceas. Presenta una forma cónica alargada o acorazonada, con un epicarpio de color verde revestido de espinas cortas en toda la superficie; su pulpa es blanca, con textura algodonosa y cremosa, pero jugosa y aromática, encerrando en su interior numerosas semillas marrones parecidas a las de la chirimoya (Díaz, 2004).



Figura 2. Chirimoya (A. cherimola).



Figura 3. Guanábana (A. muricata).

Los frutos del género *Annona* poseen compuesto de interés nutricional y farmacéutico (Dwijendra, 2014) por lo que el estudio de cada fracción ayudará a identificar la presencia y cantidad de sustancias que puedan ser empleadas como fuente de compuestos de interés. Los objetivos de este trabajo fueron: caracterizar pulpa y endospermo de *Annona muricata* y *Annona cherimola* mediante un análisis químico proximal y determinar la composición de ácidos grasos contenidos en las fracciones de *Annona muricata* y *Annona cherimola* por cromatografía de gases.

METODOLOGÍA

Las guanábanas provenían del estado de Nayarit, y las chirimoyas era originarias del estado de Morelos. Se tuvo cuidado de que los frutos fueran de madurez insipiente.

Los frutos de guanábana (Nayarit) y los de chirimolla (Morelos) enteros y lavados se despulparon de forma manual. La pulpa se molió en un extractor de cuchillas y se congeló para después liofilizarse. Las semillas lavadas y secas fueron separadas en endospermo y testa. Las determinaciones fueron de acuerdo al AOAC: pH (981.12), acidéz titulable (942.15 y la NMX-FF-010-1982), y sólidos soluble (932.12). El índice de madurez se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\label{eq:madurez} \text{$\widehat{\textbf{I}}$ ndice de Madurez:} \frac{{}^{\circ}\textit{Brix}}{\textit{Acidez titulable}}$$

Los endospermos se fraccionaron en un mortero y posteriormente molidas en un molino de laboratorio (Hanke & Kunkel Mod. A10). El análisis químico incluyó la determinación de grasa total (945.16), humedad y cenizas (930.15, 942.05), fibra cruda (Van de Kamer y Van Ginkel (1952) y nitrógeno total (920.52). Se determinó la composición de ácidos grasos en los extractos etéreos de endospermo y pulpa de guanábana y chirimoya por Cromatografía de gases, con un detector de ionización de flama. Se utilizó un cromatógrafo de gases Perkin Elmer Autosystem con Detector de Ionización de Flama, con columna: Zebron FFAP 25m x 0.25 DI 5μ , a 250°C (detector) y 220°C (inyector).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características físicas de los frutos enteros se observan en las Figuras 2 y 3. Las semillas de ambos frutos fueron similares en tamaño y color. En la Tabla 2 se presentan los resultados de acidez titulable, en *A. muricata* fue menor que en *A. cherimola* (0.09% y 0.3% de ácido málico respectivamente). En este estudio los valores de acidez titulable reflejaron las condiciones de almacenamiento y grado de madurez de los frutos. Los valores de sólidos solubles estuvieron dentro del rango reportado en otros estudios. En el caso de *A. cherimola*, el pH de 4.92 fue menor al de la *A. muricata*. Su porcentaje de acidez (como % de ácido málico) fue de 0.30%, el cual se encuentra por debajo del rango establecido por UC Davis (Kader et. al., 2013) que para frutos maduros se estima entre 0.4% y 0.7%, pudiendo ser que la *A. cherimola* se encontraba en un estado verde-maduro y no completamente maduro.

Tabla 2. Parámetros químicos de pulpa fresca de A. cherimola y A. muricata.

	рН	Sólidos solubles	Acidez titulable	Referencia
A. muricata	3.6	10.9	0.7	Jiménez-Zurita et al (2016)
	4.2	17.10	0.92	Aécio De Castro et al (1984)
	N/R	11.5	1.3	Evangelista-Lozano et al (2003)
	6.61	13.5 ²	0.09 ¹	Este estudio
A. cherimola	4.93	19.29	0.22	Andrés-Agustín et al (2006)
	4.64	21.06	0.33	Brito et al (2008)
	N/R	18.2	0.25	González-Agüero (2016)
	4.92	15.97	0.30	Este estudio

Con el fin de caracterizar los frutos para determinar su valor nutritivo, se realizaron los análisis químicos proximales de pulpa y endospermo. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 3. El endospermo fue la fracción con mayor contenido de lípidos, tanto para *A. cherimola* (34.17%) como para *A. muricata* (33.75%). En el estudio presentado por Restrepo et al (2010), (frutos de ambas) y Chaparro et al (2014) en *A. muricata* obtuvieron un valor de 22% y 24.2% de extracto etéreo en endospermo, siendo menor el porcentaje de extracción con respecto a la *A. muricata* y conforme a nuestro porcentaje máximo de *A. cherimola*. Sin embargo, Solís et al (2010) reportó valores ligeramente mayores de grasa cruda en el endospermo de la semilla de guanábana con un 37.7%.

Tabla 3. Valores promedio (%) del análisis químico proximal de las fracciones de *A. cherimola y A. muricata*

Porcentaje	CHIRIMOYA	GUANABANA	
	Endospermo	Endospermo	
Extracto etéreo	34.17 ± 2.8773	33.75 ± 4.9502	
Cenizas	3.28 ± 0.1565	3.14 ± 0.1441	
Fibra cruda	13.70 ± 1.2686	14.81 ± 1.1271	
Proteína total	26.47 ± 1.4710	28.71 ± 0.6080	
Azúcares	16.33 ± 4.8856	42.69 ± 16.3762	
Azúcares reductores	3.81 ± 2.8018	1.31 ± 0.0352	
Porcentaje			
	Pulpa	Pulpa	
Extracto etéreo	4.78 ± 2.0972	1.85 ± 1.2906	
Cenizas	2.80 ± 0.3216	3.44 ± 0.1659	
Fibra cruda	5.81 ± 0.4661	7.48 ± 1.9636	
Proteína total	8.92 ± 1.4587	8.20 ± 0.8353	
Azúcares	46.77 ± 27.6606	81.65 ± 10.3683	
Azúcares reductores	40.87 ± 26.9940	41.20 ± 4.9489	

En cuanto al contenido de proteína total este fue de alrededor del 27% en endospermo y de 8.6% en pulpa, para ambas especies. El contenido de proteína total reportado en este estudio fue superior a los reportados por otros autores (Anuragi et al 2016, Aécio De Castro 1984). Las diferencias significativas en el contenido de proteína indican la importancia nutricional de estos frutos. No obstante, como en otros estudios (Anuragi et al 2016, Aécio De Castro 1984) el principal

componente de la pulpa fueron los carbohidratos, los porcentajes obtenidos en este estudio fueron hasta del doble o cuádruple a los reportados previamente. Tanto en endospermo como en pulpa de chirimoya el contenido de azúcares totales fue menor en un 50% que en guanábana. Esta tendencia no fue así para azúcares reductores. Los altos contenido de azúcares pueden ser atribuidos no sólo al estado de madurez de los frutos con los que se trabajó en este estudio sino también a diferencias en el desarrollo y condiciones de madurez (Franco–Mora et al 2001). El contenido de fibra cruda fue mayor en el endospermo que en la pulpa de ambas especies pero menor al reportado por Solís et al (2010) quienes obtienen un 17.9% de fibra cruda en el endospermo

En el extracto etéreo se determinó su composición de ácidos grasos. Para A. cherimola, se observó que la cantidad de ácidos grasos insaturados fue mayor que de ácidos grasos saturados, conteniendo en mayor proporción el ácido oleico (ω -9) en las tres fracciones estudiadas (endospermo y pulpa); seguido de ácido linoleico (ω -6) y finalmente se registraron trazas de ácido linolénico (ω -3) en el endospermo. En cuanto a los ácidos grasos saturados, solo se encontraron 2: ácido palmítico y ácido esteárico. Es importante la presencia y abundancia de los ácidos grasos insaturados pues son benéficos en la salud humana, en los vasos sanguíneos, reduciendo el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, reducción en la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), reducción en la presión arterial, mejoría del metabolismo de la glucosa en la diabetes (Mataix, 2004). En el caso de A. muricata, abundaron más los ácidos grasos saturados que los insaturados en las tres fracciones, conteniendo en mayor proporción ácido palmítico y menor proporción el ácido esteárico. En el caso de los ácidos grasos insaturados, solo se tuvo ácido oleico en las dos fracciones y trazas de ácido linoleico y ácido linolénico en el endospermo.

CONCLUSIONES

Las especies A. cherimola y A. muricata presentan características semejantes en el interior del fruto, pero la parte exterior varia en cuanto a tamaño y textura, ya que la A. cherimola presenta piel escamosa y la A. muricata es un fruto de mayor tamaño cuya piel está revestida de espinas. Es importante resaltar el alto contenido de azúcares en pulpa y de lípidos en las semillas de ambos frutos, de los cuales se tiene cantidades importantes de ácidos grasos insaturados (coldon-9), coldon-90 principalmente en semillas. Estas características permiten considerar el aprovechamiento de ambas fracciones en las industrias de jugos, confitería y en la industria farmacéutica.

BIBLIOGRAFÍA

- Aécio de Castro, F., Maia, G.A., Frota, H.L.F., Guedes, Z.B.L., Moura Fé J. de A. (1984). Características físicas e químicas da graviola. Pesq. Agropec.bras., Brasília. 19(3): 361-365
- 2. Agustín, J. A. & Segura, S. D. (2014). Conservación y uso de los Recursos Genéticos de *Annonaceae* en México. Revista Brasileira Fruticultura. 36, 118-124.
- 3. Andrés-Agustín, J., González-Andrés, F., Nieto-Angel, R. y Barrientos-Priego, A.F. (2006). Morphometry of the organs of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) and analysis of fruit parameters for the characterization of cultivars, and mexican germplasm selections. Scientia Horticulturae, 107: 337-346.
- 4. Anuragi, H., Dhaduk, H. L., Kumar, S., Dhruve, J. J., Parekh, M. J., Sakure, A.A. (2016). Molecular diversity of Annona species and proximate fruit composition of selected genotypes. 3 Biotech. 6:204.
- 5. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). Official Methods of Analysis. (16a edición). Gaithersburg.
- 6. Brito, B., Rodríguez, M., Samaniego, I., Jaramillo, M. I., Vaillant, F. (2008). Characterising polysaccharides in cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) puree and their enzymatic liquefaction. Eur. Food Res. Technol. 226: 355-361.

- 7. Chaparro, S.P., Tavera, M. L., Martínez, J.J., Gil, J. H. (2014). Propiedades funcionales de la harina y de los aislados proteicos de la semilla de guanábana (*Annona muricata*). Rev. U.D.CA Act. & Div. Cient. 17(1): 151-159.
- 8. Chatrou, L. (1999). The *Annonaceae* and the *Annonaceae* Project: a brief overview of the state of affairs. Acta Horticulturae, The Hague. 497, 43-49.
- 9. Díaz, J. (2004). Descubre los Frutos Exóticos. Madrid: Ediciones Norma-Capitel. 50-57.
- 10. Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales (IECA). (2013). *Annonaceae* Juss. Consultado 26-01-2016 en http://www.thecompositaehut.com/www_tch/webcurso_spv/familias_pv/annonaceae.html
- 11. Dwijendra, S. (2014). Advances in Plan Biopesticides. India: Springer. 68.
- 12. Evangelista-Lozano, S., Cruz-Castillo, J.G., Pérez-González, S., Mercado-Silva, E., Dávila-Ortíz, G. (2003). Producción y calidad frutícola de guanábanos (*Annona muricata* L.) provenientes de semilla de Jiutepec, Morelos, México. Revista Chapingo Serie Horticultura 9(1): 69-79
- 13. Franco- Mora, O., Jasso-Mata, J., García-Villanueva, E. y Saucedo-Veloz, C. (2001) Crecimiento y calidad de frutos de *Annona muricata* L. con diferente intensidad de polinización. Rev. Fitotec. Mex. 24(2): 139-144.
- 14. González-Agüero, M., Tejerina, P. L., Zamudio, M. S., Contreras, C., Undurraga, P., Defilippi, B. G. (2016). The unusual acid-accumulating behavior during ripening of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) is linked to changes in transcription and enzyme activity related to citric and malic acid metabolism.
- Jiménez-Zurita, J. O., Balois-Morales, R., Alia-Tejacal, I., Juárez-López, P., Sumaya-Martínez, M. T. y Bello-Lara, J. E. (2016). Caracterización de frutos de guanábana (*Annona muricata* L.) en Tepic, Nayarit, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 7 (6): 1261-1270.
- Kader, A., Arpaia, M. L. (2013). Chirimoya, Atemoya y Anona: Recomendaciones para Mantener la Calidad Postcosecha. University of California (UC) DAVIS. Consultado 31-05-2016 en http://postharvest.ucdavis.edu/frutasymelones/Chirimoya,_Atemoya_y_Anona/
- 17. Márquez, C. J. (2009). Caracterización Fisiológica, Físico-Química, Reológica, Nutracéutica, Estructural y Sensorial de la Guanábana (*Annona muricata L.* ev. ELITA). Colombia: Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. 76-80. Tesis de grado.
- 18. Mataix, J., Gil, A., (2004). Libro Blanco de los Omega-3. Los ácidos grasos poli insaturados Omega 3 y mono insaturados tipo oleico y su papel en la salud. España: Editorial Médica Panamericana. 53
- 19. NMX-FF-010-1982. Productos alimenticios no industrializados para uso humano. Fruta fresca. Determinación de acidéz titulable método potenciométrico.
- 20. Restrepo, J., Vinasco, L. E. (2010). Evaluación Fisicoquímica de la Fracción Lipídica de las Semillas de Guanábana (*Annona muricata*) y la Chirimoya (*Annona cherimola*). Colombia: Universidad del Valle. 14, 117-124.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2014). Producción Agrícola. México. Consultado 27-01-2016 en http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/
- 22. Solís, J. A., Amador, C., Hernández, M. R., Durán, M. C. (2010). Caracterización Fisicoquímica y Comportamiento Térmico de Aceite de "Almendra" de Guanábana (*Annona muricata, L.*). México: UNAM. 61 (1), 58-66.
- 23. Van de Kamer, J. H., Van Ginkel, L. (1952). Rapid Determination of Crude Fiber in Cereals. Cereal Chemistry. 29 (4) 239-251.

EFECTO DEL SECADO Y DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIRRADICAL Y CONTENIDO DE FENOLES TOTALES EN EXTRACTOS DE FLOR DE CALABAZA (Cucurbitas spp)

Norma Fernanda Silva-Silva, José Arturo Olguín-Rojas, Lucio Abel Vázquez-León, Cristobal Torres-Palacios.

Universidad Cristobal Colón.

Instituto Tecnológico de Veracruz.

RESUMEN

La hipertensión es una enfermedad cardiovascular con elevada incidencia en México con una prevalencia del 31.6%. Una de las estrategias de tratamiento y prevención es el consumo de alimentos ricos en compuestos antioxidantes, los cuales actúan inhibiendo la oxidación del colesterol LDL, implicado en padecimientos como la ateroesclerosis y, además poseen capacidad vasodilatadora, favoreciendo el control de la presión arterial.² La flor de calabaza es un alimento típico de México con un alto contenido de compuestos antioxidantes (fenoles y flavonoides).3 A la fecha, no se ha resaltado su utilidad como nutracéutico empleándose únicamente en la gastronomía del país.4 Por lo anterior, la obtención de extractos de esta flor ricos en estos componentes para ser agregados a los alimentos posteriormente es de gran interés. Por ello, en este trabajo evaluamos el efecto del secado y el método de extracción en el contenido de compuestos bioactivos usando como indicadores el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante (DPPH). Para ello, usamos como material vegetal las flores de calabazas frescas y secas y fueron extraídas con agua caliente en infusión tradicional o con una mezcla de etanol-agua 1:1 en agitación. Se obtuvo que el uso de hojas frescas en la mezcla alcohol agua se obtiene hasta un 50 % más compuestos fenólicos que con las otras dos combinaciones y los extractos hidroalcohólicos tuvieron mayor capacidad antirradical que los acuosos (10%).

INTRODUCCIÓN

La hipertensión es una enfermedad multifactorial, teniendo importancia desde el punto de vista genético o hereditario hasta los factores ambientales relacionados con hábitos del individuo. Micas Bellido C. y colaboradores describen los siguientes factores hipertensinogénicos:

- 1. Obesidad
- 2. Resistencia a la insulina
- 3. Ingesta elevada de alcohol
- 4. Ingesta elevada de sal en pacientes sensibles a la sal
- 5. Edad y sexo
- 6. Sedentarismo
- 7. Estrés
- 8. Ingesta baja de potasio
- 9. Ingesta baja de calcio

Obesidad

El mecanismo por el cual el aumento en la distribución de grasa a nivel abdominal eleva el riesgo de hipertensión arterial, no es conocido, sin embargo existe relación entre la pérdida de peso y la disminución de la presión arterial. Es por ello que la obesidad es reconocida como un factor de riesgo para el desarrollo de HTA.

Resistencia a la insulina

No precisamente todo individuo con resistencia a la insulina es hipertenso, ni todo hipertenso necesariamente presenta resistencia a la insulina, sin embargo ambas alteraciones se presentan con una alta frecuencia.

Como es bien sabido, la presencia de insulina es favorable en la retención de sodio (Na), lo que provoca como consecuencia el aumento del volumen intravascular, incrementa la actividad del Sistema Nervioso Simpático elevando las resistencias periféricas y el gasto cardíaco (GC). De igual forma favorece la proliferación de células musculares lisas, provocando aterogénesis y alteración en el transporte transmembrana, existiendo el incremento de la concentración de Ca y la resistencia vascular.⁵

Diabetes mellitus

La DM y la HTA tienen una asociación de frecuencia muy elevada. En el caso de pacientes con DM tipo I la HTA se presenta en existencia de nefropatía diabética, sin ser de mayor frecuencia en pacientes sin diabetes que en diabéticos sin nefropatía. Por el contrario, en individuos con DM tipo II, la mayoría de los cuales presentan obesidad la HTA es de mayor frecuencia que en pacientes obesos no diabéticos.

La existencia de ambas patologías (HTA y DM), aumentan las complicaciones como ACV, enfermedad vascular periférica, insuficiencia cardíaca y eventos coronarios.

Desde el 2014 México se ubica en el primer lugar de sobrepeso y obesidad infantil y en adultos a nivel mundial (OMS), así como dentro de los primeros lugares en Diabetes Mellitus, ambos factores de gran peso en el desarrollo de la hipertensión arterial.⁶

La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) arroja en 2012 una prevalencia del 31.6%, es decir afectando a 1 de cada 3 adultos mexicanos, estos datos pareados con los obtenidos en las encuestas realizadas anteriormente señalan un incremento en la HTA del 19.7% en tan solo seis años entre el 2000 y 2006.¹

En su actualización más reciente la ENSANUT presenta como disponibles hasta ahora los datos relacionados a la prevalencia de sobrepeso y obesidad, revelando un incremento específico respecto a cifras del 2012. En el año 2016 siete de cada 10 adultos padece exceso de peso.⁷

TEORÍA

Existen distintas estrategias para el tratamiento y prevención de la Hipertensión en las cuales se incluyen el empleo de fármacos y la modificación de hábitos como la alimentación

Recientemente se ha descubierto el beneficio del consumo de alimentos ricos en componentes antioxidantes sobre la HTA, debido a su acción en la oxidación del colesterol LDL y su capacidad vasodilatadora.

Los radicales libres y el conjunto de especies reactivas asociadas tienen importancia central en el equilibrio homeostático del organismo. Las reacciones químicas de estos son constantes en las células y son de vital importancia, sin embargo si no existe un control dentro de este proceso pueden generarse afectaciones a la salud, los antioxidantes están relacionados en el control de dichas reacciones. Algunos de los obtenidos por medio de la ingesta son las vitaminas y los compuestos fenólicos, neutralizando por mecanismos específicos especies radicalarias.⁸

Flavonoides

Los flavonoides son compuestos fenólicos de 15 carbonos, existen más de 2.000 especies de distintas familias y juegan un papel importante dentro de la fisiología vegetal, esto debido a que responden a la luz y se relacionan con los niveles de auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación en las plantas. Químicamente poseen un número variable de grupos hidrofenólicos, se caracterizan por ser quelantes del hierro y otros metales de transición y poseen una elevada capacidad antioxidante que depende de las capacidades redox de sus grupos hidroxifenólicos y la acción inhibitoria de radicales hidroxilo y superóxido, altamente reactivos en la cadena de peroxidación lipídica.

Se han atribuido beneficios sobre a la salud como efectos antitrombóticos¹¹ y protección en las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación, disminuyendo el riesgo de formación de la placa de

ateroma. 12 Otros autores refieren efectos terapéuticos en patologías como ateroesclerosis y cardiopatía isquémica. 9

Acción antioxidante y cardioprotectora de los flavonoides

Uno de los principales motivos del creciente interés en estos compuestos antioxidantes, son los efectos protectores en condiciones patológicas como las cardiopatías.

Se ha comprobado su capacidad de inhibir in vitro la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por los macrófagos, reduciendo la citotoxicidad de las LDL oxidasas. Por otra parte también se han demostrado efectos vasodilatadores en aorta aislada en ratas, además de la inhibición de la modificación de LDL por macrófagos, sugiriendo que la inclusión de los flavonoides en la dieta podrían relacionarse en la prevención de ateroesclerosis no sólo por su acción en la oxidación del LDL sino también por incrementar la resistencia celular a los efectos dañinos en el LDL oxidado. 9

Algunos glicósidos flavonoides cómo los presentes en la cáscara de naranja, han demostrado actividad vasodilatadora y efecto hipotensivo.¹⁴

Fuentes naturales de flavonoides

Estos compuestos pueden encontrarse en elementos comunes de la dieta humana, como verduras, frutas y semillas, en bebidas como té verde, té negro, vino y cerveza. 15

Se han identificado más de 5.000 flavonoides, algunos de ellos son:

- Citroflavonoides: quericitina que puede encontrarse en cebollas, manzanas, brócoli, uva y cerezas por mencionar algunos. Hesperidina en los hollejos de limones y naranjas. La naranjina es responsable del sabor amargo en los cítricos y el limoneno se ha aislado del limón y la lima.
- Antocianidinas: son pigmentos vegetales que dan el color rojo y rojo-azulado a las cerezas.
- Ácido elágico: Es propio de frutas como la uva y en algunos vegetales.
- Catequina: Sen encuentra en el té verde y té negro
- Kaemferol: principalmente en vegetales como puerros, brócoli, rábano y remolacha.

Así mismo existe una variedad importante de compuestos en distintos alimentos de los cuales no se tiene conocimiento científico aún, y que posiblemente posean un potencial nutracéutico.⁹

Flor de calabaza y su contenido en componentes antioxidantes

La calabaza (Cucúrbita pepo L.) es una de las plantas más antiguas en nuestro país, cultivada para utilizarla como alimento o inclusive para fines medicinales, por ello fue importante en el desarrollo de las culturas prehispánicas. Es un recurso vegetal en la gastronomía mexicana, ya que las estructuras que lo conforman (Flor y fruto) otorgan características culinarias a los platillos. 17,18

Algunos de los beneficios farmacológicos de las especies de calabaza son: antidiabético, antihipertensivo, antitumoral, antimutagénico, inmunomodulador, hipocolesterolémico y antinflamatorio.³ Es rica en vitamina A, ácido fólico, potasio y calcio. Posee muy pocas calorías y su pigmentación amarillo-naranja característico indica la presencia de flavonoides, que le proporcionan capacidad antioxidante que inhibe la oxidación del colesterol LDL que obstruye las arterias provocando ateroesclerosis.¹⁸

Existe poca información referente al contenido en antioxidantes de la flor de calabaza, sin embargo algunos proporcionan información importante para determinar métodos previos a un proceso de extracción en flor de calabaza.³

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal: Las flores de Calabaza fueron adquiridas en un Mercado local (Tierra Blanca, Veracruz). Se usaron flores maduras y completas, sin rastros de marchitamiento, pardeamiento o palidez. Se enjuagaron con agua corriente y se escurrieron. Fueron sumergidas en una solución de ácido cítrico al 0.5 % para disminuir la oxidación de sus componentes. Las flores fueron escurridas para eliminar el exceso de solución.

Secado: Las flores fueron colocadas en una rejilla para permitir el paso del aire. Se acomodaron en una altura de lecho de una sola flor para permitir el flujo de aire caliente. Se sometieron a

secado en un secador de lecho fluidizado a una temperatura de 50 °C durante 60 min. Se monitoreo el peso de dos muestras colocadas en rejillas más pequeñas cada 10 min de secado. Se determinó la Aw de las flores frescas y las flores secas usando un higrómetro digital.

Extracción: Se probaron 3 métodos: a) 1.5 g b.s. de flores frescas se agregaron a 1 L de agua hirviendo y se permitió la extracción durante 5 minutos. 1 g b.s. de b) flores frescas y c) de flores secas fueron suspendidas en 100 mL de una mezcla 80:20 (p/p) de etanol:agua. El proceso de extracción asistida por ultrasonido se llevó a cabo por 30 min en un baño de ultrasonidos (Westprime Systems; Cat. No. B90-055H) con una potencia de 100 W, y una frecuencia de 45 kHz. El agua en el baño de ultrasonidos se mantuvo a nivel con la superficie del disolvente en los matraces empleados. La temperatura del agua fue regulada a 25 °C, para evitar un aumento de la temperatura causado por las ondas de ultrasonido. Después de la extracción, los extractos a,b y c fueron filtrados con papel filtro Whatman No. 4.

Determinación de la actividad antirradical con el método de eliminación de radicales DPPH

La actividad antioxidante de los extractos de flor de calabaza sobre los radicales DPPH fue medida en términos de donación de hidrógeno o capacidad de eliminación de radicales libres de acuerdo al método descrito por Siddhuraju and Becker (2003). A 0.1 mL de la muestra se le adicionó 3.9 mL de solución metanólica de DPPH (0.025 g/L). La mezcla se dejó incubar en oscuridad durante 90 minutos a 25 ± 1 °C. La disminución en la absorbancia a 517 nm se determinó con un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific, Mod. Genesys 10S). La solución de referencia se preparó con 0.1 mL del disolvente de extracción y 3.9 mL de la solución de DPPH. El porcentaje de inhibición fue calculado empleando la ecuación:

$$\% AAr = \left[1 - \frac{As}{Ar}\right] * 100$$

Donde AAr es la actividad antirradical, As es la absorbancia de la muestra y Ar es la absorbancia de la referencia. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de trolox por cada 100 gramos en base seca (mg ET/100 g bs). La curva de calibración se obtuvo a partir de una solución stock de Trolox en etanol:agua 80:20 (p/p) de 1 mg/mL, la cual se diluyó para obtener 0.2, 0.1, 0.05, 0.025 y 0.01 mg/mL de concentración.

Determinación del contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles totales se determinó por el método Folin-Ciocalteau (Chumark et al., 2008) utilizando ácido gálico como estándar. Se mezclaron 100 μ L de extracto con 6 mL de agua destilada y se agitó durante 10 s. Se adicionaron 0.5 mL del reactivo Folin-Ciocalteau y se mezcló nuevamente. Después de 5 min, a esta mezcla se adicionó 1.5 mL de una solución acuosa de Na2CO3 al 20% y se volvió a agitar el contenido. La mezcla se llevó a 10 mL con agua destilada. La solución se dejó reposar durante 2 h a 25 ± 1 °C y posteriormente se realizaron las lecturas espectrofotométricas a 765 nm usando un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific, Mod. Genesys 10S). La curva de calibración se realizó con una solución stock de ácido gálico (Apéndice A) con el disolvente de extracción (etanol:agua 80:20 p/p) a 1 mg/mL que se diluyó para obtener 0.9, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 y 0.05 mg/mL. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico por cada 100 g de base seca (mg EAG/100 g bs)

RESULTADOS

Secado: Al someter las flores de calabaza frescas a secaco en lecho fluidizado se apreció que perdían humedad rápidamente durante los primeros 30 minutos del secado hasta obtener una humedad menor al 50 %. Después de los 50 minutos de secado, la humedad alcanzó el equilibrio en 12.12%. Esta humedad aunque es relativamente alta para que se considere adecuada para el almacenamiento del producto a largo plazo, si es adecuada para la mejor manipulación y transporte del producto y para su procesamiento.

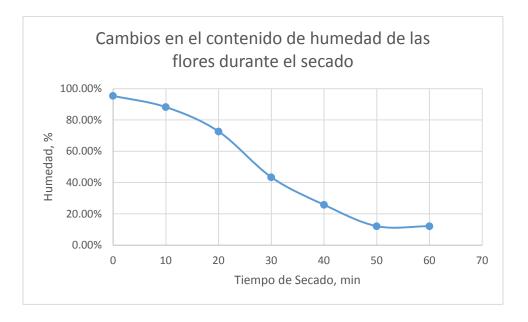


Figura 1. Pérdida de peso de las flores durante el secado en lecho fluidizado a 55 °C.

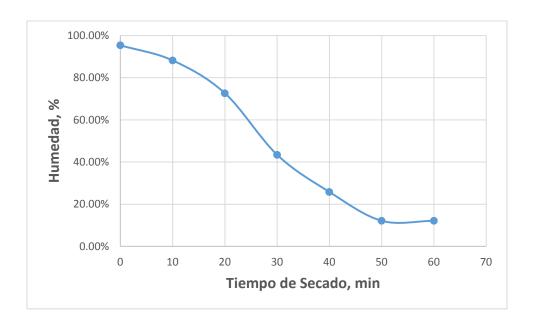


Figura 2. Cambios en la humedad calculada de la muestra durante la cinética de secado en lecho fluidizado.

Actividad antirradical y contenido de fenoles: Los resultados de la actividad antirradical que se encontraron sugieren que los métodos que involucran la extracción asistida por ultrasonido son mejores que el procesamiento por infusión puesto que el porcentaje de actividad antirradical en estos dos extractos es igual y, a su vez, mayor que el porcentaje determinado para el extracto por infusión. Esto puede explicarse ya sea, por la pérdida de compuestos con AAR durante el procesamiento a alta temperatura durante la preparación de la infusión, asi como también debido a la mayor capacidad extractiva que tiene el procesamiento ultrasónico. Esto mismo aplica para el contenido de fenoles totales, sin embargo, los extractos obtenidos por ultrasonido difieren en su contenido de fenoles totales mostrando que aquellos el tratamiento térmico durante el secado afectó el contenido de fenoles disminuyéndolos. El hecho de que la actividad anti-rradical de ambos extractos similar puede obedecer a que existen otros compuestos responsables de la actividad anti-rradical de naturaleza no fenólica o resistentes al tratamiento térmico a 55 °C.

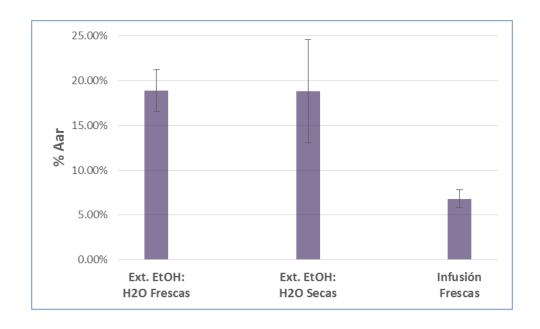


Figura 3. Porcentaje de Actividad Antirradical (%AAr) de los tres extractos obtenidos evaluada por el método del DPPH.

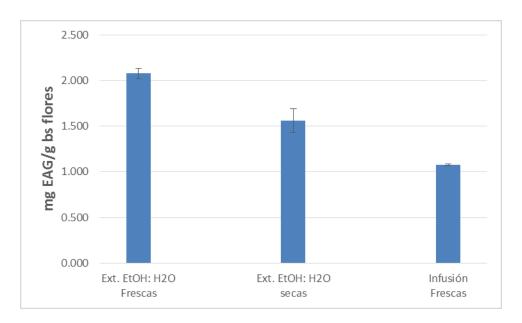


Figura 4. Contenido de Fenoles totales expresados como mg EAG por g b.s. de flores de calabaza en los tres extractos evaluados.

CONCLUSIONES

Se obtuvo que el uso de hojas frescas en la mezcla alcohol agua se obtiene hasta un 50 % más compuestos fenólicos que con las otras dos combinaciones y los extractos hidro-alcohólicos tuvieron mayor capacidad anti-rradical que los acuosos (10%). La combinación de secado y extracción hidro-alcohólica asistida por ultrasonido es una buena estrategia para la elaboración de extractos con actividad anti-rradical a partir de flores de calabaza.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Secretaria de salud. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. México; 2012 p. 55-58.
- Criado Dabrowska CMoya Mir M. Vitaminas y antioxidantes [Internet]. 1st ed. Madrid: Sanidad y Ediciones S.L.; 2009 [cited 19 December 2016]. Available from: <a href="http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/39624911/VITAMINAS_Y_ANTIOX_EL_MEDICO.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1487284242&Signature=TH4VU4BwyiHx6Gq3jLSf934RLuc%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DVITAMINAS_Y_ANTIOX_EL_MEDICO.pdf
- 3. Loubet A. Efecto sobre diferentes métodos de cocción sobre el contenido y capacidad antioxidante de la flor de calabaza. [Tesis de maestría] México: Universidad Autónoma de Querétaro; 2010.

- López O. Manejo postcosecha de flor de calabaza a diferentes condiciones de almacenamiento. [Tesis de ingeniería] México: Universidad Autónoma del estado de Hidalgo; 2007.
- 5. Maicas Bellido C, Fernández E, Alcalá López J, Hernández P, Rodríguez Padial L. Etiología y fisiopatología de la hipertensión arterial esencial. Monocardio. 2003;5(3):141-160.
- 6. Obesidad y sobrepeso [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2014 [cited 19 April 2017]. Available from: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/
- 7. Cifras de Sobrepeso y Obesidad en México-ENSANUT MC 2016 | OMENT [Internet]. Oment.uanl.mx. 2016 [cited 19 April 2017]. Available from: http://oment.uanl.mx/cifras-de-sobrepeso-y-obesidad-en-mexico-ensanut-mc-2016/
- 8. Efecto terapéutico de las vitaminas antioxidantes (C+E) en el tratamiento de la hipertensión arterial esencial [Licenciatura]. Universidad de Chile; 2007.
- 9. O. Russo R, Speranza Sánchez M. Los flavonoides en la terapia cardiovascular. Revista costarricense de cardiología. 2006;8(1).
- 10. Martínez Flore S, González Gallego J, Culebras J, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. 2002;17(6):271-278.
- 11. Pace Asciak C, Hahn S, Diamandis E, Soleas G, Goldberg D. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease. Elsevier. 1995;31(2):237.
- 12. Hirano R, Sasamoto W, Matsumoto A, Itakura H, Igarashi O, Kondo K. Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. Journal Nutrition Science Vitaminol. 2001;47(5):357.
- 13. Terao J, Yamaguchi S, Shirai M, Miyoshi M, Moon J, Oshima S et al. Protection by quercetin and quercetin 3-O-beta-D-glucuronide of peroxynitrite-induced antioxidant consumption in human plasma low-density lipoprotein. Free Radic Res. 2001;35(6):31-925.
- 14. Kumamoto H, Matsubara Y, Iizuka Y, Okamoto K and Yokoi K: Structure and hypotensive effect of flavonoid glycosides in orange (Citrus sinensis Osbeck) peelings. Agric Biol Chem 1986, 50:781–783.
- 15. Snyder H, Skrtland H. The influence of metallic ions on the autoxidation of oximyoglobin. Food Science. 2008;31(4):468-473.
- López O. Manejo portcosecha de flor de calabaza a diferentes condiciones de almacenamiento. [Tesis de ingeniería] México: Universidad Autónoma del estado de Hidalgo; 2007.
- 17. Salunhke K, Kadam S. Handbook vegetable science and technology. Pumpkins, squashes and gourds. MNarcel Dekker; 78: 273-278.
- 18. El poder del consumidor [Internet]. México: El poder del consumidor; 2015 [Fecha de última actualización 6 de agosto del 2015; citado 5 de Oct del 2016] Disponible en: http://elpoderdelconsumidor.org/analisisdeproductos/el-poder-de-la-flor-de-calabaza/
- 19. Chumark, P., Khunawat, P., Sanvarinda, Y., Phornchirasilp, S., Morales, N.P., Phivthongngam, L., Ratanachamnong, P., Srisawat, S., Pongrapeeporn, K.-u.S., 2008. The in vitro and ex vivo antioxidant properties, hypolipidemic and antiatherosclerotic activities of water extract of Moringa oleifera Lam. leaves. J. Ethnopharmacol. 116, 439-446.
- 20. Siddhuraju, P., Becker, K., 2003. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agro-climatic origins of drumstick tree (Moringa oleifera Lam.). J. Agric. Food Chem. 51, 2144–2155.

TINCIÓN DE PROTOZOARIOS SÉSILES EN UN SISTEMA DE LODOS ACTIVADOS

Alison E. Pineda, N. M. Vichi, V. Enciso, E.A. Villeda, M. Quezada*

Laboratorio de Biotecnología Ambiental, División de Biotecnología.

Universidad Tecnológica de Tecámac, Tecámac, Estado de México.

mabelqz@yahoo.com.mx

RESUMEN

Una de las características más importante de los protozoarios es su morfología, definida por el tamaño, la forma, el arreglo y la estructura; algunos poseen organelos de locomoción como flagelos, cilios, cirros y pseudópodos. Los protozoarios son considerados como buenos indicadores en la calidad del agua; además es posible correlacionar el predominio de determinados grupos de especies con los procedimientos físicos, químicos y operativos en los sistemas por lo que es necesaria su identificación. Existe una gran variedad de tinciones que pueden ser aplicadas para su identificación dentro del campo de la microbiología. Hay técnicas de tinción para protozoarios presentes en ríos, lagos, lagunas, etc., pero no existe gran información para protozoarios presentes en aguas residuales. Por lo que el objetivo de este estudio fue modificar diversas técnicas para la identificación de ciliados sésiles presentes en aguas residuales.

Se trabajó con muestras de lodos activados de las plantas de tratamiento de aguas residuales de Sierra Hermosa y Galaxias ubicadas en Tecámac, Estado de México. Las técnicas de tinción realizadas fueron hematoxilina de Harris, Giemsa, lugol, rojo de metilo y verde de bromocresol. En las muestras se logró observar la presencia de protozoarios peritricos, flagelados, gastrotricos, ciliados y amebas, entre otros. Las especies encontradas fueron: *Epistylis chrysemydis*, *Epistylis rotans, Opercularia coarctata, Opercularia minina, Zoothamnium vernicola, Vorticella aequilata* y *Vorticella astyliform.* La tinción de lugol logró conservar y observar mejor las estructuras consideradas (núcleo, contracción, medición de pedúnculo, apertura oral y dimensión del zooide).

INTRODUCCIÓN

Una de las tecnologías más comúnmente utilizadas para el tratamiento de las aguas residuales es el de lodos activados que involucran microorganismos, debido a que estos son relativamente económicos, eficientes y no generan subproductos contaminantes. El tratamiento biológico de las aguas residuales se basa en la capacidad que tienen los microrganismos para metabolizar y convertir la materia orgánica en suspensión y ya disuelta, en tejido celular nuevo y diferentes gases.² Las bacterias, hongos, algunos protozoos y metazoos son microorganismos consumidores de materia orgánica.

Los protozoarios son un buen indicador directo de toxicidad, ya que son más sensibles a los tóxicos y a los cambios de oxígeno por lo que se utilizan como indicadores del buen funcionamiento de la planta. Los grupos básicos que pueden observarse son: Flagelados, Amebas, Ciliados nadadores libres, Ciliados pedunculados. Cada uno de estos grupos desempeña una función concreta en el sistema y su aparición y abundancia reflejan las distintas condiciones físico-químicas existentes en los tanques de aereación, por lo que resulta ser un índice muy útil para valorar la eficiencia del proceso de depuración.³

El presente estudio fue realizado con la finalidad de identificar las especies de protozoarios peritricos con técnicas temporales y permanentes en dos sistemas de lodos activados de las Plantas tratadoras de Sierra Hermosa y Galaxias.

TEORÍA

Los sistemas biológicos para el tratamiento de aguas residuales dependerán de la capacidad de la comunidad microbiana. Un proceso de lodos activados, no es otra cosa que un tratamiento biológico que consiste básicamente en la agitación y aireación de una mezcla de agua de desecho y un lodo de microorganismos seleccionados.

En años recientes se ha abordado el conocimiento de algunos aspectos ecológicos como la diversidad de protozoarios en los sistemas de tratamiento y su relación con la eficiencia de los sistemas. En algunas de estas investigaciones se emplea el estudio microscópico que facilita notablemente la observación; principalmente con el uso de colorantes, los cuales a la vez facilitan la percepción de ciertas estructuras celulares.

En la tabla 1 se muestran estudios relacionados con algunas tinciones de protozoarios, el objetivo fue conocer la diversidad taxonómica de comunidades de protozoarios presentes en diversos lugares.

Tabla 1. Investigaciones destacadas.

Autor	Tipo de sistema	Técnicas	Resultado	
Flores, (2012) ⁵	cascada "velo de la Novia"	Utilizó técnicas de impregnación como: nigrosina, argéntica y carbonato de plata piridinado, además de tinción como Hematoxilina de Harris.	Se identificaron 29 especies y tres géneros de ciliados; 2 especies y 10 géneros de rizópodos y 2 géneros de euglénidos.	
Aladro et al.; (2009) ⁶	Muestras de agua y sedimento de diferentes sitios de La	Se realizaron algunas técnicas micrográficas (nigrosina-cloruro de mercurio-formol, hematoxilina, tricrómica y la argéntica en seco), para	Se registró un total de 75 especies de ciliados en los diferentes cuerpos de agua de la Cantera Oriente, las cuales pertenecen a 53 géneros, 39	

	Cantera	resaltar varias estructuras que nos permiten identificar a las diferentes especies de ciliados.	familias, 22 órdenes, 11 subclases, ocho clases y dos subphyla. Del número total de especies de ciliados encontradas, nueve de ellas fueron determinados sólo a nivel de género.
Zepeda <i>et</i> al.; (2007) ⁷	Muestras de agua de rio de Veracruz	Técnicas de microscopía fotónica y tinciones de hematoxilina.	Géneros Acineta, Cothurnia, Platycola y Vorticella.
Olmo; (2003) ⁸	Musgos, sedimentos, plantas sumergidas y columna de agua del río Guadarrama	Métodos de impregnación argéntica, método del protargol, método de nitrato de plata seco y húmedo, método de carbonato de plata;	Se identificaron un total de 192 especies pertenecientes a 114 géneros (Oxyrricha, Stylonychia, Gonosromum, Tachysoma o Histriculus). Solamente una especie fue nueva, Cinetozona pyriformis, que además es un nuevo género.
López; (2001) ⁹	Aguas remansadas del Bosque de Chapultepec, DF.	Se hicieron preparaciones fijas utilizando el fijador de Schaudin y la Hematoxilina, férrica de Heidenhain	Ophrydium hazele sp. nov. (Peritrichida, Sessilina).

PARTE EXPERIMENTAL

1.1. Toma de muestra

Se tomaron aproximadamente 2 L de lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales de uso doméstico del fraccionamiento Sierra Hermosa y del fraccionamiento de casas Galaxias del municipio de Tecámac en el Estado México (Figura 1).

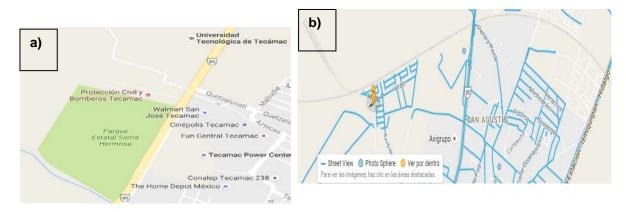


Figura 1. Ubicación de muestreo a) Planta de tratamiento de Sierra Hermosa, y b) Planta de tratamiento Agua Residual Casas Galaxías, Tecámac, Estado de México.
1.2. TINCIONES (Figura 2)

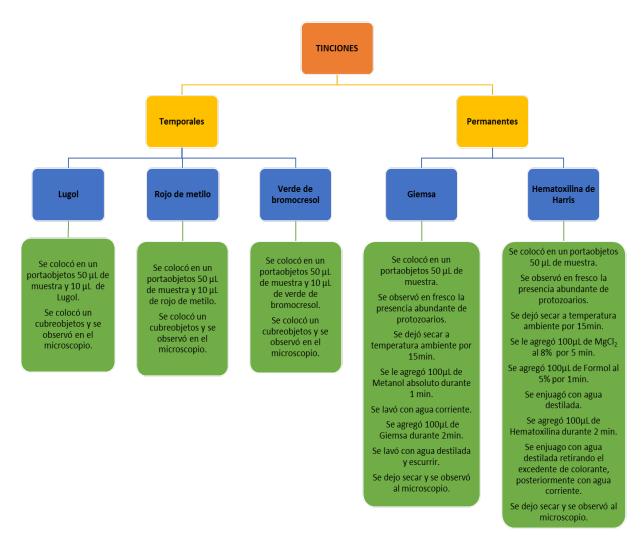


Figura 2. Técnicas de tinción para protozoarios.

RESULTADOS

❖ Planta "Galaxias":

Isac (2008), Establece la siguiente descripción de *Epystilis rotans*, colonia con zooides acampanados; Pedúnculo rígido, no contráctil, estriado longitudinalmente y segmentado; macronúcleo en "C" situado transversalmente y próximo a la parte superior del cuerpo; peristoma arqueado. Estriación y segmentación del pedúnculo, Tamaño: 70-100 μm (zooide). En la figura 3 se muestra la tinción con lugol de *Epystilis rotans*, se observaron zooides acampanados de 78 μm (BFL1), ancho del cuerpo de 25 μm (BFL2), labio peristomal de 11 μm (BFL3), macronúcleo en forma de "C" situado transversalmente próximo a la parte superior del cuerpo, pedúnculo rígido no contráctil, segmentado.¹⁰

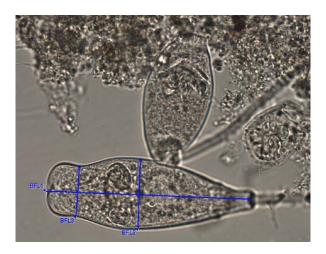
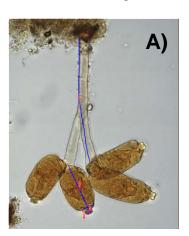


Figura 3. Micrografía de Epystilis rotans.

Isac (2008), establece la siguiente descripción de *Epistylis chrysemydis*, ciliado colonial con zooides en forma de campana invertida, Doble reborde peristomial. Colonias de gran tamaño 140-220 μ m. En la figura 4 se muestra a *Epistylis chrysemydis*, en los inciso B y C se muestra la tinción de lugol. En el inciso B se puede observar el labio peristomal de 5 μ m (BFL1), zooide de 41 μ m (BFL3), pedúnculo hueco segmentado de 99 μ m (BFL4), no se destaca macronúcleo, en el inciso C se muestra una colonia de gran tamaño. ¹⁰



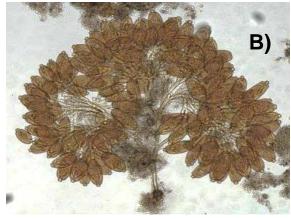


Figura 4. Micrografía de Epistylis chrysemydis^{A, B}.

❖ Planta "Sierra Hermosa"

Isac (2008), establece *Epistylis* sp., son individuos de colonias no contráctiles, los zoides presentan labio peristomial. 70-90μm. En la figura 5 se muestra *Opercularia* sp., se puede observar una tinción permanente con hematoxilina de Harris, se destaca el macronúcleo en forma de "C", labio peristomal de 8 μm (BFL1), ancho del cuerpo de 20 μm (BFL2), zooide de 30 μm (BFL3).

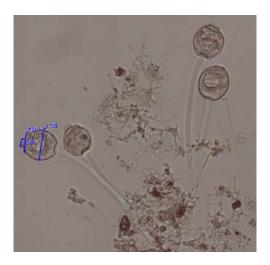
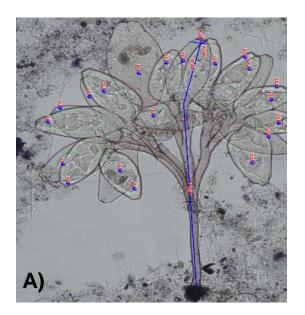


Figura 5. Micrografía de Epistylis sp.

Isac (2008), establece la siguiente descripción de *Epistylis chrysemydis*, ciliado colonial con zooides en forma de campana invertida, Doble reborde peristomial. Colonias de gran tamaño 140-220 μ m. En la figura 6 inciso A y B se muestra a *Epistylis chrysemydis*, se destaca macronúcleo en banda, en el inciso A se muestra el labio peristomal de 5 μ m (BFL1), zooide de 39 μ m (BFL3) y pedúnculo hueco segmentado de 107 μ m (BFL4).



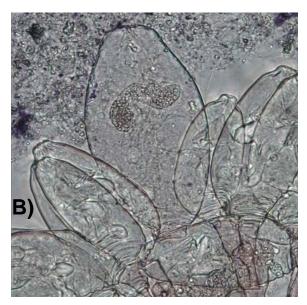


Figura 6. Micrografía de Epistylis chrysemydis. A, B.

En la figura 7 se muestra la tinción con Giemsa de *Zoothamnium vernicola*, se destaca macronúcleo en "C", pedunculo de 695 μ m, zooides de 38 μ m (BFL3). 11

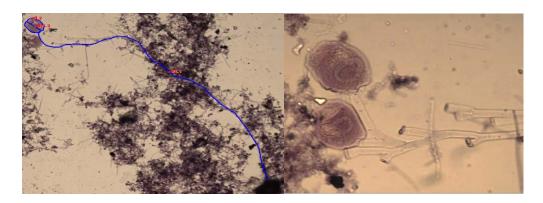


Figura 7. Micrografía de Zoothamnium vernicola.

Kahl (1939) describe a *Vorticella aequilata* con un Zooide de 40-50 μ m de largo X 20 μ m de ancho, labio peristomal 15 μ m de diámetro; región peristomial contráctil dando al zooide la apariencia de un barril un tanto alargado; protuberancia prominente encima del labio; película claramente estriada; macronúcleo en forma de C y situado longitudinalmente a lo largo del eje del cuerpo y tallo hasta 200 μ m de largo. En la figura 8 se destaca macronúcleo en "C" longitudinal, región peristomial constreñida dando la apariencia de un barril un tanto alargado, pedúnculo de 65 μ m (PL7), zooide de 43 μ m (BFL2), se realzó la tinción con Giemsa.

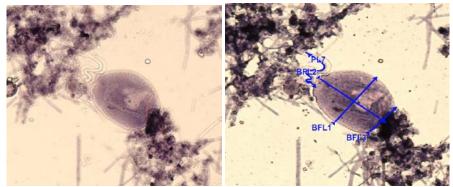
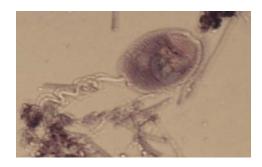


Figura 8. Micrografía de Vorticella aequilata.

Foissner (1981) describe a *Vorticella astyliformis* con un zooide 30-50 μm de largo X 35-45 μm de ancho, de forma casi esférica con un estrecho labio peristomial que mide 20 μm de diámetro; Infundibulo llega al centro de zooide, macronúcleo en forma de C y se encuentra horizontal al eje mayor del zooide, pelicula claramente estriado y tiene costura cóncava entre estriaciones. En la figura 9 se observa tinción de Giemsa, se destaca macronúcleo en "C", y se encuentra horizontal al eje principal del zooide; zooide estriado y tiene nervaduras cóncavas entre las estriaciones, pedúnculo de 83 μm (PL2).¹²



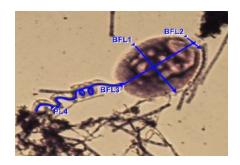


Figura 9. Micrografía de Vorticella astyliformis.

Isac (2008), establece la descripción de *Opercularia coarctata, la cual* forma colonias pequeñas compuestas de tres a seis individuos, cuyos miembros se encuentran interrelacionados por medio de un pedúnculo bifurcado, por lo que no son elementos contráctiles. Estriación pelicular poco patente, excepto en la parte inferior que contacta con el pedúnculo. Macronúcleo en banda, curvado y en posición central del zooide. Numerosas vacuolas alimenticias; Se distingue de *O. curvicaula* por su mayor tamaño. Tamaño del zooide de 40 -65 μ m. En la figura 10 se muestra la tinción con rojo de metilo donde destaca macronúcleo en forma de banda, curvado y en posición central al zooide, labio peristomal de 12 μ m (BFL1), ancho del cuerpo de 15 μ m (BFL2), zooide de 56 μ m (BFL3).

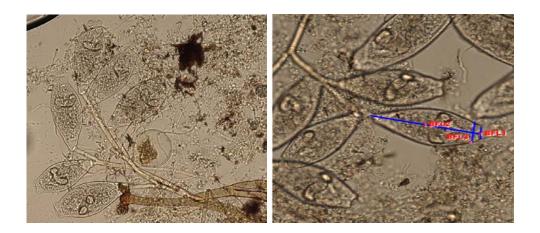


Figura 10. Micrografía de Opercularia coarctata.

Isac (2008), establece la morfología de *Opercularia mínima*, Ciliado colonial, zooides con forma elipsoidal; Pedúnculo corto y estriado. Colonias de 2-4 individuos, de pequeño tamaño, en las que la longitud total del pedúnculo es inferior a la de un zooide, Tamaño: 40 μ m (zooide). En la figura 11 se muestra la tinción con verde de bromocresol se destaca el macronúcleo en "herradura", zooides en forma elipsoidal, pedúnculo corto, colonia de 2-4 individuos, labio peristomal de 6 μ m (BFL1), ancho del cuerpo de 17 μ m (BFL2), zooide de 49 μ m (BFL3), pedúnculo de 50 μ m (BFL4).

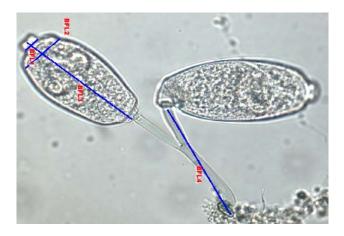


Figura 11. Micrografía Opercularia mínima.

CONCLUSIONES

- Se logró observar variedad y cantidad de protozoarios presentes en el sistema de tratamiento de agua residual, de ambas plantas de tratamiento.
- Técnicas temporales: Dentro de las técnicas empleadas, la técnica de Lugol, fue la que dio mejores resultados ya que mantiene las estructuras más conservadas, permitió la identificación de Epystilis rotans y de Epystilis chrisemydis.
- La técnica de rojo de metilo y verde de bromocresol, permitieron la identificación de las especies *Opercularia coarctata* y *Opercularia mínima*, respectivamente.
- En cuanto a la técnica de verde de bromocresol, es importante recalcar que, Aladro, (2009) no emplea este colorante para la tinción de protozoarios; sin embargo, el uso del mismo nos brindó resultados favorables en la identificación de la especie Opercularia mínima.
- Técnicas permanentes: entre las técnicas empleadas, la de Giemsa fue la que nos brindó mejores resultados, permitiendo la identificación de Zoothamnium vernicola, Vorticella aequilata y Vorticella astyliformis haciendo una modificación en el tiempo, debido a que Aladro Lubel menciona un tiempo de uso del colorante de 1-30 minutos, sin embargo, en la experimentación el colorante se dejó actuar de 1-2 minutos.
- La técnica de Hematoxilina se realizó con modificaciones en su metodología con base a experimentaciones previamente realizadas en el laboratorio. Sin embargo, los resultados de la técnica no tienen repetibilidad.
- Las técnicas fueron modificadas debido a que las condiciones en los sistemas no son siempre iguales, lo que provoca que la resistencia de los protozoarios no sea la misma, algunas especies logran teñirse y otras no, se tiene que encontrar el tiempo apropiado para cada especie.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Keller, PJ. (2013). Imaging morphogenesis: technological advances and biological insights. Science. 2013; 340: 123-168.
- 2. Sanz, J (2004). Curso de microbiología ambiental. UAM.
- 3. Vilaseca, M. (2001). observación microscópica de fangos activados en los tratamientos de depuración biológica. BOLETÍN INTEXTER (U.P.C.), Nº 119, 67-72. 2016, septiembre 6, De TREBALL8, Universidad Politécnica de Cantalunya.
- 4. Madoni, P. (2011). "Protozoa in wastewater treatment processes: A minireview". Italian Journal of Zoology. Mar2011, Vol. 78 (1): 3-11.

- Flores (2012) Estudio taxonómico de protozoos de vida libre (ciliados, rizópodos y euglenoideos) de un manantial y una caída de agua del Estado de México. México DF. UNAM. 6, 15.
- Aladro L. M. A., Reyes S. M. y Olvera B. F. (2009). Diversidad de los protozoos ciliados. Laboratorio de Protozoo logia, Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias Universidad Nacional Autónoma de México. 61-68 http://www.repsa.unam.mx/documentos/Aladro-Lubel_et_al_2009_protozoos.pdf.
- 7. Zepeda, A. (2007). Resumen- Estudio comparativo de los géneros de ciliados epibiontes más frecuentes en sustratos orgánicos en México con microscopia fotónica y HVSEM. Acta Microscopica Vol 16 No1-2, (Supp.2) UNAM. México, DF.
- 8. Olmo, (2003) Diversidad local y global de los protozoos ciliados de hábitats de agua dulce. [Tesis Doctoral] URL Oficial: http://eprints.ucm.es/tesis/19972000/X/3/X3063401.pdf
- López (2001). Protozoarios ciliados de México xviii. Ophrydium hazele sp. nov. (peritrichida, sessilina). Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Laboratorio de Protozoología. 61.
- Isac L., Rodríguez E., Salas M. L. y Natividad Fernández, et al. (2008). Protozoos en el fango activo, Grupo Bioindicación Sevilla (GBS) y A. Zornoza-Departamento de Microbiología III. Facultad de Biología Universidad Complutense de Madrid Editado por: Tecnología del agua. 15-46. http://bibliotecagbs.com/archivos/089_156_CAPficha_PROTOZOOS.pdf
- 11. Daode JI, Henglong XU, Joong Ki CHOI, Alan WARREN and Weibo SONG (2009). Taxonomic Characterization of Theree Marine Peritrichous Ciliates From China: Zoothamnium alrasheidi. Acta protozoologica, 48, 171-183. https://www.researchgate.net/figure/279595058_fig5_Fig-5-Morphology-of-Zoothamnium-vermicola-from-life-A-F-H-J-after-protargol-K-and
- 12. Warren A. (1986) A revisión of the genus Vorticella (Ciliophora; Peritrichida). Bulletin Brithis Museum (Natural History) Zoology 50(1): 1-57.

TUBERCULOSIS BOVINA EN MÉXICO Y SU IMPACTO EN LA SALUD HUMANA

Contreras Contreras Elsa Angélica, Flores Villalva Susana, Rodríguez Hernández Elba, Sánchez Mendoza Berenice.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias

INTRODUCCIÓN

La Tuberculosis Bovina (TBb) es un problema de salud global, guarda importancia por el riesgo que representa para la salud humana, *Mycobacteriumbovis* (*M. bovis*), agente causal de la TBb, es responsable de 10% de los casos de tuberculosis humana a nivel mundial (Díaz y Jaramillo, 2012). El objetivo del trabajo fue analizar la relación entre TBb y salud humana y las condiciones de pobreza y marginación. La población de áreas rurales es un sector muy vulnerable, las características socioculturales y el contexto histórico ayudan a entender la transmisibilidad de esta patología. Existen factores sociales que influyen en la prevalencia de la enfermedad, el hacinamiento, alimentación inadecuada, centros de salud poco accesibles y baja educación, se combinan dando pie a que la enfermedad prevalezca. Aunado a esto los productores muchas veces no están informados de los factores de riesgo asociados a la transmisión de TBb, y las condiciones de vida favorecen la difusión de la infección en humanos. La TBb más que un caso de enfermedad transmisible requiere ser visto como la manifestación de un complejo, en el cual la enfermedad es el efecto resultante de un proceso en el que convergen diversos factores, relacionados con las variables epidemiológicas de tiempo, espacio y población, pero también con las de carácter económico, social y de orden cultural (García y Coelho, 2014).

Factores que influyen en la prevalencia de la tuberculosis

La tuberculosis bovina es una enfermedad zoonótica, estas son enfermedades de los animales producidas por diferentes agentes infecciosos que pueden ser transmitidas al hombre, al día de hoy representan un gran porcentaje de las enfermedades descriptas en números países. De acuerdo con Gil y Samartino (2001), "las enfermedades zoonóticas son diferentes al resto de las enfermedades infecciosas por su idiosincrasia, por ello su prevención y control requiere estrategias muy particulares basadas en investigaciones en este tipo de enfermedades, considerando las diferencias sociales, de producción, climáticas y económicas".

En este sentido los aspectos socioeconómicos juegan un papel preponderante, tales como las costumbres sociales, la forma de crianza de los animales, las costumbres alimenticias, las cuales se suman al complicado ciclo epidemiológico (patogenia, huéspedes, intermediarios, etc.) y complican el control (Gil y Samartino, 2001). Tomando en cuenta esto es que Díaz y Jaramillo (2012) señalan que los índices de incidencia y prevalencia de la enfermedad varían de acuerdo al tipo de explotación a la que se someten los animales y al área geográfica. En México en la mayoría de las zonas rurales hacen de la producción animal su medio de vida, en estos casos se presenta una relación muy estrecha entre los animales y el ser humano, lo cual resulta relevante en la incidencia de la tuberculosis bovina y humana, la incidencia de la zoonosis se incrementa, cuando la salud de la población es baja y hay mala nutrición (Gil y Samartino, 2001). La ganadería en zonas rurales de México se desarrolla bajo diferentes contextos agroecológicos, tecnológicos, de sistemas de manejo y objetivos de producción. En tal sentido, los sistemas productivos van desde lo tecnificado hasta los de subsistencia en una misma región, distinguiéndose, de forma general, cuatro sistemas: especializado, semiespecializado, de doble propósito y familiar. Este último se caracteriza por tener bajo nivel de tecnificación y de inversión. La alimentación de los animales se basa en forrajes de corte como alfalfa y esquilmos que produce el propio productor o que existen en la zona. En general, se presenta un bajo nivel de inclusión de alimento balanceado en la dieta (Arriaga et al., 1997). Con relación al manejo general de los animales, el sistema familiar o de traspatio se caracterizan por ausencia de calendarios de manejo, presencia cotidiana de médicos veterinarios, asistencia técnica para resolver problemas de nutrición, reproducción y sanidad; lo cual incide en los bajos niveles de producción y en el alto índice de enfermedades, entre ellas la tuberculosis (Caceido, 2011).

Entre los factores sociales que influyen en la prevalencia de la enfermedad en este tipo de sistemas de producción está relacionada con el hacinamiento de la población, problemas de pobreza, falta de alimentación adecuada, condiciones de vida precarias, escasa posibilidad de acceso a planes de salud u hospitales y la escasa o nula educación se han combinado para que la enfermedad prevalezca. La falta de conocimiento y formación adecuada sobre la TBb afecta no sólo el bienestar de los bovinos, sino que mantiene la propagación de la enfermedad en la población. Las comunidades rurales de muchos países en desarrollo no están informadas de los factores de riesgo asociados a la transmisión de la tuberculosis bovina, y las condiciones de vida a menudo favorecen la difusión de la infección por *M. bovis* en los seres humanos.

En este sentido es que existe una relación directa entre *M. bovis* y *M. tuberculosis*, existe una relación cruzada de infección: TB en seres humanos secundaria a *M. tuberculosis*, TB en personas por *M. bovis*, TB en bovinos consecutiva a *M. tuberculosis* y TB en bovinos por *M. bovis* (Pérez-Guerrero, et al., 2008). La transmisión de *M. bovis* a los seres humanos se ha reconocido desde hace mucho tiempo, la relación entre las actividades relacionadas con el manejo del ganado y la infección está bien documentado. De acuerdo con Pérez-Guerrero y col., en México, el riesgo se explica por la elevada prevalencia de la enfermedad en el ganado lechero (16%), la falta de participación de los productores en campañas de erradicación y el hecho de que del 30 a 40% de lo que se produce se vende en forma de leche bronca. En este sentido, la prevalencia de la tuberculosis tanto en humanos como en ganado, se da en los sectores más vulnerables, las características socioculturales y el contexto histórico ayudan a entender la transmisibilidad de esta patología.

Epidemiología de la tuberculosis bovina (m. bovis) en méxico.

La tuberculosis bovina es un problema de salud global, guarda importancia por el riesgo que representa para la salud humana y por los efectos negativos que ocasiona a la industria pecuaria, por lo mismo se encuentra ubicada en la lista de enfermedades de notificación de la Organización Mundial de Sanidad Animal, antes llamada Organización Internacional de Epizootias (OIE), situación que ha estimulado a la mayoría de los países a establecer programas de control y erradicación. De acuerdo con datos de la SAGARPA en el año 2011 México contaba con 26.3 millones de cabezas de ganado productor de carne, 2.2 millones de doble propósito y un millón de ganado lechero, en este sentido en el país la prevalencia de esta enfermedad es de 16%, sin embargo, los índices de incidencia y prevalencia varían de acuerdo al tipo de sistema de producción y al área geográfica.

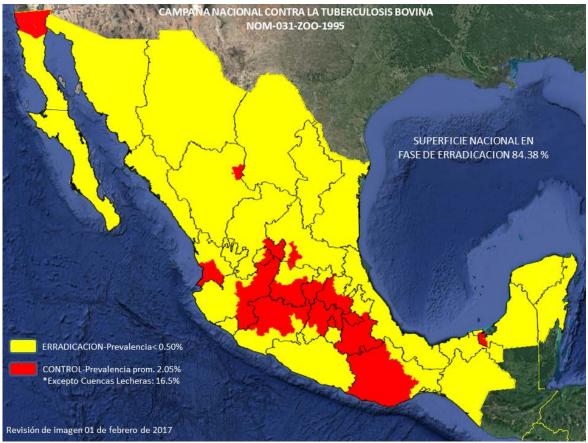
La ganadería en México se desarrolla bajo diferentes contextos agroecológicos, tecnológicos, de sistemas de manejo y objetivos de producción. En tal sentido, los sistemas productivos van desde lo tecnificado hasta los de subsistencia en una misma región, distinguiéndose, de forma general, cuatro sistemas: especializado, semiespecializado, de doble propósito y familiar. El primero ha cobrado relevancia al incrementar paulatinamente su participación en el mercado doméstico, misma que es del 55% de la producción nacional. El semitecnificado ha venido decreciendo ante las presiones económicas y su incipiente competitividad, de ahí que solamente aporte el 24% de la producción, en tanto que el de traspatio, se ha mantenido gracias a su concurrencia a mercados locales difícilmente cubiertos por algunos de los estratos anteriores, aportando el 5%, mientras que el doble propósito el 16%, de la producción nacional (SAGARPA, 2011)

De acuerdo con esta distinción resulta congruente que los índices más bajos de prevalencia de la enfermedad para ganado de carne se registran en el norte del país y los más altos en ganado de leche localizado en el centro y sur de la República Mexicana. Es conveniente mencionar que la ganadería para carne se da principalmente en los estados del norte del país y comprende principalmente la producción de novillos para abasto, la cría de becerros para la exportación y la

producción de pie de cría, siendo los sistemas básicos de explotación, el intensivo o engorda en corral y el extensivo o engorda en praderas y agostaderos. Estos sistemas de producción cuentan con instalaciones especializadas, procesos mecánicos, y un manejo predominante en estabulación, realizando prácticas de medicina preventiva, reproducción y mejoramiento genético. La dieta está basada en alimentos balanceados y forrajes de corte (SAGARPA, 2011). Al ser la producción para exportación los mecanismos de control de la enfermedad son mayores.

Por el contrario, la enfermedad es más frecuente en las vacas lecheras, debido a su prolongado periodo productivo y mayor hacinamiento en comparación con los animales que se sacrifican tempranamente para la producción de carne. La producción de leche en México se desarrolla en condiciones muy heterogéneas tanto desde el punto de vista tecnológico y socioeconómico, como por la localización de las explotaciones. Además, dada la variabilidad de condiciones climatológicas, éstas adquieren características propias por región en los diferentes estados del país, influyendo, adicionalmente, la idiosincrasia, tradición y costumbres de la población. La principal región del país productora de leche es el centro, Jalisco, Michoacán, Guanajuato y Edo de México, y el sistema de producción bajo el cual se produce es el semi especializado y familiar.

De acuerdo con el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), en su informe del año 2012 correspondiente a TBb indica que el 31.2% de los Estados (10 de 32) está en fase de erradicación (prevalencia menor a 2%), 46.9% (15 de 32) cuentan con un compartimento en fase de erradicación y el 21.9% (7 de 32) está en fase de control (prevalencia mayor al 2% o desconocida). La misma instancia reconoce que a febrero de 2017, el 85.77% del territorio nacional está en fase de erradicación con una prevalencia menor al 0.5%. A continuación, en el mapa se pueden observar el estatus zoosanitario a febrero de 2017.



Fuente: Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, 2017.

Epidemiologia de la tuberculosis (m. tuberculosis) en méxico

En México el estudio de la tuberculosis bovina no ha tomado en cuenta sus repercusiones en la salud humana, por eso existen pocos datos que relacionan la incidencia de la TBb con la salud humana.

De acuerdo a datos de la OMS en países de Latinoamérica se registra una baja prevalencia de esta enfermedad, alrededor de 1% de la tuberculosis es causada por la infección con *M. Bovis*, sin embargo, se piensa que el porcentaje es mayor, pero existe un subregistro que se relaciona con la baja cobertura del cultivo para el diagnóstico de tuberculosis en humanos, especialmente en área rurales.

Según datos de la Secretaria de Salud, en México la tuberculosis humana ocupa el lugar número 17 entre las causas de muerte y el primero como causa de muerte por un agente infeccioso. En el 2010 se reportaron 18, 848 casos de tuberculosis en todas sus formas clínicas, con una tasa del 16.77 por cada 100, 000 habitantes, 15, 384 casos correspondían con tuberculosis pulmonar. La situación de la TB en las entidades federativas presenta patrones de concentración bien definidos, los estados con tasas de incidencia elevadas están ubicados en el occidente y Golfo de México, la menor incidencia está en los Estados del centro del país. Cabe señalar que Tamaulipas y Baja California duplican la tasa nacional (13.5 por 100 mil habitantes), y junto con Veracruz, Chiapas, Nuevo León, Jalisco, Sinaloa, Nayarit, Guerrero, Sonora, Oaxaca y Chihuahua concentran 70% de los casos reportados en el país.

Es importante destacar que, según los datos de la Secretaria de Salud, la mayoría de los casos de tuberculosis se presentan en municipios que combinan tres características fundamentales: tienen niveles altos o muy altos de marginación; tienen una alta o importante presencia de población indígena y altos niveles de migración. Al igual que lo reportado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), en México, como en el mundo, la tuberculosis afecta principalmente a los hombres, de manera que 60 por ciento de los casos corresponden a este género.

Relación de la tuberculosis bovina y la salud humana

En México la tuberculosis sigue siendo un problema de salud pública, pues cada año se registran miles de casos de contagio, así como fallecimientos. Las personas más vulnerables son los indígenas, migrantes, personas privadas de su libertad y la población rural en general; es decir, gente con un alto nivel de marginación y exclusión social que vive en condiciones de hacinamiento y pobreza. Para la Organización Mundial de la Salud (OMS) la tuberculosis es considerada como una enfermedad de la pobreza, por lo tanto, los factores de riesgo en las zonas rurales son más altos, el principal riesgo de contraer tuberculosis por *M. bovis* es por el contacto directo con animales infectados y por el consumo de leche contaminada. Las campañas de erradicación de la enfermedad hacen énfasis en la importancia de hervir la leche antes de consumirla, sin embargo, los hábitos culturales son difíciles de cambiar y contribuyen a la enfermedad, en algunas zonas del país se sigue consumiendo la leche fresca, pues se cree que es más rica en nutrientes.

Si bien existen campañas para erradicar la enfermedad, pero estas se enfrentan a la indiferencia de los productores, ya que al ser una enfermedad que no causa pérdidas inmediatas, no ven la necesidad de detectar animales positivos. En este sentido las pérdidas económicas por esta enfermedad son subestimadas sin tener en cuenta el daño a la salud pública (Gil y Samartino, 2011). La relación directa está en que los factores sociales que influyen en la incidencia de la enfermedad es la marginación, la mala nutrición, el hacinamiento y el poco acceso a centros de salud, y la población que presenta estas características directamente es la población rural, que vive de la producción animal y que difícilmente tiene acceso a información y a campañas de erradicación de la enfermedad.

CONCLUSIONES

La tuberculosis causada por *M. tuberculosis* y/o por *M. bovis* son enfermedades directamente relacionadas con la pobreza y la marginación, esto se corroboró a través del análisis realizado, las entidades que han presentado casos nuevos de tuberculosis en la población presentan al mismo tiempo índices de marginación muy alto lo cual está asociado a diversos factores sociales como la falta de acceso a servicios de salud, la escasa o nula educación, el hacinamiento y la falta de alimentación adecuada, entre otros. En este sentido la tuberculosis bovina más que un caso de enfermedad transmisible requiere ser visto como la manifestación de un complejo, en el que la enfermedad es el efecto resultante de un proceso en el que convergen diversos factores, relacionados con las variables epidemiológicas de tiempo, espacio y población, pero también con las de carácter económico, social y específicas de orden cultural. En México, no existen datos oficiales sobre el impacto de la TBb en humanos; no obstante, el estudio de la incidencia de la TBb es de vital importancia en la salud pública, epidemiología y tratamiento de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

- Arriaga, JC; A.O, Espinoza OA.; G.H.E, Rojo; M.J. L., Valdés; P.B., Albarragan y V.E., Sánchez. "La Producción Campesina de Leche en el Valle de Toluca: Una respuesta al Ajuste Estructural en el Campo Mexicano. Distrito de Desarrollo Rural No. 1 Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, 1997, Toluca Edo. México. http://www.google.com.mx/search
- 2. Caicedo R. E., Garita, J.L., Paz-Calderón, M., "Salud animal de una cuenca lechera bajo el sistema de traspatio, Puebla, México", Actas Iberoamericanas de Conservación Animal, No. 1, 2011, pp. 323-326.
- 3. Díaz, F. y Jaramillo L., "Importancia de la tuberculosis bovina". En: Tuberculosis bovina de Robert Koch a nuestros días. Libro científico, INIFAP, México, 2012, pp. 19-32.
- García J. y Coelho A., "Evaluación del conocimiento de los ganaderos sobre la tuberculosis bovina e implicaciones para su control". Rev. Mex. Ciencias Pecuarias 5(2), 2014, pp.213-229
- 5. Gil, A. D. y Samartino, L., "Zoonosis en los sistemas de producción animal de las áreas urbanas y periurbanas de América Latina", Livestock Policy Discussion Paper, No. 2, FAO, Livestock Information and Policy Branch, 2001.
- 6. Pérez-Guerrero L, Milián-Suazo F, Arriaga-Díaz C, Romero-Torres C, Escartín-Chávez M. "Epidemiología molecular de la tuberculosis bovina y humana en una zona endémica de Querétaro", México. Salud Pública Mex. 2008; 50(4):286-291.
- 7. Secretaria de Salud, "Situación actual de la tuberculosis en México", México, 2017. http://www.gob.mx/salud/documentos/situacion-actual-de-la-tuberculosis-en-mexico
- 8. Secretaria de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (SAGARPA). Norma Oficial Mexicana NOM-ZOO-045-1995 Campaña Nacional contra la tuberculosis bovina (*M. bovis*). Diario Oficial de la Federación.
- 9. Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), Situación Actual de la tuberculosis bovina. http://www.senasica.gob.mx/?id=1396. 2012.
- 10. Organización Mundial de Salud Animal. World Animal Health Information Database (WAHID) [en línea]. [fecha de acceso agosto de 2010]. URL disponible en: http://www.oie.int/ wahis/public.php?page=home.

ELABORACIÓN DE HERBICIDA ORGÁNICO PARA LA MALEZA DEL CULTIVO DE MAÍZ.

Hernández, Aguilar Zuryzaday, Garcia, Luna Izamar, Miguel, Díaz Everardo, Garrido, Rosado Rafael.

Instituto Tecnologico Superior de la Sierra Norte de Puebla.

RESUMEN

Dentro de la agricultura mexicana, el uso de agroquímicos es el principal medio de control de maleza, la falta de información lleva en ocasiones a los agricultores a un uso desmedido de dichas sustancias ocasionando problemas posteriores siendo el más grave la erosión de la tierra. El maíz es el Commodity agrícola que más se produce en el mundo, por su consumo humano, animal y el uso industrial. Por ello el objetivo de esta investigación fue la elaboración de un herbicida completamente orgánico mediante la implementación de productos naturales logrando la inhibición y/o control de las malezas en los cultivos de maíz además de la preservación de las propiedades del suelo y disminución del riesgo de uso.

INTRODUCCIÓN

En la última década el agricultor mexicano ha experimentado grandes retos para responder ante los constantes cambios en la estructura de comercialización del maíz, los precios, las condiciones climatológicas y el crecimiento demográfico, lo que le ha exigido ser más eficiente y producir más rápido e inteligentemente.

El maíz de grano, base de la dieta de la población mexicana, se siembra en todo el país con un total de 7,600 mil hectáreas sembradas, 501 mil hectáreas siniestradas y 7,100 mil hectáreas cosechadas. En 2015, la superficie con el cultivo fue mayor en 174 mil hectáreas respecto a las del año pasado. Posicionando a México en el lugar 7° en producción mundial. (SIAP- SAGARPA, 2015).El uso adecuado de los herbicidas en estos cultivos es esencial, debido a que disminuye el riesgo de pérdida total o parcial de la producción, además de que evita tres problemas de primer orden como son: intoxicaciones humanas, residuos en alimentos y contaminación del medio ambiente. La falta de información lleva en ocasiones a los agricultores a un uso desmedido de dichas sustancias ocasionando problemas posteriores siendo el más grave la erosión de la tierra. La degradación del suelo, a consecuencia de la erosión, afecta la fertilidad del suelo y en última instancia la producción de los cultivos.

Según Bertoni y Lombardi Neto (1985) las tierras agrícolas se vuelven gradualmente menos productivas por cuatro razones principales: degradación de la estructura del suelo, disminución de la materia orgánica, pérdida del suelo y pérdida de nutrientes.

Zacatlán posee una superficie de 489,3 km² destinando el 56% de su suelo a la agricultura; se siembra un total de 48,001.49 toneladas de maíz del cual 274.49 toneladas registra pérdida total por malezas y plagas (SIAP-SAGARPA, 2013) además de que se ha presentado una disminución del pH del suelo significativo. A pesar de lo anterior no se ha llevado a cabo ninguna acción que permita la mejora de las cosechas y la conservación del suelo.

TEORÍA

Las malas hierbas son plantas que crecen donde no son deseadas e interfieren con los intereses del hombre (Ashton y Monaco, 1991; Anderson, 1996). El manejo de la maleza es una de las prácticas más antiguas en la agricultura. Sin embargo, debido a que el efecto nocivo de la maleza no es evidente al inicio del desarrollo de los cultivos, en muchas ocasiones no se le otorga la importancia debida y su control se lleva a cabo cuando el cultivo ya ha sido afectado (Rosales et al., 2002). En México se reportan más de 400 especies de malas hierbas, pertenecientes a más de 50 familias botánicas, asociadas a diferentes cultivos (Villaseñor y Espinosa, 1998; Tamayo, 1991). Se estima que el surgimiento de malezas o especies invasoras afecta, en promedio, el 30 por ciento del rendimiento de algunos cultivos; sin embargo, las pérdidas pueden elevarse hasta 70 por ciento e incluso ser totales, advirtió Gloria Zita Padilla, académica de la Facultad de Estudios Superiores (FES) Cuautitlán de la UNAM.

Las principales malezas que hacen presencia en el cultivo de maíz en la región de Zacatlán debido a su clima se muestran en la Ilustración 1.

Hojas Anchas					
Nombre común	Familia.				
Acahual	Simsia amplexicaulis	Asteraceae			
	(Cav.) Pers.				
Correhuela,	Ipomoea spp.	Convolvulaceae			
trompillo,bejuco.					
Lengua de vaca,	Rumex crispus L.	Polygonaceae			
cañagria.					
Zacates					
Zacate Johnson	Sorghum halepense (L.)	Poaceae			
Pers					

Ilustración 2 Principales Malezas en el Cultivo de Maíz.

Los herbicidas son usados extensivamente en la agricultura, zonas industriales y zonas urbanas, debido a que si son utilizados adecuadamente controlan eficientemente a la maleza a un bajo costo (Peterson et al., 2001). No obstante, si no son aplicados correctamente, los herbicidas pueden causar daños a las plantas cultivadas, al medio ambiente, e incluso a las personas que los aplican.

El maíz es el Commodity agrícola que más se produce en el mundo. Debido a sus cualidades alimenticias para la producción de proteína animal, el consumo humano y el uso industrial, se ha convertido en uno de los productos más influyentes en los mercados internacionales. Puebla se ubica entre los ocho principales estados productores de maíz, aportando una oferta de 1.08 millones de toneladas, lo que representa 4.6 % de la producción anual nacional.

El maíz necesita suelos profundos y fértiles para dar una buena cosecha. El suelo de textura franca es preferible para el maíz, esto permite un buen desarrollo del sistema radicular, con una mayor eficiencia de absorción de la humedad y de los nutrientes del suelo, además se evitan problemas de acame o caída de plantas. Los suelos con estructura granular proveen un buen drenaje y retienen el agua, son preferibles los suelos con un alto contenido de materia orgánica.

El suelo dominante en Zacatlán es Andosol (40%),con un PH en un rango de 4.5-6.5%.

Los herbicidas orgánicos están hechos de ingredientes naturales..

La maleza tiende a desarrollar menor resistencia a productos naturales que a productos químicos. Su rápida degradación puede ser favorable pues disminuye el riesgo de residuos en los alimentos, presentan una acción más específica y son biodegradables. Varían y actúan rápidamente, solo que el control biológico requiere mucha paciencia y entretenimiento.

La mayoría de estos productos tienen una peligrosidad relativamente baja ya que suelen degradarse fácilmente. Algunos pueden ser usados poco tiempo antes de la cosecha, ya que al degradarse no dejan residuos tóxicos, además de que muchos de estos productos no causan fitotoxicidad.

PARTE EXPERIMENTAL

La investigación se realizó en el municipio de Zacatlán que se encuentra al inicio de la Sierra Norte de Puebla, con una superficie de 489,3 km², destinando el 56% de su suelo a la agricultura, tiene un clima templado subhúmedo, con temperatura anual promedio de 14.5 °C. Y una altitud promedio de 2040 msnm, (INEGI, 2010)

Se trabajó en base a la metodología de diseño de experimentos de Carlos Sabino (1992). La primera parte del diseño tuvo como objetivo la comparación entre tres prototipos, cada uno con ingrediente activo diferente como se muestra en la tabla 1.

PROTOTIPO	INGREDIENTE ACTIVO	INGREDIENTES ORGANICOS EN COMUN.
1	CENIZA DE HAYA	
2	CHILTIPIN	JABON, VINAGRE, SAL, LIMON
3	HABANERO	

Tabla 29 Prototipos.

Para evaluar estos prototipos se utilizó un diseño de bloques completamente al azar tomando en cuenta 3 variables cuantitativas: pH del suelo, pH de tratamiento y número de días en los que hace efecto. Estas variables fueron evaluadas con una población infinita ya que actualmente SAGARPA no cuenta con el registro exacto del número de hectáreas sembradas con maíz en el municipio de Zacatlán, por lo que se uso la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 P. Q}{e^2}$$

Fórmula 1

Donde n es el tamaño de muestra, Z es el nivel de confianza 1.96, P representa la probabilidad de éxito que en este caso es de 0.5, Q la probabilidad de fracaso 0.5, mientras que e representa el margen de error que es de 0.05. De esta forma la muestra poblacional quedó de 38.4 hectáreas.

Una vez determinado el tamaño de muestra, y con base en la lista de agricultores, se procedió a localizarlos en sus respectivas localidades para entrevistarlos y conocer más acerca de los cultivos y los cuidados que le daban, fue así como se aprendió a aplicar herbicida químico, se identificaron los tipos de herbicidas y para que tipo de malezas servían cada uno de estos.

Se aplicaron los tres prototipos en el cultivo de maíz combatiendo principalmente la maleza siguiente: bejuco, lengua de vaca, acahual, pasto. Después de esto se procedió se llevó a cabo el análisis estadístico para comprobar la hipótesis de que uno de los tres prototipos es benéfico y efectivo para el control de la maleza así como para el beneficio del cultivo de maíz.

Para la primera variable se tomó en cuenta que el pH idóneo del suelo para un cultivo de maíz es de 5.5 a 7.5 (SAGARPA 2016). Se realizó un muestreo de suelo para saber el pH actual de los predios, los resultados se muestran en la ilustración 2. Para la segunda variable se contó con 10 muestras, que fueron el número de veces que se elaboraron los tratamientos, en este caso se tomó 7 como el indicador de un pH idóneo los resultados se muestran en la ilustración 3, para la última variable cuantitativa que era número de días en los que hace efecto se contó con 36 muestras de cada prototipo y se tomó en cuenta desde el día en que la reacción ya era visible, obteniendo los resultados de la ilustración 4.Continuando con la evaluación se plantearon dos variables más cualitativas para las cuales se utilizaron tablas de contingencia que son para el efecto que logra hacer en la maleza y en qué tipo de maleza actúa el herbicida orgánico.

Dentro de las actividades que se llevaron en las visitas a predios se realizaron registros de los herbicidas convencionales más usados en nuestra región para una comparación o aproximación del efecto en la maleza y en el cultivo.

		el suelo		pH del suelo			pH del suelo				
		TIPIN		HABANERO			CENIZA DE HAYA				
No. de	Antes de la	Durante la	Después de	No. de	Antes de la	Durante la	Después de	No. de	Antes de la	Durante la	Después de
muestra	aplicación	aplicación	la aplicación	muestra	aplicación	aplicación	la aplicación	muestra	aplicación	aplicación	la aplicación
1	6	5.6		1	5.6	4.6		_ 1	5.8		
2		5.6	5.6	2		4.6	4.6	2			5.6
3		5.6	5.6	3		4.6	4.6	3			5.6
4	_	5.6	5.6	4		4.6	4.6	4	1		5.6
5	1	5.6	5.6	5		4.6	l i	5			5.6
6		5.6	5.6	6		4.6	4.6	6			5.6
7	-	5.6	5.6	7		4.6	4.6	7			5.6
8	_	5.6	5.6	8		4.6	4.6	8			5.6
9	_	6		9		4.6		9			5.6
10		6		10		1		10			5.6
11	6	6		11	5.6	4.6		11			3.8
12		6		12		4.6	4.6	12	1		3.8
13		6		13		4.6	4.6	13	1		3.8
14	1	6		14		4.6	l i	14	1		3.8
15		6		15		4.6	4.6	15			3.8
16		6	6	16		4.6	4.6	16			3.8
17	6	6	6	17	5.6	4.6	4.6	17	1		3.8 3.8
18 19	1	5.6	6 5.6	18 19		4.6	4.6	18	1	1	3.8
19	1	5.6		20		4.6 4.6	4.6 4.6	20	1		3.8
21	6	5.6	5.6	21	5.6	4.6	4.6	21			3.8
21		5.6	5.6	21		4.6		21			3.8
22		5.6		22		4.6		23			3.8
24		5.6		24		4.6		24			3.8
25	1	5.6	5.6	25		4.6	4.6	25	1		3.8
26		5.6	5.6	26		4.6	4.6	26			3.8
27				27				27			
21	3.0	3.0	3.0	21	3.0	4.0	4.0;	1 21		3.0	3.0
28	5.6	5.6	5.6	28	5.8	4.6	4.6	28	6	3.8	3.8
29		5.6		29				29			
30		5.6	5.6	30			I ;	30			
31	5.8	5.6	5.6	31	5.8		4.6	31	1		1 1
32		5.6		32	1		1 ;	32	1		1 1
33		5.6		33				33			
34		5.6		34			I ;	34		1	1 1
35		5.6	5.6	35			3.8	35	1	1	
36		5.6	5.6	36			I i	36	1	1	1 1
	5.0	5.0	5.0	30	3.0	3.0	3.0	30	<u>'l</u>	4.0	4.0

Ilustración 3 pH del suelo después de la aplicación de los Tratamientos.

pH del tratamiento					
No. de			CENIZA DE		
muestra	CHILTIPIN	HABANERO	HAYA		
1	5	4	4.2		
2	6	5	4.4		
3	6	3	4		
4	. 5	3	5		
5	5	3	4.7		
6	5	4	3.9		
7	5	4	6		
8	6	3	3.8		
g	7	3	3.4		
10	6.8	5	4.4		

Ilustración 4 pH de los Tratamientos.

			·····
	Tiempo en	el que hace	efecto
No. de			
muestra	CHILTIPIN	HABANERO	CENIZA DE HAYA
1	6	4	10
2	7	4	10
3	9	4	10
4	9	4	10
5	9	4	10
6	9	4	10
7	9	4	10
8	9	4	10
9	6	4	10
10	6	4	10
11	6	4	10
12	6	4	10
13	6	4	10
14	6		10
15	6 6	4	10
16 17	6	4	10 10
18	6	4	10
19	6	4	10
20	6	4	10
21	6	4	10
22	6	4	10
23	6	4	10
24	6	4	10
25	6	4	10
26	6	4	10
27	6	4	10
28	6	4	10
29	6	4	10
30	6	4	10
31	6	4	10
32	6	4	10
33	6	4	10
34	6	4	10
35	6	4	10
36	6	4	10

Ilustración 5 Tiempo en el que hace efecto el tratamiento.

RESULTADOS

En el año 2016 se aplicaron cerca de 180 litros de herbicida orgánico con tres diferentes ingredientes activos: chiltipin, habanero y ceniza de haya; en poco más de 34 hectáreas sembradas en el municipio de Zacatlán, con el diseño de experimentos realizado se demuestra que existe una diferencia significativa entre los tratamientos como se puede observar en los siguientes análisis de varianza:

Análisis de Varianza (pH del suelo)							
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p	Valor F.Tab	
TRATAMIENTO	2	9.449	4.7244	14.35	0.000	2.259	
BLOQUE	11	2.902	0.2638	0.80	0.638		
Error	22	7.244	0.3293				
Total	35	19.596					



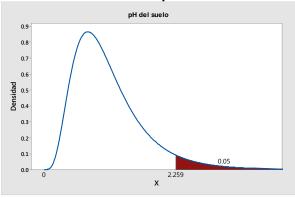


Ilustración 6 Campana de Gauss de pH del suelo.

El valor de F calculada (14.35) es mayor que 2.259 lo que significa que la variabilidad que tienen los datos se encuentra fuera del rango de aceptación que se tiene, por lo que se rechaza Ho en la primera variable. Demostrando que uno de los tratamientos mantiene en mejores condiciones el pH del suelo.

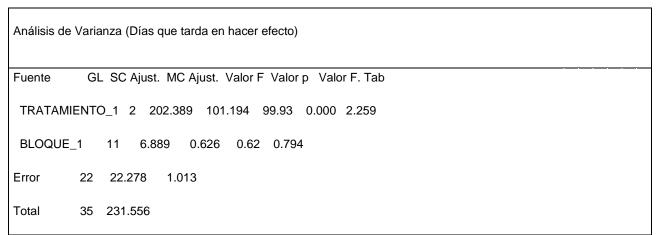


Tabla 31 ANOVA días que tarda en hacer efecto el tratamiento.

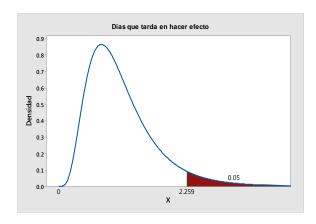


Ilustración 7 Campana de Gauss de los días que tarda en hacer efecto.

El valor de F calculada (99.93) es mayor que 2.259 lo que significa que la variabilidad que existe entre los tratamientos es mayor a la aceptable, por lo que se encuentra fuera de la zona de aceptación de Ho. Demostrando que uno de los tratamientos es más rápido

Análisis de Varianza (pH del tratamiento)

Fuente GL SC Ajust. MC Ajust. Valor F Valor p Valor F.Tab

TRATAMIENTO_1_1 2 0.1429 0.07143 0.09 0.919 3.095

BLOQUE_1_1 6 21.8219 3.63698 4.34 0.017

Error 11 9.2171 0.83792

Total 19 31.3180

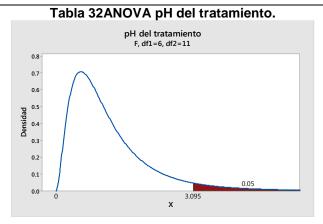


Ilustración 8 Campana de Gauss pH del tratamiento.

El valor de F calculada (0.09) es menor que 3.095 lo que significa que no existe gran variabilidad ya que 0.09 se encuentra dentro de la zona de aceptación en la curva de Gauss

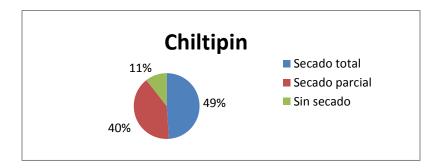


Ilustración 9 Porcentaje de efecto que hace en la maleza prototipo de Chiltipín.

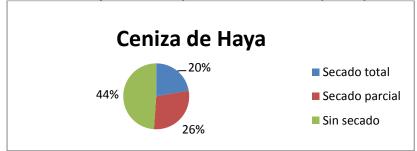


Ilustración 10 Porcentaje de efecto que hace en la maleza prototipo de Ceniza de Haya.

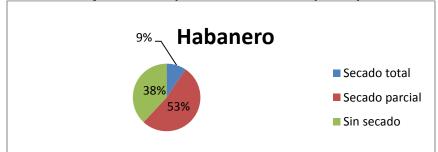


Ilustración 11 Porcentaje de efecto que hace en la maleza prototipo de Habanero.

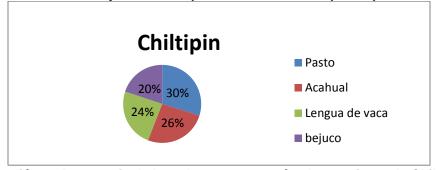


Ilustración 12 Porcentaje de la maleza en que actúa el tratamiento de Chiltipin.

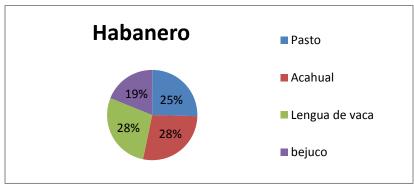


Ilustración 13 Porcentaje de la maleza en que actúa el tratamiento de Habanero.



Ilustración 14 Porcentaje de la maleza en que actúa el tratamiento de Ceniza de Haya. Comparando los tres tratamientos en las variables cualitativas se logra observar que el tratamiento de chiltipin actúa con mayor eficacia en las cuatro malezas y con un 49% en un secado total de estas.

Las tablas ANOVA y las gráficas de probabilidad anteriores indican que existe un tratamiento que da mejores resultados, el cual es el tratamiento de chiltipin ya que su reacción es la más similar a la de un herbicida químico y cumple con los rangos de pH establecidos para un cultivo idóneo.

CONCLUSIONES

Ante un inminente desgaste del suelo y un descontrolado crecimiento demográfico que obliga a los agricultores a producir mayor cantidad de maíz en un menor tiempo se debe considerar el uso de una nueva alternativa para el control de malezas como lo es el herbicida orgánico a base de chiltipin, el cual logra el control e inhibición de las malas hierbas sin alterar ni desgastar más las propiedades de los suelos fértiles. Durante el desarrollo de la investigación los agricultores manifestaron su agrado por el tratamiento seleccionado ya que su aplicación disminuye su costo de producción y el riesgo de uso e intoxicaciones humanas. Por lo tanto es altamente recomendable llevar a cabo una investigación donde se comparen los herbicidas químicos más rentables contra el herbicida orgánico que se ha generado.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Agundis M., O. 1984. Logros y aportaciones de la investigación agrícola en el combate de la maleza. Publicación especial Núm. 115. SARH-INIA, México.
- 2. Anónimo (2004), secretaría de agricultura ganadería desarrollo rural y pesca y alimentación. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. Situación Actual y Perspectiva del Maíz en Mexico.136p.
- 3. Anonimo.2004. *diccionario de Especialidades Agroquímicas* PLM. 14a Edicion.Thomson PLM, S.A. de C.V. Versión en CD.

- 4. Ashton,F.M. and A. S. Crafts. 1981. *Mode of Action Of Herbicides*. Wiley-Intersciene,New York, NY.525p.
- 5. Barraco, M., y M. Díaz-Zorita. 2005. *Momento de fertilización nitrogenada de cultivos de maíz en hapludoles típicos.* CI. Suelo(Argentina) 23: 197-203.
- 6. Barrón.S.,F.1998. *Manual para producir Maiz.Fundacion Produce Tabasco A.C. INIFAP PRODUCE.* Villahermosa. Tabasco. México 20p.
- 7. Baumann, P.A.,P. A.Dotrary and E. P. Prostko.1998. *Herbicide mode of action and injuty symptomology*. Texas Agriculoture Extension Service. The Texas A&M University System. SCS-1998-07.10p.
- 8. Caseley, J.C 1996. Herbicidas. In: Labrada, R,. J.C. Caseley y C. Parker, eds. *Manejo de malezas para países en desarrollo*. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal 120.
- 9. Caseley, J.C. 1996.Herbicidas. in:Labrada, R.,J.C.Caseley y C.Parker(eds). *Manejo de Malezas para países en desarrollo*. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal 120. Organización de las Nacionales Unidades para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. http://www.fao.org/docrep/T1147S/t1147s0e.htm#TopOfPage
- 10. Cazares Medina, Tomás; Investigador en Ciencia de la Maleza INIFAP Campo Experimental Bajío, Guanajuato, *MANEJO DE MALEZA EN CULTIVOS BÁSICOS*
- 11. CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo).1974. *El Plan Puebla:* Siete años de experiencia: 1967-1973. El Batán, México. 127 p.
- 12. Congreso General de los Estados Unidos Mexicanos. Febrero (2006), Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación; *ley de productos orgánicos, título sexto de la promoción y fomento capítulo único articulo 38 y 39.*
- 13. Congreso General de los Estados Unidos Mexicanos. Febrero (2006), Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación; ley de productos orgánicos, TÍTULO VI DE LA LISTA DE SUSTANCIAS Y CRITERIOS PARA EVALUACIÓN DE SUSTANCIAS Y MATERIALES PARA LA OPERACIÓN ORGÁNICA ARTÍCULO 264.-
- 14. Damián H. M. A., Artemio Cruz, Benito Ramírez, Dionisio Juárez, Saúl Espinosa, y María Andrade. 2011. *Innovaciones para mejorar la producción de maíz de temporal en el Distrito de Desarrollo Rural de Libres,* Puebla. Primera edición, Código Gráfico, ISBN: 978-607-487-278-1, Primera edición, México. 70 p.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DESNATURALIZACIÓN SOBRE LECHE DE VACA POR TRATAMIENTO TERMICO EMPLEANDO LA TECNICA DE FTIR

Juanita Barajas Flores, Raúl Delgado Macuil, Genaro Amador Espejo, Orlando Zaca Moran y Marlon Rojas López, Héctor Ruiz Espinosa.

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional (**CIBA-IPN**), Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala, Tlax, C.P. 90700., México. juaniss9023@hotmail.com

Facultad de Ingeniería Química, Colegio de Ingeniería en Alimentos Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (**BUAP**).

RESUMEN

La pasteurización se ha utilizado desde hace muchos años como tratamiento para la eliminación de microorganismos patógenos en el proceso de productos lácteos asegurando la inocuidad de los mismos, actualmente ha resultado tener un efecto en la desnaturalización de las proteínas lácteas. Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue evidenciar los cambios asociados a la desnaturalización de proteínas mediante la técnica de espectroscopia de infrarrojo se tomó una alícuota de 100 µL de muestra de leche de vaca, tomando espectros en el tiempo t=0, 12 y 24 horas después del tratamiento aplicado (72 °C por 15 segundos), observando mayores cambios durante las primeras 12 horas dentro de la región amida I (1700-1600 cm⁻¹), los cambios corresponden a α hélice 1652 cm⁻¹, láminas β ubicadas en 1624 cm⁻¹ y 1680-1700 cm⁻¹ asociados a interacciones intermoleculares; posterior a las 12 horas los cambios se mantienen, llegando a la conclusión de que la desnaturalización proteica generada por dicho tratamiento es irreversible.

INTRODUCCIÓN

En México la producción de leche de vaca se estima en 11 mil millones de litros anuales con un uso industrial de 4.4 a 6.6 mil millones de litros (SAGARPA, 2011). Aunado el incremento de la producción de leche, la industria láctea ha buscado nuevas formas de procesamiento, con la intención de mejorar sus productos e incrementar rendimientos. La leche es por definición la secreción de las glándulas mamarias de los mamíferos excluyendo el calostro, es considerada un alimento completo debido a su contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos y micronutrientes. (Walstra et al., 2006). El contenido de proteínas en la leche de vaca varia por diversos factores, los cuales van desde la alimentación del rumiante, raza, edad y especie. Dichas proteínas se pueden clasificar en caseínas y proteínas de lacto suero; las caseínas son insolubles y termorresistentes al contrario de las proteínas de lacto suero, que son solubles y menos estables a altas temperaturas. Varios estudios están enfocados a determinar la composición, estructura, propiedades físicas, químicas y cambios que pueden tener las proteínas en los diversos procesos tecnológicos aplicados (Badui, 2006).

Por lo cual en los últimos años, la industria láctea ha buscado nuevas formas de procesamiento, con la intención de mejorar sus productos e incrementar rendimientos, utilizando metodos

convencionales y de nueva genaración para lograr dicho objetivo, dentro de los cuales se encuentra la pasteurización, la cual por muchos años se ha utilizado como tratamiento para eliminar microorganismos patogenos, actualmente se ha observado que tiene un efecto en la desnaturalización de las proteínas lácteas. En este trabajó se evaluo la desnaturalización de proteínas en leche de vaca utilizando la técnica de Espectroscopia de infrarrojo por trasformada de Fourier (FTIR).

TEORÍA

El término "desnaturalización" indica la pérdida de la estructura nativa (secundaria o terciaria) cambio en el peso molecular. Hablando de agregación, ocurre en soluciones acuosas en donde hay presente proteínas globulares que son estabilizadas por repulsión electrostática, la carga de la proteína depende del pH y punto isoeléctrico, al aplicar algún cambio externo puede provocar el cambio de estructura y hacer más móviles las cadenas polipeptídicas por lo tanto van a interactuar por la formación de puentes de hidrogeno o fuerzas hidrofóbicas, al haber contenido de residuos de cisteína con puentes disulfuro intermoleculares provocará la formación de agregados, su estructura y tamaño van a depender de la concentración de proteína presente, la severidad del calentamiento, el contenido de sales y pH (Nicolai *et al.*, 2011). La betalactoglobulina es la que tiene mayores afectaciones dentro de las proteínas en leche, a 65 °C se presentan cambios en los enlaces disulfuro que son los que mantienen la conformación de la estructura terciaria nativa, iniciando un proceso de desnaturalización y agregación.

La energía térmica disponible permite que la hélice se levante de la hoja en una medida que permite que esta cadena lateral interactúe con el enlace disulfuro vecino, el aumento de la exposición de los grupos hidrofóbicos que anteriormente estaban en el interior y la libre Cys121 inicia la agregación a través del intercambio tiol – disulfuro que posteriormente resulta en una mayor agregación a través de la asociación hidrofóbica. El tiol de Cys121 reacciona con el enlace disulfuro Cys106 – Cys119 por lo tanto queda Cys119 libre que reacciona con otro enlace disulfuro Cys66 – Cys160, que formará enlace Cys119 – Cys66 quedando Cys160 libre, ésta tiene el potencial de poder reaccionar con otras proteínas presentes en el medio (Considine *et al.*, 2006) ver Figura 1. El calentamiento desplaza el equilibrio dímero – monómero hacia el estado monomérico y posteriormente un reordenamiento conformacional reversible, seguido de la

agregación a través de enlaces disulfuro y las interacciones hidrófobas (Loveday, 2015).

Figura 1. Proceso de reacciones de desplazamiento de grupos tiol de la proteína beta lactoglobulina (Considine 2007).

En leche, la proteínas de suero no suelen formar unidades poliméricas como ocurre de forma aislada debido a la presencia de las micelas de caseína que se encuentran presentes, las interacciones que ocurren son posiblemente específicas entre la proteína de suero desnaturalizada y la κ -caseína de las micelas (Dalgleish, 1990).

Los principales cambios fisicoquímicos que se producen en la leche como consecuencia del tratamiento térmico son:

- 1. Eliminación de los gases, incluido el CO₂, la disminución de O₂ es importante para la velocidad de oxidación durante el tratamiento. La pérdida de gases es reversible.
- 2. Aumenta la cantidad de fosfato coloidal y disminuye la concentración de Ca⁺², este cambio es irreversible.
- 3. La lactosa se isomeriza y sufre una degradación parcial en la que se forman otros compuestos como lactosa y ácidos orgánicos.
- 4. Los ésteres fosfóricos, en particular la caseína se hidroliza.
- 5. El pH disminuye y la acidez aumenta.

La desnaturalización y agregación es estudiada ampliamente ya que tiene importancia para el procesamiento de diferentes productos y derivados lácteos. En algunos casos éstos cambios traen beneficios a los productos, sin embargo también pueden ser cambios no deseables que los afectan (Loveday, 2015) dichos cambios se explican a detalle en la siguiente sección.

Algunas aplicaciones que surgen de los cambios que sufren las proteínas se enumeran a continuación:

- 1. Producción de geles
- 2. Producción de yogurt
- 3. Uso para espumas
- 4. Emulsificante
- 5. Producción de películas y recubrimientos
- 6. Encapsulador

El tamaño de partícula está relacionado con la aplicación de tratamientos térmicos, ya que al utilizar una temperatura de 72 °C durante 15 segundos se observa una disminución en el tamaño de las micelas de caseína, en cambio al aumentar la temperatura hasta los 100 °C aumenta el tamaño de la partícula, él cambio ocurrido tiene un efecto en la viscosidad y turbidez de la leche (Considine *et al.*, 2006).

PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo se realizó en el laboratorio del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada CIBA, la muestra de leche de vaca se obtuvo de un proveedor del municipio de Tepetititla, Tlaxcala, el total de muestra fue de un volumen de 250 mL, se aplicó el tratamiento en baño maría a una temperatura de 72 °C por 15 segundos, después del tratamiento se tomaron 2 muestras en tubos eppendorf de 1.5 mL, para el análisis se tomó una alícuota de 100 µL de muestra, obteniendo espectros cada 5 segundos por 90 segundos, en el tiempo t=0, 12 y 24 horas utilizando un espectrómetro marca Bruker® modelo Vertex 70, en el modo de reflectancia total atenuada (ATR), tomando como control, leche cruda de vaca.



Figura 2. Espectrometro de Infrarrojo por Transformada de Fourier.

RESULTADOS

Los resultados más representativos se muestran a continuación, en la Figura 2. Se observa el espectro de la cinética de muestra de leche durante los primeros 90 segundos, después del tratamiento aplicado.

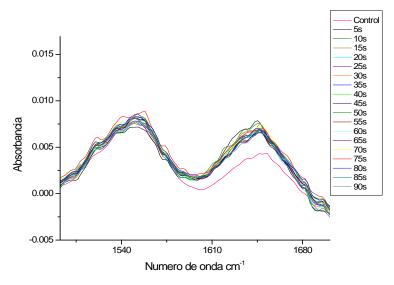


Figura 2. Espectro de la cinética de muestra de leche trata a 72 °C por 15 segundos.

En la Figura 2. Se observan cambios, desde el primer espectro tomado a los 5 segundos después de haber aplicado el tratamiento térmico, conforme pasa el tiempo los picos son más definidos, todo esto en la región de la amida I que va de 1600-1700 cm⁻¹, para observar mejor los cambios en la Figura 3, se observan los espectros obtenidos al tiempo 0, 12 y 24 horas, así como el control (Leche cruda).

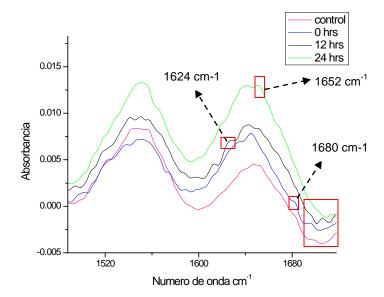


Figura 3. Espectro de muestra de leche tratada a 72 °C por 15 segundos

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos por la técnica de espectroscopia de infrarrojo la conclusión a la que se llegó en este trabajo, fue que el tratamiento térmico a 72 °C por 15 segundos si tiene un efecto sobre las proteínas de la leche, logrando su desnaturalización y agregación de las mismas, siendo este proceso irreversible, después de las 24 horas de muestreo, se observó el corrimiento de banda en los espectros obtenidos respecto al control, así como los picos asociados a α hélice 1652 cm⁻¹, láminas β ubicadas en 1624 cm⁻¹ y 1680-1700 cm⁻¹ asociados a interacciones intermoleculares dando inicio al proceso de agregación de proteínas.

BIBLIOGRAFÍA

- SAGARPA. (2011). SFA SAGARPA Perspectivas de largo plazo para el sector agropecuario de México 2011-2020., 43.
- 2. Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2006). *Dairy Science and Technology. Facilities* (Vol. 4). http://doi.org/9780824727635
- 3. Badui, D. S, "Proteínas, Desnaturalización", *Química de Alimentos*, Cuarta Ed. Editorial Pearson Educación México. 12: 609-614, (2006).
- Nicolai, T., Britten, M., & Schmitt, C. (2011). ??-Lactoglobulin and WPI aggregates: Formation, structure and applications. Food Hydrocolloids, 25(8), 1945–1962. http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.006

- 5. Considine, T., Patel, H., Anema, S., Singh, H., & Creamer, K. (2006). Interactions of milk proteins during heat and high hydrostatic pressure treatments A Review. *Innovative Food Science & Emerging technologies*, 1 23.
- 6. Loveday, S. M. (2015). ☐Lactoglobulin heat denaturation: A critical assessment of kinetic modelling. *International Dairy Journal*, 92 -100.
- 7. Dalgleish, D. (1990). Denaturation and Aggregation of Serum Proteins and Caseins in Heated Milk. *Journal of Agricultural and Chemistry*, *38*, 1995-1999.

DETERMINACIÓN DE IGG EN SUERO SANGUÍNEO DE MACHOS HOLSTEIN ALIMENTADOS CON CALOSTRO DE VAQUILLAS SUPLEMENTADO CON CALOSTRO DESHIDRATADO

Vázquez-Flores, S., Olamendi-Uresti, AE, Aguilar-López, DM, Díaz, LE., Lucio Rodríguez, C.

Escuela de Bioingeniería, Tecnológico de Monterrey-campus Querétaro

RESUMEN

El calostro es un alimento nutracéutico que provee inmunoglobulinas (IgG, IgA e IgM), nutrientes escenciales como proteínas, lípidos, vitaminas, factores bactericidas (lisozimas, lactoferrinas, lactoperoxidasa y oligosacáridos) y otros componentes inmunológicos como linfocitos, interferon e interleucinas, además de factores de crecimiento. Se estudiaron 60 becerros Holstein en un establo lechero de 2,800 vacas en producción del Bajío. A 30 becerros se les ofreció calostro de vaquila para la primera toma, y 30 becerros recibieron el mismo calostro suplementado con 55 g de Premolac. El calostro obtenido de vaquillas se pasteurizó a 65 °C por 30 minutos. Una vez enfriado se dividió en dos, una parte se congeló y otra parte se suplementó con 55 g de calostro en polvo. Los datos obtenidos de la media de inmunoglobulinas G en los dos tipos de calostro ofrecidos fueron: Calostro sin suplemento: 1455 ± 7.40 mg/L y Calostro con suplemento: 1505.5 ± 7.32 mg/L , con una diferencia estadísticamente significativa para el grupo suplementado. Los becerros con el calostro con suplemento presentaron el doble de inmunoglobulinas en suero sanguíneo: grupo de calostro sin suplemento: 1661.43 ± 195.55 mg/dL; grupo de calostro con suplemento: 2031 ± 198.7 mg/dL. La absorción del calostro en los becerros Holstein sometidos a los dos tratamientos fue altamente significativamente superior en el grupo de becerros con calostro suplementado con las pruebas de Tukey y Wilcoxon (Valor p <0.001). La eficiencia aparente de absorción fue de 43.9 % ± 5.6 en becerros con Calostro sin suplementar y 48.1% ± 7.1. En general todos los becerros tuvieron una mejor eficiencia de absorción de inmunoglobulinas que en estudios reportados, la diferencia fue la atención de todos los becerros durante la primera hora del parto.

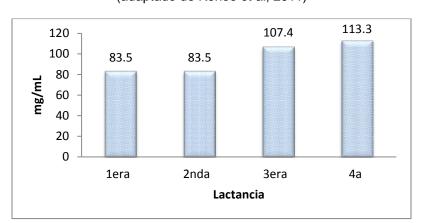
INTRODUCCIÓN

El calostro es un alimento nutracéutico que provee inmunoglobulinas (IgG, IgA e IgM), nutrientes escenciales como proteínas, lípidos, vitaminas, factores bactericidas (lisozimas, lactoferrinas, lactoperoxidasa y oligosacáridos) y otros componentes inmunológicos como linfocitos, interferon e interleucinas, además de factores de crecimiento (Godhia ML & Patel N, 2013).

La sobrevivencia del becerro recién nacido depende de la ingesta de calostro en calidad de inmunológica y microbiológica, cantidad (12 % de su pv) y tiempo de administración (< 4 h post-nacimiento). Estos factores resultan en la falla en la inmunidad pasiva, atribuyéndose también a condiciones como: no ofrecer calostro a 38 ° C en ambiente frío; no permitir que el becerro mame directamente de la vaca; cría en un parto difícil; y uno de los más importantes es no monitorear la eficiencia porque impide identificar la calidad en el manejo del calostro y su administración. La falla en la inmunidad pasiva presenta un 31% de la mortalidad en las primeras tres semanas de vida de la cría. El límite máximo de la falla en inmunidad pasiva debe ser máximo 15 % de la población total de becerros (Besser et al, 1991).

El calostro que se ofrece como primer alimento debe ser de la mejor calidad, lo que implica es que provenga de vacas con más de dos lactancias. En un estudio en 2011, se identificó que en tres establos el promedio de IgG mg/ml en vaquillas de primer parto fue mayor a 50 mg/ml, lo que es el

límite mínimo para una buena inmunidad pasiva (Gráfica 1). Siendo que las vaquillas en primer parto son las que tienen mayor mortalidad perinatal (12.6%) así como mayores problemas al parto (32.1 %), el primer calostro debe ser de la mejor calidad para compensar los factores de riesgo en la ternera recién nacida que disminuyan su producción. El estudio se enfoca a entender el manejo posparto de la cría así como la suplementación del calostro de vaquilla del primer parto y la eficiencia en la inmunidad pasiva.



Gráfica 1. Cantidad de IgG mg/ml en calostro en vacas en diferentes lactancias (adaptado de Kehoe et al, 2011)

OBJETIVO DEL TRABAJO

Demostrar que el calostro de vaquillas suplementado con calostro deshidratado aumentará la cantidad de IgG en suero sanguíneo a las 24 horas de nacimiento de los becerros.

Descripción breve del estudio y calidad de calostro.

En un establo comercial de 2,800 vacas en producción del Bajío, se realizó un estudio con 60 becerros Holstein aleatoriamente distribuidos al nacimiento en dos grupos. A 30 becerros se les ofreció calostro de vaquila en primera toma, y 30 becerros recibieron el mismo calostro suplementado con 55 g de Premolac. El calostro fue obtenido de vaquillas y previamente pasteurizado y suplementado antes de ser congelado, se hicieron mezclas de varios calostros durante los cuatro días de colección (n = 30) para ser suminsitrados a los becerros antes de 2 horas postparto. La cantidad ofrecida del calostro fue de 2.3 litros promedio y en todos los casos se utilizó mamila para asegurar que el producto llegara al abomaso. Todos los becerros fueron atendidos retirados inmediatamente después del parto, removiendo las mucosas y esttimulando la respiración mediante masaje vigoroso por 20 minutos hasta secar al becerro.

Muestras de sangre.

La toma de muestra sanguínea se hizo a las 24h por medio de un tubo vacutainer el cual se identificó con el numero del becerro, se extrajo el suero y se mantuvo en congelamiento.

Pruebas de laboratorio.

Se realizaron pruebas de inmunodifusión radial¹ para analizar la cantidad de IgG en calostro y suero sanguíneo de los becerros testigo y tratamiento; el análisis de proteínas totales en

suero se realizó mediante refractometría y grados Brix en calostro; para IgG en calostro se hicieron pruebas de inmunodifusión radial con una dilución de 1:10.

Resultados y discusión

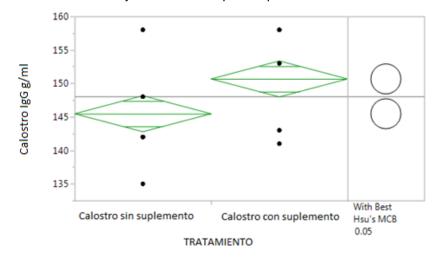
El análisis de proteínas totales en suero sanguíneo demostró diferencias en la lectura con el refractómetro comparando los resultados del análisis en el establo y el laboratorio. Estas diferencias son las esperadas, puesto que en el laboratorio se realiza bajo condiciones de temperatura controladas, cada 5 muestras se calibra el refractómetro, y se leen al mismo tiempo y por triplicado (Tabla 1). El problema con sobrestimar las proteínas totales es que se puede inferir que el protocolo de calostreo y manejo de la cría posparto se están haciendo adecuadamente. Dado que el refractómetro Brix no depende de la temperatura, aunque si de una correcta calibración, indica que ambos grupos estuvieron en el límite y superior al punto de corte 8.4%, siendo el grupo de calostro suplementado superior en un punto porcentual (Deelen, et al., 2014).

Tabla 1. Comparación de análisis por refractómetro para proteínas totales en el establo y laboratorio y el resultado en refractómetro Brix en laboratorio

Tratamientos	PT en establo	PT en Laboratorio	Brix en Laboratorio	
Calostro sin suplementar	6.38 g/dL	5.28 g/dL	8.40 %	
Calostro suplementado	7.37 g/dL	6.54 g/dL	9.58 %	

Los datos obtenidos de la media de inmunoglobulinas G en los dos tipos de calostro ofrecidos fueron: Calostro sin suplemento: $1455 \pm 7.40 \text{ mg/dL}$ y Calostro con suplemento: $1505.5 \pm 7.32 \text{ mg/dL}$, con una diferencia significativa en la prueba de Wilcoxon (Valor p <0.05).

Gráfica 2. Comparación de IgG g/ml del calostro de vaquilla sin suplemento y calostro de vaquilla suplementado

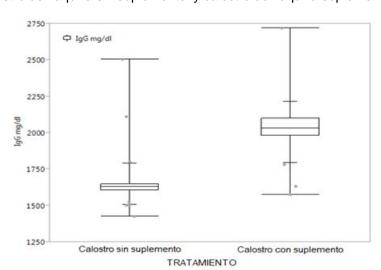


Determinación de IgG en suero

¹ MP Biomedicals SRID y JJJ Farms SRID

La absorción del calostro en los becerros Holstein sometidos a los dos tratamientos fue altamente significativamente superior en el grupo de becerros con calostro suplementado con las pruebas de Tukey y Wilcoxon (Valor p <0.001). Indicando que la mayor cantidad de inmunoglobulinas ingeridas permitieron una mejor absorción del calostro, por ende el becerro tuvo mejor inmunidad pasiva. Según el autor Poulsen y colaboradores de la Universidad de Wisconsin, el nivel mínimo para tener una buena inmunidad pasiva es de 1000 mg/dL de inmunoglobulinas en el suero sanguíneo de los becerros.

Estos becerros presentaron el doble de esta cantidad cuando el calostro fue suplementado: Calostro sin suplemento: $1661.43 \pm 195.55 \text{ mg/dL}$; Calostro con suplemento: $2031 \pm 198.7 \text{ mg/dL}$



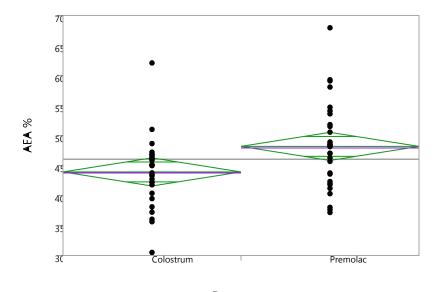
Gráfica 3. Comparación de IgG mg/dL del suero de los becerros que recibieron calostro de vaquilla sin suplemento y calostro de vaquilla suplementado.

Eficiencia de Absorción Aparente

Para determinar la eficiencia en la absorción aparente del calostro, se tomó la fórmula de Alves, 2013, la cual considera la cantidad de inmunoglobulinas en el suero de los becerros a las 24 horas de vida por el peso del becerro al nacimiento, dividido por la cantidad inmunoglobulinas que se le suministraron en el calostro. Se determinó que todos los animales fueron eficientes en la absorción de calostro, atribuyéndose esto a la atención durante el parto de cada uno de los becerros. Los becerros ingirieron en todos los casos el calostro en las primeras dos horas de vida, adicionalmente el secado del becerro inmediatamente después del parto evito la hipotermia y la acidosis respiratoria por la estimulación física. Esto simula la adición de bicarbonato de sodio por Alves en 2013, donde mejoró la absorción de inmunoglobulinas al controlar la acidez posparto.

La eficiencia aparente de absorción fue de $43.9\% \pm 5.6$ en **Calostro sin suplementar** y $48.1\% \pm 7.1$ para **Calostro suplementado**, encontrándose diferencias significativas en el grupo suplementado en las pruebas de Wilcoxon (valor P < 0.05).

Gráfica 4. Comparación de los porcentajes de la eficiencia aparente de absorción en los becerros que recibieron calostro de vaquilla sin suplemento y calostro de vaquilla suplementado.



CONCLUSIONES

El calostro pasteurizado adicionado con 55 g de calostro deshidratado fue estadísticamente mejor que el no suplementado, aún después del proceso de congelado y descongelado. El suero de los becerros que tomaron el calostro suplementado fue mejor, en proteínas totales, brix e inmunoglobulinas. El porcentaje de eficiencia absorción aparente fue estadísticamente mejor. En general todos los becerros tuvieron una mejor eficiencia de absorción de inmunoglobulinas que en estudios reportados, la diferencia fue la atención de todos los becerros durante la primera hora del parto.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Alves Monteiro, AP, 2013, Impact of maternal heat stress during late gestation on calf performance and health. Master Thesis for the University of Florida.
- 2. Beam, A., Lombard, J., Kopral, C., Garber, L., Winter, A., Hicks, J. & Schlater, J. (2009). Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. Journal of Dairy Science 92(8): 3973-3980.
- 3. Besser, T. E., C. C. Gay, and L. Pritchett. 1991. Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. J. Amer. Vet. Med. Assoc. 198:419
- 4. Deelen, S.M., Ollivett, T.L., Haines, D.M. & Leslie, K.E., (2014). Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves', Journal of Dairy Science 97(6), 3838-3844.
- 5. Lombard, J., Garry, F., Tomlinson, S. & Garber, L. (2007). Impacts of dystocia on health and survival of dairy calves. Journal of Dairy Science 90(4): 1751-1760.
- 6. López Helguera, I., Behrouzi, A., Kastelic, J., Colazo, M. & Plaizier, J. (2016). Risk factors associated with dystocia in a tie stall dairy herd. Canadian Journal of Animal Science 96(2): 135-142.
- 7. Godhia M.L, Patel N. Colostrum its Composition, Benefits as a Nutraceutical A Review. Curr Res Nutr Food Sci 2013;1(1):37-47
- 8. Kehoe, S., Heinrichs, A., Moody, M., Jones, C. & Long, M. (2011). Comparison of immunoglobulin G concentrations in primiparous and multiparous bovine colostrum. The Professional Animal Scientist 27(3): 176-180.

- 9. Korhonen, H., Marnila, P. & Gill, H. (2000). Bovine milk antibodies for health. British Journal of Nutrition 84(S1): 135-146.
- 10. Pakkanen, R. and Aalto, J., 1997. Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. International Dairy Journal, 7(5), pp.285-297.
- 11. Parish, J., Smith, T., Parish, J., Best, T. & Boland, H. (2009). Evaluation of four different methods of calf birth weight data collection. The Professional Animal Scientist 25(6): 716-721.
- 12. Poulsen, K.P., Foley, A.L., Collins, M.T. and McGuirk, S.M., 2010. Comparison of passive transfer of immunity in neonatal dairy calves fed colostrum or bovine serum-based colostrum replacement and colostrum supplement products. Journal of the American Veterinary Medical Association, 237(8), pp.949-954.
- 13. Raboisson, D., Trillat, P., & Cahuzac, C. (2016). Failure of Passive Immune Transfer in Calves: A Meta-Analysis on the Consequences and Assessment of the Economic Impact. *PloS one*, *11*(3).
- 14. Tripathi, V. & Vashishtha, B. (2006). Bioactive compounds of colostrum and its application. Food Reviews International 22(3): 225-244.
- 15. Uruakpa, F., Ismond, M. & Akobundu, E. (2002). Colostrum and its benefits: a review. Nutrition research 22(6): 755-767

SUBPRODUCTOS PYRUS MALUS DESPUÉS DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ZUMO

Pedro Ramírez Legorreta, Ada María Ríos Cortés, Miriam Vázquez Galicia

Instituto Politécnico Nacional - Centro de investigación en Biotecnología Aplicada, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos

RESUMEN

Se realizó la elaboración de derivados *pyrus malus*, asimismo desarrollamos la exploración de mercado para galleta energética fibroproteica con base en el sobrante de este fruto, incluye la sugerencia de plan de negocio que pretende abrir mercado abierto. El objetivo general se cumplió al reunir información sustento para posibilitar la gestión de recursos e impulsar a las empresas productoras de alimentos agroindustriales, despertar el interés de invertir más en el mercado de la manzana y sus derivados en la zona de Tepetitla Tlaxcala y Huejotzingo Puebla. Se efectuaron visitas industriales, entrevistas a gerentes de producción en la empresa voluntaria, se efectuaron pruebas de calidad para pulpa de manzana en la determinación del perfil de ácidos grasos y colesterol. Se propusieron medidas de inocuidad en planta para garantizar un producto de calidad y utilizaron técnicas analíticas, exploratorias y correlaciónales para evaluar la información gráfica estadística con miras a estructurar el proyecto de negocio.

Palabras clave: Agroindustria, comercialización, galleta fibroproteica, manzana

INTRODUCCIÓN

La acción que ejerce la fibra dietética en la digestión es beneficiosa para la salud y proporciona una importante ayuda a la movilidad intestinal, por ejemplo, su capacidad de retener agua aumenta el volumen de la materia fecal provocando un aumento del peristaltismo, facilitando así la función evacuatoria y por lo tanto evitando el estreñimiento. Los alimentos ricos en fibra son frutas (principalmente manzana), verduras, cereales integrales y leguminosas, los cuales consumidos en "crudo" ejercen su acción con mayor intensidad que hervidos. La hidrólisis ácida o enzimática parcial de esos polisacáridos puede generar mejor sabor, y las propiedades interesantes que contribuyan a producir patrones de espesamiento de suspensiones más atractivas para el consumidor y que puede incorporarse a granolas, cereales y otros productos que se identifican como fibras de uso en alimentos dietéticos (Siller, 2004).

Aunque la fibra dietética no es considerada como un nutrimento, si es de gran importancia fisiológica, se ha propuesto que la ingestión de fibra dietética conveniente en adultos es de 30 a 35 g/día, de la cual 50% debe provenir de granos (hemicelulosa) y otro 50% de frutas y verduras (pectinas).

En la actualidad existen en el mercado productos a base de fibra que no contiene manzana, proveniente de plantas o semillas, destinados a evitar o sanar enfermedades y trastornos digestivos. Su presentación comercial es a base de polvos, los cuales se deben reconstituir, generalmente en agua antes de ser ingeridos. Sin embargo, estos productos presentan el problema de que al hidratarse forman un gel, el cual debe consumir con bastante agua para evitar algún problema de congestión y/o asfixia. Además, el sabor y la consistencia que presentan al hidratarse, son desagradables y su costo es más elevado (Shepherd, 2012).

En la zona centro de Tlaxcala y Puebla se produce manzana a escala inferior que otros estados de la república, (SAGARPA, 2004). existen pequeños productores de la variedad de manzana *golden delicius* y *malus domestica* (criolla) para consumos en fresco y procesados de jugos, sidras, mermeladas y deshidratados, por lo que se fomenta un mayor consumo de derivados, se emplean 6.9 kg de manzana para obtener 1 litro de jugo; el residuo es bagazo (cascaras, semillas y pedúnculos). con el estudio de mercado, el diseño de un alimento en forma de barra/galleta fue seleccionado en base a lo práctico de distribución, facilidad de consumo y tener una aceptable vida de anaquel.

DESARROLLO

En nuestra práctica inicial utilizamos pulpa de manzana provista por la empresa Maipú S.A., bagazo congelado y conservado con 0.5% de benzoato de sodio. Se seleccionan ingredientes basados en *polifenoles* naturales para prevenir la rancidez y probando su eficacia (actividad y comparabilidad organoléptica), seguridad toxicológica, viabilidad económica y control de calidad. Jarabe de maíz de fructosa (55%), jarabe de glucosa 44°Be comercial, proteínas de soja texturizada, (ficha técnica CF 108561), Gelatina 180° Bloom. Sacarosa calidad comercial grado "A". Esencia de manzana natural. Polipropileno biorientado de 40 micrones. Facilitado por la Empresa participante; filtro Millex 0.45 mm de poro y 13 mm diam. Cromatografía líquida con bomba cuaternaria, desgasificador en línea por vacío e inyector y horno para columna C18, 200 mm de largo x 2.1 largo, Detector UV-VIS variable modelo C, detector fluorimétrico modelo 1046 con celda e integrador HP 3396 II. Kit de proteínas totales, Protiu de Wiener Lab.

Inicialmente se hizo una determinación de componentes para la pulpa de la manzana y de aminoácidos libres, su composición se determinó siguiendo la metodología de la AOAC (Asociación de químicos analíticos oficiales –William, 2011). No se detectaron ácidos grasos trans, ni colesterol (método GC/FID, cromatografía de gases con detector de ionización de llama), (McNair, Harold M. & Miller; James M. *et al.* 1998) Tabla 1.

Determinación	Resultado
Ácidos grasos trans	0
Azucares totales	3.4 %
Calorías totales	45 cal./100g
Cenizas	2.0 %
Colesterol	0
Fibra dietaria	7.0 %
Fibra insoluble	5.5 %
Fibra soluble	0.3 %
Humedad	71.0 %

Materia grasa	0.1 %
Proteína	0.7 %
Residuo seco	10.0 %
Sólidos solubles	2-5° brix

Tabla 1. Composición de la pulpa de manzana. Elaboración en laboratorio

Elaboración de galleta fibroproteica

En el molino de baja velocidad agregamos el bagazo con los ingredientes antes señalados, al final la proteína de soya; se agita tratando de obtener una mezcla uniforme que se vierte en moldes, otra opción es dar forma manual para después hornear a 180° C, la formulación de la galleta se muestra (Tabla 2). Para lograr un producto más consistente disminuimos el contenido del agua de la pulpa, mediante el secado (55°C y 40 mm Hg), lo anterior nos ayuda a dar más protección bacteriana al producto. Generalmente usamos materia del 50 al 10 % de humedad, por lo cual notamos que con menos de 20% se forma una masa sólida de difícil segregación con todo el lote. Agregamos proteína de soya con la finalidad de incrementar la calidad del producto y para darle estructura también agregamos jarabe de maíz y de glucosa.

Materias obtenida	IS	Composición % p/p
Bagazo manzana		
(hum.20%)		36.0
Esencia manzana		6.8
Gelatina		3.2
Jarabe de fructosa		3.0
Jarabe de glucosa		3.0
Proteína texturizada)	(soja	24.0
Sacarosa		24.0

Tabla 2. Composición de la galleta. Elaboración propia

Para obtener una galleta más compacta procedimos a disminuir el contenido del agua mediante el secado de la pulpa (55°C y 40 mm Hg) esto nos ayuda a dar más protección bacteriana al

producto. Utilizamos material del 50-20% de humedad puesto que menos del 20 %, produce una masa muy sólida y difícil de segregar a todo el lote. Se procesaron diferentes tipos de galletas, seleccionamos las de propiedades organolépticas más aceptables.

El producto se envasa en sobres de polipropileno y se sellan con calor. Relativo al marco del contexto como referente de producción social y de mercado se aplicó el método cualitativo en el trabajo de campo (encuesta), anclado al problema concreto de eliminación del bagazo de manzana, pero considerando el beneficio económico de la empresa y la posibilidad de comercializar galletas dietéticas artesanales de bajo costo, esto implicó utilizar también el método cuantitativo que nos generó una mayor visión de la realidad agroindustrial en la región motivo del estudio.

Método encuesta de opinión

La investigación de mercado involucra el uso de varias técnicas para analizar las tendencias del consumidor. Algunas de estas incluyen: encuestas dirigidas, estudios estadísticos, observación, entrevista y grupos focales. La investigación nos provee información sobre el perfil de nuestros clientes, incluyendo sus datos demográficos y de preferencias. Estos datos son características específicas de nuestro grupo objeto, necesarias para desarrollar un buen plan de mercadeo dirigido a nuestro público primario (González, 2007).

En el presente estudio aplicamos las técnicas de investigación de mercados y refieren los riesgos, estimaciones de ventas y fijación de precios.

La información obtenida a través de una investigación científica de mercado suele ser confiable y debe ser utilizada como guía para el desarrollo de las estrategias empresariales.

Determinación de la muestra (López, 2010)

Calculo del Tamaño de la muestra:

$$n = \frac{Z^{2} \times N \times p \times q}{d^{2}(N-1) + Z^{2} \times p \times q}$$

n = Tamaño de la muestra (motivo de encuesta)

N = 12 500 pobladores (10% Representativo del total de la población)

 $Z^2 = (1.96)^2$ (Si la seguridad es del 95%), de tabla de números aleatorios.31

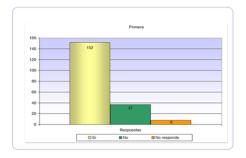
a - Grado de confiabilidad o probabilidad a favor: 1 - P - 1 - 0.05 - 0.05

 d^2 = Intervalo de confianza, en este caso deseamos un 3% = 0.03

$$n = \frac{(1.96)^2 \times 12500 \times 0.05 \times 0.95}{(0.03)^2 (12500 - 1) + (1.96)^2 \times 0.05 \times 0.95}$$
$$n = 197.4 \cong 197$$

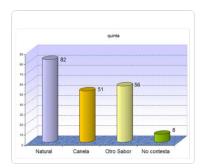
Muestreo en campo

La muestra se tomó para aplicar encuestas en forma específica para un total de 197 personas adultas y representantes de familia en las ciudades Huejotzingo y Tlaxcala. La cantidad obtenida es un número finito de datos, representa la totalidad de la comunidad censados en el año dos mil diez, suman 125, 000 habitantes (INEGI, 2010).



Gráfica. 1 Margen de aceptación de fibra (77%)

Elaboración propia.



Gráfica.2 Consumo de fibra sabor manzana (42%)

Elaboración propia.

Se utilizaron técnicas analíticas, exploratorias, correlaciónales de campo y mediante el método inductivo (Black, 1976), para evaluar la información gráfica estadística. Con las galletas obtenidas notamos que tienen aceptación (Gráfica 1), asimismo en esta actividad de campo se confirma el consumo de fibra sabor manzana (Gráfica 2). La respuesta simplemente nos confirma el interés en realizar las acciones necesarias para ampliar los estudios de investigación y otorgar las facilidades para reanudar los trabajos programados en el protocolo original, además abrir la posibilidad de tomar decisiones en nuevas líneas producción y principalmente relativo al marketing aceptable por el corporativo. La producción y comercialización puede llevarse a cabo por medio de la Asociación de Sidreros de la zona de influencia y motivo del estudio.

Determinación del precio del producto

COSTOS VARIABLES = CV (materia prima por unidad de producto, costos de fabricación, costos de los demás ingredientes, costos del envase y etiquetas).

I) Costos variable por ración de 75 g. = \$ 2.11(es la suma del costo de los ingredientes)

II) Costos fijos mensuales

Costos fijos = CF (es la suma de los gastos de oficina, gastos de administración y todos aquellos que no se puedan asociar directamente a la fabricación de cada unidad del producto o prestación de servicios de la empresa) = \$ 18 700.00

III) Determinación del costo total del producto

CV+ (CF/producción esperada) =CT

CT = 2.11 + (18700/60000) = \$2.42

IV) Determinación del porcentaje de ganancias deseado

Se establece como política de precios percibir el 80% de ganancias.

V) Calculo del precio de venta al minorista

PV = CT + (CT X % ganancias deseables)

 $PV = 2.42 + (2.42 \times 80\%) = 4.36

VI) Calculo del punto de equilibrio (ventas mínimas necesarias para cubrir los costos de la empresa)

PE = CF/ PV - CV

PE = 18 700/4.36 - 2.11 = 4 287 unidades

VII) Estimación del precio de venta al consumidor final.

PVF = Precio al minorista + (precio al minorista x 50% ganancia deseado por el minorista)

 $PVF = 4.36 + (4.36 \times 50\%) = $6.54 \cos por pieza de galleta a base de fibra de manzana, con un peso de 75 gr.$

VIII) Costo del producto por caja (de cuatro piezas) de 450 g.

 $CPC = 6.54 \times 4 = $26.16 \cos(\sigma/\sigma)$ de galletas con

fibra de manzana, con un peso de 300 gr.



fig.1 Materia prima a base de bagazo. Imagen del proyecto



Fig.2 Galleta de fibra de manzana. Imagen del proyecto

Ventas estimadas (Eyssautier, 2000)

Con base en las encuestas realizadas de una muestra total de 197 personas, 152 (es decir el 77%) consumen fibra dietética. De estas 152 personas; 82 personas (es decir el 42%) consumirían fibra dietética procesada a base de bagazo/manzana (figura 1). Extrapolando esta información a las ciudades de San Martín Texmelucan, Huejotzingo y del Estado de Tlaxcala (INEGI 2010), el consumo potencial del estudio de mercado a la cual venderemos dentro de los objetivos a mediano plazo, es de 1 250, 000 habitantes, tenemos que:

X = 962,500 personas que actualmente consumen fibra dietética en cualquiera de sus presentaciones (dentro del área de influencia).

AVANCES DE LA CIENCIA EN MÉXICO

962,500 _____ 100 % X 42 %

X = 404,250 personas que estarían potencialmente dispuestas a consumir fibra dietética de manzana (sabor natural), dentro del área de influencia.

No obstante, las personas que realmente consumen alimentos procesados para cuidar su dieta alimentaria, por consiguiente, que se preocupan por mantener una buena salud están representados en 50% (personas adultas en una familia).

Si de un paquete de galletas de fibra de manzana de 300 g. se consumen diariamente 150 g. (dos porciones de galletas) por familia que representa el consumo de dos personas adultas.

404,250 _____ 100% X _____ 50%

X = 202 125 personas que realmente estarían dispuestas a consumir nuestro producto cada semana (según encuesta de frecuencia de consumo).

Con base en esto, la venta diaria sería de; 6.54 x 202 125/7. Es decir, \$ 188,842.50

Esto equivale al aprovechamiento de 2.74 ton. /semana, de bagazo de manzana procesada, lo que representa un beneficio por las ventas de:

\$ 1 321,897.50 /semana. Por mes \$ 5 287,590.00

Recordemos que los costos fijos mensuales son de: \$ 18, 700.00

Los gastos variables mensuales son: \$ 346,086.00

RESULTADOS

Adicional se propusieron medidas de inocuidad en planta, sistema de análisis de riesgo en puntos críticos de control sanitario (HACCP- Asq Food, 2003). Como se refiere antes, para la pulpa de manzana se hizo la determinación de aminoácidos y así conocer su composición y perfil de calidad, de igual manera se elaboraron diversas barras de galletas para incluir a futuro su formulación en la etiqueta que distingue al producto (figura 2), que se requiere ante la normativa de

la Secretaria de Salud. Asimismo, se realizó un estudio del mercado que pretende fortalecer la Empresa considerando el: *producto, promoción, plaza y precio* (González, 2007).

Se requieren abrir nuevos mercados derivados de la manzana, lo cual no es nuevo en otros países altamente trabajadores del campo para este tipo de productos en todas sus variedades. Incluso el trabajo de investigación deja la inquietud real a empresarios del campo para que inviertan en experimentar nuevas variedades de obtención de manzana aprovechable totalmente. La empresa objeto de estudio mantiene abierta la posibilidad de encontrar procedimientos de reproducción in vitro para ampliar la variedad de productos y desde luego sus derivados.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Politécnico Nacional del CIBA Tlaxcala, por el apoyo en el financiamiento del proyecto SIP No. 20150683. A la Asociación de Productores de Sidra de Huejotzingo por la apertura en instalaciones y laboratorios de empresa Maipú S.A. El Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada Tlaxcala, por las facilidades y respaldo en la gestión oportuna de los recursos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Asq Food, 2003. HACCP Manual del Auditor de Calidad. Acribia. pp. 280
- 2. Black, M. 1976. La justificación del razonamiento inductivo, Madrid: Alianza Editorial.pp.20
- 3. Eyssautier de la Mora M. 2000. Elementos básicos de mercadotecnia. Edit. Trillas. Mex.pp.165-169
- 4. González S. Diana, 2007. Plan de negocios para emprendedores al éxito. Edit. Mc Graw Hill. México.pp.74-79
- 5. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, 2010). Archivo histórico de localidades. Consultado el 27-07-2015.
- 6. López-Alvarenga JC, Reding-Berrnal A, Pérez-Navarro M, et al.2010. Cómo se puede estimar el tamaño de la muestra de un estudio. Dermatol Rev. Mex.pp.375-379
- 7. McNair, Harold M. & Miller, James M. (1998). Basic Gas Chromatography. Canada: John Wiley & Sons, Inc. ISBN: 0-471-17260-X (Alk. Paper).
- 8. SAGARPA, (2004). Plan rector Sistema Nacional de Manzana. ITSM, INCA Rural, México.
- 9. Shepherd Andrew W. 2012. Estudio de Mercados Agroindustriales. Edit. Biblioteca. Méx. pp.81-82
- Siller C. Jorge, 2004. Situación actual de la industria Hortofrutícola en México. Edit. Centro de investigación y desarrollo A.C. Méx.pp 3-11
- 11. William Horwitz y Goerge W. Latimer. 2011. Official methods of analysis of AOAC international. Edic.18

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE Stevia rebaudiana BERTONI CONTRA MICROORGANISMOS CARIOGÉNICOS

Viena María Cuevas Mancilla, Ada María Ríos Cortés, Ivonne Pérez Xochipa, Sandra Luz Hilerio Cabrera Cristián Dionisio Román Méndez, Gabriel Ríos Cortés

Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ³Instituto Tecnológico de Orizaba <u>adarioscort@yahoo.com.mx</u>¹

RESUMEN

La caries dental es un padecimiento epidemiológico provocado por múltiples factores uno de ellos es la presencia de microorganismos, así como también la ingesta de azúcares que coadyuvan a su crecimiento. En México 9 de cada 10 personas la padecen, por lo que se siguen buscando alternativas que ayuden a la disminución o eliminación de estos microorganismos en la cavidad bucal. Una de las alternativas ha sido el empleo de compuestos naturales obtenidos de plantas tal es el caso de *Stevia rebaudiana* Bertoni, planta que se caracteriza por tener glucósidos de esteviol, los cuales son hasta 300 veces más dulce que el azúcar. Otra característica de *stevia* es que genera caries al no ser fermentado por las bacteria orales y se considera que puede tiene propiedades antimicrobianas. Por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar si los método de extracción y los glucósidos de esteviol están implicados con el efecto antimicrobiano de *Stevia rebaudiana* Bertoni sobre cepas del género *Streptococcus mutans GS5*, *Streptococcus sobrinus G715*, *Lactobacillus rhamnosus 9595*, *Lactobacillus acidophilus 314*, *Lactobacillus fermentum y Candida albicans*, asociadas a la caries.

INTRODUCCIÓN

Stevia rebaudiana Bertoni (stevia) es una planta herbácea, que crece como arbusto salvaje en el suroeste de Brasil y Paraguay. Cobra un alto valor entre los vegetales nativos de estos países, debido a que contiene glucósidos de diterpeno, llamados comúnmente esteviósidos, cuyo poder edulcorante en estado puro y cristalino puede ser 300 veces mayor que el azúcar de caña (Hearn, 2008)

Stevia ha demostrado tener beneficios múltiples en la salud sistémica y recientemente en la salud oral (Contreras, 2013). Se ha informado que tiene efectos bactericidas sobre *Streptococcus mutans*, responsable de las caries dental al poseer propiedades antibacterianas (Satishkumar *et al.*, 2008).

La caries dental es considerada como una enfermedad localizada que resulta de los procesos metabólicos de la biomasa en contacto con la superficie dental; la dieta proporciona los requerimientos nutricionales y por lo tanto energéticos a los microorganismos de la microbiota bucal (Bascones et al., 2001). Lactobacillus acidophillus y el Streptococcus mutans se encuentran en casi todas las lesiones de caries, y su proporción en la placa y la saliva está relacionada con el desarrollo de caries (Thylstrup et al., 2000).

La prevención de la caries dental y la enfermedad periodontal se logra con una adecuada actuación sobre todos los factores que contribuyen a su formación, pero es necesario insistir en el cambio de actitud de la población con respecto al consumo de carbohidratos fermentables y el mantenimiento de una correcta higiene bucal después de la ingestión de los alimentos (Sarabia *et al.*, 2005).

Considerando la importancia de encontrar contribuciones para disminuir el índice de esta enfermedad, esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto antimicrobiano de diferentes

extractos de *Stevia rebaudiana* Bertoni sobre algunos microorganismos cariogénicos e identificar si existe alguna relación con los compuestos responsables del dulzor y su método de extracción.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Se utilizaron hojas de *Stevia rebaudiana* secas (humedad no mayor al 3%) de la variedad criolla, posteriormente fueron pulverizadas y tamizadas para obtener un tamaño de partícula uniforme (850 µm).

Extracción método convencional

Se realizó extracción con equipo Soxhlet utilizando 10 gramos de pulverizado de hoja el cual fue extraído con metanol y hexano por separado. Para el extracto metanólico se sometió a un método de clarificación con carbón activado (1 g de carbón por cada 50 ml de extracto), después un proceso de filtrado junto con enjuagues de metanol.

Extracción método no convencional

Se utilizaron extractos de glucósidos obtenidos por métodos no convencionales:

- *Método enzimático:* Se pesaron 2.5g de pulverizado de hoja en un matraz Erlenmeyer y se disolvieron con una mezcla con 12.5 ml de solución buffer de acetato de sodio (0.02 M, pH 5) con 25 ml de metanol. Por otra parte se realizó una mezcla de tres enzimas: celulasa, hemicelulasa y pectinasa. Se realizaron 4 extractos en un tiempo de 60 minutos, a diferentes concentraciones y a diferentes temperaturas, (0.5%/50°, 0.5%/55°, 0.3%/50° y 0.3%/55°).
- Extracción por ultrasonido: se utilizó 2.5 g de pulverizado de hoja el cual se disolvió con una mezcla de 12.5 ml de una solución buffer de acetato de sodio (0.02M y pH 5) y 25 ml de metanol. La mezcla se expuso a sonicación en un baño de ultrasonido de alta intensidad por 1 hora a temperatura ambiente. Para el otro extracto se utilizaron 5 g de pulverizado de hoja, 150 ml de agua posteriormente la muestra se expuso a sonicación en un baño de ultrasonido por 6 horas.
- Extracción por método enzimático asistido por ultrasonido (EAU): En un matraz corazón se agrega metanol, solución buffer, 5 gramos de pulverizado de hoja y se agregó por último la concentración de enzima; se lleva el matraz a sonicar durante 6 horas y al terminar el tiempo se deja reposar el matraz para que se separen las fases sonicadas. La fase inferior se lleva a filtración a vacío ocupando un embudo buchner, un matraz kitasato y papel filtro.

Se le agregan 5 ml de metanol, la mezcla se lleva a concentrar en un matraz balón de 250 ml en el rotavapor, utilizando un baño maría a 70 °C hasta obtener la formación de cristales. Se realizaron 8 extractos en la tabla 1 se muestran las condiciones utilizadas.

Se realizaron 4 extractos con Celulasa y 2 con Hemicelulasa a diferentes concentraciones y con dos disolventes: agua y metanol.

Cuantificación por HPLC

La determinación de esteviósido y rebaudiósido "A" se realizó por el método analítico de HPLC con equipo HP 1100 (Módulo de separación DAD) y un sistema cuantificador (Agilent OpenLAB CDS Chem Station 490 Micro GC Driver v1.9.0. Software). Se utilizó una columna LiChrospher® 100, 250-4 mm RP-18c (5 μm, Agilent) a 20oC. Las muestras (10 μL) fueron eluidas a un flujo de 0.7 mL/min, manteniendo la misma proporción de disolventes durante todo el proceso (fase móvil isocrática): agua (H2O) y acetonitrilo (CH3CN) relación 65:35 respectivamente. Los compuestos fueron detectados a 210 nm utilizando un detector de arreglo de diodos (DAD Agilent HP 1100 G1312A). Para la cuantificación de esteviósido y rebaudiósido se construyeron curvas de calibración con soluciones estándar de 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mg/L en agua con los compuestos puros de Esteviósido (TCI) Rebaudiósido A (TCI).

Actividad antimicrobiana

Para la determinación de la actividad antimicrobiana se utilizaron cepas: *Streptococcus mutans GS5, Streptococcus sobrinus G715, Lactobacillus rhamnosus 9595, Lactobacillus acidophilus 314, Lactobacillus fermentum* y *Candida albicans. S*e realizó de acuerdo al método de difusión en agar de Kirby-Bauer de acuerdo al NCCLS (Cavaleri *et al.*, 2005). Se utilizaron discos de papel filtro de 6mm de diámetro, los cuales fueron impregnados con 10 µl de dilución de los extractos a diferentes concentraciones: 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 y 3.13 mg/ml. Como controles positivos se utilizaron discos de ciprofloxacino (10 mg/ml) y clorhexidina al 10% (Marca consepsis) como control negativo se utilizaron discos de hexano, rebaudiósido "A" y esteviósido estándar.

Se utilizaron placas Petri con agar MRS y BHI, las cuales fueron inoculadas con un hisopo estéril, utilizando una suspensión bacteriana ajustada a 0.5 del Nefelómetro de McFarlan de las cepas mencionadas se colocaron 6 discos por placa, posteriormente se incubaron por 24 horas en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis, dependiendo la cepa, a 37°C. Se hizo la medición del diámetro de los halos de inhibición obtenidos, cada prueba se evaluó por triplicado.

RESULTADOS

Preparación de la materia prima

La pulverización de las hojas fue uniforme, encontrándose tamaños de partícula de 850 µm. No se encontraron cambios en la apariencia del polvo tales como oscurecimiento o humedecimiento.

Cuantificación de extractos

Con el método empleado se logró una separación adecuada de los estándares de esteviósido y rebaudiósido, los cuales fueron eluídos a los tiempos de 5.194 min ± 0.036 y 4.915 min ± 0.044 respectivamente Figura 1.

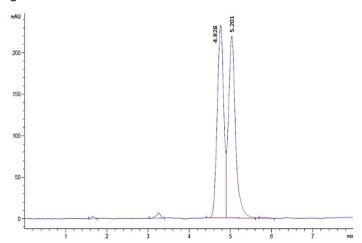


Figura 1. Cromatograma de la mezcla de esteviósido (5.201 min) y de rebaudiósido A (4.928 min).

Método convencional

El extracto metanólico fue analizado por HPLC obteniendo 17.39 mg/g de steviósido y 56.72 mg/g de rebaudiósido "A".

El extracto hexánico (Soxleth/Hexano) realizado no se sometió a la cuantificación ya que es un extracto oleoso el cual no posee los glucósidos de esteviol ya que estos se presentan en la fase polar (Afandi *et al* 2013).

Métodos no convencionales

El método de extracción enzimática (0.5% / 50°) obtuvo los mayores rendimientos, 77.68 mg/g de hoja para rebaudiósido "A", y esteviósido 23.16 mg/g mientras que en la extracción enzimática asistida por ultrasonido (Hemicelulasa/ metanol/ 6%) se obtuvo una mayor concentración de los glucósidos de esteviol 41.90 mg/g de hoja, en la tabla 2 se muestran los resultados, de los métodos analizados en este estudio.

Tabla 1. Rendimiento de esteviósido y rebaudiósido "A" de los diferentes métodos analizados.

Método de extracción	Esteviósido (mg/g)	Rebaudiósido A (mg/g)
Soxleth/metanol	17.39	56.72
Enzima 0.5% / 50°	23.16	77.68
Enzima 0.5%/ 55°C	21.68	72.2
Enzima 0.3% / 50°	21.63	72.36
Enzima 0.3% / 55°	20.56	71.56
EAU	11.55	56.9
EAU	7.13	40.27
EAU	41.90	

El método de extracción ultrasónica presentó menores rendimientos de rebaudiósido "A" en comparación al método enzimático debido a la temperatura, según Liu *et al.*, (2010) también mencionan que la extracción de esteviósido y rebaudiósido "A" se ve favorecida al aumentar la temperatura, de forma que este factor tiene efecto importante en la extracción enzimática.

El método de extracción ultrasónica no se lograron obtener glucósidos según Liu et al (2013) mencionan que la extracción de esteviósido y rebaudiósido A se ve favorecida al aumentar la temperatura, de forma que este factor tiene efecto importante en la extracción, por lo que este factor pudo ser el que afectara los resultados.

Actividad antimicrobiana

En cuanto al análisis microbiológico los resultados de este estudio *in vitro* demuestran que los extractos polares en donde se encuentran los glucósidos de esteviol no poseen propiedades antimicrobianas. Mahammadi *et al* (2012), realizaron un trabajo en el que utilizaron extractos obtenidos por método soxhlet utilizando metanol y evaluaron el efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* a una concentración de 100mg/ml, donde reportaron halos de inhibición de 21mm también, Gabriel *et al.*, (2010) al utilizar un extracto metanólico a una concentración de 400 mg/ml reportaron un efecto inhibitorio de 11.5 y 12 mm contra *Streptococcus mutans* y *L. acidophilus* respectivamente. Por lo que se cree que uno de los factores que pudo afectar los resultados fue el proceso de clarificación de los extractos (Soto *et al.*, 2002) en contraste con otros autores que no los someten a este proceso.

El extracto hexánico es el único que presenta actividad antimicrobiana, mostró efecto antimicrobiano significativo o similar a los controles positivos, el máximo halo de inhibición fue de 8mm en los extractos realizados por método EEAU contra *Streptococcus mutans* ATCC 3566, sin embargo este valor no es significativo, en comparación con los controles positivos.

S. mutans S. sobrinus L- L. Candida

	3566		Rhamnosus	acidophilus	fermentum	albicans
Clorhexidina	13.9±0.05	14±0.1	16.1±0.1	15.9±0.10	16±0.05	17.9±0.11
Ciprofloxacino	16±0.05	15.9±0.05	17.9±0.05	19.9±0.06	16±0.06	6±0.05
Extracto	6 ±0.05	6±0.05	6±0.05	6±0.05	6±0.05	6±0.05
Metanólico						
Extracto						
hexánico	11.03±0.05	11.06±0.05	13±0.10	12.9±0.05	14.9±0.01	15±0.05

Tabla 2. Efecto antimicrobiano de extractos obtenidos por método convencional (mm).

Los valores de inhibición que se obtuvieron para *S. mutans* y *L. acidophilus* son menores a los reportados por Gamboa *et al.*, (2012) los cuales realizaron un extracto similar reportando halos de inhibición de 10 mm, 10.6 mm y 13.6 mm contra *S. mutans, S. sobrinus* y *L. acidophilus* respectivamente, a una concentración de 30 mg/ml. Las causas de que se obtuvieron resultados menores a los reportados pueden ser principalmente por el método de extracción empleado, ya que los autores citados emplearon un método de maceración. Ofactor que pudo contribuir fue la cantidad de muestra de hoja seca de *stevia* empleada por ml de solvente.

El efecto inhibitorio que tuvo el extracto hexánico sobre *Candida albicans* fue de 15 mm, este efecto fue el mayor en comparación con los otros microoganismos. Sin embargo, no se han reportado publicaciones sobre actividad inhibitoria de *stevia* sobre esta levadura, pero presenta valores similares a los que exhibió nuestro control positivo (clorhexidina 17.9 mm). Este microorganismo no es causante de lesiones cariosas sin embargo, Schulz *et al.*, (2005) reporta que en hábitats orales de niños hay una mayor colonización por *C. albicans* en las lesiones con presencia de caries, reportando frecuencias hasta de 97%, también se ha encontrado la prevalencia de *C. albicans* particularmente en niños, adolescentes y adultos jóvenes (Gabris *et al.*, 1999). Klinkle *et al.*, (2010) realizan un estudio donde indujeron la colonización de *C. albicans y S.* mutans sobre ratas las cuales fueron alimentadas con una dieta que contenía 40% de diferentes azucares, posteriormente evaluaron fisuras de caries y encontraron más lesiones en las ratas que se colonizaron *con C. albicans y S. mutans* que con las que se administraron solo con *S. mutans*, por lo que podría ser de gran utilidad el uso de *stevia* no solo para microorganismos principales que causan la caries si no también para levaduras como *Candida* albicans que contribuyen al desarrollo de esta enfermedad.

CONCLUSIONES

La extracción enzimática obtuvo el mayor rendimiento de rebaudiósido "A" (77. 68 mg/g)

La extracción enzimática asistida por ultrasonido (Hemicelulasa 6%/ metanol) obtuvo una mayor concentración de esteviósido 41.90 mg/g de hoja.

Los extractos en donde se encuentran los glucósidos de esteviol no presentan actividad inhibitoria para estas cepas

Los métodos de extracción de extracción no se relacionan con la actividad inhibitoria pero si con el rendimiento de esteviósido y rebaudiósido "A".

Se necesitan más estudios sobre el aislamiento, caracterización y la identificación de las sustancias presentes en los extractos, para conocer los componentes responsables de la actividad antimicrobiana de *Stevia rebaudiana*, aunque al analizar estos extractos se puede decir que los componentes responsables de esta actividad antimicrobiana no son los glucósidos, sino más bien otros compuestos guímicos como pueden ser la apigenina, austroinilina, avicularin, β-sitoesterol,

ácido caféico, campesterol, cariofileno, centaureidin, ácido clorogénico, clorofila, kaempferol, luteolina, quercetina, estigmasterol, entre otras.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Instituto Politécnico Nacional por el apoyo otorgado para realizar esta investigación.

Agradecemos al Instituto Tecnológico de Orizaba por las muestras prorporcionadas.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Afandi, A., Sarijan S., Kumar-Shaha, R. (2013). Optimization of rebaudioside a extraction from Stevia rebaudiana (Bertoni) and quantification by high perfomance liquid chromatography analysis. Journal of Tropical Resources and Sustainable Science, 1(1): 62-70.
- 2. Bascones A(2001). Tratado de odontología. Barcelona: Ediciones Avances. tomo 1: 682. 2. Thylstrup A, Fejersko V. Texbook of clinical cariology, Mundsgaard, Denmark; 94. 2ª ed. Copenhagen: Editorial Doyma. 2000; 56-57.
- 3. Bergs, D., Burghoff, B., Joehnck, M., Martin, G., Schembecker, G. (2012). Fast and isocratic HPLC-method for steviol glycosides analysis from Stevia rebaudiana leaves. Journal of Consumer Protection and Food Safety, 7:147–154.
- 4. Cavalieri, J., (2005). Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. 39-50.
- 5. Contreras, S. (2013). Anticariogenic properties and effects on periodontal structures of *Stevia rebaudiana* Bertoni. 158-152.
- 6. Gamboa F., Chaves M., (2012) antimicrobial potential of extracts from stevia rebaudiana leaves against bacteria of importance in dental caries. Acta odontol. Latinam. Vol. 25 N° 2 171/175.
- 7. Gabris K, Nagy G, Madlena M, Denes Z, Marton S, Keszthelyi G, Banoczy J. (199). Associations between microbiological and salivary caries activity tests and caries experience in Hungarian adolescents. Caries Res 1999;33:191–195
- 8. Hearn, L. and Subedi. (2008). Determining levels of steviol glycosides in the leaves of Stevia rebaudiana by near infrared reflectance spectroscopy. J. Food Comp. Anal. 22(2), 165-168.
- 9. J. Liu, L. Jin-Wei, J. Tang. "Ultrasonically assisted extraction of total carbohydrates from Stevia rebaudiana Bertoni and identification of extracts, short communication". Food and bioproducts processing, 88, 2010, pp. 215–221.
- 10. Klinke, Guggenheim, Klimm, Thurnheer (2010). Dental Caries in Rats Associated with Candida albicans. Caries research. Vol. 45, No. 2: 2:6.
- 11. Mahammadi M., Karbasizadeh V., Aghai F and Reza M. (2012). Effect of different extracts of Stevia rebaudiana leaves on Steptococcus mutans growth. Journal of medicinal plants, research Vol 6(32), 4731- 4734.
- 12. Soto, A., Del Val, S. (2002). Extracción de los principios educolorantes de la Stevia rebudiana. Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de los Alimentos, 20
- 13. Sarabia, M., Gómez, M., García O. (2005). La dieta y su relación en la caries dental y la enfermedad periodental. Archivo medico de Camagüey, vol 9, ním 1.
- 14. Sathishkumar, J., Muthu, S., Seethalakshmi, I. (2008). In-vitro Antimicrobial and Antitumor Activities of Stevia Rebaudiana (Asteraceae) Leaf Extracts. 1-7.
- 15. Schulz-Weidner N, Ansari F, Hossain H, Chakraborty E, Domann E, Wetzel WE: Vergleichende PCR-Typisierung von Candida albicans aus der Mundhöhle und dem Magen-Darm-Trakt. Oralprophylaxe Kinderzahnheilkd 2005;139–143.
- 16. Thylstrup A, Fejersko V. (2000). Texbook of clinical cariology, Mundsgaard, Denmark; 94. 2ª ed. Copenhagen: Editorial Doyma.; 56-57.

EFECTO DE GLUCONACETOBACTER DIAZOTROPHICUS, Y BURKHOLDERIA VIETNAMIENSIS DE STENOCEREUS QUERETAROENSIS EN PHASEOLUS VULGARIS

Guidier Marto Dominguez, Liliana Marquez-Benavides y Juan Manuel Sánchez-Yáñez.

Laboratorio de Microbiología Ambiental

Instituto de Investigaciones Agrícolas Pecuarias y Forestales, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas (correspondencia *syanez@umich.mx), Morelia, Mich, México.

RESUMEN

Resumen *Phaseolus vulgaris* (frijol) requieren de fertilizante nitrogenado (FN), que en exceso disminuye la fertilidad del suelo. Una solución son bacterias endófitas de *Stenocereus queretaroensis* (pitayo) que adaptado a stress nutricional, permiten reducir y optimizar la dosis de FN en frijol. El objetivo de trabajo fue: a) analizar el efecto de la inoculación de *G. diazotrophicus y B. vietnamiensis* en *P. vulgaris* a dosis 50% del FN. Con la variable respuesta biomasa: peso fresco/seco aéreo (PFA/PSA), peso fresco/seco radical (PFR/PSR), los datos se analizaron por ANOVA/Tukey. Los resultados mostraron que *G. diazotrophicus* y *B. vietnamiensis* en *P. vulgaris* a plántula causaron 18.0 g y 13.6 g de PFA, 0.09 g y 0.02 g de PSA, 0.15 y 0.013 g de PFR y 0.05 y 0.01 g de PSR respectivamente, valores estadísticos diferentes comparado con *P. vulgaris* o control relativo sin inocular (CR) con 0.30g PFA, 0.04g PSA, 0.04g PFR, 0.02 g PSR. Esto sugiere que ambos géneros endófitos de pitayo, transformaron metabolitos de la fotosíntesis de frijol en sustancias promotoras de crecimiento vegetal para mejorar la absorción del FN.

Palabras clave: P. vulgaris, Z. mays, G. diazotrophicus, B. vietnamiensis,

INTRODUCCIÓN

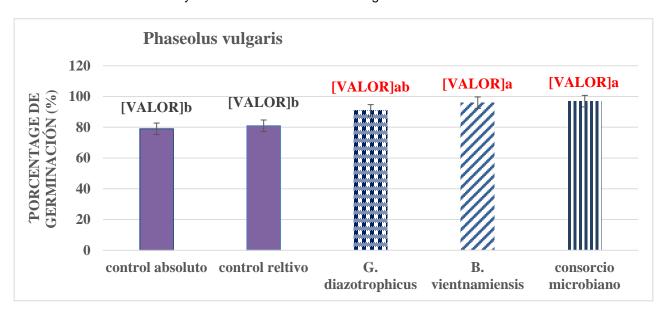
En Latinoamérica y en México el consumo de *Phaseolus vulgaris* (frijol) es alto, sin embargo en los últimos años su producción ha disminuido por agotamiento de la fertilidad del suelo (González et al., 2014), debido al exceso de fertilizante nitrogenado (FENI) aplicado comúnmente como NH₄NO₃ (nitrato de amonio) que en exceso provoca la pérdida de productividad del suelo (Hernández-Escareño, 2015). Una alternativa de solución para reducir y optimizar la cantidad de FENI es la inoculación en semillas de P. vulgaris con géneros de bacterias promotoras de crecimiento vegetal endófitas (BAPOCEVE), que viven en el interior del sistema radical y a nivel del xilema, donde transforman los compuestos de fotosíntesis en sustancias promotoras del crecimiento vegetal (SPCV), y mejoran su capacidad absorción radical a pesar de reducir el FENI hasta en un 50%. La literatura recomienda la inoculación de P. vulgaris con Rizobium etli sin embargo los resultados no son los esperados, por lo tanto se buscan otros géneros de BAPOCEVE que provengan de plantas xerófitas como Stenocereus queretaroensis (Pitayo) (Pimienta-Barrios et al., 2002), debido a que se encuentran acostumbradas a problemas de nutrición, desecación, plagas y enfermedades (Pimienta et al., 014) y al ser inoculadas en P. vulgaris puedan ser efectivas (Loza-Cornejo et al., 2003). Con este principio, se aisló Gluconacetobacter diazotrophicus y Burkholderia vietnamiensis de S. queretaroensis ambas bacterias son Gram negativa que ya han sido aisladas de Saccharum officinarun (caña de azúcar).

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. De la cactácea S. queretaroensis se tomaron partes de la raíz y del tallo, seguido de una desinfección que consistió en: 1. - lavar las raíces o tejidos vegetales con agua potable; 2.- desinfectar con alcohol al 70% por 2.5 minutos y/o con hipoclorito de sodio al 10% por 2.5 minutos; cortar en trozos el tejido vegetal con tijeras en condiciones estériles en campana; sembrar los trozos de tejidos en tubos pequeños en agar semisólido Dobereiner y Day, medio Pseudomonas cepacia acida azaleico con y sin triptamina; incubar de 3-7 días a temperaturas de 28-30°C, buscar colonias abombadas y brillantes redondas en la formación de un pigmento o película debajo de la superficie del tubo, realizar la tinción de Gram para encontrar bacilos cortos o acurvados Gram negativo (-); resembrar el cultivo bacteriano para purificar en medio Pseudomonas cepacia ácido azaleico y triptamina (composición en g/L: triptamina 0.2, ácido azaleíco 2.0, K2HPO4 4.0, KH2PO4 4.0, extracto de levadura 0.02, MgSO₄ 0.2 y D3) de la misma manera fue para el caldo LGI con la siguiente fórmula g/L: sacarosa 100.0; K₂HPO₅ 2.0; KH₂PO4 2.0; NaCl 1.0; MgSO₄ 3.0; extracto de levadura 1.0; azul de bromotimol al 2 % (p/v) 10 mL/L (Cavalcante y Dobereiner, 1988) y 10 mL/L de la solución de oligoelementos con la siguiente composición (g/L): H₃BO₄ 2.86; ZnSO₄ 0.22; MnCl₂ 1.81; K₂MnO₄ 0.09 (Sánchez-Yáñez 2007), el pH se ajustó a 6.0 con ácido acético al 2 % (v/v); el caldo LGI se incubo a 32°C/24 h (Dibut et al., 2005); como probable crecimiento positivo sospechoso de Gluconacetobacter sp se detectó la turbidez y viraje de verde a amarillo en el caldo LGI; se realizó tinción Gram para observar un bacilo corto Gram negativo; luego se sembró en agar LGI (misma fórmula con adicción de 18 g/L de agar bacteriológico) para su purificación, se incubo a 32ºC/24-48 h; de nuevo al Gram se detectó un bacilo corto Gram negativo (Sánchez-Yáñez 2007), Para ello Las semillas de P. vulgaris se desinfectaron superficialmente con NaClO 0.2% o H2O2 por 5 minutos, lavar con agua estéril 5 minutos; por cada 10 semillas se inocularon con 1.0 mL de BAPOCEVE la concentración se ajustó a la solución patrón No. 0.5 del nefelómetro de Mc Farlard en solución detergente al 10 % (1mL) en 99 mL de solución salina. Las BAPOCEVE seleccionadas se inocularon en P. vulgaris; el suelo se solarizó por 48 horas para minimizar el problema de plagas y enfermedades, posteriormente fue tamizado con malla del No. 20. Se midió el porcentaje de germinación, la fenotipia: altura de planta (AP) y longitud radical (LR) y la biomasa: peso fresco y seco aéreo/radical (PFA/PFR)/(PSA/PSR). Los datos experimentales se analizaron por ANOVA/Tukey con un nivel de significancia α de 0.05 mediante el programa Statgraphics Centurion 16.103®

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Figura 1. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a la inoculación con *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Burkholderia vietnamiensis* y la mezcla de ambas sobre su germinación.



Control absoluto=*P. vulgaris* con agua; control relativo *P. vulgaris* FN 100%; CM= *P. vulgaris* + *G. diazotrophicus* + *B. vietnamiensis* mas FN 50%. Valores con letras distintas con diferencia estadística (P<0.05) según ANOVA-Tukey.

Fig. 1 Muestra el efecto de la inoculación sobre la germinación en *P. vulgaris* con *G. diazotrophicus* y *B. vietnamiensis*, en donde la inoculación de *B. vietnamiensis* y el consorcio microbiano muestran un 96 y 97 % superior a la comparación con control relativo alimentado con 100% de fertilizante nitrogenado de 81% y un control absoluto irrigado solamente con agua de 79%; sin embargo *G. diazotrophicus* muestra una mejora o igual a los controles aun reduciendo el fertilizante nitrogenado a un 50%; esto quiere decir que las bacterias endófitas promotoras de crecimiento convirtieron exudados de la espermosfera de la raíz en sustancias promotoras de crecimiento que ayudaron una temprana germinación.

En el cuadro 3 se observa el efecto positivo de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Burkholderia vietnamiensis* y el conjunto de BAPOCEVE como consorcio microbiano a la inoculación en *P. vulgaris* a nivel de plántula en comparación de *P. vulgaris* sin inocular, alimentado con FENI al 100% usado como CR y evidentemente superior al *P. vulgaris* sin inocular e irrigado solo con agua como CA en donde se observó que *P. vulgaris* inoculado con CM y *G. diazotrophicus*, aumentó la AP a 19.1 y 18.2 cm, un valor estadísticamente significativo diferente a los 12.9 cm de AP de *P. vulgaris* usado como CR y superior a 11.2 cm de AP de *P. vulgaris* empleado como CA. *P. vulgaris* inoculado con *G. diazotrophicus*, incrementó su LR a 16.0 cm, valor estadístico diferente a los 13.1 cm, de LR de *P. vulgaris* usada como CA y 14.9 cm, de *P. vulgaris* empleado como CR. El *P. vulgaris* inoculado con C.M y *G. diazotrophicus* aumentó el PFA a 0.76 y 0.52 g, un valor estadístico diferente a 0.30 g, del PFA de *P. vulgaris* usado como CR y 0.17 g de PFA de la misma leguminosa empleado como CA. *P. vulgaris* inoculado con *G. diazotrophicus* mostró un PFR de 0.09 g, y un PSA de 0.15 g, valores estadísticamente diferentes a 0.14 g, del PSA y a los 0.04 g, de PFR de *P. vulgaris* usado como CR y PFR y PSA de 0.10 g, del *P. vulgaris* empleado como CA.

Cuadro 3. Respuesta de *Gluconacetobacter diazotrophicus* y *Burkholderia vietnamiensis* a la inoculación de *Phaseolus vulgaris* sobre la fenología y biomasa en el estadio de plántula a dosis 50% de fertilizante nitrogenado

	Fenología		Biomasa			
Tratamientos P. vulgaris	Altura planta	Longitud radical	Peso fresco aéreo	Peso fresco radical	Peso seco aéreo	Peso seco radical
CA	11.2 ^c	13.1 ^b	0.17 ^d	0.04 ^{ab}	0.10 ^c	0.02 ^b
CR	12.9 bc	14.9 ab	0.30 °	0.07 ^{ab}	0.14 ^b	0.03 ^b
G. diazotrophicus FENI 50 %	18.2 ^a	16.0 ^a	0.52 b	0.09 ^a	0.15 ^b	0.05 ^a
B. vietnamiensis FENI 50 %	13.6 bc	9.3 bc	0.38 bc	0.02 ^b	0.13 ^b	0.01 ^b
G. diazotrophicus B. vietnamiensis FENI 50 %	19.1 ^a	6.8°	0.76 ^a	0.06 ^a	0.22 ^a	0.04 ^a

CA= controlo absoluto=Suelo + P. vulgaris + agua; CR= control relativo= suelo + P vulgaris + FENI 100% *valores con letras distintas tuvieron diferencia estadística (P<0.05) según ANOVA-Tukey

Lo anterior indica que las bacteria endófita *G. diazotrophicus* y *B. vietnamiensis* aislados de *S. queretaroensis* e inoculada en *P. vulgaris* penetraron por la raíz y los estomas de la planta circulando por haces vasculares de esta manera transformo compuestos de fotosíntesis en fitohormonas a pesar de reducir el FENI al 50%.

Se agradece el apoyo de la CIC-UMSNH al proyecto 2.7 (2016) y a BIONUTRA S.A de C.V Maravatio, Mich. México.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. De-Bashan, L. E., Holguin, G., Glick, B. R., y Bashan, Y. 2007. Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales.
- 2. Microbiología agrícola. Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, plantamicroorganismo. México: Editorial Trillas, 170-224.
- 3. Dibut, B., Ortega, M., Martínez, R., Fey, L., y Ríos, Y. 2005. Nuevos aislados de *Gluconacetobacter diazotrophicus* en cultivos de importancia económica para Cuba. Cultivos tropicales, *26*:2, 5-11.
- 4. Hernández-Escareño, J., Morales, P., Farías rodríguez, R. y Sánchez-Yáñez, J. M. 2015. Inoculación de *Burkholderia cepacia* y *Gluconacetobacter diazotrophicus* sobre la fenología y biomasa de *Triticum aestivum* var. Nana f2007 a 50% de fertilizante nitrogenado. Scientia Agropecuaria, 6; 1:7-16.
- 5. Martínez, H., Pinargote, C., Jaramillo, M., Patiño, M., Benavides, O. y Fernández, R. 2015. Respuesta de poblaciones microbianas que lideran el crecimiento en raíces y resistencia sistémica inducida. Ciencia y Tecnología, 8; 2: 1-10.5
- 6. Rojas, J., Romero, D., Cristales, M., Andrade, O., García, Y., Sáenz, Y. y Lucio, M. 2016. Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos enAmérica y potencial biotecnológico. Biológicas, 17; 2: 24-34

AISLAMIENTO DE CEPAS MICROBIANAS A PARTIR DE JALES MINEROS CON POTENCIAL USO EN PROCESOS DE BIORREMEDIACIÓN

García-Aguirre K., Segovia-Tagle V., Guerrero-Jaime E.

Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Zacatecas

Universidad Autónoma de Zacatecas, Ciencias Químicas.

RESUMEN

El interés de rescatar los recursos naturales es una preocupación actual que impacta diversos ámbitos que van desde el político (capital natural), el económico (industria limpia) y el social (salud pública). Gracias a este interés es importante resaltar que la contaminación es uno de los detonantes más importantes de la pérdida de recursos y que algunos de estos recursos dañados pueden ser recuperados, como es el caso de suelos contaminados por metales pesados mediante un proceso de biorremediación. En ese sentido, el presente trabajo tiene como objetivo servir como una primera etapa para la implementación de un proceso de biorremediación en una mina del municipio de Veta Grande, en Zacatecas. El estudio consistió en esta primera etapa en realizar el muestreo y la caracterización de los jales del sitio de estudio, así como el aislamiento de microorganismos endémicos, con el propósito de emplearlos para el proceso de biorremediación. Los resultados muestran que el sitio presenta concentraciones por arriba de lo permitido por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 para plomo y arsénico, lo que nos permite catalogar la zona como de riesgo para la salud por encontrarse inmersa en un área urbana. En cuanto al aislamiento de microorganimos propios de la zona se aislaron e identificaron cinco cepas que presentan morfología de microbacilos, Gram negativos. A partir de estos resultados se realizara la propuesta para la recuperación del suelo empleando sistemas biológicos para la remoción de metales.

INTRODUCCIÓN

El interés de salvar nuestros recursos naturales es una preocupación reciente en ámbitos variados como la política (capital natural), economía (industria limpia) y sociedad (salud pública). Gracias a este interés es importante resaltar que la contaminación es uno de los detonantes más importantes de la pérdida de recursos y que algunos de estos recursos dañados pueden ser recuperados, como es el caso de suelos contaminados por metales pesados con una remediación apropiada para mejorar las condiciones extremas a los que estos están (Bernal & Clemente, Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcóllar, 2007)

A pesar de que la industria minera es una de las principales fuentes de contaminación de metales pesados, el sector minero-metalúrgico en México contribuye con el 4% del PIB nacional según el informe del cuarto trimestre del 2016 (PIB INEGI cuarto trimestre, 2016).

Ya que la industria minera es tan importante quiere decir que el beneficio como los residuos de esta actividad es creciente. Las presas de jales son uno de los sistemas para la disposición final de los residuos sólidos generados por las operaciones primarias de separación y la concentración posterior de minerales de interés. En estas construcciones masivas se realiza un almacenamiento de toda la materia extraída de las minas que ya no puede ser tratada y se convierte al final del proceso en los residuos peligrosos de esta actividad minera (NOM-141-SEMARNAT-2003). Se menciona que estos Jales pueden ser tóxicos para el ambiente y los seres vivos que en él se

desarrollan ya que los jales provenientes del beneficio de Antimonio, de óxidos de cobre, de pirita de cobre de plomo y de zinc están enlistados en la NOM-052SEMARNAT-2005.

Debido al desarrollo y modernización en los procesos de extracción de los recursos minerales así como a la generación de grandes cantidades de residuos de esta industria en México ha generado por décadas hasta siglos una gran cantidad de sitios contaminados a lo largo de todo el país (Volke Sepúlveda & Velasco Trejo, 2002).

La contaminación de la zona urbana del estado de Zacatecas con metales pesados es gracias a la contribución de residuos de la minería, por lo que existe la necesidad de implementar procesos que puedan remediar las altas concentraciones de estos elementos contaminantes en los recursos del estado. En este proyecto nos basaremos en la reducción de contaminación química con la utilización de técnicas de biotecnologías para la remediación de estos sitios. En la actualidad se ha prestado atención a la Fitorremediación como una tecnología para la estabilización y remediación de la contaminación por metales pesados, así, podemos decir que las plantas tienen el potencial de remover metales tóxicos del suelo.

Las plantas y los microorganismos presentan una simbiosis única que es importante tomar en cuenta cuando se trata de implementar técnicas de fitotecnología (Reyes, Alvarez, El-Ayoubi, & Valery, 2008).

En las últimas tres décadas se han desarrollado análisis basados en procesos biológicos asociados a las plantas formando así una alternativa para la eliminación de los contaminantes del suelo, que posteriormente pueden ser reciclados o almacenados de una forma segura. La fitorremediación aprovecha la capacidad de ciertas plantas para absorber, acumular, metabolizar, volatilizar o estabilizar contaminantes presentes en el suelo, aire, agua o sedimentos como: metales pesados, metales radioactivos, compuestos orgánicos y compuestos derivados del petróleo. Estas fitotecnologías ofrecen numerosas ventajas en relación con los métodos fisicoquímicos que se usan en la actualidad teniendo una amplia aplicabilidad y un bajo costo de operación (Kidd, Castro Becerra, & García Lestón, 2007).

Aun así los progresos en el campo están limitados por falta de conocimientos sobre las interacciones en las raíces y los mecanismos de las plantas que permiten la transformación del metal y su acumulación por eso es necesario que las investigaciones científicas desarrollen más a fondo su utilidad así como su posible uso común a un alto rendimiento tomando en cuenta las especies vegetales y la simbiosis que presentan con los microorganismos presentes en la zonas a tratar (Delgadillo López, 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

MUESTREO

La zona de estudio se ubica en la frontera de los municipios de Zacatecas y Vetagrande, del estado de Zacatecas, en el área de presa de jales más reciente a su descarga. En dicha zona se realizara un muestreo aleatorio conformado por 3 puntos de muestreo cuyas coordenadas poligonales son:

- A) 22°48'23.2"N 102°33'28.5"O
- B) 22°48'23.1"N 102°33'28.3"O
- C) 22°48'19.7"N 102°33'26.1"O.

La norma NOM-141-SEMARNAT-2003 establecen que la profundidad de muestreo debe ser mayor a los 30 cm, además, considerando que el promedio de precipitación pluvial de los primeros meses de zacatecas de 25mm y que la composición de los jales de mina es homogéneo por la forma en la que se descargan los residuos provenientes del proceso de flotación, por lo tanto una profundidad de muestreo optima es de 30-50cm.

CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE LAS MUESTRAS DE JALES.

Previo a la caracterización fisicoquímica 400g de las muestras se pone a secar encima de hojas de aluminio durante 1 día en el horno seco a 50°C DENVERINSTRUMENT-TP-3102. Posteriormente las muestras secas se someten a un proceso de molienda en un mortero de cerámica para deshacer los grumos o piedras pequeñas. Cada una de las muestras es mezclada por el método de cuarteo para asegurar su homogenización (NOM-021-SEMARNAT-2000).

Una caracterización inicial de los jales de mina pertenecientes a la minera San Bernabé es un plan de muestreo con la finalidad de determinar textura, porcentaje de humedad, pH, conductividad eléctrica, materia orgánica y fósforo asimilable (Valdez Castillo, 2015).

La normatividad mexicana alusiva a los jales de mina como lo es la NOM-141SEMARNAT-2003, NOM-157-SEMARNAT-2009 y NOM-053-SEMARNAT considera los criterios de clasificación para los jales como residuos peligrosos pero no para las características fisicoquímicas y biológicas que se determinarán en el presente proyecto de investigación. Aunque se sabe que los jales no son suelos, técnicamente se pueden considerar como superficies sólidas, por lo anterior se hizo uso de las metodologías y criterios de clasificación establecidos en la NOM-021-SEMARNAT-2000 para la caracterización de las muestras de jales.

DETERMINACIÓN DE PORCENTAJE DE HUMEDAD

En cada una de las muestras se utilizara la termobalanza MB35-OHAUS y se usara la muestra refrigerada. La termobalanza se ajusta a 150°C y tiempo automático. Se deben realizar 3 repeticiones para cada muestra con un peso alrededor de 5g. El tiempo de secado para cada repetición puede variar entre 4 a 12 minutos en función del porcentaje de humedad presente en la presa de jales (Valdez Castillo, 2015).

DETERMINACIÓN DE pH Y CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA.

Se hace uso de muestras secas y tamizadas para la determinación de pH y conductividad eléctrica así como el método de la EPA-9045C para medición de pH en muestras sólidas con minerales con 3 repeticiones para cada muestra. La medición del pH se hace con un potenciómetro calibrado previamente.

Para determinar la conductividad eléctrica de las muestras se prepara un extracto de saturación siguiendo la metodología establecida en la NOM-021-SEMARNAT-2000 (método AS-18), con tres repeticiones. El extracto se deja reposar 24 horas.

Una vez homogenizado, se filtra por gravedad. La conductividad eléctrica es medida con un conductímetro previamente calibrado.

DETERMINACIÓN DE FÓSFORO DISUELTOS.

La concentración se obtiene por medio del análisis para suelos de la NOM-021-SEMARNAT-2000. La muestra es procesada con una solución extractora de HCI Y NH₄F que remueve los fosfatos de calcio o de algunos metales pesados como hierro. La muestra, después de pasar por centrifugación para separar el sólido del suelo, es estandarizada junto con un blanco de reactivo con "PHOSPHATE RGT". Es analizada con la curva de calibración previamente ingresada en el espectrofotómetro UV-visible de la Universidad Autónoma de Zacatecas(UAZ) en el "laboratorio de análisis especiales" de la Unidad Académica de Ciencias Químicas(UACQ).

DETERMINACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA

Se determina el contenido de carbono orgánico total por oxidación con dicromato de potasio en medio ácido y el contenido de materia orgánica se obtiene multiplicando el carbono orgánico total por el factor 1.724 ya que el proyecto se realizara en el país de México según la NOM-021-SEMARNAT-2000.

DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS.

Se optara por medir la concentración de metales pesados (Hg, Pb, Ni, Zn) y el metaloide As por medio de la técnica de Espectroscopia de fluorescencia de rayos X ya que su fácil manejo y accesibilidad al equipo nos ayuda a conseguir datos acertados sin necesidad de contaminar más al ambiente con un tratamiento previo de la muestra.

Para utilizar el equipo se toma un peso de 2 a 3g de cada una de las muestras que ya fueron secaras y tamizadas a tamiz 200, se coloca la muestra sobre una membrana en vial, que se arma mediante cilindros de plástico opaco y membranas PANalytical B.V. de Poliester(PET) el equipo de espectroscopia de fluorescencia de rayos x Mini Pal Philips se encuentra en el Centro de Estudios Nucleares-UAZ.

La estadística que emplea el equipo se lleva por medio de 5 mediciones de cada metal a analizar obteniendo un promedio y desviación estándar en cada muestra. Los resultados se encuentran resumidos en la tabla 10.

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICO DE LAS MUESTRAS DE JALES: BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL (BPCV)

Para su aislamiento previo a este, se realizan diluciones con solución salina al 0.83% (P/V) de $1x10^{-1}$ (con 1 ± 0.3 g de jales de mina de cada muestra) hasta 10-5. Se inoculan las diluciones $1x10^{-3}$ y $1x10^{-5}$ por duplicado en placas petri con Agar Soya Tripticaseína (TSA) para bacterias y Agar Papa Dextrosa (PDA) para hongos. Se usa 0.1mL como inóculo de cada dilución y se siembra por el método de extensión con varilla acodada, todo en condiciones de esterilidad.

Todas las placas inoculadas se someten a incubación en incubadora modelo FELISA durante cuatro días se incubaron a 28°C. Después del periodo de incubación se evalúa el crecimiento de colonias de los microorganismos y su morfología y tinción Gram negativa o positiva.

Al aislamiento satisfactorio de las especies microbianas nativas de la zona de jales mineros se les realizan pruebas bioquímicas relacionadas con el potencial de obtener BPCV.

Con la finalidad de evaluar cualitativamente la producción de enzimas degradadoras de compuestos orgánicos a estructuras químicas más sencillas de asimilar por las plantas se realizaron las siguientes pruebas:

PRODUCTORAS DE CELULASAS

Se inocularon cajas con agar Czapek-CMC para evaluar la capacidad de producir celulasas.

Las cajas se dividieron en cuatro partes y se inocularon por picadura en el agar tres veces, por cada bacteria, en cada una de las secciones. Las placas se incubaron durante 48 horas a 28°C, después del tiempo de incubación se revelaron con solución rojo de metilo 1:400, dejando actuar 15 minutos, y se lavaron con una solución de NaCl 1M. Al finalizar la prueba se evaluó el Índice de Hidrólisis de celulosa (IHc). El índice de hidrólisis se obtiene con la ecuación 1 (Valdez Castillo, 2015).

$$IHc = \frac{{}^{D\'{i}ametro}{}_{Halo\ de\ hidrolisis} + D\'{i}ametro}_{Colonia}}{{}^{D\'{i}ametro}_{colonia}}.....1$$

PRODUCTORAS DE AMILASAS

Para evaluar la capacidad de producir amilasas se inocularon cajas con el agaralmidón bajo la misma técnica empleada para evaluar celulasas.

Las placas se incubaron durante 48 horas a 28°C, después del tiempo de incubación se revelarón con isodine (compuesto activo Yodo). Se evaluó el Índice de Hidrólisis de almidón (IHa) el cual sigue el mismo patrón que se expresa en la ecuación 2.

$$IHa = \frac{\text{Diametro}_{Halo \ de \ hidrolisis} + \text{Diametro}_{colonia}}{\text{Diametro}_{colonia}} \dots 2$$

PRODUCTORAS DE PECTINASAS

Se evaluó la capacidad de producir pectinasas con un medio rico en nutrientes adicionado con pectina comercial (0.375g de K2HPO4, 0.275g de MgSO47H2O, 0.25 NaCl, 0.375g de NaHCO3, 1g de Extracto de levadura, 15 g de Agar bacteriológico y 10 g de pectina comercial disueltos en 1 L de agua destilada). La inoculación de las placas fue de 48 horas a 28°C. Después del tiempo de incubación se revelaron con la solución rojo de metilo 1:400 y se lavaron con la solución NaCl 1M.

$$IHp = \frac{\textit{Diametro}_{Halo~de~hidrolisis} + \textit{Diametro}_{colonia}}{\textit{Diametro}_{colonia}}......3$$

Todas las pruebas lanzaron resultados negativos los cuales se pueden observar en la tabla 1 de la sección de resultados.

RESULTADOS

MUESTREO

La muestra de Jal de mina de San Bernabé presenta una clara resequedad localizada del suelo por la temporada en que fue muestreada. La compactación de los jales hizo difícil la toma de muestra. El color café- rojizo en la literatura nos señala que es señal de jales ya oxidados y antiguos.

Las muestras fueron tomadas de las siguientes coordenadas:

- A) 22°48'23.2"N 102°33'28.5"O
- B) 22°48'23.1"N 102°33'28.3"O
- C) 22°48'19.7"N 102°33'26.1"O

Ilustración 1.- Zonas de muestreo Nombradas como A) SB1, SBM1. B) SB2, SBM2. C)SB3, SBM3.

DETERMINACIÓN DE PORCENTAJE DE HUMEDAD

La humedad reportada por la literatura tiende a ser alta ya que las descargas de solidos siempre son húmedas, esto presenta una problemática ambiental con la generación de drenaje ácido en la zona de estudio, que pueda dañar las fuentes acuíferas naturales. En las muestras realizadas se observó que la zona de muestreo se encontraba en su época de sequía, al verse claramente la compresión de los jales y cuarteaduras, esto se confirmó con el porcentaje de humedad del suelo que varía del 16 al 12 % de la tabla 1. Un suelo fértil estándar debe tener una retención de agua de aproximadamente 25% (FAO, 2017)

Tabla 1.- Resultados de determinación de porcentaje de humedad

Muestra	% de Humedad
SBM1	16.6
SBM2	14.6
SBM3	12.26

RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE pH Y CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA.

El pH dio como resultado una acidificación de todo el sitio considerado en la norma como fuertemente acido. Se sabe que esto es posible por la existencia de compuestos sulfurados de Fe⁺³ y la cercanía de un manantial a la toma de muestra así como las lluvias temporales. Esta acidez no nos resulta óptima para la utilización de esta técnica de remediación ya que el pH limita el crecimiento de las plantas en general, pocas plantas se han estudiado para crecer en pH tan ácidos y su crecimiento sea el correcto. Los resultados de pH se encuentran expresados en la tabla 2 y tabla 3 para conductividad eléctrica para cada muestra.

Tabla 2.- Resultados de medición de pH en las muestras

Muestra	pH(10g)	NOM-021-SEMARNAT-2000

SBM1	2.303	"fuertemente ácido"
SBM2	3.170	"fuertemente ácido"
SBM3	2.348	"fuertemente ácido"

Tabla 3.- Resultado de medición de conductividad de extracto saturado de las muestras.

Muestra	Conductividad (ms/m)(10g+20mL agua desionizada)	NOM-021-SEMARNAT-2000
SBM1	465.0	Las sales disueltas son despreciables
SBM2	127.0	Las sales disueltas son despreciables
SBM3		Las sales disueltas son despreciables

DETERMINACIÓN DE FOSFATOS DISUELTOS.

Según la norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 las 3 muestras analizadas presentan una concentración baja de fósforo disuelto en el suelo, por lo que limita los nutrientes para las plantas. Resultados en la tabla 3.

Tabla 3.- Resultados de análisis de fosfato disuelto en suelo.

10	ibia 3 ixesuitados de analisis di	c rosiato disucito cir sucio.
Muestra	PO4+3(mg/L)(2.5g)	NOM-021-SEMARNAT-2000
SBM1	2,83	"bajo"
SBM2	3.98	"bajo"
SBM3	1.15	"bajo"

RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE MATERIA ORGÁNICA

La falta de presencia de materia orgánica es coherente con estudios anteriores de jales mineros.

Las plantas requieren de nutrientes para crecer y de materia orgánica para los microorganismos BPCV, la optimización de esta falta de materia orgánica se realiza por la capacidad de los microorganismos en producir amilasas y celulasas.

La tabla 4 contiene los resultados para cada una de las muestras.

Tabla 4.- Resultados de materia orgánica en las muestras.

MUESTRA	% C. orgánico	%Materia Orgánica	NOM021SEMARNAT-

			2000
SBM1	0.4402	0.759	"BAJO"
SBM2	0.667	1.149	"BAJO"
SBM3	0.9831	1.695	"BAJO-MEDIO"

DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS.

Los resultados del conteo de metales pesados se realizó por espectrometría de fluorescencia de rayos x, en cual puede arrojar ciertos compuestos inorgánicos y peligrosos como lo es HgO y As_2O_3 . Las concentraciones de cada elemento o compuesto fue en partes por millón (ppm) mostradas en la tabla 15.

Tabla 5.- concentraciones de metales pesados y metaloides en ppm

MUESTR A	Mercurio (HgO) /ppm	Plomo (Pb)/ppm	Arsenico (As ₂ O ₃)/ppm	Zinc (Zn)/ppm	Niquel (Ni)/ppm
SBM1	39.54±4.5	1637.23±49.2 3	1456.12±4.36	401.58±8.06	4320.28±317.92
SBM2	44.84±4.5	1825.42±78.3 9	1471.95± 5.2	337.18±21.24	3198.17±206.66
SBM3	28.17±4.5	902.51±36.17	1044.07±19.37	294.77±13.30	2474.678±108.7

Para comprobar que el sitio sólido requiere un estudio de remediación de metales pesados es necesario comparar los resultados obtenidos de los puntos de muestreo con la Norma oficial mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 la cual establece las concentraciones límites de algunos de estos elementos dependiendo si el uso tiene un enfoque residencial, agrícola o comercial e industrial, colocando nuestro estudio en las concentraciones límites para el daño a las poblaciones aledañas como industrial. Los resultados más alarmantes se pueden apreciar en el Pb pues, en comparación a la norma, de 800 ppm las muestras SBM1 Y SBM2 que fueron tomadas de la misma zona de jales presentan concentraciones de 1600 a 1900ppm y aunque los jales de la muestra SBM3 se encontraban en otra sección y representa a descargas en distintos periodos de tiempo histórico presenta un aproximado de 900ppm lo que rebasas el límite permitido para evitar daño a la población humana, los efectos secundarios que pueden ocasionar esta alta concentración son principalmente para bebés y niños pues la exposición prolongada y en altas concentraciones provoca retraso en el desarrollo físico o mental, así los niños podrían sufrir leve déficit de atención y de capacidad de aprendizaje. Mientras que en adultos al expulsar un 90-99% del plomo en ingesta por las heces y orina la exposición a altas concentraciones puede generar trastornos renales, entre otras cosas (Manzanares Acuña, Vega Carrillo, & otros, 2005) (Rojas Mayorquín, 2011).

El As también es uno de los compuestos que contrastan los resultados con los límites permitidos para considerar innecesaria la remediación presentando 5 veces en exceso la concentración de As, presentado como oxido As₂O₃, que es uno de los compuestos nombrados en la NORMA Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, pues aunque tiene su utilidad en la industria medica como quimioterapia sino se trata con cuidado y medida este compuesto afecta principalmente a la sangre produciendo anemia o daños fetales (Rojas Mayorquín, 2011).

Por otro lado el níquel y el mercurio se encuentran dentro de los límites permitidos por la norma nom-147-semarnat_ssa1-2004, presentando el níquel del muestreo a un máximo de 4500ppm y la norma permite 20000ppm para industria, mientras que el mercurio se permite 310ppm y las muestras presentaron menos de 50ppm.

RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN MICROBIANA.

RESULTADOS DEL AISLAMIENTO MICROBIANO.

El crecimiento de las cajas principales de bacterias en medio TSA presentó crecimiento acelerado a 2 días, mientras que algunas otras presentaron crecimiento de colonia bien definida. Las cajas en la ilustración 6 son aquellas que ya fueron resembradas por un método de estría cruzada.

Para aislar la mitad del cepario, se requirió utilizar el método de estría cruzada 3 veces más, con medio TSA, en las cajas que presentaron crecimiento acelerado con una incubación de 12hrs a 28°C. En la tabla 10 se expresan los resultados morfológicos de los microorganismos que se lograron aislar con éxito.

Tabla 6.- Resultados de la caracterización microbiológica.

Cepa aislada Morfología Tinción Gram Celulasas Amilasas Pectinasas microscópica

SBT1	Microbacílos	Negativo	Negativo	Negativo	Sin crecimiento
SBT2	Estreptobacilos	Negativo	Negativo	Negativo	Sin crecimiento
SBT3	Microbacílos	Negativo	Negativo	Negativo	Sin crecimiento
SBT4	Microbacilos aislados	Negativo	Negativo	Negativo	Sin crecimiento
SBT5	Microbacilos	positivo	Negativo	Negativo	Sin crecimiento

La mayoría de las pocas cepas de bacterias presentan una morfología de tinción gram negativa, con coloración rosada. Todas las cepas aisladas se resembraron en tubos de 13x100 por triplicado para tener un tubo de trabajo, uno de almacén y otro de respaldo.

RESULTADOS DE PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA BPCV.

Las pruebas se repitieron por triplicado mostrando los mismos resultados en la tabla 11.

Se les realizó las pruebas mencionadas por picadura, presentando crecimiento de una sola colonia por picadura. El revelador fue preparado un día antes de la prueba.

Los resultados de las cajas con medio para la producción de pectinasa no presento crecimiento de ninguna de las especies.

Los resultados para producción de celulasas y amilasas dieron negativos al no presentarse un halo de decoloración alrededor de la colonia.

CONCLUSIONES

- El pH al cual se encuentran estos jales y la falta de nutrientes como fósforo y materia orgánica, nos imposibilita el trabajo directo en los jales mineros de San Bernabé.
- Las concentraciones de metales pesados en las muestras SBM1 Y SBM2 presentan datos alarmantes con relación al Pb y As, por lo que la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004nos indica que es necesaria una remediación en la zona. La muestra SBM3 presenta concentraciones más cercanas a los límites permitidos por esta norma, por lo que pasa a ser una remediación secundaria, priorizando la remediación de la zona 1 con 10000m² de la presa de jales.
- Debido a la incapacidad de las cepas obtenidas de los jales mineros de San Bernabé Vetagrande de producción amilasas, celulasas y pectinasas no se puede aplicar la biotécnica de bacterias promotoras de crecimiento, lo que nos orilla a buscar un método alternativo a la remediación de Vetagrande, Zacatecas.

La escasez de cepas extraídas de las muestras dan como conclusión que la vida en estos sitos contaminados es limitado, aunque se dio presencia de hongos solo se pudieron extraer 3. La literatura nos dice que las bacterias en general es difícil que puedan vivir en un ambiente de pH ácidos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Bernal, M., & Clemente, R. (2007). Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcóllar. *Ecosistemas*, 67-76.
- 2. Delgadillo López, A. (2011). Fitorremediacón: Una Alternativa Para Eliminar La Contaminacion. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 597-612.
- 3. Kidd, P., Castro Becerra, C., & García Lestón, M. (2007). Aplicación de plantas hiperacumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género Alyssum L. *ECOSISTEMAS*, 26-47.
- 4. Reyes, I., Alvarez, L., El-Ayoubi, H., & Valery, A. (2008). Selección y Evaluación de Rizobacterias Promotoras de Crecimiento en Pimentón y Maíz. *Bioagro*, 37-48.
- 5. Volke Sepúlveda, J., & Velasco Trejo, T. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminado*. México D.F.: INE-SEMARNAT.

CAMBIO EN LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS EN TOMATE DE ÁRBOL (Solanum betaceum) DURANTE SU ALMACENAMIENTO POSCOSECHA A 5 °C

Arelly Capistrán Carabarín, Elia Nora Aquino Bolaños, José Luis Chávez Servia, Vicente Velásquez Melgarejo, Araceli Vera Guzmán, Rubí Viveros Contreras, Iñigo Verdalet Guzmán

Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, Dr. Rafael Sánchez Altamirano S/N, Industrial Animas, Xalapa, 91192, Veracruz, México.

Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR Unidad Oaxaca, Hornos No. 1003, Santa Cruz Xoxocotlan, 71230 Oaxaca, México.

RESUMEN

El tomate de árbol (Solanum betaceum) es un fruto subtropical conocido también como tamarillo o berenjenilla, se produce comercialmente en Nueva Zelanda, Colombia y Ecuador. Sin embargo, en México se produce únicamente de manera silvestre en Puebla y Veracruz y se consume sólo localmente. El obietivo de la presente investigación fue evaluar los cambios en los parámetros fisicoquímicos en pulpa y mucílago gelatinoso (MG) durante 42 días a 5 °C y atmósferas modificadas de empaque AM1, AM2, y aire como control. El contenido de sólidos solubles totales, independientemente del tiempo de almacenamiento, fue mayor en los frutos control en el MG y pulpa (10.2 y 8.4 °Brix, respectivamente). Durante el almacenamiento, este parámetro incrementó en la pulpa, y en MG, se observó el mayor valor en el día 28 (10.1 °Brix). El pH también incrementó durante el almacenamiento un 10.8% en MG y 3.6% en pulpa. La acidez titulable, en MG se registró la mayor concentración al día 14 (1.70 g ác. cítrico/ 100 g tf), siendo el tratamiento AM2 el que mostró el mayor valor; mientras que, en pulpa, al día 28 se presentó la mayor concentración (1.98 g ác. cítrico/ 100 g tf), y fue el control el que mostró el valor más alto. Respecto a los parámetros de color, se presentaron los valores mayores en el día 28 y no hubo diferencia entre los tratamientos en luminosidad y ángulo de matiz (h°). El almacenamiento en refrigeración y aire mostro sólo ligeros cambios en las características fisicoquímicas de los frutos de tomate de árbol hasta por 42 días.

INTRODUCCIÓN

El tomate de árbol (*Solanum betaceum*) es un fruto exótico que pertenece a la familia de las Solanáceas, originario de la vertiente oriental de los Andes, específicamente Perú, Ecuador y Colombia (Prohens *et al*, 1996). En México se produce en forma silvestre en los estados de Puebla y Veracruz (Ruiz *et al.*, 2013).

Este fruto se caracteriza por sus importantes cualidades nutricionales, como alto contenido de fibra, β- Caroteno (pro-vitaminas A), vitamina B6, vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E, hierro, potasio, magnesio, fósforo, muy alto contenido de nitrógeno y aminoácidos libres y bajo nivel de calorías; además aporta grandes concentraciones de antioxidantes que le confiere la capacidad de fortalecer el sistema inmunológico y visión, reducción de colesterol, entre otros beneficios (Reyes y Sanabria, 1993; Meza y Méndez, 2009).

La forma de consumo varía en las diferentes regiones: como fruto fresco, en ensaladas, jugos o cocinado con carne (Bohs, 1989). También existen referencias que se utiliza para la elaboración de helados y productos de pastelería (Espín-Mayorga y Brito-Grandes, 2014). Adicionalmente también es una buena fuente de pectina, razón por la cual es útil en la elaboración de jaleas, mermeladas y conservas; lo que ha despertado el interés de la industria alimentaria para explotarlo comercialmente (Hernández y Moreno-Álvarez, 2000; Torres, 2012).

Actualmente, México enfrenta una problemática en la disponibilidad del tomate de árbol, debido a su corto periodo de cosecha y a que su consumo se limita únicamente en mercados locales

cercanos al sitio donde se produce, por lo que el mayor interés de los agricultores y comercializadores es poder aumentar la vida útil de forma que su comercialización pueda abarcar otras regiones. Esto conlleva a la búsqueda de alternativas de conservación del fruto.

Bajo este contexto, se ha considerado el uso de atmósferas modificadas como técnica de almacenamiento de frutos tropicales, demostrando la propiedad de conservación debido a la disminución en la velocidad de respiración y acción del etileno, retraso en la maduración, lo que ayuda a mantener la calidad del producto, logrando la disminución de pérdidas por deterioro (Tabares y Velásquez, 2003).

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar los cambios fisicoquímicos durante el almacenamiento en refrigeración bajo distintas AM, esto con la intención de proponer un método de conservación para prolongar la vida de anaquel de este fruto.

PARTE EXPERIMENTAL

Material Biológico

Se utilizaron frutos de tomate de árbol (Solanum betaceum) cultivados en Tonayán, Veracruz a 1600 msnm, con una temperatura de 16 °C y condiciones pluviales de 600 mm de agua. Los frutos se trasladaron al Laboratorio de Alimentos del Instituto de Ciencias Básicas de la Universidad Veracruzana ubicado en Xalapa, Veracruz. Se seleccionaron aquellos frutos libres de daño mecánico y que presentaban las mismas características.

Almacenamiento en atmósferas modificadas

Los frutos fueron almacenados en una cámara de refrigeración a $5 \pm 1\,^{\circ}$ C. Las atmósferas empleadas fueron las siguientes: AM1 (Vacío) se realizó con una selladora de vacío (XtraVac, mod. 300), con la cual extrajo el aire de una bolsa de polietileno de baja densidad (RAMZ, Ciudad de México, México) y posteriormente se selló. El tratamiento AM2 (atmósfera pasiva) se llevó a cabo en una bolsa con las mismas características, pero sólo fue sellada sin generar vacío. El control consistió en colocar frutos dentro de una bolsa de papel estraza. Para todos los tratamientos se utilizaron cuatro berenjenillas con características físicas similares (tamaño, peso y color).

Preparación del extracto

Para las determinaciones de sólidos solubles totales y pH, se pesaron 15 g de muestra (pulpa o MG) y se homogenizaron con 15 mL de agua destilada, mientras que para la determinación de acidez titulable se homogenizaron 6 g de muestra con 54 mL de agua destilada. Posteriormente se filtraron y se centrifugaron a 4000 rpm, 20 min, 10 °C (Hettich zentrifuge, Universal 32R, Tuttlingen, Alemania).

Sólidos solubles totales (SST)

Los SST se determinaron utilizando un refractómetro digital marca ATAGO, y se tomó la lectura directa de los ºBrix.

pΗ

El pH se midió en el sobrenadante del extracto acuoso con un potenciómetro digital (Hanna instruments), previa calibración con soluciones amortiguadoras pH 4 y 7.

Acidez titulable

La medición de acidez titulable se realizó de acuerdo al método de la AOAC (1999), se colocaron 10 mL del extracto en un matraz Erlenmeyer, adicionando 3 gotas de fenolftaleína (1% p/v en metanol) y se tituló con una solución de NaOH 0.01 N utilizando un potenciómetro para lograr un

pH de 8.2 el cual es el indicador de que la muestra ha sido neutralizada. Se anotó el volumen de NaOH requerido para la neutralización. La acidez fue reportada como g de ácido cítrico por cada 100 g de muestra.

Parámetros de color

El color de los frutos de tomate de árbol se midió utilizando un espectrofotómetro para sólidos (Konica Minolta Sensing Inc., mod CM-2600d, Aichi Pref., Japón). Se registraron los siguientes parámetros:

- L*. Mide la luminosidad de la muestra y los valores van desde 0 a 100 que corresponden al negro y blanco, respectivamente.
- a*. Parámetro cuyo eje horizontal positivo corresponde a un matiz de rojo a purpura y en su eje negativo a un color verde.
- b*. Parámetro cuyo eje vertical positivo corresponde al color amarillo y en el negativo al azul.

A partir de los parámetros a* y b* se calculó la cromaticidad (C*) y el ángulo de matiz (h°) de acuerdo a las fórmulas propuestas por McGuire (1992).

C*. Este parámetro representa la cromaticidad y describe la pureza del color observado, se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

h°. Ángulo de matiz. Este valor describe el tono y corresponde a un ángulo inferior a 360° donde 0, 90, 180, y 270° representan a los colores rojo-purpura, amarillo, verde y azul respectivamente. Se calcula a través de la ecuación:

$$h^{\circ} = tan^{-1} (b^*/a^*)$$

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con un diseño completamente al azar. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias por el método de Tukey ($p \le 0.05$), así como la determinación del coeficiente de correlación entre las diferentes variables de estudio. Los datos fueron analizados con el software Statistica 7.0.

RESULTADOS

El contenido de sólidos solubles totales es un indicador del proceso de madurez. El MG y la pulpa del tomate de árbol obtuvieron valores iniciales promedio de 10 y 7.5 °Brix, respectivamente. Similar a lo reportado por Saenz y Fabry (2014), con un valor de 10.5 °Brix en la parte comestible del tomate de árbol cultivado en Chile; e inferior a lo reportado por Torres (2012), donde analizaron tomate de árbol del estado de Aragua, Venezuela, obteniendo 10.5 °Brix en pulpa. La diferencia registrada entre ambas muestras puede atribuirse a la región donde se cultivaron, el tipo de suelo, temperatura, altura y las condiciones pluviales, que son factores que influyen en el desarrollo del fruto.

Los SST en MG de los frutos almacenados en el tratamiento AM1, disminuyeron en el día 14 y se incrementaron en el día 28 y 42, siendo el día 28 donde se registró el valor más elevado de °Brix (Figura 1A). Mientras que los frutos en el tratamiento AM2 mostraron disminución que se mantuvo hasta el final del almacenamiento. El control incrementó en los días 14 y 28, pero disminuyó en el día 42.

En el caso de la pulpa, AM1 en el día 14 disminuyó en °Brix, pero incrementó después de este tiempo (Figura 1B). El tratamiento AM2 incrementó en los días 14 y 28, siendo hasta el final de la prueba donde la concentración de °Brix descendió a valores iniciales. Las muestras control incrementaron el valor de °Brix de forma progresiva.

El aumento de SST puede atribuirse a la hidrólisis de los almidones y ácidos orgánicos, que se transforman en azúcares simples a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento (Kader, 2007; Márquez et al., 2007).

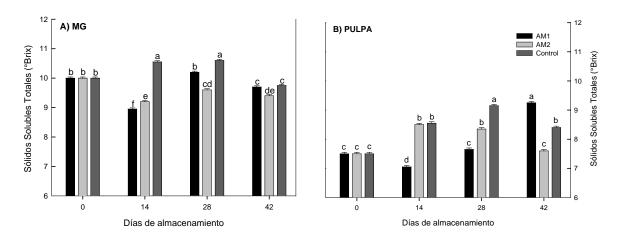


Figura 1. Cambios en el contenido de sólidos solubles totales en A) mucílago gelatinoso (MG) y B) pulpa de tomate de árbol durante su almacenamiento en atmósferas modificadas. Valores promedio con las mismas letras son estadísticamente iguales.

Los valores iniciales de pH obtenidos fueron de 3.31 y 3 57 para MG y pulpa, respectivamente, valores ligeramente superiores a lo reportado por Saenz y Fabry (2014) quienes registraron 3.17 en contenido comestible, pero similares a lo reportado por Torres (2012), quien reportó un valor de 3.5 en pulpa.

En la fracción de MG bajo las condiciones de AM1 y AM2 (Figura 2A), se puede observar una tendencia ascendente hasta el final del análisis. Esto coincide con lo planteado por Contreras *et al.* (2011), quienes mencionan que el ascenso en el pH durante la maduración es debido, en parte, a la disminución de la acidez, ya que por lo general el comportamiento en el pH es inversamente proporcional a esta. El control tuvo una tendencia creciente sin embargo se mantuvo por debajo de los tratamiento AM1 y AM2.

El comportamiento observado en la pulpa del tomate de árbol es similar al del MG ya que también presenta una ligera tendencia al aumento (Figura 2B), esta situación podría relacionarse con la disminución de hidrogeniones libres presentes en la pulpa de fruta, debido a que muchos de los ácidos orgánicos participan durante ésta etapa en la formación de sustancias volátiles aromáticas (Márquez *et al.*, 2007).

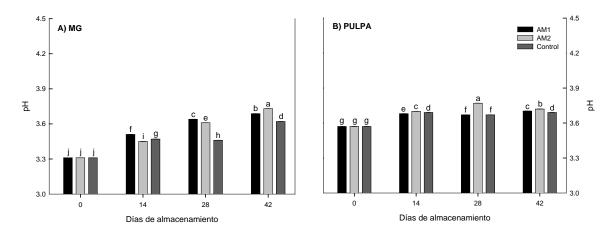


Figura 2. Cambios en el contenido de pH en A) mucílago gelatinoso (MG) y B) pulpa de tomate de árbol durante su almacenamiento en atmósferas modificadas. Valores promedio con las mismas letras son estadísticamente iguales.

En el tomate de árbol el ácido orgánico que se encuentra en mayor proporción es el ácido cítrico (Portela, 1999), este ácido aumenta rápidamente durante el período de crecimiento del fruto. La concentración inicial fue de 1.624 g ácido cítrico/100 g tf, que es menor en comparación a lo reportado por Saenz y Fabry (2014) de 1.93 en MG; mientras que en la pulpa se obtuvo un valor de 1.73 g ácido cítrico/100 g tf, superior a lo reportado por Manzano y Díaz (2002) quienes obtuvieron 1.21 g.

El MG en el tratamiento AM1 inicialmente muestra disminución, pero al final logra un ligero aumento superando al valor inicial. Los frutos almacenados en el tratamiento AM2 y control, en el día 14 registraron la concentración más elevada, posteriormente fue disminuyendo hasta el día 42 donde la concentración de ácido cítrico llegó a valores inferiores a los registrados en un inicio (Figura 3A).

En cuanto a la pulpa, AM1 y control mostraron incremento hasta el día 28, y disminuyó en el día 42 (Figura 3B). El tratamiento AM2 incrementó solo en el día 42. Ortegón (1993) atribuyó la disminución en la acidez del tomate de árbol a la sobremaduración del fruto, ya que sintetiza en mayor cantidad los ácidos orgánicos en el pericarpio, para luego degradarlo en el proceso de respiración y maduración.

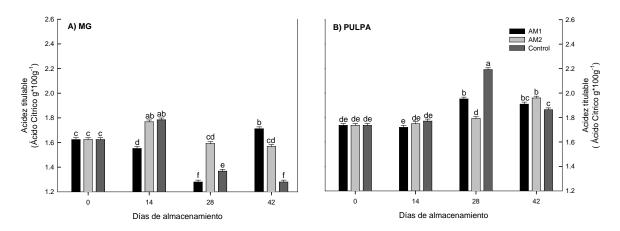


Figura 3. Cambios en el contenido de acidez titulable en A) mucílago gelatinoso (MG) y B) pulpa de tomate de árbol durante su almacenamiento en atmósferas modificadas. Valores promedio con las mismas letras son estadísticamente iguales.

En general, el color es el atributo con cambios más visibles durante el almacenamiento de muchas frutas y hortalizas, y se manifiestan a través de la degradación de algunos pigmentos y aparición de otros (Cox *et al.*, 2004). Las bajas concentraciones de O₂ y altas de CO₂ pueden alterar el metabolismo de algunos constituyentes responsables del color. Siendo este efecto positivo para el retraso de la perdida de color, por la inhibición del proceso de destrucción de la clorofila, mientras que la síntesis de carotenoides se ve retrasada (Romaljaro y Riquelme, 1996).

Cuadro 1. Parámetros de color L*, a* y b* de tomate de árbol durante su almacenamiento en atmósferas modificadas

La medición del color se realizó en la epidermis del fruto. Los parámetros de color a*, b* y cromaticidad C* resultaron ser los parámetros que mejor describen los cambios de color en el tomate de árbol. Por el contrario en L* y hº no se observaron cambios respecto al control. En el componente de color a* (Cuadro 1), los frutos analizados en el día cero presentaron un valor promedio de 14.82. En el día 14 los frutos de tomate de árbol del tratamiento AM1 y Control, presentaron diferencia respecto al tratamiento AM2, que reflejo niveles inferiores hasta el término del estudio. De la misma forma en el parámetro b* los tratamientos AM1 y Control presentaron diferencia respecto al tratamiento AM2.

Cuadro 2. Parámetros de color C*, hº de tomate de árbol durante se almacenamiento en atmósferas modificadas

			`						
		a*			b*			L*	
	AM1	AM2	Control	AM1	AM2	Control	AM1	AM2	Control
				7.62	7.62	7.62	29.5	29.5	29.5
Día 0	14.82 d	14.82 d	14.82 d	bcd	bcd	bcd	abcd	abcd	abcd
Día				10.2	6.07	12.0			29.5
14	25.5 ab	17.77 cd	26.3 ab	bcd	cde	abc	25.3 d	25.7 cd	abcd
Día	23.62	19.45		10.8					
28	bc	bcd	32.5 a	abc	14.2 ab	17.9 a	28.9 bcd	31.3 abc	33.4 ab
Día	23.62	19.87	24.92	10.8					
42	bc	bcd	bc	abc	-1.05 e	3.3 de	28.9 bcd	35.0 a	29.2 bcd

		C*			h⁰	
	AM1	AM2	Control	AM1	AM2	Control
Día 0	16.7 d	16.7 d	16.7 d	21.4 bc	21.4 bc	21.4 bc
Día 14	27.5 bc	18.8 cd	29.0 ab	21.4 bc	18.9 cd	23.4 bc
Día 28	26.0 bcd	24.1 bcd	37.1 a	24.5 bc	36.1 a	28.8 ab
Día 42	26.0 bcd	19.9 bcd	25.1 bcd	24.5 bc	3.0 f	7.6 e

CONCLUSIONES

El almacenamiento en aire (control) mostró mejor comportamiento para la mayoría de los parámetros evaluados, presentando sólo ligeros cambios en las características fisicoquímicas de los frutos de tomate de árbol, logrando su conservación hasta por 42 días.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. AOAC, 1999. Association of official agricultural chemists. Official methods of analysis. 16th ed. Association of analytical chemists. Washington. D. C. 1141 p.
- 2. Bohs, L. 1989. Ethnobotany of the genus *Cyphomandra* (*Solanaceae*). Economic Botany 43(2): 143-163.
- 3. Contreras, J., Gamba, H., Fischer, G. 2011. Características fisicoquímicas y organolépticas de frutos de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav) a dos temperaturas de almacenamiento y tipos de cera. Revista Ciencia y Agricultura, 5(2), 39-49.
- 4. Cox, E. A., Tuskey, C., Hardin, J. 2004. Cell adhesion receptors in *C. elegans*. Journal of cell science, 117(10), 1867-1870.
- Espín-Mayorga S., Brito-Grandes B. 2014. Tree tomato. En: Iberian-American fruits rich in bioactive phytochemical for nutrition and health. Gironés-Vilaplana A., Baenas N., Villaño D., Moreno D. (eds.). LIMENCOP S.L., Alicante, España pp. 187-192.
- Hernández, G., Álvarez, M. M. 2000. Efecto del secado y del ácido cítrico sobre la degradación de los carotenoides de tamarillo:(Cyphomandra betacea Sendt) effect of drying and citric acid on carotenoids degradation of tamarillo:(Cyphomandra betacea Sendt). CYTA-Journal of Food, 2(5), 228-233.
- 7. Kader, A. A. 2007. Biología y tecnología postcosecha: un panorama. Tecnología poscosecha de productos hortofrutícolas. 3ª edición. Kader, A.(Ed.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA, 43-54.
- Manzano, J., Díaz, J. 2002. Características de calidad en frutos almacenados de tomate de árbol (*Cyphomandra betaceae* (Cav.) Sendtner). In Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort. 46:68-69.
- 9. Márquez C., C. J., Otero E., C. M., Cortés R., M. 2007. Cambios fisiológicos, texturales, fisicoquímicos y microestructurales del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* S.) En Poscosecha. Vitae, Revista De La Facultad De Química Farmacéutica, 9-16.
- 10. McGuire R. G. 1992. Reporting of objective color measurements. Hort Science, 27: 1254-1255.
- 11. Meza, N., Méndez, J. M. 2009. Características del fruto de tomate de árbol (*Cyphomandra betaceae* [Cav.] Sendtn) basadas en la coloración del arilo, en la Zona Andina Venezolana. Revista Científica UDO Agrícola, 9(2), 289-294.
- 12. Ortegón Pulido, L. B., Clavijo Porras, J. F. 1993. Caracterización fisiológica del fruto de tomate de árbol (*Cyphomandra betácea*). Physiological characterization of tree tomato fruit (No. Doc. 16729)* CO-BAC, Santafé de Bogotá.
- 13. Portela, S. I. 1999. Fisiología y manejo postcosecha del tamarillo (*Cyphomandra betacea*). California: Department Of Vegetable Crops, University Of California, Davis.
- 14. Prohens J., Ruiz J.J., Nuez F. 1996. Advancing the tamarillo harvest by induced postharvest ripening. Hortscience 31(1): 109-111.
- 15. Reyes, R., Sanabria, O. L. 1993. Tomate de árbol *Cyphomadra Betacea* (Cav) Senth. Xalapa: Etnobotanica.
- 16. Romaljaro, Riquelme, F. 1996. Nuevas tecnologías de conservación de frutas y hortalizas. Madrid: Ed-Mundi Prensa.
- 17. Ruíz, X. V., Armas, D. N. R., Beltrán, J. Á. G., Pozos, M. E. B. 2013. Estabilidad de un producto dulce de tamarillo (*Cyphomandra betacea*) conservado por métodos combinados. Scientia Agropecuaria 4(2): 89-100.
- 18. Saenz H, C., Fabry, A. M. 2014. Tamarillo (*Cyphomandra Betacea* (Cav.) Sendt). Chile: Agronomía Y Ecología, Universidad de Chile.

- 19. Tabares, C., Velásquez, J. 2003. Estudio de la vida de anaquel del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) osmodeshidratado empacado en atmósferas modificadas. Manizalez, Colombia: Universidad Nacional De Colombia.
- 20. Torres. A. 2012. Caracterización física, química y compuestos bioactivos de pulpa madura de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) (Cav.) Sendtn. Archivos latinoamericanos de nutrición 62(4): 381-384.
- 21. Yahia E. 2006. Modified and controlled atmospheres for tropical fruits. Stewart Postharvest Review 2(5):1-10.

ESTANDARIZACIÓN DEL CULTIVO In vitro de Amaranthus hypochondriacus VARIEDAD gabriela.

Magali Ruíz Rivas, Marcelino Martínez Nuñez, Pedro Fernando Vera Hernández, Esperanza Martínez Romero, Ada María Ríos Cortes y Flor de Fátima Rosas Cárdenas

Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA-IPN)

Centro de Ciencias Genómicas UNAM

RESUMEN

El interés por el cultivo de amaranto ha ido aumentando en los últimos años, debido a su alto nivel nutricional y a sus peculiares características agronómicas que incluyen una alta tolerancia a suelos pobres y salinos y su adaptación a condiciones extremas en el medio ambiente. Además, la plasticidad fenotípica de amaranto le permite adaptarse en diversos ambientes; sin embargo, aún es escasa la información sobre el cultivo *in vitro d*e amaranto. Por lo que la estandarización de dicho cultivo *in vitro* podría permitir en un futuro, hacer uso de ensayos biológicos con el fin de estudiar y mejorar el cultivo de amaranto. En el siguiente trabajo obtuvimos como resultado la estandarización del ciclo de vida de amaranto bajo condiciones *in vitro*, logrando con ello el desarrollo de las plantas en un ambiente axénico; dicho cultivo se llevó a cabo utilizando medios adicionados con fitohormonas en diferentes concentraciones, logrando el desarrollo de plantas adultas, cumpliendo así su ciclo de vida completo.

INTRODUCCIÓN

Hasta el momento se conocen 70 géneros y cerca de 800 especies diferentes de amaranto, por su consumo en México se clasifican en plantas foláceas (*Amaranthus cruentus, Amaranthus dubius, Amaranthus hybridus, Amaranthus tricolor*) y plantas de grano (*Amaranthus caudatus, Amaranthus hypochondriacus, Amaranthus cruentus, y Amaranthus mantegazzianus*)¹ mientras que especies como *Amaranthus retroflexus, Amaranthus viridis* y *Amaranthus spinosus*, no son de interés para consumo humano ni de ganado² utilizando herramientas moleculares han sido clasificados junto con sus especies putativas progenitoras en *Amaranthus hybridus* L., *A. quitensis* H.B.K, y *A. powellii* S. Wats, en lo que se conoce como el complejo *A. hybridus*³.

Amaranthus hypochondriacus -una especie de interés agronómico tal como A. caudatus, A. cruentus, A. hybridus- es originaria de México, se cultiva desde el tiempo de los aztecas, y actualmente se continúa cultivando en México distribuido principalmente en el estado de Morelos, Tlaxcala, Puebla y zona metropolitana (Estado y Ciudad de México); aunque esporádicamente se llegan a encontrar algunos lotes en el Estado de México, Oaxaca, Guerrero, Durango y Chihuahua. También se tienen datos de su cultivo en los Himalayas en Nepal y en el sur de la India, donde ya se han formado centros secundarios de diversificación⁴.

El género *Amaranthus* presenta una amplia diversidad y variabilidad genética, existe una gran diversidad morfológica que va desde plantas erectas hasta completamente decumbentes, variación en el color del grano, precocidad, contenido de proteína en granos y hojas; adaptación a diferentes tipos de suelos, diferentes pH, climas, temperaturas, rendimiento de grano, resistencia a plagas y enfermedades, tipos de almidón y otras características agronómicas, nutricionales e industriales⁵⁻⁷. El género comprende plantas anuales herbáceas con metabolismo C4, el cual incrementa el uso eficiente de CO2 bajo un amplio rango de temperaturas que pueden ir desde 25 hasta 40°C, bajo alta intensidad de luz, ante estrés por sequía u otras condiciones ambientales⁸. El cultivo presenta

un alto contenido de fibra insoluble, 8% más alto que los cereales y una concentración de proteína entre 12.5 a 22.5%, su contenido de metionina está alrededor de 15.8mg/ proteína total, mientras que sus niveles de lisina son de 0.73 a 0.84%; estas altas concentraciones otorgan alta calidad nutricional al grano, especialmente al ser comparado con cereales¹⁰. Los ácidos grasos palmítico (19%), oleico (26% y linoleico (47%) se presentan en grandes cantidades dependiendo de la especie¹¹; así mismo, se encuentra un alto contenido de escualeno, y fitoesterol al cual se le atribuye el efecto benéfico de reducir los niveles de colesterol en suero, reduciendo problemas de hipertensión, enfermedades asociadas a hiperlipidemias y diabetes¹². Recientemente se le ha relacionado con actividad antioxidante y antitrombótica¹³; además ha sido reconocido por sus altos niveles de vitaminas y minerales, tales como riboflavina, niacina, ácido ascórbico, calcio y magnesio¹⁴. Así pues el interés por este cultivo ha ido aumentando en los últimos años, debido a su alto nivel nutricional, a sus características agronómicas, así como la producción de grandes volúmenes de biomasa¹⁵.

Un análisis reciente en el transcriptoma de Amaranthus hypochondriacus reveló la presencia de genes con un alto potencial para conferir protección a la planta en ambientes hostiles, esto puede traducirse como un motivo de estudio en aplicaciones agronómicas y biotecnológicas en temas de manipulación genética 16. Para ello se han desarrollado técnicas biotecnológicas modernas dónde se pueda lograr la adaptación de plantas de cultivo a un sistema in vitro; el cultivo in vitro, incluye muchas técnicas destinadas a introducir, multiplicar y regenerar, entre otros recursos, material vegetal o animal en condiciones controladas y asépticas; constituye un paso fundamental en la obtención y regeneración de plantas genéticamente modificadas, o transgénicas, mediante técnicas de ingeniería genética. Hasta el momento se han llevado a cabo muy pocos estudios sobre la multiplicación in vitro de especies de amaranto; autores mencionan haber obtenido callos a partir de hipocotilos y tejidos meristemáticos a partir de discos de hojas en A. cruentus, A. tricolor, A. hypochondriacus, A. caudatus y A. hybridus; sin embargo, en dichos trabajos no se menciona si se logra el ciclo completo de las plantas de amaranto. Hasta el momento es escasa la información sobre el cultivo in vitro de amaranto por lo que es necesario estandarizar una técnica para generar plántulas adultas cultivadas en condiciones in vitro, con el fin de generar cultivos axénicos para utilizarse en ensayos futuros.

PARTE EXPERIMENTAL

En los ensayos llevados a cabo para obtener los cultivos *in vitro* de *A. hypochondriacus* se utilizaron semillas de la variedad gabriela previamente desinfectadas, donadas por el grupo del Maestro Roberto Bernal del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. Se formularon cuatro medios de cultivo para la geminación de las semillas y formación de callo, y un medio para la generación de raíz, en el cual sólo se colocaron las plántulas del medio donde se hubo generado el callo (ver tabla 1). Cada ensayo se realizó por triplicado y cada frasco contenía de 5 a 8 semillas. En bibliografía se menciona que el cultivo *in vitro* puede ser un proceso muy estresante para las células vegetales, debido principalmente al ambiente en que se desarrolla la planta, ya que el desarrollo involucra procesos oxidativos, con posibles efectos mutagénicos durante el establecimiento del explante, la inducción de callo, la formación de embriones y la regeneración de plantas¹⁷, contemplando esto se agregó ácido ascórbico como agente antioxidante y fitohormonas las cuales pudieran acelerar el crecimiento celular, en un ambiente amortiquado.

Tabla 1 Medios de cultivo utilizados para la germinación de plántulas para cultivo *in vitro* de *A. hypochondriacus* var gabriela.

	Componentes activos del medio por L
Medio 1	1/2 de medio MS 5524 SIGMA, 15 g de sacarosa
Medio 2	1/2 de medio MS 5519 SIGMA, 15 g de sacarosa
Medio 3	4.4 g MS 5519 SIGMA, 30 g de sacarosa, 0.2 mg de ácido ascórbico, 0.6 mg de cinetina, 0.06 mg de AIA

Medio 4	4.4 g MS 5519 SIGMA, 30 g de sacarosa, 0.5 mg de BAP (13.2 μΜ), 0.035 mg de ANA (1.08 μΜ)
Medio 5	42.4g MS 9274 SIGMA, 0.2 mg de ácido ascórbico, 0.6 mg de cinetina, 0.06 mg de AIA

RESULTADOS

El tiempo de germinación varió en los diferentes medios por lo que se optó por trabajar con aquel que mostró un tiempo reducido y donde se presentó la generación de callo. En base a la bibliografía se determinó la concentración de hormonas para el cultivo *in vitro*, ya que se sabe que estas regulan diferentes etapas de crecimiento en las plantas, ya sea inhibiendo o estimulando el desarrollo y la diferenciación celular, además de tener un efecto pleiotrópico¹⁸. Arya y colaboradores (1993) lograron la formación de callos a partir de inflorescencias de *A. paniculatus*, utilizando medio MS con 2,4-D y AIA en concentraciones de 0.5-10 mg/L, siendo de 8 y 10 mg/L las concentraciones donde había formación de hojas, brotes y callos tras 4 semanas de incubación, por lo tanto estas fitohormonas parecen tener una papel decisivo en dichos procesos¹⁹, en nuestros ensayos logramos el desarrollo de callos a partir de 18 días, además de generar plántulas con epicotilos. Las plántulas germinaron el día 3, y, para el día 15 a 20 ya presentaban epicotilos, mientras que la generación de callos comenzó a partir del día 25 a 30.

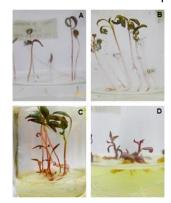


Figura 1. Plántulas de *A. hypochondriacus* variedad gabriela de 25 días postgerminación crecidas en los diferentes medios de cultivo, A: medio 1, B: medio 2, C: medio 3 y D: medio 4.

Las plantas fueron colocadas en tubos con medio para la generación de callo, dos semanas después las plántulas fueron clocadas en tubos con medio de regeneración de plantas, adicionado con citocinina y AIA. Bennici (1997) al hacer ensayos sobre la organogénesis de plántulas de *Amaranhus* sp a partir de callos, concluye que no hay una relación clara entre la morfogénesis de los brotes y los reguladores de crecimiento, y esto lo atribuye a la influencia genotípica en la respuesta organogénica, ellos notan que una relación alta entre citocininas:auxinas favorece la regeneración de brotes, pero que es muy compleja la regeneración de la planta de amaranto, ya que no solo influye el tipo de medio y los reguladores de crecimiento, sino también factores como el genotipo, edad y tipo de explante.

En nuestro caso, al hacer uso de cinetina con AIA logramos en 70 días la regeneración completa de plantas de amaranto, a partir de callo; sin embargo, sustentamos la conclusión de Bennici, ya que como se observa en las figuras 2 y 3 existen diferencias en el crecimiento, tiempo de brote de raíz e inclusive en la forma de las hojas de algunas de las plántulas, a pesar de pertenecer al mismo lote, y misma edad de cultivo de las plantas. Por tal motivo será necesario hacer un estudio

exhaustivo para determinar las condiciones exactas de fitohormonas en el cultivo *in vitro* de *A. hypochondriacus*.

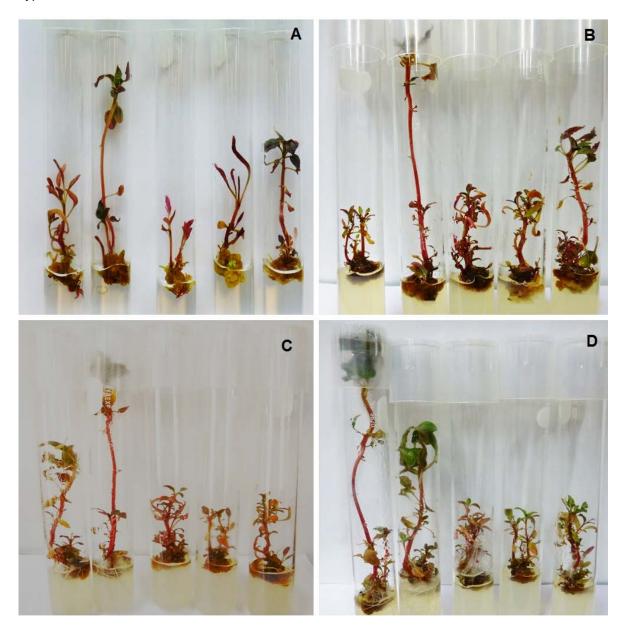


Figura 2. Plántulas de *A. hypochondriacus* variedad gabriela regeneradas a partir de callo. La figura A muestra a las plántulas de 30 días post-germinación en medio con ANA y BAP (1.08 y 13.2 µM respectivamente). Figura B muestran las plántulas de 40 días post-germinación recién traspasadas a un medio con Cinetina y AIA. En la figura C se observa que dos de las cinco plantas (las más grandes) ya presentan raíz, plántulas de 45 días post-germinación, en la figura D se muestra que las 5 plántulas ya generaron raíz a loa 54 días post-germinación.

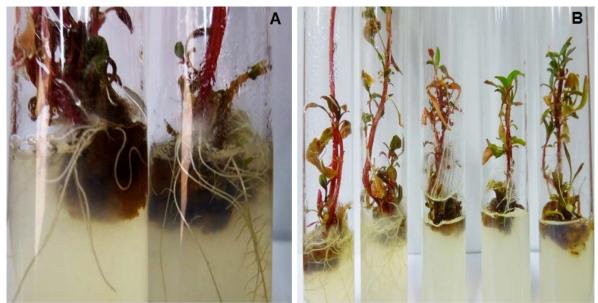


Figura 3. Plántulas de *A. hypochondriacus* variedad gabriela a los 54 días post-germinación. Todas las plántulas presentan raíz, una vez colocadas en medio con AIA y cinetina.

CONCLUSIONES

Es posible completar el ciclo de vida de *Amaranthus hypochondriacus* variedad gabriela bajo condiciones *in vitro*, utilizando fitohormonas como reguladores de crecimiento, dichos estudios podrían utilizarse en ensayos futuros para la generación de plantas transgénicas que puedan ser utilizadas en biotecnología.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Shukla S, Bhargava A, Chatterjee A, Srivastava J, Singh N, Singh SP. Mineral profile and variability in vegetable amaranth (Amaranthus tricolor). *Plant Foods Hum Nutr.* Mar 2006;61(1):23-28.
- 2. Caselato-Sousa VM, Amaya-Farfan J. State of Knowledge on Amaranth Grain: A Comprehensive Review. *Journal of food science*. Apr 2012;77(4):R93-R104.
- 3. Mallory MA, Hall RV, McNabb AP, Pratt DB, Jellen EN, Maughan PJ. Development and characterization of microsatellite markers for the grain amaranths. *Crop Sci.* May-Jun 2008;48(3):1098-1106.
- 4. Ayala-Garay AV, Espitia-Rangel E, Rivas-Valencia P, Martinez-Trejo G, Almaguer-Vargas G. Analysis of the Amaranth Value Chain in Mexico. *Agric Soc Desarro*. Jan-Mar 2016;13(1):87-104.
- 5. Huerta-Ocampo JA, Barrera-Pacheco A, Mendoza-Hernandez CS, Espitia-Rangel E, Mock HP, de la Rosa APB. Salt Stress-Induced Alterations in the Root Proteome of Amaranthus cruentus L. *Journal of proteome research*. Aug 2014;13(8):3607-3627.
- 6. Omamt EN, Hammes PS, Robbertse PJ. Differences in salinity tolerance for growth and water-use efficiency in some amaranth (Amaranthus spp.) genotypes. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 2006/03/01 2006;34(1):11-22.

- 7. Stallknecht GF, Schulz-Schaeffer JR. Amaranth rediscovered. p. 211-218. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), New crops. Wiley, New York. 1993.
- 8. Sunil M, Hariharan AK, Nayak S, et al. The draft genome and transcriptome of Amaranthus hypochondriacus: a C4 dicot producing high-lysine edible pseudo-cereal. *DNA research : an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes.* Dec 2014;21(6):585-602.9. Mittal A, Kurup Krishnan L, Gupta VK. Use of waste materials-Bottom Ash and De-Oiled Soya, as potential adsorbents for the removal of Amaranth from aqueous solutions. *Journal of hazardous materials.* Jan 31 2005;117(2-3):171-178.
- 10. Bressani R, Elias LG, Garcia-Soto A. Limiting amino acids in raw and processed amaranth grain protein from biological tests. *Plant Foods Hum Nutr.* Sep 1989;39(3):223-234.
- 11. Berger A, Gremaud G, Baumgartner M, et al. Cholesterol-lowering properties of amaranth grain and oil in hamsters. *International journal for vitamin and nutrition research. Internationale Zeitschrift fur Vitamin- und Ernahrungsforschung. Journal international de vitaminologie et de nutrition.* Feb 2003;73(1):39-47.
- 12. Rodas B, Bressani R. [The oil, fatty acid and squalene content of varieties of raw and processed amaranth grain]. *Archivos latinoamericanos de nutricion*. Mar 2009;59(1):82-87.
- 13. Sabbione AC, Ibanez SM, Martinez EN, Anon MC, Scilingo AA. Antithrombotic and Antioxidant Activity of Amaranth Hydrolysate Obtained by Activation of an Endogenous Protease. *Plant Foods Hum Nutr.* Jun 2016;71(2):174-182.
- 14. Caselato-Sousa VM, Amaya-Farfan J. State of knowledge on amaranth grain: a comprehensive review. *Journal of food science*. Apr 2012;77(4):R93-104.
- 15. Joaquin-Ramos A, Huerta-Ocampo JA, Barrera-Pacheco A, De Leon-Rodriguez A, Baginsky S, Barba de la Rosa AP. Comparative proteomic analysis of amaranth mesophyll and bundle sheath chloroplasts and their adaptation to salt stress. *Journal of plant physiology*. Sep 15 2014;171(15):1423-1435.
- Sunil M, Hariharan AK, Nayak S, et al. The Draft Genome and Transcriptome of Amaranthus hypochondriacus: A C4 Dicot Producing High-Lysine Edible Pseudo-Cereal. DNA Research. Dec 2014;21(6):585-602.
- 17. Larkin PJ, Scowcroft WR. Somaclonal variation a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *TAG. Theoretical and applied genetics. Theoretische und angewandte Genetik.* Oct 1981;60(4):197-214.
- 18. Sugawara S, Mashiguchi K, Tanaka K, et al. Distinct Characteristics of Indole-3-Acetic Acid and Phenylacetic Acid, Two Common Auxins in Plants. *Plant & cell physiology.* Aug 2015;56(8):1641-1654.
- Arya ID, Chakravarty TN, Sopory SK. Development of secondary inflorescences and in vitro plantlets from inflorescence cultures of Amaranthus paniculatus. *Plant cell reports*. Mar 1993;12(5):286-288.

.

FENOLOGÍA EN ALCATRAZ (var. Gold Fever, Regal y Garnet Glow) EN RESPUESTA A LA APLICACIÓN DE LaCI₃

Nadia Issaí Torres-Flores, Libia I. Trejo-Téllez, Gabriel Alcántar-González, Fernando C. Gómez-Merino, Brenda I. Trejo-Téllez, Prometeo Sánchez-García.

Colegio de Postgraduados

Campus

Montecillo, nadia.torres@colpos.mx, tlibia@colpos.mx, alcantar@colpos.mx, promet@colpos.mx

Campus Córdoba, fernandg@colpos.mx

Campus San Luis Potosí, brendat@colpos.mx

RESUMEN

En esta investigación se evaluaron los efectos de la concentración de LaCl ₃ (0, 10, 20 y 30	\square M),
en la fenología de plantas de tres variedades de alcatraz (Gold Fever, Regal y Garnet Glow). Cada	
variedad tuvo cuatro tratamientos con cinco repeticiones y la unidad experimental fue una planta en	
una bolsa de polietileno negro con tezontle como sustrato. El LaCl ₃ fue adicionado a la solución	
nutritiva Steiner al 50%. Durante el ciclo de cultivo se realizaron tres riegos semanales de 200 mL	
por unidad experimental. Entre variedades se observaron diferencias en la duración de los ciclos	
del cultivo siendo que la variedad Garnet Glow presenta un ciclo de 81 días; seguida de la variedad	
Regal con 94 días y finalmente Gold Fever con 101 días. La variedad Gold Fever es la que tiene	
mayor duración de las espatas, con 12 días de vida en maceta (VM) con la concentración de 20	
□M; mientras que, en la variedad Regal la VM se ve reducida por la aplicación de LaC ₈ . En la	
variedad Garnet Glow las concentraciones de La de 10 y 20	□M, favorecen
duración de 9 días. Se concluye que el LaCl ₃ en concentraciones menores o iguales a 20	□M, tuvo
un efecto positivo en la vida de la espata en maceta en dos de las tres variedades de alcatraz	
evaluadas.	

INTRODUCCIÓN

La producción de flores es una de las actividades productivas más diseminada en el medio rural, donde se realiza sin excepción en todas las regiones agroecológicas de México (Trejo *et al.*, 2014). En México, se cultiva principalmente el alcatraz blanco (*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng) a cielo abierto en ambientes templados y húmedos (Cruz *et al.*, 2008); recientemente se ha introducido el alcatraz de color, pero la experiencia agronómica en estos cultivares es limitada.

El lantano junto con el cerio, escandio, itrio, entre otros, son de los 16 lantánidos que pertenecen a los elementos de tierras raras, muchos de estos elementos se pueden encontrar en los tejidos de las plantas, además de que varios de estos elementos podrían ser añadidos a la lista de los elementos benéficos para algunas plantas. (Diatloff *et al.*, 2008). Los elementos benéficos son aquellos que son considerados útiles para las plantas dado que promueven el crecimiento,

incrementan resistencia a factores de estrés biótico como herbívoros y patógenos, aumentan la tolerancia a factores estrés abiótico como toxicidad o deficiencia nutrimental, sequía, salinidad, altas y bajas temperaturas, entre otros (Trejo-Téllez *et al.*, 2016).

La fertilización es un factor determinante en el crecimiento y producción de las plantas, por tanto ésta debe ser eficiente para satisfacer las necesidades del cultivo, especialmente durante los periodos críticos de desarrollo determinados por la fenología y las condiciones ambientales (Gómez *et al.*, 2010). La importancia del conocimiento del desarrollo de todas las fases de los cultivos radica en que permite, tanto al investigador como al productor, proceder en la ejecución de actividades fitotécnicas en los momentos de máxima eficiencia, para lograr los mayores rendimientos (Barroso y Jerez, 2002).

En el contexto anterior, este trabajo plantea como objetivo determinar si el La en concentraciones distintas, tienen influencia en el ciclo fenológico de tres variedades de alcatraz (Gold Fever, Regal y Garnet Glow).

MATERIALES Y MÉTODOS

Este experimento se condujo bajo condiciones de invernadero. Los rizomas utilizados tres variedades de alcatraz de color (Gold Fever, Regal y Garnet Glow; **Figura 1**), se obtuvieron de la empresa Floraplant, ubicada en el Estado de Morelos, México.

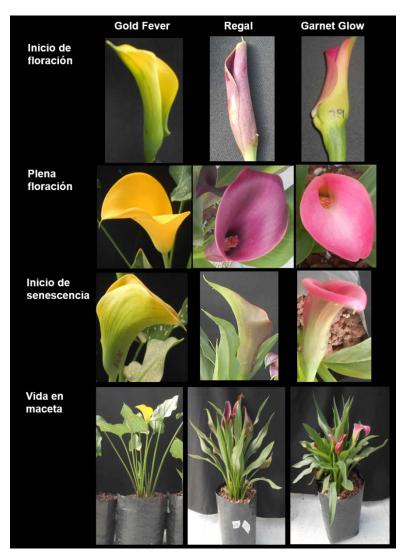


Figura 1. Variedades evaluadas y etapas fenológicas registradas.

Se empleó un sustrato a base de una mezcla de tezontle de 5-8 mm + Agrolita[®] (70/30, v/v), depositado en bolsas de polietileno negro de 30 x 30 cm, donde se plantó un rizoma por bolsa; la cual fue considerada como una unidad experimental. Previó a la plantación se llevó a cabo una desinfección de los rizomas con la finalidad de evitar enfermedades fungosas, con una solución de Cupravit[®] + Promyl[®] a razón de 2 y 1 g L⁻¹ de agua, durante 15 min, inmediatamente después se introdujeron los rizomas en una solución de 100 mg L⁻¹ de ácido giberélico durante 15 min para estimular la floración.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La forma más adecuada para obtener una productividad alta es conocer la fenología del cultivo; es decir a qué ritmo periódico surgen los cambios de un estado fenológico a otro, conociendo la etapa fenológica se puede planificar de forma muy precisa la realización de los tratamientos, para conseguir la máxima eficacia y evitar los peligros de fitotoxicidad, por exceso de aplicación de pesticidas e incluso se pueden evadir periodos críticos en el cultivo por la presencia de plagas y enfermedades (De la Rosa, 2013).

En la **Figura 2**, se muestran los resultados del análisis estadístico para las variables evaluadas en la fenología de la variedad Gold Fever, donde no presentó diferencias estadísticas significativas entre concentraciones de LaCl₃ aplicadas. A pesar de que no hubo diferencias entre concentraciones se puede notar que con la concentración de La de 10 ☐M el ciclo de esta variedad fue más largo. Asimismo es pertinente indicar que esta variedad de las tres evaluadas es la que presentó un ciclo prolongado, con una duración de 101 días. La variedad Gold Fever es la que tiene mayor duración de las espatas, con 12 días de vida en maceta (VM) con la concentración de 20 ☐M.

En la variedad Regal el tratamiento con 30 Maceleró el inicio de la floración, de la plena floración y de la senescencia. Asimismo, todas las concentraciones de La evaluadas redujeron la vida en maceta; siendo estadísticamente menores al testigo con10 y 20 Figura 3). El ciclo en esta variedad fue de 94 días.

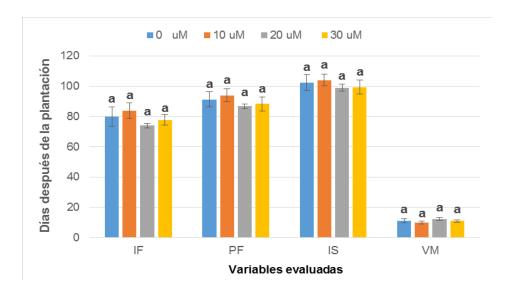


Figura 2. Etapas fenológicas en la variedad Gold Fever tratada con cuatro concentraciones de LaCl₃. Medias \pm DE con la misma letra en cada variable evaluada, indica que no existieron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD, P > 0.05). IF=Inicio de floración; PF=plena floración; IS=Inicio de senescencia; VM=Vida en maceta.

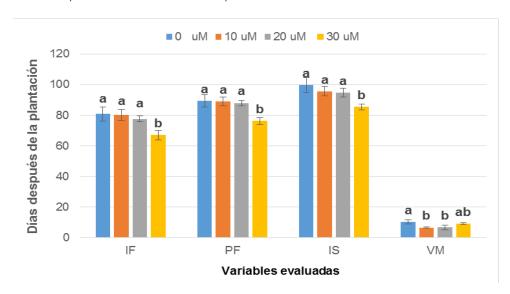


Figura 3. Etapas fenológicas en la variedad Regal tratada con cuatro concentraciones de LaCl₃. Medias \pm DE con la misma letra en cada variable evaluada, indica que no existieron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD, $P \le 0.05$). IF=Inicio de floración; PF=plena floración; IS=Inicio de senescencia; VM=Vida en maceta.

En la variedad Garnet Glow (**Figura 4**), se observa que no existieron diferencias significativas entre tratamientos; a pesar de ello se puede notar que la aplicación de LaCl₃ en la concentración de 20 \square M, reduce los días a los que se alcanza el inicio de floración, la plena floración y el inicio de la senescencia. En lo que respecta a la vida en maceta en esta variedad las concentraciones de La de 10 y 20 \square Morecen con una duración de 9 días; mientras que la duración del ciclo del cultivo fue de 81 días.

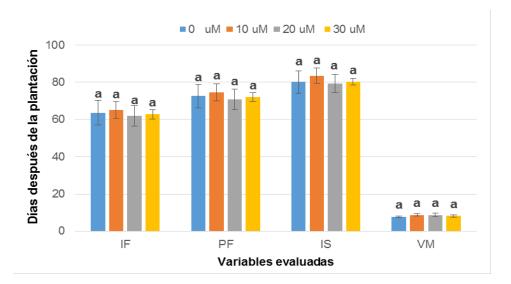


Figura 4. Etapas fenológicas en la variedad Garnet Glow, con cuatro concentraciones de LaCl $_3$. Medias \pm DE con la misma letra en cada variable evaluada, indica que no existieron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD, P > 0.05). IF=Inicio de floración; PF=plena floración; IS=Inicio de senescencia; VM=Vida en maceta.

CONCLUSIONES

Se concluye que el LaCl₃ en concentraciones menores o iguales a 20 ☐M tuvo un efecto positivo en la vida de la espata en maceta de dos de las tres variedades evaluadas: Gold Fever y Garnet Glow. Asimismo en este estudio se evidenció que las tres variedades presentaron diferencias en la duración de sus ciclos, teniendo como precoz a la variedad Garnet Glow con 81 días, seguida como intermedia la variedad Regal con 94 días y finalmente la tardía la variedad Gold Fever con 101 días.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. A. Steiner, "The universal nutrient solution", in: ISOSC Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture, The Netherlands, 1984, pp. 633-649.
- B. I. Trejo, N. I. Torres, L. I. Trejo-Téllez, "Caracterización de los productivos de alcatraz blanco en La Perla, Veracruz", Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, Vol. 9, 2014, pp. 1795-1801.
- 3. E. Diatloff, F. Smith, J. Asher, "Effects of Lanthanum and Cerium on the Growth and Mineral Nutrition of Corn and Mungbean", Annals of Botany, Vol. 101, 2008, pp. 971-982.
- 4. I. Barroso, E. Jerez, "Fenología de la albahaca blanca (*Ocimum basilicum I.*) cultivada en diferentes fechas de siembra", Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas la Habana, Cuba. Cultivos Tropicales, Vol. 23, 2, 2002, pp. 43-46.
- 5. J. G. Cruz, P. A. Torres, M. Alfaro, M. L. Albores, J. Murguía, "Lombricompostas y Apertura de la Espata en Poscosecha del Alcatraz "Green Goddes" (*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng) en Condiciones Tropicales", Revista Chapingo Serie Horticultura, Vol. 14, 2, 2008, pp. 207-212.
- 6. L.I. Trejo-Téllez, F.C. Gómez, G. Alcántar, "Elementos benéficos", in Nutrición de cultivos. Segunda edición (Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México. 2016), Capítulo 3, pp. 58-101.
- 7. M.I. De la Rosa, "Identificación de estados fenológicos y determinación de unidades calor en el cultivo de rosa (*Rosa x hybrida*) en la región florícola del Estado de México", Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de México. 2013. 97 p.

- 8. S. Gómez, C. R. Bonilla, J. C. Menjívar, "Absorción de nutrientes en *Zantedeschia elliottiana* variedad Cristal Blush y su relación con la producción de biomasa en condiciones de la zona cafetera de Colombia", Acta Agronómica, Vol. 59, 4, 2010, pp. 462-472.
- 9. SAS. "SAS High-Performance Forescasting 2.2: User's Guide", (Vol. 1 & 2). Cary, NC: SAS Institute Inc. Ver. 9). 2002, 652 p.

NANOPARTÍCULAS DE TITANIO VÍA RAÍZ EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE CHILE SERRANO

Gustavo E. González-Terán, Gloria Cotlame-González, Fernando C. Gómez-Merino, Ma. Guadalupe Peralta-Sánchez, Libia I. Trejo-Téllez

Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, g_eduardogt@hotmail.com; tayni_amor@hotmail.com; mgperalta@colpos.mx; tlibia@colpos.mx Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, fernandg@colpos.mx

RESUMEN

El titanio (Ti) es un metal de transición, que puede tener efectos benéficos en bajas concentraciones en plantas cultivadas. En este estudio se evaluó el efecto de la aplicación de nanopartículas de titanio suministradas vía raíz en el crecimiento de plántulas de chile serrano bajo condiciones de invernadero. Se empleó perlita como sustrato y solución nutritiva universal de Steiner al 20% para el riego de las plántulas. En la solución de Steiner se adicionaron tres concentraciones de Ti (0, 7.5 y 15 mg L⁻¹). Se utilizó un diseño completamente al azar con 10 repeticiones. La unidad experimental fue una plántula contenida en un recipiente de plástico de aproximadamente 60 mL de capacidad. Se realizaron tres riegos de 30 mL por día por unidad experimental, durante 30 días. Posterior a este periodo, se midió la altura de plántula. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y una prueba de medias de Duncan con el programa SAS. El Ti incrementó la altura de plántula en 7.9 y 8.3% en los tratamientos con el suministro de Ti en las concentraciones de 7.5 y 15 mg L⁻¹ de solución nutritiva, respectivamente, en comparación con el testigo. Se concluye que el Ti promueve el crecimiento de plántulas de chile serrano.

INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es la ciencia aplicada al control y manipulación de la materia a una escala menor que un micrómetro, es decir a nivel de átomos y moléculas. Esta rama consiste en el procedimiento de separación, consolidación y deformación de materiales átomo por átomo o molécula por molécula (Quintili, 2012).

Por otra parte el titanio (Ti) se considera un elemento benéfico para el crecimiento de las plantas. Se ha documentado que el Ti mejora el rendimiento de cultivos, estimula la actividad de ciertas enzimas, incrementa los contenidos de clorofila y la tasa fotosintética, promueve la absorción nutrimental, e incrementa la tolerancia a factores de estrés, entre otros efectos positivos. Este elemento se ha aplicado a especies vegetales tanto vía radical como foliar a bajas concentraciones (Lyu et al., 2017).

El papel biológico del Ti en las plantas ha sido estudiado durante más de cien años en diferentes cultivos como en *Brassica arvensis* L., *Pisum sativum* L. y *Medicago sativa* L., entre otros, donde se ha observado mayor crecimiento y desarrollo de las plantas (Lyu *et al.*, 2017). Así también en cilantro y en especies ornamentales se ha registrado mayor crecimiento cuando las plantas son tratadas con Ti (Mohamed, 2015; Whitted-Haag *et. al.*, 2014).

La absorción de la nanopartículas en la planta tiene diversas rutas las cuales dependen del tamaño y superficie que éstas utilizan para penetrar. En hojas o frutos la epidermis está cubierta por una cutícula que permite la entrada de nanopartículas muy pequeñas; pero las propiedades permeables entre la cutícula, la epidermis y tricomas o estomas son diferentes (Schreiber, 2011).

Por otra parte, el chile serrano (*Capsicum annuum* L.) es una de las especies hortícolas de mayor importancia económica, adicionalmente también se relaciona con algunos efectos medicinales. Experimentos realizados en este cultivo muestran que el titanio presenta baja movilidad dentro de la planta, y en consecuencia este elemento se acumula preferentemente en el órgano receptor. Así, en las plantas crecidas en cámara de cultivo, con suministro de Ti en la solución nutritiva, éste se encuentra en concentraciones superiores en raíz (Alcaraz *et al.*, 1991).

Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del tratamiento con nanopartículas de titanio (Ti) en la altura de plántulas de chile (*Capsicum annuum* L.), siendo las concentraciones de nanopartículas evaluadas suministradas vía radical, mediante su incorporación a la solución nutritiva empleada para el riego.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados bajo condiciones de invernadero.

Se evaluó la aplicación de titanio (Ti) en plántulas de chile (*Capsicum annuum* L.) var. Serrano bajo condiciones de invernadero. Las plántulas fueron trasplantadas en vasos de plástico (capacidad 60 mL), conteniendo como sustrato perlita. La aplicación de tratamientos inició cuando la planta tenía una altura de 15 cm.

Los tratamientos evaluados consistieron en tres concentraciones de nanopartículas de Ti (0, 7.5 y 15 mg L⁻¹ Ti) adicionadas a la solución nutritiva de Steiner al 20 % (Steiner, 1984) empleada en el riego. Como fuente de Ti se emplearon nanopartículas de dióxido de Ti (TiO₂ 99.7 %, Sigma-Aldrich, China).

Se realizaron tres riegos diarios de 30 mL a cada planta, durante 30 días. Cada uno de los tratamientos tuvo 10 repeticiones. La unidad experimental fue una plántula contenida en un recipiente de plástico de aproximadamente 60 mL de capacidad. El diseño experimental empleado fue completamente al azar.

Se determinó la altura de planta después de 30 días de tratamiento con un flexómetro (Stanley tylon). Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente de acuerdo al diseño experimental empleado, usando análisis de varianza (ANOVA) del paquete estadístico SAS (SAS, 2011). Las medias se compararon con la prueba de Duncan ($P \le 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las plántulas tratadas con dosis de $7.5 \text{ y} 15 \text{ mg L}^{-1}$ de Ti tuvieron una altura promedio de 25.92 y 26.02 cm, respectivamente. Las plantas del tratamiento testigo midieron en promedio 24.02 cm (**Figura 1**).

Entre los tratamientos conteniendo Ti (75 y 150 mg L⁻¹) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas; pero ambos incrementaron de manera significativa la altura de plántula, en comparación con el testigo (**Figura 1**).

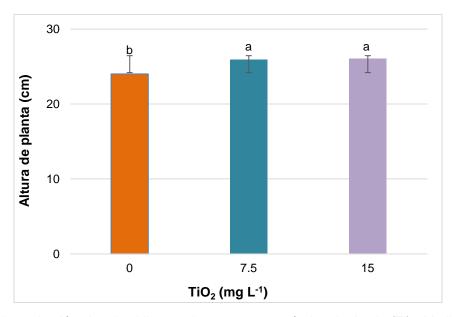


Figura 1. Altura de plántulas de chile tratadas con nanopartículas de titanio (Ti). Medias $\pm DE$ con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Duncan, $P \le 0.05$).

Mohamed (2015) encontró en cilantro, al evaluar parámetros de crecimiento en respuesta a diferentes concentraciones de TiO₂ (0, 2, 4 y 6 ppm) suministradas vía foliar a los 30 y 60 días de tratamiento, que con 6 ppm se registró una mayor altura de planta en las dos fechas evaluadas.

Por otra parte, Whitted-Haag *et al.* (2014) evaluaron aplicaciones foliares de silicio y titanio en el crecimiento y calidad de cinco especies ornamentales. El Ti en particular, fue evaluado en cinco concentraciones (0, 25, 50, 75 y 100 mg L⁻¹) a partir de ascorbato de titananio. En todas las especies de estudio la mayor altura se obtuvo en plantas tratadas con 50 y 75 mg L⁻¹ de Ti; por el contrario, concentraciones de Ti de 100 mg L⁻¹ redujeron de manera significativa la altura de todas las especies de estudio. Con lo anterior se confirma que el Ti es considerado un elemento benéfico para el crecimiento de plantas aplicado por vía foliar o radical (Lyu *et al.*, 2017).

De la misma manera, Sayyadizadeh *et al.* (2016) reportan el efecto positivo de la aplicación nanopartículas de dióxido de titanio a concentraciones de 0, 2, 4, 6 y 8 ppm en *Melissa officinalis* L. En esta especie, el peso fresco de raíz aumentó conforme se incrementó la dosis de Ti, registrándose el mayor peso con la concentración de 8 ppm.

En *Triticum aestivum*, las aplicaciones de nanopartículas de TiO₂ en concentraciones de 0, 20, 40, 60, 80, 100 mg kg⁻¹ afectaron el peso de biomasa fresca total; siendo la concentración de 60 mg kg⁻¹ el tratamiento con mayor biomasa; asimismo concentraciones superiores (80 y 100 mg kg⁻¹ de dióxido de titanio) reducen el peso de la materia fresca (Rafique *et al.*, 2014). De igual manera en trigo, dosis de 100 mg L⁻¹ de TiO₂ incrementaron el peso fresco de raíz; mientras que concentraciones de 2000 mg L⁻¹ lo redujeron (Mahmoodzadeh *et al.*, 2013).

CONCLUSIONES

Se concluye que el tratamiento con Ti en las concentraciones de 7.5 y 15 mg L⁻¹, incorporado éste a la solución nutritiva empleada para el riego, incrementa de manera significativa la altura de plántulas de chile serrano.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. B. Whitted-Haag, D.E. Kopsell, D.A. Kopsell, R.L. Rhykerd, "Foliar Silicon and Titanium Applications Influence Growth and Quality Characteristics of Annual Bedding Plants". The Open Horticulture Journal, Vol. 7, 2014, pp. 6-15.
- 2. C. Alcaraz, F. Martínez-Sánchez, J. Giménez, "Ascorbato de titanio, fertilizante foliar", Agricultura: Revista agropecuaria, Vol. 708, 1991, pp. 636-638.
- 3. H. Mahmoodzadeh, R. Aghili and M. Nabavi, "Physiological effects of TiO2 nanoparticles on wheat (*Triticum aestivum*)", Technical Journal of Engineering and Applied Sciences, Vol. 3, 14, 2013, pp. 1365-1370.
- 4. L. Schreiber, "Transport barries made of cutin, suberin and associated waxes", Trends in Plant Science, Vol. 15, 10, 2010, pp. 1158-1850.
- 5. M. Quintili, "Nanociencia y Nanotecnología...un mundo pequeño", Centro de Estudios en Diseño y Comunicación, Cuaderno, Vol. 42, 2012, pp. 125-155.
- M. Sayyadizadeh, A.B. Bazrgar, S. Bakhtiyari, "Evaluation of the effects of titanium dioxide Nano particles on some morphological traits and oil content of Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under lead stress", Journal of Scientific and Engineering Research, Vol. 3, 4, 2016, pp. 532-538.
- 7. R. Rafique, M. Arshad, M.F. Khokhar, I.A. Qazi, A. Hamza, N. Virk, "Growth Response of Wheat to Titania Nanoparticles Aplication", NUST Journal of Engineering Sciences, Vol. 7, 1, 2014, pp. 42-46.
- 8. S. Lyu, X. Wei, J. Chen, C. Wang, X. Wang, D. Pan, "Titanium as a Beneficial Element for Crop Production", Front. Plant Sci., Vol. 8, 2017, Article 597.
- SAS Institute Inc. 2011: "SAS/STAT Users Guide". Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA.
- 10. S.K. Mohamed, "Effect of titanium nanoparticles (TiO₂) on growth, yield and chemical constituents of coriander plants". Arab Journal of Nuclear Science and Applications, Vol. 48, 4, 2015, pp. 187-194.

EVALUACIÓN DE LAS PÉRDIDAS DE RENDIMIENTO EN CAÑA DE AZÚCAR DURANTE LA COSECHA MECANIZADA Y TRASLADO AL INGENIO

Héctor Emmanuel Sentíes-Herrera, Héctor Herrera-Pitalua, Héctor Helenio Herrera-Cruz, Libia Iris Trejo-Téllez, Fernando Carlos Gómez-Merino.

Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Sansimonagro S.P.R. de R.L.

RESUMEN

Uno de los principales factores que determina el rendimiento de campo y fábrica es la frescura de la caña, la cual se refiere al tiempo trascurrido desde que la caña es cosechada, hasta la descarga de la misma para su procesamiento en los ingenios. Para el caso de cosecha mecanizada en verde (caña sin quemar), es determinante el tamaño de trozo de caña y el tiempo de entrega. Por lo que el presente estudio se realizó en la empresa Sansimonagro S. P. R de R. L., con el objetivo de determinar las pérdidas en peso de caña en dos variedades Mex 69-290 y PR 66-2231, en tres tamaños de trozo de caña y seis intervalos de tiempo para su entrega. Se evaluaron 18 tratamientos en un diseño experimental completamente al azar con 10 repeticiones. Los factores de estudio (y sus niveles) fueron: tres tamaños del trozo de caña de azúcar (20, 25 y 30 cm) y seis intervalos de tiempo para su entrega: T1, 12 h; T2, 24 h; T3, 36 h; T4, 48 h; T5, 60 h; y T6, 72 h. Las pérdidas en rendimiento en las dos variedades en función del tamaño del trozo no fueron estadísticamente diferentes en las primeras 12 (T1) y 24 (T2) horas. Sin embargo, al iniciar el T3; es decir, que la caña sea entregada después de 24 y antes de 36 horas, las pérdidas se incrementaron de manera significativa con el menor tamaño de trozo de tallo, siendo el tamaño de 30 cm el que presenta mayor resistencia a la pérdida de peso. La tendencia se presenta de igual manera con el incremento de tiempo como retraso en la entrega de caña al ingenio. En conclusión, si la entrega de caña se realiza en las primeras 24 horas después de cosechada, no tiene influencia el tamaño del trozo en la pérdida de rendimiento.

INTRODUCCIÓN

En la zafra 2015/16, México se posicionó como el sexto productor mundial de azúcar y de caña, con el sustento del mercado y consumo interno nacional. Dicha activad se realizó en una superficie cercana a las 800 mil hectáreas, con la operación de 51 ingenios, que procesaron un volumen de caña de 54,188,609 toneladas que representan un rendimiento promedio de 69.64 t ha⁻¹, y de azúcar estándar de 3,803,472 toneladas, lo que generó más de 26 mil millones de pesos (Sentíes-Herrera et al., 2017). Sin embargo, el comportamiento de la producción de caña de azúcar puede variar de un año a otro, debido a que depende de factores como el clima que afectan al cultivo y también por factores de manejo como es la logística del transporte y recepción de la caña en los ingenios azucareros, lo que afecta la frescura y calidad de la materia prima. El término frescura se refiere al tiempo trascurrido desde que la caña es cosechada, hasta la descarga de la misma para su procesamiento en los ingenios. De acuerdo con el Programa de Programa Nacional de la Agroindustria de la Caña de Azúcar 2007 (SAGARPA, 2007), la frescura de la caña de azúcar debe ser de 24 h en el 70% de las parcelas y de 48 h en el 30% restante. Sin embargo, aún no se ha podido lograr dicho objetivo, y siquen vigentes las estrategias para mejorar esta situación en el Programa de 2014-2018 (DOF, 2014). Lo anterior justifica la importancia de cuantificar las pérdidas en peso como indicador de rendimiento en función del tiempo desde el corte y la entrega en el ingenio.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en la empresa Sansimonagro S. P. R. de R. L., ubicada en Nopaltepec, municipio de Cosamaloapan, Veracruz. Dicha empresa se dedica a la siembra y cosecha mecanizada de caña de azúcar, y su producción se entrega a la empresa Industrial Azucarera San Cristóbal S. A. de C. V., Ingenio San Cristóbal, ubicada en Carlos A. Carrillo, Veracruz.

Se utilizaron dos variedades comerciales de caña de azúcar: Mex 69-290 y PR 66-2231, ambas de maduración media a tardía. Se emplearon dos cosechadoras de caña de azúcar, una marca John Deere modelo 3510 y otra marca Cameco modelo 2500 para la obtención de los diferentes tamaños de trozo del tallo de caña, con el ajuste de los niveles de corte.

Los factores de estudio fueron los siguientes: 1) Tamaño de trozos del tallo. Se consideraron tres tamaños: 20, 25 y 30 cm; y 2) Tiempo de traslado al ingenio: T1, 12 h; T2, 24 h; T3, 36 h; T4, 48 h; T5, 60 h; y T6, 72 h.

Se cuantifico la pérdida del rendimiento en peso por tamaño de trozo del tallo en función de los tiempos establecidos. Para lo anterior se pesaron los trozos en una báscula marca Ohaus modelo H-2717 al T0 (0 h) y después a intervalos de 12 horas hasta completar las 72 h. Para calcular la pérdida en el rendimiento, fue por diferencia de peso.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 10 repeticiones. Se realizó de manera independiente para cada variedad el análisis de la varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias de LSD Fisher ($P \le 0.05$) con el programa estadístico SAS v. 9.4.

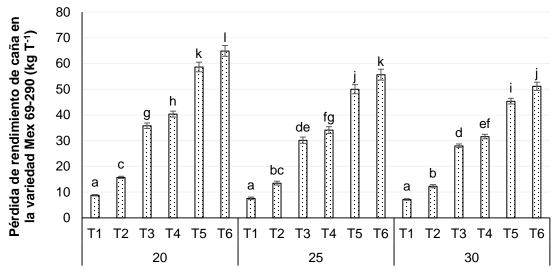
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pérdida de rendimiento en la variedad Mex 69-290

La pérdida del rendimiento a las 12 horas después de la cosecha, no fue estadísticamente diferente entre los tres tamaños de trozo de tallo; sin embargo, conforme fue en aumento el tiempo de entrega, las pérdidas se incrementaron en todos los casos. En los tres tamaños de trozo de tallo, la mayor proporción de pérdida se registró después de 36 h (T3), considerando la pérdida registrada después de 24 h (T2) (**Figura 1**).

Por otra parte, se observa un efecto significativo del tamaño de trozo, observándose una relación inversa entre la pérdida de rendimiento y el tamaño del trozo; es decir, existió mayor pérdida de rendimiento con el menor tamaño de trozo del tallo (**Figura 1**).

Es importante destacar que después de 36 h (T3), los trozos de 20, 25 y 30 cm, las pérdidas se incrementaron en 306, 298 y 292%, respectivamente, en comparación con las pérdidas registradas para cada tamaño de trozo de tallo en las primeras 12 h (T1). Asimismo, después de 72 h (T6), las pérdidas aumentaron en 637, 635 y 617% en trozos de 20, 25 y 30 cm, considerando como referencia las pérdidas registradas en las primeras 12 h (T1).



Tiempo (T) hasta el procesamiento (h), tamaño de trozo (cm)

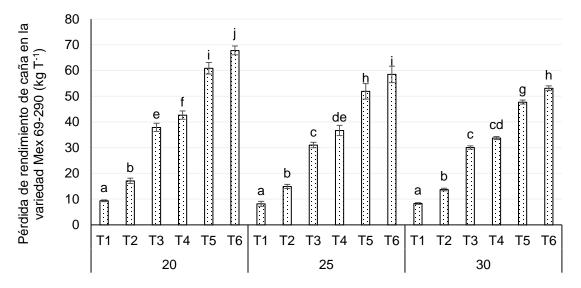
Figura 1. Pérdida de rendimiento en kilogramos en la variedad Mex 69-290. Se tomó como base para este cálculo una tonelada de caña. Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias estadísticas entre tratamientos (tamaño de trozo y tiempo hasta la entrega) (LSD Fisher, $P \le 0.05$). T1=12 h; T2=24 h; T3=36 h; T4=48 h; T5=60 h; T6=72 h.

Pérdida de rendimiento en la variedad PR 66-2231

Las pérdidas del rendimiento después de 12 y 24 h (T1 y T2), fueron estadísticamente iguales para los tres tamaños de trozos. Conforme se incrementó el tiempo para la entrega, las pérdidas fueron mayores a medida que el tamaño de trozo se redujo (**Figura 2**).

Destaca también, que a partir de 36 h (T3), al igual que en la variedad Mex 69-290, las pérdidas fueron mayores con el tamaño más pequeño de trozo (20 cm). Las pérdidas incrementaron en 305, 279, y 262% en tamaños de trozo de 20, 25 y 30 cm, respectivamente, tomando como referencia las pérdidas registradas después de 12 h (T1). Asimismo, considerando también las pérdidas iniciales en cada tamaño de trozo (T1), después de 72 h, las pérdidas se incrementaron en 625, 615 y 640% (**Figura 1**).

En este contexto, la pérdida en peso impacta negativamente tanto al productor de caña como al industrial, ya que para el productor, el presentar pérdidas en las toneladas entregadas al ingenio se refleja de manera sustantiva en el importe que paga el ingenio. Y por otra parte, el industrial pierde, ya que una vez cortada la caña, inicia un proceso de degradación que reduce significativamente el contenido de sacarosa y aumenta el de los azúcares reductores por efecto de la enzima invertasa (Larrahondo y Briceño, 2004).



Tiempo (T) hasta el procesamiento (h), tamaño de trozo (cm)

Figura 2. Pérdida de rendimiento en kilogramos en la variedad PR 66-2231. Se tomó como base para este cálculo una tonelada de caña. Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias estadísticas entre tratamientos (tamaño de trozo y tiempo hasta la entrega) (LSD Fisher, $P \le 0.05$). T1=12 h; T2=24 h; T3=36 h; T4=48 h; T5=60 h; T6=72 h.

Los resultados obtenidos, muestran el comportamiento en la pérdida de rendimiento en función del tiempo de entrega y el tamaño de trozo, y dan pauta a una estrategia para el manejo de la cosecha mecanizada, trasporte y entrega de la caña en al ingenio. En este sentido, la variedad influye mucho en la capacidad de resistencia a las pérdidas después del corte. Como se observó, a pesar que en la variedad PR 66-2231 las pérdidas son estadísticamente iguales en los tres tamaños de trozo hasta las 24 h. La variedad Mex 69-290 presenta menores pérdidas en los tiempos 1 y 2 (12 y 24 h, respectivamente), aunque con diferencias significativas a las 24 h en función del tamaño de trozo.

Tonnato *et al.* (2009) mencionan que entre las alternativas para mantener e incrementar la calidad de la materia prima se encuentran: el mejoramiento de la eficiencia de la cosecha y la reducción de los tiempos de traslado y estacionamiento. En este sentido, se tendrá que realizar un estudio más extenso para detectar los factores que causan que los tiempos de entrega al ingenio sean mayores, lo que se traduce en ineficiencia, así como generar estrategias para que con base a este tipo de estudios se establezcan parámetros para el aseguramiento de la calidad de la materia prima y disminuir al mínimo las pérdidas.

CONCLUSIONES

Los tamaños de trozo de 30 cm en ambas variedades de caña, presentaron la menor pérdida en las primeras 24 h, por tanto, este tamaño es el que se recomienda para cosecha mecanizada.

Se determinó que la variedad tiene un efecto en el impacto en las pérdidas del rendimiento, lo que es importante saber para una buena programación de cosecha y traslado.

La información aquí generada permite la toma de decisiones; es decir, si se prevé que el tiempo de entrega será superior a las 24 h, se utilizará el tamaño de trozo de 30 cm, pero si este tiempo es menor a las 24 h, es viable el uso trozos más pequeños.

BIBLIOGRAFÍA

- A. J. E. Larrahondo, C. O. Briceño, "Una aproximación a la reducción de las pérdidas de sacarosa entre cosecha y molienda en el sector azucarero colombiano," Cenicaña N° 3, 22 p.
- DOF, "Programa Nacional de la Agroindustria de la Caña de Azúcar 2014-2017", Diario Oficial de la Federación, 2014. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5343244&fecha=02/05/2014 (Consulta: abril, 2017).
- 3. H. E. Sentíes-Herrera, L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, "The Mexican Sugarcane Production System: History, Current Status and New Trends," in *Sugarcane Production Systems*, Uses and Economic Importance, (Nova Science Publisher, INC. New York, NY, 2017), Chapter 2, pp. 39-71.
- 4. M. J. Tonatto, E. R. Romero, M. F. Leggio-Neme, P. A. Digonzelli, S. D. Casen, J. A. Giardina, L. G. P. Alonso, J. Scandaliaris, J. F. de Ullivarri, "Mejora de la calidad de la materia prima," in *Manual del Cañero* (Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Tucumán, Argentina), Capítulo 15, pp. 185-195.
- 5. SAGARPA, "Programa Nacional de la Agroindustria de la Caña de Azúcar 2007-2012", SAGARPA, 2007. https://es.scribd.com/document/2589453/Programa-Nacional-de-la-Agroindustria-de-la-cana-de-azucar-2007-2012 (Consulta: abril, 2017).

BIOESTIMULACION DE SUELO CONTAMINADO POR 60,000 PPM DE ACEITE RESIDUAL AUTOMOTRIZ Y FITORREMEDIACIÓN MEDIANTE SORGHUM VULGARE CON ASPERGILLUS NIGER Y PENICILLIUM CHRYSOGENUM

Blanca Celeste Saucedo-Martínez, Nabanita Dasgupta-Schuber, Liliana Marquez-Benavides, Juan Manuel Sánchez-Yáñez.

Microbiología Ambiental (*autor correspondiente syanez@umich.mx).

Microorganismo-suelo-planta.

Instituto de Investigaciones Químico Biológicas-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Avenida Francisco J. Múgica S/N Ciudad Universitaria

RESUMEN

La contaminación de suelo por 60,000 ppm de aceite residual automotriz (ARA) es un residuo peligroso (LEGEPA, 2004) y excede la máxima concentración de 4,400 ppm según la NOM-138-SEMARNAT-SSAI-2012 (NOM-138). Una alternativa es la bioestimulación (BIS) y fitorremediación (FITO). Los objetivos fueron: a) La BIS de suelo con 60,000 ppm de ARA, con detergente (DEGE), H₂O₂, extracto fúngico crudo (EFUC), solución mineral (SOMI), PO[™]₄ soluble, control de humedad al 80% de la capacidad de campo. b) Identificación de poblaciones bacterianas productoras de DEGE de suelo con ARA. c) FITO por S. vulgare con P. chrysogenum y A. niger para reducir el ARA a valor menor al máximo aceptado por la NOM-138. El suelo con ARA se bioestimuló y fitorrremedió, el ARA remanente se midió por Soxhlet, se seleccionaron poblaciones bacterianas productoras de detergente y determinación de fenología y biomasa del S. vulgare en la FITO. Resultados mostraron que la BIS de suelo con 60,000 ppm de ARA/8 semanas lo disminuyó 32,700 ppm. Se identificaron actinomicetos, firmicutes y proteobacterias productores de DEGE y la FITO mediante S. vulgare con A. niger y P. chrysogenum lo redujo de 32,700 ppm a 2,649 ppm valor menor al máximo señalado por la NOM-138. Lo anterior apoya que la integración de la bio y fitorremediación fue mejor opción para remediar el suelo. Agradecimientos a: proyecto 2.7 (2017) CIC-UMSNH, BIONUTRA S. A. de C.V., Maravatio, Mich y CONACYT por beca a la primera autora.

INTRODUCCIÓN

El aceite residual automotriz (ARA) es un residuo peligroso porque contamina el ambiente de acuerdo con la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LGEEPA, 2008) de riesgo para la salud humana. El suelo contaminado por 60,000 ppm de ARA es una concentración relativamente alta de hidrocarburos (HICO) de acuerdo a la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003 (NOM-138), que señala que la concentración máxima permitida es de 4,400 ppm. El ARA, se genera en los talleres mecánicos, en la maquinaria agrícola; cuando por su inadecuada disposición final es vertido al suelo, en la superficie forma una película impermeable que impide el intercambio de O₂ (oxigeno); inhibe los ciclos biogeoquímicos que sustentan la vida y la difusión de agua (Larenas & de Viana, 2005). Lo efectos negativos anteriores limitan la producción agrícola, además

provoca la infiltración del ARA al agua subterránea (Pardo et al., 2004). En suelo algunas soluciones para la eliminación de HICO a concentraciones mayores de 10,000 ppm son los métodos químicos (Delgadillo-López et al., 2011) que tienen las desventajas de que dejan residuos tóxicos y de elevado costo; otra alternativa son los biológicos como la bioestimulación (BIS), que explota el potencial microbiano nativo mediante el enriquecimiento con minerales básicos de N (nitrógeno) y P (fosforo) para inducir la mineralización del ARA. Sin embargo la BIS requiere de diversas acciones integrales continuas y acumulativas que reduzcan el ARA a un valor inferior al máximo permisible por la NOM-138: 1) con base en esto, la primera acción debe ser la emulsificación del ARA con un detergente del tipo del dodecil sulfato de sodio/alcohol etoxilado (DEGE); que lo solubiliza y facilita su mineralización; 2) al mismo tiempo una fuente de O₂ (oxigeno) como el H₂O₂ (peróxido de hidrogeno) que es necesario en la oxidación del ARA; 3) mientras que un extracto fúngico crudo (EXFUC) con lacasa de Penicillium chrysogenum, que hidrolice algunos de los aromáticos del ARA (Baltierra-Trejo et al., 2016); 4) simultáneamente con el enriquecimiento con solución mineral (SOMI), que asegure el balance nutricional en la mineralización del ARA (Pinto et al., 2006) mediante el restablecimiento del equilibrio de la relación C-N (carbono-nitrógeno), causada por el exceso de HICO; 5) con lo todo lo anterior, es indispensable el control de la humedad del suelo a un máximo del 80% de la capacidad de campo, para facilitar la aireación y con ello la oxidación del ARA. Como resultado de estas acciones integrales y acumulativas de BIS se genera un ambiente que facilite y acelere la fitorremediación (FITO) mediante Sorghum vulgare potenciado con Aspergillus niger y Penicillium chrysogenum, microorganismos promotores de crecimiento vegetal, de los que existe evidencia de que mineralizan algunos HICO del ARA (Mohsenzadeh et al., 2012). La BIS como una estrategia integral y acumulativa es necesaria, acorde a la gravedad del problema, dada la amplia diversidad de HICO en el ARA, no obstante, existen escasas investigaciones en la que aplican la BIS y/ FITO integral, aunque si se enfocan en algunos de los factores involucrados la eliminación del HICO del tipo del ARA; como el enriquecimiento mediante SOMI que permiten su parcial decremento, tal es el caso de Mancera-López et al., 2008, que bioestimularon un suelo contaminado con 60,600 ppm de HICO totales del petróleo, con bagazo de caña y SOMI durante 35 días; y lo disminuyeron hasta 41,972 ppm, en contraste al suelo control sin BIS que la atenuación natural apenas lo decreció a 59, 078. De acuerdo con lo anterior, en suelo no existen suficientes investigaciones que integren los principales factores de la BIS para eficazmente eliminar el ARA. Por lo que los objetivos del trabajo fueron: a) la bioestimulacion de un suelo contaminado por 60,000 ppm de ARA mediante detergente, H₂O₂, extracto fúngico crudo, solución mineral, control de la humedad a capacidad de campo al 80%, b) Identificación de poblaciones bacterianas productoras de DEGE de suelo con ARA, c)fitorremediacion mediante S. vulgare con P. chrysogenum y A. niger para minimizar el ARA a un valor menor al máximo aceptado por la NOM-138.

MATERIALES Y METODOS.

El suelo se tamizó y se aplicaron las técnicas de caracterización físico-química del suelo como pH, materia orgánica, nitrógeno total, humedad, de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000.

Despues el suelo se bioestimulo con ALEDOS, ALETO, H₂O₂, EFUC y SOMI. El EFUC se obtuvo de *P. chrysogenum* en lignina residual de paja de trigo (LIREPATO), el EFUC se incorporó al suelo y posteriormente la SOMI. Lugo se realizó la determinación de la concentración de ARA por Soxhlet antes y al final de la BIS del suelo con ARA como la variable respuesta de la eliminación.

En suelo se midió la densidad de la población oxidante de ARA, aislamiento in vitro e identificación de bacterias productoras de DEGE

Se tomó un gramo de suelo de cada tratamiento, se diluyó en solución salina con detergente. Se hicieron diluciones decimales 10⁻¹ a 10⁻¹⁰ pero solo se usó de la 10⁻⁵ a 10⁻⁸. Luego se tomó de 0.1 a 0.2 ml de muestra y se colocó en agar ARA las colonias que mostraron crecimiento con la dilución 10⁻⁶ fueron después resembradas en agar nutritivo y nuevamente en agar ARA para su purificación y extracción de ADN y su posterior identificación molecular (Villalba, 2013).

Posteriormente la FITO mediante *S. vulgare* potenciado con *P. chrysogenum* y *A. niger* y a plántula. En el suelo cuando *S. vulgare* alcanzó la madurez fisiológica después de 90 días, se determinó la concentración de ARA por Soxhlet como variable respuesta de la eliminación del ARA. Los datos experimentales se analizaron por Tukey HSD al 0.05% y uso del programa Statgraphics Centurion XVI.II (Walpole *et al.*, 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La Tabla 1 muestra la BIS de suelo con 60,000 ppm de ARA por ALEDOS, H_2O_2 , EFUC, SOMI y la humedad al 80% de la capacidad de campo despues de 8 semanas, lo decrecieron a 32,700 ppm (Lu et~al., 2012), El H_2O_2 facilitó la oxidación del ARA (Pinto et~al., 2006), el control de la humedad a 80% de la capacidad de campo facilito la circulación del agua y gases en el suelo, y la rápida mineralización de los HICO; lacasa del EFUC degradó los HICO aromáticos y la SOMI con minerales de N y P, para la mineralización del ARA.

Tabla 1. En suelo concentración de aceite residual automotriz después de la bioestimulación por 8 semanas

Suelo	Aceite residual automotriz concentración (ppm)
Suelo con ARA (control negativo):	60,000 ppm ^{b*}
Suelo con ARA bioestimulado con DEGGE 0.5% + H ₂ O ₂ 0.5% + extracto fúngico crudo + solución mineral + control humedad a capacidad de campo al 80%	32,700 ppm ^a

^{*}Tukey (0.025) *valores con letras distintas fueron estadísticamente diferentes. ALETO: alcohol etoxilado. ALEDOS: dodecil sulfato de sodio/alcohol etoxilado.

En la figura 1 se muestra la identificación de bacterias de un suelo con 40,000 ppm de ARA que se realizó basado en las secuencias parciales de los genes 16S rRNA donde de los 47 se pudo detectar tres grandes grupos: actinomicetos (AC), firmicutes (FIR) y proteobacterias (PRO), donde se observa que la mayoría de los están reportadas como degradadores de HICO o productores de detergentes, como los AC Streptomyces sp SCARA1h (Cheng et al., 2015) y Gordonia amicalis SCARA8i (Figura 5) (Hao et al., 2008) que ha sido aislada de suelos contaminados con altas concentraciones de HICO y produce al menos dos tipos de tensioactivos: bioemulsificantes extracelulares que son sintetizados en presencia de HICO y en fuentes de carbono solubles en aqua y biosurfactantes glicolipidos unidos a las células que se producen solo en presencia de HICO (Franzetti et al., 2008) Así como el FIR B. subtilis que es productora de biosurfactantes bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas facultativas (Yañez-Ocampo & Wong-Villareal, 2013). Por su parte en las PRO se encontró gran abundancia de nuevas especies que no han sido reportadas de Achromobacter, mientras que las PRO del género Acinetobacter producen complejos de lípidospolisacarados como detergentes para reducir la tensión superficial entre la fase aqua-aceite (Youssef et al., 2004). Los resultados anteriores suponen que las bacterias aisladas pueden ser posibles candidatos en su uso en la BIS de suelos contaminados con ARA.

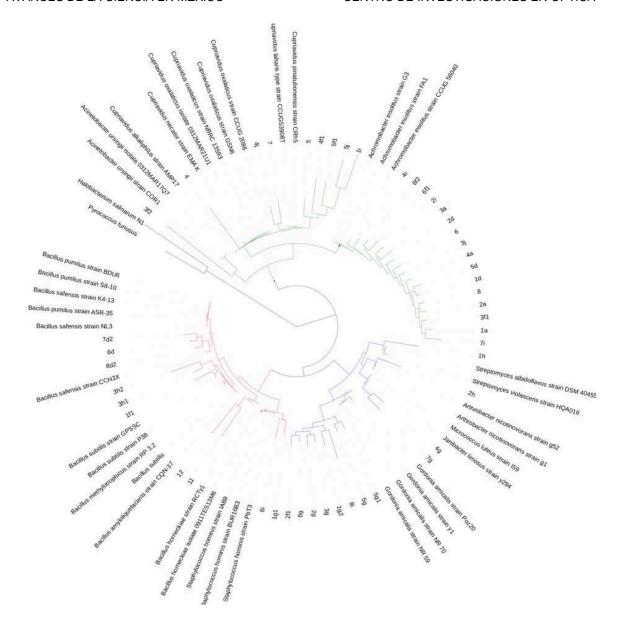


Figura 1. Árbol filogenético basado en las secuencias parciales de los genes 16S rRNA de bacterias aisladas de un suelo contaminado con 45,000 ppm de aceite residual automotriz.

Suelo

En la Tabla 2 se presenta la BIS de suelo con 32,700 ppm de ARA en 60 días y posterior FITO con *S. vuglare* potenciado con *A. niger* durante 90 días, el ARA se redujo de 32,700 ppm a 2,649 ppm, mientras que en ese mismo suelo cuando *S. vulgare* se potenció con *P. chrysogenum* se disminuyó hasta 3,317 ppm Lo anterior sugiere que *A. niger* promovió su crecimiento y la mayor mineralización de la concentración de ARA (Izinyon & Seghosime, 2013) a una concentración inferior a la máxima aceptada por la NOM-138. Luego la FITO mediante *S. vulgare* con *A. niger* y *P. chrysogenum* lo minimizó a 3,890 ppm, mientras ese suelo, fitorremediado solo mediante *S. vulgare* sin inocular lo decreció a 4,143 ppm, estos valores fueron inferiores al máximo aceptado por la NOM-138, por lo que se remedió en comparación al suelo solo bioestimulado, sin FITO donde se redujo de 32,700 a 13, 057 ppm y al suelo CN donde decreció a 43,003 ppm por atenuación natural.

Tabla 2. En suelo concentración de aceite residual automotriz después de 90 días de fitorremediación mediante Sorghum vulgare potenciado con Aspergilllus niger y Penicillium chrysogenum.

	concentración(ppm)	
Suelo con ARA (control negativo)	45,003 ^f	
Suelo con ARA bioestimulado	13,057 ^e	
Suelo con ARA bioestimulado y fitorremediado	4,143 ^{d*}	
solo con Sorghum vulgare Figura 7. Árbol filogenético bas bacterias aisladas de un suelo con Sorghum vulgar	sado en las secuencias parciales de los genes 165 contaminado con 45,000 ppm de aceite residual au	3 rRNA (tomotriz
Aspergillus niger	2, 649 ^a	

Aceite residual automotriz

de

Penicillium chrysogenum	3,317 ^{b*}
Aspergillus niger + Penicillium chrysogenum	3,890 ^{c*}

CONCLUSIONES

La BIS secuencial y acumulativa de un suelo contaminado con una relativa alta concentración con DEGE, H2O2, EXFUC, SOMI y el control de la humedad al 80% de la capacidad de campo celeró y disminuyó la concentración de ARA en comparación suelo sin la BIS. La FITO con *S. vulgare* fue potenciada con *A. niger* y *P. chrysogenum* aumentó su capacidad de fitodegradación. La suma de las acciones BIS/EITO dio como resultado manor tiempo para que la mayor captidad de ARA se *Tukey (0.025) *valores con letras distintas fueron estadísticamente diferentes.

BIBLIOGRAFÍA

- Baltierra-Trejo E., Silva-Espino E., Márquez-Benavides L. y Sánchez-Yáñez J. M. (2016). Inducción de la degradación de lignina de paja de trigo en aromátios por Aspergillus spp. y Penicillium chrysogenum. J. Selva Andina Res. Soc. 7, 10-19.
- Delgadillo-López A. E., González-Ramírez C. A., Prieto-García F., Villagómez-Ibarra J. R. y Acevedo-Sandoval O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. Trop Subtrop Agroecosyst. 14, 597-612.
- Franzetti A., Bestetti G., Caredda P., La Colla P., Tamburini E. (2008). Surface-active compounds and their role in the access to hydrocarbons in *Gordonia* strains. FEMS Microbiol Ecol 63:238-248.
- Izinyon O. C. y Seghosime A. (2013). Assessment of Show Star Grass (*Melampodium Paludosum*) for Phytoremediation of Motor Oil Contaminated Soil. Civil Environ Res. 3, 19-28.
- Larenas P. G. y De Viana M. (2005). Germinación y supervivencia del pasto cubano Tithonia tubaeformis (Asteraceae) en suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo. Ecol. Austral. 15, 177-181.

- LGEEPA (2008) Ley general del equilibrio ecológico y la protección al ambiente. Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión. Diario Oficial de la Federación. 24 de enero de 2017.
- 7. Lu, S. T. y Kaplan, I. R. (2008). Characterization of Motor Lubricating Oils and TheirOil—Water Partition. Environmental Forensics. 9, 295-309.
- 8. Mohsenzadeh F., Chehregani R. A. y Akbari M. (2012). Evaluation of oil removal efficiency and enzymatic activity in some fungal strains for bioremediation of petroleum-polluted soils. Iranian J Environ Health Sci Eng. 9, 26.
- NOM-021-SEMARNAT-2000. Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial de la Federación. 31 de diciembre de 2002.
- 10. NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificación para la remediación. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial de la Federación. 10 de septiembre de 2010.
- 11. Pardo C. J. L., Perdomo R. M. C. y Benavides L. D. J. L. (2004). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. NOVA. 2, 40-49.
- 12. Pinto M. A., Geraldes K. A., De Franceschi D. D. y Marcos B. D. (2007). Laboratory study on the bioremediation of diésel oil contaminated soil from a petrol station. Braz. J. Microbiol. 38, 346-353.
- 13. Walpole E.R., Myers R. y Myers L.S. (2007). *Probabilidad & Estadística para Ingeniería & Ciencias*. Ed. Pearson, 8^a. México. 509 p.
- Youssef N. H., Duncan K. E., Nagle D. P., Savage K. N., Knapp R. M., McInerney M. J. (2004). Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms. Journal of Microbiological Methods 56: 339–347

ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE UNA LACASA EXTRACELULAR DEL HONGO Paraconiothyrium brasiliense

Marina Arredondo Santoyo, Ma. Soledad Vázquez Garcidueñas y Gerardo Vázquez Marrufo.

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología, Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia División de Estudios de Posgrado, Fac. de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez

RESUMEN

Las lacasas extracelulares fúngicas catalizan la oxidación de gran variedad de compuestos fenólicos, mostrando amplio potencial biotecnológico. En el hongo ascomiceto Paraconiothyrium variabile se ha reportado actividad de lacasa extracelular, pero se desconocen las características estructurales de dichas proteínas. El objetivo de este trabajo fue identificar y caracterizar un gen de lacasa extracelular de la cepa CMU-196 de Paraconiothyrium brasiliense y realizar un análisis in silico de la proteína codificada. Se obtuvo por PCR una secuencia de 1868 pb de la región codificante de un gen de lacasa de la cepa CMU-196. La comparación Blastn de la secuencia obtenida mostró una identidad del 98% con el gen lac de la cepa GHJ-4 de P. variabile, ambos genes tienen una región codificante de 1716 pb y 2 intrones en las posiciones 180-282 y 734-784. La traducción in silico generó secuencias de 571 aa en ambas especies con un peso molecular estimado de 62.84 (GHJ-4) y 62.88 kDa (CMU-196). Se determinó la presencia del péptido señal de 18 aa, seis sitios posibles de N-glicosilación y un pl de 4.2 para ambas lacasas. Un alineamiento múltiple que incluyó las secuencias de lacasas cristalizadas de Melanocarpus albomyces y Thielavia arenaria permitió identificar las cuatro secuencias consenso L1 a L4 y la puerta SDS en el extremo C-terminal. Las relaciones filogenéticas de las lacasas de Paraconiothyrium muestran cercanía con enzimas de ascomicetos saprófitos y fitopatógenos. En conclusión, las secuencias de aminoácidos analizadas presentan las características estructurales y filogenéticas de una lacasa extracelular sensu stricto.

INTRODUCCIÓN

Las lacasas (benzenediol:oxigeno oxidorreductasas, EC 1.10.3.2) son metaloenzimas que pertenecen a la familia de las multicobre oxidasas (MCOs). Estas enzimas catalizan la oxidación de diversos sustratos aromáticos con la concomitante reducción del oxígeno molecular a agua. Este proceso redox es mediado por dos centros que contienen cuatro átomos de cobre en su estado de oxidación +2. Estos átomos de cobre se clasifican como T1, T2 o T3 según sus características espectroscópicas (Quintanar *et al.* 2007). Las lacasas extracelulares son glicoproteínas generalmente monoméricas, con pesos moleculares que van de 60 a 70 kDa (Giardiana *et al.* 2006). Estas enzimas están ampliamente distribuidas en la naturaleza y las funciones fisiológicas que realizan dependen de su origen y de sus propiedades bioquímicas y estructurales. En los hongos, las actividades de lacasa han estado relacionadas con la degradación del material lignocelulósico, la producción de pigmentos, la esporulación, procesos de morfogénesis, fenómenos de patogénesis hacia plantas y animales (Baldrian *et al.* 2006), entre otros. Esta versatilidad funcional es en parte debida a que poseen baja especificidad de sustrato y exhiben una amplia gama de potenciales redox (Giardiana *et al.* 2006).

Debido a esta flexibilidad, estas enzimas son capaces de actuar sobre difenoles orto- y para-, fenoles metoxi-sustituidos, diaminas aromáticas y bencenotioles. Estas enzimas pueden oxidar

compuestos metálicos orgánicos e inorgánicos. Además, la gama de sustratos de las lacasas se puede ampliar a compuestos no fenólicos mediante la inclusión de los mediadores redox, con la que son capaces de oxidar grandes polímeros, tales como la lignina (Maté *et al.* 2011). Esta propiedad ha sido ampliamente utilizada en diversos procesos biotecnológicos, incluyendo el biopulpeo en la industria papelera, la biorremediación, la degradación de colorantes, la conversión enzimática de intermediarios químicos y la síntesis de productos farmacéuticos, entre otros (Sharaddha *et al.* 2011).

La mayoría de las lacasas empleadas en procesos biotecnológicos han sido obtenidas de distintas especies de hongos. La presencia de las lacasas se ha documentado en varios grupos taxonómicos y funcionales de hongos, incluyendo levaduras (Tetsch et al. 2006), ascomicetes filamentosos (Tamayo et al. 2011), basidiomicetes (Hoshida et al. 2001), así como en especies de micorrizas (Courty et al. 2009). Aunque los estudios sobre la capacidad de especies de hongos para degradar lignina se han centrado particularmente en especies de basidiomicetes principalmente de los géneros Pleurotus, Trametes y Phanerochaete, de las cuales se ha estudiado cada vez con mayor detalle el mecanismo enzimático por el cual se lleva a cabo dicho proceso (Wong et al., 2009), también se ha reportado la actividad ligninolítica en especies del grupo de los ascomicetes (Lundell et al., 2010). En el hongo ascomiceto Paraconiothyrium variabile se ha reportado actividad de lacasa extracelular, pero se desconocen las características estructurales de las proteínas producidas; además, no se ha reportado dicha actividad enzimática en otras especies del género. Recientemente, en nuestro grupo de trabajo se identificó a una cepa de Paraconiothyrium brasiliense (cepa CMU-196) nativa del estado de Michoacán, la cual presenta actividad extracelular de lacasa. Se ha iniciado la caracterización fisiológica, bioquímica y genética de dicha cepa, con la finalidad de evaluar la producción de lacasa en diferentes condiciones de cultivo y de la capacidad de la enzima para procesar distintos sustratos. El análisis bioinformático del gen y la proteína codificada permite conocer las características estructurales y funcionales de la enzima, ayudando en la evaluación del potencial biotecnológico de ésta.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo fue identificar y caracterizar un gen de lacasa extracelular de la cepa CMU-196 de *Paraconiothyrium brasiliense*, así como realizar un análisis *in silico* de la proteína codificada.

PARTE EXPERIMENTAL

Extracción de ADN

El ADN genómico se obtuvo a partir de cultivos en medio sólido agar papa dextrosa (PDA) con 10 días de incubación. Se recuperó el micelio y se congeló con N_2 líquido, se maceró, se transfirió a un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL y se adicionaron 500 μ L buffer de lisis (SDS 0.5%, NaCl 250 mM, EDTA 25 mM, Tris-HCl 200mM, pH 8.5). Se agregó el mismo volumen de fenol/cloroformo (1:1 v/v), se agitó en vortex por 1 min y se centrifugó a 10,000 rpm. La fase acuosa se recuperó, se trató con RNAsa (0.5U/ μ L a 37 °C por dos horas), se extrajo nuevamente con fenol/cloroformo (1:1 v/v), y se centrifugó de la manera previamente descrita; de la fase acuosa recuperada el ADN se precipitó con el mismo volumen de isopropanol frío. La pastilla se lavó con etanol (70%), se secó a temperatura ambiente y se resuspendió en 30 μ L de H_2 O destilada desionizada estéril. La integridad del ADN se corroboró en geles de agarosa al 1% (p/v) teñidos con SYBER Safe (Invitrogen, USA).

Ensayos de amplificación mediante PCR, clonación y secuenciación

El ADN genómico de la cepa de estudio se utilizó como templado para la amplificación parcial del gen con los oligonucleótidos Cu1AF/Cu3R (D'Sousa *et al.* 1996). Las reacciones de amplificación se realizaron en un volumen final de 25 μL. La concentración de la mezcla de reacción fue: 10 mM de Buffer Tris-HCl pH 8.0; 2.5 mM de MgCl₂; 0.2 mM de cada dNTP; 0.2 mM de oligonucleótido; 0.5 U de *Taq* DNA polimerasa recombinante (Invitrogen, USA); 25 ng/μL de ADN; el volumen final se ajustó con H₂O destilada desionizada. Las reacciones de PCR se realizaron mediante el siguiente protocolo de amplificación: un ciclo inicial de desnaturalización a 95 °C por 7 min, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 1 min, alineamiento a 55 °C por 1 min y extensión a 72 °C por 2 min, con una extensión final a 72 °C durante 10 min. Los productos de amplificación obtenidos se analizaron en geles de agarosa al 1.5% (p/v), corridos a 90 V y teñidos con SYBER safe (Invitrogen, USA).

El producto de amplificación se clonó utilizando el kit TOPO® TA Cloning® (InvitrogenTM, USA) que contiene el vector 4.0 TOPO® TA y siguiendo las indicaciones del fabricante se colocaron 4 μL del producto de PCR fresco, 1 μL de sol salina y 1 μL de vector incubándose por 5 min a 23°C y posteriormente se llevó a cabo la transformación de células competentes de *E. coli* TOP 10 por choque térmico de 0°C a 42°C por 60 s, después se adicionaron 250 μL de medio S.O.C. y se incubó a 37°C y 200 rpm por 1 h. En seguida se incorporaron 150 μL del producto transformado en placas de medio LBA con ampicilina (100 μg/μL) incubándose a 37°C por 24h día, para llevar a cabo la extracción de ADN plasmídico se picaron las diferentes colonias bacterianas con palillos estériles mismos que fueron colocados en tubos de cultivo que contenían 3 mL de medio LB con antibiótico y se incubaron a 37°C y 200 rpm durante 24 h. En tubos de microcentrífuga de 1.5 mL se cosecharon las células por centrifugación y se extrajo el ADN plasmídico por métodos convencionales, se confirmó la presencia del inserto mediante PCR utilizando los iniciadores anteriormente mencionados para el fragmento LAC.

El producto fue secuenciado por Elim Biopharm (Hayward CA, USA) obteniéndose un fragmento de 876 pb del gen de *lac*. La secuencia obtenida fue analizada en la base de datos de NCBI GenBank mediante el algoritmo BLASTn, mostrando una identidad del 98% con respecto al gen *lac* de la cepa GHJ-4 de *P. variabile* (JF82858) de 1868 pb.

Para obtener la estructura completa del gen se diseñaron oligonucleotidos específicos que amplificaron los fragmentos complementarios hacia las regiones 5' y 3'(tabla 1) empleando el servidor en línea OligoZnalyzer 3.1 de Integrad DNA tecnologies. Los productos de amplificación obtenidos fueron secuenciados de la manera anteriormente descrita y ensamblados manualmente para construir la secuencia completa del gen.

Tabla 1. Oligonucleotidos diseñados para la amplificación del gen lac

Fragment o	Oligo	Secuencia	Temperatur a de alineamient o	Tamaño del fragmento (pb)
	DLPV1	ATG CGT TCT GGC TTT TTC TTC GG	50.00	700
5' →	RLPB1	CCG TTG ATG ATG ATT CCT CCA AAG AT	58 °C	729
	RLPB1 1	GGA TTC AGC GGT AAT GTA GAG TTC G	58 °C	876
← 3′	RLPV2	TTA TAC ACC AGA ATC CTC CTG	57 °C	606

	CTC		
DLPB2	TAC CTC AAC AGC ACG ACC AT		
DLPB2 2	AAC ATC GTG CCC TAC CTC TCC	57 °C	507

Análisis bioinformático de lacasas

Puesto que no existía ningún reporte de las características estructurales y funcionales de la lacasa de la cepa GHJ-4 de *P. variabile* depositado en GenBank, se realizó un análisis bioinfomático de las lacasas de ambas cepas. Con la secuencia completa de los genes *lac* de la cepa 196-CMU y de la cepa GHJ-4 se realizó la traducción *in silico* a secuencia de aminoácidos utilizando el programa Translate del servidor ExPASy (http://web.expasy.org). Posteriormente se analizaron las características estructurales en las secuencias de aa, empleando los programas en línea del mismo servidor; el programa SignalP versión 4.0 fue utilizado para determinar la presencia y posición del péptido señal de secreción, el programa NetNGlyc 1.0 se utilizó para determinar los sitios de N-glicosilación (Asn-XXX-Ser/Thr), y el pl/Mw Tool para determinar el punto isoeléctrico y el peso molecular estimado.

Mediante un alineamiento múltiple utilizando el programa CLUSTALX versión 2.0.11 (http://www.clustal.org/clustal2/) y tomando como referencia dos secuencias de aminoácidos de lacasas cristalizadas de las especies *Melanocarpus albomyces* (Mal_4088173) y *Thielavia arenaria* (Tar_333361328) se identificaron motivos conservados en las secuencias de aminoacidos.

Posteriormente se realizó un análisis filogenético empleando secuencias de lacasas de ascomicetes, basidiomicetes y plantas ya reportadas por Cázares *el al.* (2013). Los alineamientos obtenidos se ajustaron manualmente. El árbol filogenético se construyó con el programa MEGA versión 5.05 (http://megasoftware.net/) a través del método de Neighbor Joining utilizando el modelo de distancia evolutiva Jones-Taylor-Tornton y un bootstrap de 500 repeticiones.

RESULTADOS

Estructura del gen

Se construyó la secuencia completa de 1868 pb del gen de lacasa de *P. brasiliense* y al realizar la búsqueda BLAST se encontró una identidad del 98% (1839/1868) con respecto al gen *lac* de la cepa GHJ-4 de *P. variabile*, conservando la estructura que cuenta con una región codificante de 1716 pb, un intrón de 102 pb en la posición 180 y otro de 50 pb en la posición 734 (figura 1).

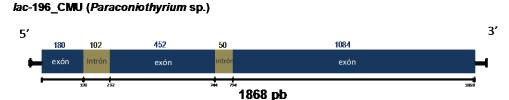


Figura 1. Estructura del gen lac de la cepa CMU-196 de Paraconiothyrium brasiliense.

Características estructurales de lacasas

Una vez realizada la traducción *in silico* se obtuvieron secuencias de 571 amino ácidos para ambas lacasas; GHJ-4 y CMU-196, estimandose un peso molecular de 62.84 y 62.88 kDa respectivamente. Se determinó la presencia del péptido señal en la posición 18, seis sitios de N-glicosilación y un p*l* de 4.20 (Tabla 1).

	GHJ-4	CMU-196
Tamaño	571	571
Péptido señal	ASA-HP / 1-18	ASA-HP / 1-18
N- Glicosilación	N96, N125, N137, N237	N96, N125, N137, N237,
Asn-X-Ser/Thr	N278, N406	N278, N406
MW (kDa)	62.84	62.88
p <i>l</i>	4.20	4.20

En la figura 2, se muestra el alineamiento múltiple de las secuencias de aminoácidos de las lacasas de las cepas analizadas, así como de las de referencia, en general puede apreciarse las dos lacasas de estudio presentan todas las características estructurales de una lacasa extracelular. Se reconocen la presencia de las cuatro secuencias consenso L1-L4, que poseen una longitud de entre 8 y 24 aminoácidos y se distribuyen a lo largo de la cadena polipeptídica; se observa también la presencia de la puerta SDS y el extremo C-terminal, que son características distintivas en las lacasas de ascomicetes.



Figura 2. Alineamiento de secuencias de lacasas de *Paraconiothyrium*. Se muestra el alineamiento construido con el paquete Clustal X de las secuencias de las lacasas de estudio con las secuencias de las lacasas cristalizadas de *Melanocarpus albomyces* y *Thielavia arenaria*. La secuencia de péptido señal está delineada en caja de color morado y los sitios de N-Glicosilación en rosa. Los residuos conservados implicados en el enlace de cobre están en rojo, y las regiones L1 – L4 completas se indican con una línea verde en la parte inferior. Los aminoácidos sombreadas en amarillo indican residuos en contacto con el sustrato. Los residuos que forman la puerta SDS están sombreados en color morado, y el aminoácido sombreado en negro clasifican las lacasas como clase 1 (Met), clase 2 (Leu) o 3 (Phe). El Cterminial conservado se indica en color café claro. As secuencias corresponden a: 196_CMU, *P. brasiliense*; Pv_JF82858, *P. variabile*; Mal_407881, *M. albomyces*; Tr_3333613, *T. arenaria*. En las tres últimas secuencias, el número de acceso al Gene Bank se indica después del nombre.

Análisis filogenético

El análisis filogenético realizado muestra la separación en ramas terminales de lacasas de basisiomicetos y ascomicetos con un valor de bootstrap del 100%, a su vez, las lacasas de

ascomicetes también se separan en dos grandes grupos que corresponden a las intracelulares con un boostrap de 98% y las extracelulares con un valor de 100%; dentro de las extracelulares se muestra que las lacasas de *Paraconiothyrium* se agrupan en una sola rama terminal que se separa con un valor boostrap de 100% mostrando relaciones filogenéticas con enzimas de especies de saprofitos y fitopatógenos (Figura 3).

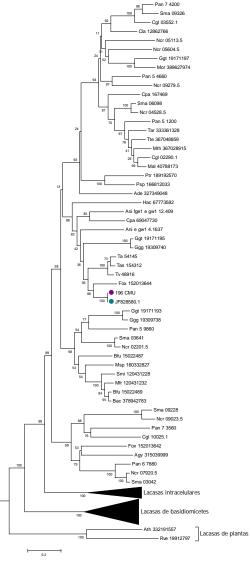


Figura 3. Análisis filogenético de lacasas y especies de *Paraconiothyrium*. El patrón de agrupamiento se elaboró por el criterio de Neighbor Joining utilizando el modelo de distancia evolutiva de Jones-Taylor-Tornton, 500 bootstrap. Con círculos de color morado y verde se muestran las lacasas de *Paraconiothyrium* de la cepa 196 CMU y GHJ-4 respectivamente.

CONCLUSIONES

La secuencia de aminoácidos de las dos lacasas analizadas presenta todas las características estructurales y filogenéticas de una lacasa extracelular. La secuencia del gen *lac* de

Paraconiothyrium brasiliense permitirá el diseño de iniciadores para el análisis transcripcional en respuesta a distintos inductores de dicha actividad enzimática.

BIBLIOGRAFIA

- 1. Baldrian P. 2006. Fungal laccases occurrence and properties. FEMS Microbiology Reviews. 30: 215–242.
- 2. Cazares S.V., Vazquez M.S., Vazquez G. 2013. Structural and phylogenetic analysis of laccases from *Trichoderma*: a bioinformatic approach. PLoS One. 8(1): e55295.
- 3. Courty P.E., Hoegger P.J., Kilaru S., Kohler A., Bue'e M. 2009. Phylogenetic analysis, genomic organization, and expression analysis of multi-copper oxidases in the ectomycorrhizal basidiomycete Laccaria bicolor. New Phytologist .182: 736–750.
- 4. D'Souza T.M., Boominathan K., Reddy C.A. 1996. Isolation of laccase gene-specific sequences from white rot and brown rot fungi by PCR. Applied Environmental Microbiology. 62: 3739–3744.
- 5. Giardiana P., Faraco V., Pezzella C., Piscitelli A., Vanhulle S. 2010. Laccases: a neverending story. Cellular and Molecular Life Sciences. 67: 369–385.
- 6. Hoshida H., Nakao M., Kanazawa H., Kubo K., Hakukawa T. 2001. Isolation of five laccase gene sequences from the white-rot fungus Trametes sanguinea by PCR, and cloning, characterization and expression of the laccase cDNA in yeast. Journal of Bioscience and Bioengineering. 92: 372–380.
- 7. Lundell T.K., Mila R.M., Kristina H. 2010. Linginin-modifuing enzymes in filamentous basidiomycetes ecological, functional and phylogenetic review. Journal of Basic Microbiology. 50: 5–20.
- 8. Maté D., García E., Camarero S., Alcalde M. 2011. Directed evolution of fungal laccases. Current Genomics. 12: 113–122.
- 9. Quintanar L., Stoj C., Taylor A.B., Hart P.J., Kosman D.J. 2007. Shall we dance? How a multicopper oxidase chooses its electron transfer partner. Accounts of chemical research. 40: 445–452.
- 10. Shraddha, Shekher R., Sehgal S., Kamthania M., Kumar A. 2011. Laccase: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. Enzyme Research.
- Tamayo J.A., Barends S., Verhaert R.M.D., de Graaff L.H. 2011. The Aspergillus niger multicopper oxidase family: analysis and overexpression of laccase-like encoding genes. Microbial Cell Factories. 10: 78.
- 12. Tetsch L., Bend J., Hölker U. 2006. Molecular and enzymatic characterization of extra and intracellular laccases from the acidophilic ascomycete *Hortaea acidophila*. Antonie Van Leeuwenhoek, 90: 183–194.
- 13. Wong D.W. 2009. Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes. Applied Biochemistry Biotechnology. 157: 174–209.

ANÁLISIS DE LA ESTRATIFICACIÓN DE PRODUCTORES BENEFICIARIOS DE PROGRAMAS DE LA SAGARPA Y SU INSERCIÓN EN LAS CADENAS PRODUCTIVAS DE VERACRUZ

Carmen Aridai Hernández Estrada y Rogelio Miranda Marini

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias.

RESUMEN

Los organismos públicos han realizado censos y muestreos que les permiten conocer a la población objetivo atender, de este modo la Secretaria de Desarrollo Social (SEDESOL), clasifica mediante grados de marginación a la población, el Consejo Nacional de Evaluación Política y Desarrollo Social (CONEVAL), clasifica los contenidos en la canasta básica de la población el acceso y el costo de ella en el área rural y urbana; y la Secretaria de Agricultura, Ganadería y Pesca (SAGARPA), estratifica a los productores por ingresos, grado de marginación, educación, entre otros factores, para este estudio pondremos énfasis en las clasificaciones de acceso a un solo cultivo agrícola de subsistencia, una especie pecuaria, dos cultivos o dos especies pecuarias o bien diversidad de actividades relacionadas con el campo incluyendo la pesca; a partir de ello se realizó un análisis de la muestra realizada en el estado de Veracruz de los productores del estrato I, II y III, que son considerados como población objetivo en el programa de apoyo a pequeños productores de la SAGARPA, con el fin de evaluar si estos estratos son beneficiados por el componente, cuando generalmente el apovo se enfoca hacia las cadenas prioritarias importantes en el estado. Del análisis se obtuvo que la población del estrato I únicamente produce maíz y un porcentaje menor maíz y frijol, el estrato II produce maíz, frijol y algún cultivo que se encuentra dentro de las cadenas importantes para el estado la cual puede ser agrícola o pecuaria y en menor grado acuícola; el estrato III puede producir maíz, frijol y hasta participar en dos cadenas productivas alternando agrícola y pecuaria.

INTRODUCCIÓN

Con fines de un control, atención de la población objetivo y direccionamiento de los diferentes programas públicos se llevan a cabo estratificaciones de la población la cual puede ser a partir de, ingresos, nivel educativo, bienes materiales (propiedades, infraestructura); de este modo en búsqueda de la atención y coordinación de un programa público se realizó un análisis que integrara las características de la población en alineación a las reglas de operación del componente extensionismo, el cual forma parte del Programa Apoyo a Pequeños Productores, el cual tiene como objetivo principal "aumentar la productividad de las unidades económicas rurales, conformadas por pequeños productores", siendo la población objetivo personas físicas o morales en el sector rural, la cual a nivel nacional asciende a 3'887,000 unidades económicas rurales correspondientes a los estratos I y II identificados en el diagnóstico del sector rural y pesquero de México (González, 2012). Dentro del programa Apoyo a Pequeños Productores, se atienden cinco componentes: Incentivos productivos, extensionismo, arráigate, fondo para el apoyo a proyectos productivos en núcleos agrarios (FAPPA), Fondo de apoyo para la productividad de la mujer emprendedora (PROMETE); cada uno de ellos es extenso y tiene sus particularidades, el presente análisis se realizó para definir la ejecución del componente extensionismo en el estado de Veracruz.

El componente cuenta con tres conceptos de incentivos: extensionistas, estrategias de extensionismo, centros regionales de extensionismo. El objetivo del componente de extensionismo es: "apoyar a los pequeños productores de las unidades económicas rurales con servicios de extensión, innovación y capacitación para incrementar la producción agroalimentaria". Considerando el estrato correspondiente se hace la anotación dar prioridad a los proyectos que cuenten con la participación de integrantes del conjunto de hogares del padrón de beneficiarios del

programa de inclusión social (prospera); y a los proyectos productivos ubicados en las localidades del programa piloto territorios productivos SEDESOL.

El extensionismo o servicios de extensión rural en México, tomaron auge a partir de la década de los 60', a la par de las políticas del estado protector y la revolución verde, en esos años existía al menos 25000 extensionistas contratados, en este periodo el objetivo principal era la sustitución de importaciones, la seguridad alimentaria y el apoyo a los agricultores de subsistencia centrando el apoyo en los alimentos básicos, es decir, maíz, trigo, frijol, arroz y sorgo. A partir de las políticas neoliberales y la firma del tratado de libre comercio, los servicios de extensión en México comenzaron a depender directamente de los programas de la SAGARPA; de este modo a partir del año 2000, se marcó una década en la que el extensionismo se convirtió en un servicio privado en todo el país donde se encargaba de la ejecución de proyectos apoyados por programas gubernamentales, este era el mercado de los despachos privados a través de los cuales se empleaban unos 6000 profesionistas, en los últimos siete años la asistencia técnica se lleva a cabo a través prestadores de servicios profesionales (PSP), quienes son contratados a través de distintos programas de la SAGARPA. El trabajo realizado por los PSP, busco a través de proyectos productivos, llevar a la práctica los programas públicos en una explotación agrícola, pecuaria, forestal o acuícola.

En el estado de Veracruz, la delegación estatal de la SAGARPA, anualmente contrata técnicos extensionistas de acuerdo con los programas que lo requieran de forma directa es decir con recurso federal; sin embargo algunos de los programas son llamados de concurrencia, el gobierno federal a través de la instancia responsable la SAGARPA, otorga recursos al estado quien es el ejecutor de los mismo colocando la proporción faltante de recursos y realiza la contratación de extensionistas; esto ocurre así en las 32 entidades federativas. Particularmente esta experiencia hará referencia al estado de Veracruz en el periodo 2016.

TEORÍA

A partir de los años ochenta, el gobierno mexicano ha tomado medidas en materia agropecuaria y del sector social rural, encaminadas al retiro del Estado y el impulso de organizaciones empresariales y no gubernamentales que atendieran a esta población encaminándola a la competencia económica y de mercado de productor del campo, de esta manera disminuyó el interés para apoyar a los pequeños productores del campo, esto ha ocasionado un aumento en la migración hacia las ciudades cercanas o el principal destino Estados Unidos, el campo se ha ido abandonando a nivel de pequeños productores y solo sobreviven las empresas o productores grandes que lograron colocarse en los mercados internacionales. Ante ello a partir de la Ley de Desarrollo Rural Sustentable (2001), se sugiere una estructura en los tres órdenes de gobierno, a través de los consejos de desarrollo rural sustentable el Consejo Mexicano para el Desarrollo Rural Sustentable, los Consejos Estatales para el Desarrollo Rural Sustentable, y los Consejos Municipales para el Desarrollo Rural Sustentable, los cuales actúan en el ámbito de su región, los Consejos tienen injerencia en el proceso de descentralización y federalización de los recursos de apoyo al campo, ya que en su seno se discuten las validaciones financieras y la utilización de los recursos en los ámbitos municipales y estatales. Aunque existan acuerdos intergubernamentales para la operación de los programas la existencia de los consejos abre la oportunidad a la inclusión de gente que está en contacto directo con el campo en la dirección y uso de los recursos de inversión pública (Tapia et. al., 2009).

El extensionismo agrícola no puede considerarse como el único medio para disminuir la pobreza en el campo, pero si influye para lograrlo, aun así, en las décadas de experiencia y recientemente el extensionimo debe abarcar aspectos de bienestar familiar, educación, mejoramiento de vida, atención a problemas de servicios públicos, genero, comercialización, una gama de factores que demanda el rezago en que ha tenido el sector agropecuario. La historia del término extensionismo proviene desde que fue usado para describir los programas de educación para adultos creados por las universidades y orientados a divulgar los conocimientos generados a una clientela fuera de los límites de la universidad; pero más relacionado las universidades en Estados Unidos relacionadas con la enseñanza de la agricultura, que lo utilizaron para definir sus programas de difusión de conocimientos agrícolas entre los agricultores; también se le ha interpretado como: *transferencia de tecnología*, que se refiere a la transmisión de información técnica, es decir, nuevas variedades, recomendaciones de fertilizantes, etc.; *asistencia técnica*, que se orienta más a, prácticas de cultivo y manejo de rebaños; *servicios de asesoría*, que incorporaban un enfoque de gestión agrícola (OCDE, 2011). Todos ellos finalmente caen en el extensionismo, que limita la atención prioritaria a la explotación agrícola y considera al agricultor como un participante pasivo; la asistencia técnica a menudo genera aumentos de producción, pero no siempre se traduce en mayores ingresos.

Retomando el desarrollo del extensionismo en el estado de Veracruz, en los últimos siete años se ha tratado de llevar a cabo la formación de los diferentes consejos y comités como lo manda la LDRS (2001), en 2010 la experiencia a nivel municipal con los COMUDERS, se contrató un extensionista para cada municipio del estado, además de los coordinadores regionales o distritales, de acuerdo al seguimiento del Instituto Nacional para el Desarrollo de Capacidades (Inca Rural) y la Secretaria de Desarrollo Agrícola Rural Pecuario y Acuícola del estado (SEDARPA) como instancia ejecutora cubría el pago del extensionista, a nivel de municipio implicaba la atención de temas de diversa índole, demeritando la calidad del servicio, posteriormente, se requirió también la integración de extensionista para las cadenas importantes como limón, café, bovinos, el seguimiento y elaboración de agendas de innovación. Después de este intento debido a políticas internas en la SEDARPA, la contratación de extensionistas fue escaza, nula o bien presento problemas de ejecución y seguimiento en la mayoría de los programas de concurrencia.

En 2016 la participación interinstitucional en el Comité Estatal Veracruzano de Desarrollo Rural Sustentable y a su vez en los diferentes grupos de trabajo de los programas de apoyo de ese año, promovieron la actualización de la información y seguimiento a los programas en años pasado encontrando un desfase de 2 años en las directrices como planes estratégicos y actualización de demandas y necesidades del campo en el estado, análisis de beneficiarios y proveedores de servicios del componente extensionismo.

PARTE EXPERIMENTAL

Para la toma de decisiones en el grupo de trabajo del componente de extensionismo en el estado de Veracruz, se realizó un análisis de respecto a la población objetivo estrato I y II, principalmente por la inquietud de que la población de estos estratos o bien aquellos municipios que forman parte de la cruzada nacional contra el hambre (CNCH), muchos de ellos considerados por la SEDESOL como de alta marginación (figura1) no fueran considerados como beneficiarios de asistencia técnica.



Figura1. Municipios de Veracruz en la CNCH. Fuente: elaboración propia

El seguimiento y supervisión por los representantes del INCA Rural en este componente era a través de los distritos de desarrollo rural (DDR), que tienen una distribución diferente en el estado. Otro factor eran las cadenas productivas importantes para el estado que fueron en ese año las siguientes:

Agrícola: Piña, Plátano, Papaya, Mango, Chayote, Chile, Vainilla, Hule, Arroz, Limón persa, maíz,

Oleaginosas, Cítricos, Café, Coco, Ornamentales, Caña de azúcar.

Pecuaria: Aves, Porcinos, Ovinos, Caprinos, Bovinos Carne, Bovinos leche y Miel.

Acuícola: Trucha, Tilapia y Escama.

La interrogante que se formo fue al respecto de la participación de los productores de estrato I y II en estas cadenas productivas; considerando que el estrato I de acuerdo al diagnóstico rural y pesquero 2012, describe a los estratos de como sigue:

El **estrato 1**. Se dedica únicamente agricultura familiar, sin vinculación con el mercado produce lo que consume y aun así no le alcanza por eso busca ingresos adicionales.

El **estrato 2**. Es de carácter familiar con ventas de productos primarios, lo cual corresponde al costo de oportunidad de la mano de obra del medio rural; este estrato también tiene ingresos externos, principalmente por la venta de mano de obra

Por lo que los datos más cercanos respecto a la producción de estos estratos, está en la base de datos de la encuesta de línea base 2008 de los programas de la SAGARPA, se analizó para el estado de Veracruz, depurando los datos a nivel estatal y posteriormente únicamente a las preguntas referentes a la producción, inversión, o reinversión en alguna actividad productiva agropecuaria, también se filtró únicamente a los estratos I y II, en los cuales el margen de error era de menos del 5 % de datos perdidos.

RESULTADOS

En la selección de datos para el estado fue necesario elaborar el cuadro 1 en el que se incluyen todos los estratos en los que los clasifica la SAGARPA, aunque el análisis detallado, fue al estrato I y II.

Cuadro 1. Población en el estado en los estratos sugeridos por la SAGARPA.

Estratos	% UER por Estrato en Veracruz	% UER por Estrato Nacional
E1: Familiar de subsistencia sin vinculación al mercado	2.2 %	22.4 %
E2: Familiar de subsistencia con vinculación al mercado	59.2 %	50.6 %
E3: En transición	15.6 %	8.3 %
E4: Empresarial con rentabilidad frágil	14.3 %	9.9 %
E5: Empresarial pujante	8.5 %	8.4 %

E6: Empresarial dinámico	0.2 %	0.3 %
Total	100%	100 %

El análisis de los datos arrojo lo siguiente, los cultivos que destacan en el estrato I (figura 2), en este estrato un 5.8 % puede tener especies, las cuales registran como bovinos; a pesar de que de acuerdo a un estudio en zonas marginadas un 35% de la población en promedio puede tener aves de traspatio, aunque no precisamente satisfacer sus necesidades de consumo (Hernández *et al.* 2014).

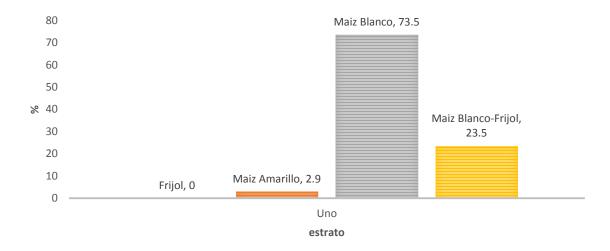


Figura 2. Distribución porcentual de los cultivos en el estrato I.

El cultivo principal de este estrato es el maíz, seguido de la asociación maíz-frijol, ambos considerados cultivos básicos, aunque el frijol sea una oleaginosa importante en la alimentación es menos importante que el maíz y no se registraron siembras exclusivas de este cultivo como fue el caso del maíz blanco y en menor medida el maíz amarillo.

De acuerdo con los datos de la encuesta el grueso de la población agropecuaria, se centra en el estrato II figura 3 se muestran los cultivos que destacan, los cuales no suman el 100% debido a que el 13 % restante representa menos del 1% de la población de este estrato y se muestra en la figura 4.

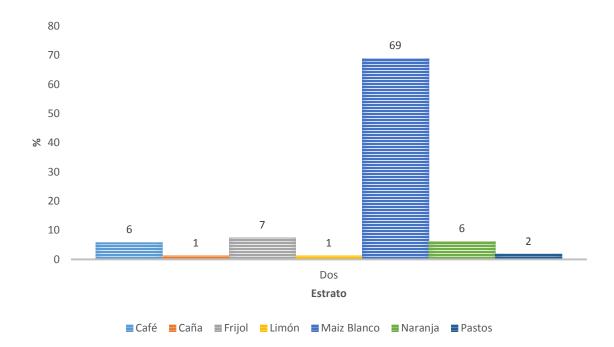


Figura 3. Distribución porcentual de los principales cultivos en el estrato II.



Figura 4. Distribución de los cultivos presentes en menos del 1% de la población del estrato II.

Aún con esta diversidad de cultivos presenten en el estrato dos, tenemos las siguientes variantes, en este estrato, hay 16 cultivos diferentes, pero 12 de ellos siempre estás asociados, principalmente con maíz 56%, seguido de café, naranja, caña, limón, frijol, distribuidos uniformemente. Así mismo un 42.3 % de los productores agrícolas declararon tener especies

bovino, porcino, ovino, caprino, aves, así como caballo o mula. En el estrato II un 10.6 % se dedica únicamente a una actividad pecuaria esto se describe en el cuadro 2.

Actividad Pecuaria % de Productores No. De Cabezas Bovino 72.3 15 a 50 Porcino 9.9 17 a 30 Gallinas Ponedoras 6.9 30 a 150 aves Ovino 5.0 5 a 30 Caprino 5.0 10 a 40 Otros 1.0 1 ejemplar

Cuadro 2. Población del estrato II dedicada a una actividad pecuaria.

En este estrato al menos un 5% puede tener dos a tres especies y son principalmente bovinos, porcinos y aves; en otros incluye, caballos, mulas y burros.

CONCLUSIONES

Una vez contando con el análisis que se muestra en el apartado de resultados se concluye que en el estrato dos se encuentran las cadenas productivas Arroz, Cítricos (Naranja y Mandarina), Limón Persa, Plátano, Mango, Chile, Caña, Café, Coco y Maíz en agrícolas; así como bovinos, cerdos, aves, caprinos y ovinos en el caso pecuario; no se registraron explotaciones acuícolas en este muestreo. Y en el caso de las cadenas pecuarias están involucradas el 50 % de ellas, con la anotación que oleaginosas representa a la producción de soya y no de frijol en el estado.

Sin lugar a dudas la presencia del maíz es significativa en estos sectores, pero en años posteriores es necesario incluir al frijol como un cultivo a dar seguimiento por los extensionistas.

En el estrato II, refleja el interés y la búsqueda de oportunidades al incursionar en cultivos de alguna cadena productiva importante en el estado, si bien es cierto esta es solo parte de la estrategia que representa la toma de decisiones y ejercicio de recursos públicos para tener el impacto esperado en la población objetivo con el fin de aumentar la productividad y la competitividad, como se mencionó por la OCDE (2011) el programa de extensión pública de México debe centrarse en los agricultores pequeños y medianos que ya trabajen con cadenas productivas o que tengan el potencial para hacerlo.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Consejo Nacional de Evaluación de la Política del Desarrollo Social. 2012. Construcción de la línea de bienestar. Documento metodológico. México D.F. CONEVAL. 74 pp.
- De la Garza N. T., C. R. Perez G., K. Barrios S., D.M. Franco V. y C. Aguilar. F. 2016. Evolución de la canasta alimentaria y del índice la tendencia laboral de la pobreza. CONEVAL. Mexico.

- http://www.coneval.gob.mx/Evaluacion/Paginas/estructura_alcance_instrumentos_CNCH.a spx
- 3. Galindo G. G. 2001. Uso de innovaciones en el grupo de ganaderos para la validación y transferencia de tecnología "Joachin", Veracruz, Mexico.
- 4. González C. A. 2012. "Diagnóstico del sector rural y pesquero: Identificación de la problemática del sector agropecuario y pesquero de México 2012". SAGARPA-FAO. México. D.F.
- 5. Hernández, E.C.A., R. Miranda M., A. Arroyo L. y L. Rebolledo M. 2015. Manejo de aves de traspatio para producción de huevo. Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia. ISSN. 2448-5063
- 6. McMahon M. A., A. Valdés, C. Carhil y A. Jankowska. 2011. Análisis del extensionismo agrícola en México. OCDE. París. 73 pp.
- 7. Tapia H. F., Lutz-Bachère B. y Vizcarra B. I. 2009. La política de desarrollo rural en México y el cambio institucional 2000-2006. Economía, sociedad y territorio. 9:(29)

ANALISIS SENSORIAL DE YOGURT SUPLEMENTADO CON FRUCTANOS DE AGAVE

María Isabel García Vieyra, Joel Flores Vazquez, Jorge Gustavo Dzul Cauich, Erika Mellado Mojica, Patricia Santiago García, Rafael Alejandro Veloz García y Juan Pablo Arce Ramírez

Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato

Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Centro de Investigación Científica de Yucatán

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Instituto Politécnico Nacional, Unidad Oaxaca.

RESUMEN

El yogurt se considera un alimento probiótico que mejora potencialmente la salud. Las fibras solubles como los fructanos de agave poseen numerosas propiedades nutraceúticas, siendo una de ellas su efecto prebiótico. Los fructanos son polímeros de fructosa generalmente unidos a un resto de una glucosa terminal. El objetivo de este trabajo fue evaluar las características sensoriales de un vogurt bajo en grasa adicionado con dos fuentes distintas de fructanos de agave (angustifolia y potatorum) al 3 y 6%. Para la elaboración del producto se utilizó leche fluida entera y descremada, cada una de las muestras se realizaron por duplicado. En el análisis sensorial, los tratamientos se dividieron en seis grupos que se codificaron aleatoriamente con tres dígitos y se presentaron a los panelistas, quienes anotaron su preferencia para viscosidad, cremosidad, sabor y aceptabilidad global. Los resultados fueron obtenidos mediante un panel no entrenado, las muestras se evaluaron en escala numérica de 1 a 9 siendo 1 me disgusta extremadamente, 3 me disgusta mucho, 5 ni me gusta ni me disgusta, 7 me gusta moderadamente y 9 me gusta extramadamente. En la evaluación del sabor y aceptabilidad global las muestras quedaron por arriba del valor numérico de 5, siendo del agrado de los panelistas la muestra FAA3 (fructanos de agave angustifolia 3%) mientras que en aceptabilidad global el testigo CG (completo en grasa sin fructanos) seguidos del FSP 3% (fructanos de agave potatorum 3%). Con estos resultados podemos concluir que las muestras adicionadas con 3% de las distintas especies de fructanos mostraron una mejor evaluación en los parámetros evaluados, asegurando la aceptación del producto.

INTRODUCCIÓN

Las cualidades sensoriales como; sabor, textura, viscosidad y cremosidad son cruciales para la aceptación del consumidor. Sus aplicaciones específicas al yogur y otros productos lácteos frescos fermentados son importantes porque su vida útil se basa en las características físicas, químicas ó características sensoriales aceptables para el consumidor. Los alimentos lácteos fermentados han constituido una parte vital de la dieta humana en muchas regiones del mundo desde tiempos inmemoriales. Se han consumido desde que los seres humanos domesticaron a los animales. El yogurt es un alimento obtenido de la fermentación de la leche pasteurizada que puede haber tenido modificaciones en la composición por medio de la acción de fermentos lácteos *Streptococcus thermophilus y Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus*, y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación¹.

Por otro lado muchas organizaciones de salud consideran que en la actualidad el nivel de consume de grasa es demasiado alto. El porcentaje de ingesta de grasa recomendado debe estar entre 15% y 30% del consumo total de energía por día. En este sentido hay ínteres por el desarrollo de productos lácteos bajos en grasa. Sin embargo, producir estos alimentos no es un tarea sencilla, ya que la presencia de grasa en estos productos tienen un impacto considerable en sus propiedades físicas, reológicas, texturales y de estabilidad microbiológica. Además, el contenido de grasa afecta otras características del producto tales como manejo, estabilidad y aceptabilidad (apariencia, sabor y sensación en la boca). Por ejemplo, los yogurts bajos en grasa pueden ser poco aceptados, principalmente por los cambios en sus características reológicas y una mayor sinéresis en el producto; y aunque la mayoría de los consumidores están conscientes de los beneficios para la salud de tener un consume adecuado de grasas, no están dispuestos a sacrificar el sabor, textura y aroma que disfrutan en los productos lácteos².

Así, el objetivo de la industria alimentaria es responder a la demanda de los consumidores y ofrecer un variedad de productos con bajo contenido en grasa, en el que el deseo del consumidor no se vea afectado. Una reducción en el contenido de grasa puede ser reemplazado con agua varios ingredientes que ayuden a controlar y proporcionar la funcionalidad de la grasa. Los sustitutos de grasas a base de carbohidratos, como la fibra soluble, se han utilizado con seguridad como espesantes y estabilizantes³.

Dentro de los componentes considerados como fibra dietética soluble se encuentran los fructanos que son polimeros de fructosa unidos mediante enlaces β (2-1) y β (2-6). Estos carbohidratos son resistentes a la hidrólisis por enzimas del tracto digestivo humano y pueden ser fermentados por la microflora presente en el colon, los productos de esta fermentación son ácidos grasos de cadena corta. Además se ha reportado que los fructanos son capaces de promover sensasión de saciedad y disminuir los niveles de glucosa, lípidos y el peso corporal así como incrementar la absorción de calcio y magnesio².

Los fructanos de agave son cadenas de fructosa altamente ramificadas y que tienen dentro de su estructura enlaces $\beta(2-1)$ y $\beta(2-6)$, con grados de polimerización de 3 a 60 unidades de monosacárido. La estructura ramificada de los fructanos de agave puede conferir diferentes propiedades fisicas, reológicas y sensoriales a los productos lacteos reducidos en grasa⁴.

En base a lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de los fructanos de agave (angustifolia y potatorum) en las propiedades sensoriales de yogurt reducido en grasa.

PARTE EXPERIMENTAL

Para la elaboración del yogurt se utilizó como materia prima leche fluida comercial completa y reducida en grasa, azúcar comercial, cultivo láctico (SACCO Lyofast Y 470 E), fructanos de agave *angustifolia* y fructanos de agave *potatorum*, a todos los tratamientos se les adicionó azúcar al 6%. En total 6 tratamientos, Control sin fructanos completo en grasa (CG), Control sin fructanos reducido en grasa (RG), Fructanos de A. *Angustifolia* 3 y 6% reducido en grasa (FAA3 y FAA6; respectivamente), Fructanos de A. *potatorum* 3 y 6% reducido en grasa (FAP3 y FAP6; respectivamente)

Procedimiento de elaboración de yogurt

Se pesaron 15 g de azúcar por cada tratamiento, se adicionaron a un matraz Erlenmeyer de 500 mL. A los tratamientos con 3 y 6 % de fructanos se les agregó 7.5 g y 15 g de fructanos respectivamente. Posteriormente se adicionaron 250 mL de leche según corresponda completa ó reducida en grasa. La mezcla anterior se pasteurizó a una temperatura de 83°C durante 15 minutos. Se enfriaron los matraces sobre baño de agua fría hasta alcanzar los 45°C y se procedió a la inoculación, la cantidad de inoculo utilizado fue de 0.03 g/L de cultivo láctico. Para la

fermentación las muestras se colocaron en una incubadora (redLINE, modelo RE 53 – UL) a una temperatura de 45 °C hasta que alcanzará una acidez titulable de 78 grados Doorning. Al término de la fermentación se retiraron de la incubadora y se pasó a refrigeración durante 12 horas. Después de las 12 horas de refrigeración se hizo el batido de las muestras.

Evaluación sensorial

Las variaciones de yogur fueron evaluadas por un panel de 42 estudiantes, empleados administrativos y personal académico de la Universidad de Guanajuato; que son consumidores frecuentes de bebidas lácteas fermentadas. Veinte mililitros de cada una de las seis variaciones experimentales de yogurt fueron colocados en vasos de plástico, codificados con números aleatorios de tres dígitos y presentados al azar a los panelistas, a quienes se les pidió que anotaran su preferencia para viscosidad, cremosidad, sabor y aceptabilidad global, mediante un análisis sensorial. Los resultados obtenidos fueron expresados mediante encuestas, en las cuales se evaluó en escala numérica hedónica de 1 a 9, siendo 1 me disgusta extremadamente, 2 me disgusta mucho, 3 me disgusta mucho, 4 me disgusta poco, 5 ni me gusta ni me disgusta, 6 me gusta poco, 7 me gusta moderadamente, 8 me gusta mucho y 9 me gusta extremadamente.

RESULTADOS

En el análisis sensorial las puntuaciones de aceptación se obtuvieron en una escala hedónica de nueve puntos (me disgusta extremadamente-me gusta extremadamente). En general, nuevos sabores o colores no son completamente aceptados cuando son incorporados a un nuevo producto en este caso el yogurt; sin embargo, el grado de aceptación es fácilmente aumentado por la exposición repetida (familiarización) al nuevo producto y brindando la información nutricional al consumidor.

Las pruebas hedónicas mostraron en general que los yogurts reducidos en grasa adicionados con fructanos tenían puntuaciones de cremosidad y viscosidad menor a los testigos RG y CG (Figura 1). La cremosidad mostró una separación de los tratamientos CG (7,24) y RG (6,16) con una cremosidad significativamente mayor comparada con nuestros tratamientos adicionados con fructanos, el tratamiento FAA6 obtuvo el valor más bajo para este atributo con 4.98 de la escala de aceptación (Figura 1). En el caso de los tratamientos con fructanos FAP3 y 6% obtuvieron valores superiores que FAA 3 y 6%. La sensación de viscosidad (Figura 1) valorada por los testigos muestra que CG (7,0) y RG (5,78) tuvieron valores superiores respecto a los adicionados con fructanos, teniendo así una evaluación descendiente, en promedio >5 dando una evaluación aceptable por los panelistas. Cabe resaltar que en este atributo al igual que en el sabor FAP 3 y 6% mostró valores similares independiente de su concentración caso contrario a FAA 3 y 6%.

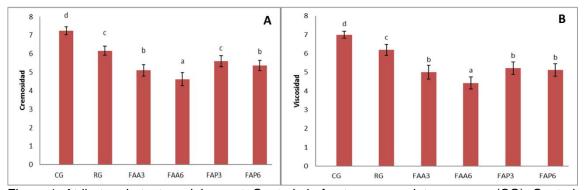


Figura 1. Atributos de textura del yogurt. Control sin fructanos completo en grasa (CG), Control sin fructanos reducido en grasa (RG), Fructanos de *A. Angustifolia* 3 y 6% reducido en grasa (FAA3 y FAA6; respectivamente), Fructanos de *A. potatorum* 3 y 6% reducido en grasa (FAP3 y FAP6; respectivamente). A: Cremosidad; B: Viscosidad.

Las puntuaciones de sabor (Figura. 2) presentaron diferencias entre tratamientos donde resalta que el tratamiento FAA3 (6,64) tuvo una percepción ligeramente superior que CG (6,55) y significativamente mejor que RG (5,42). Caso contrario el tratamiento con la misma fuente de agave, pero a concentración de 6% FAA6 obtuvo la menor puntuación para este atributo comportándose igual que el control RG.

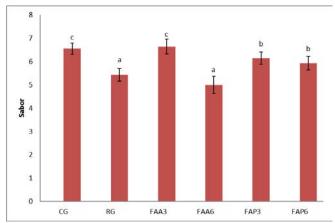


Figura 2. Valores de puntuación promedios obtenidos para el atributo de sabor del yogurt adicionado con fructanos. Control sin fructanos completo en grasa (CG), Control sin fructanos reducido en grasa (RG), Fructanos de *A. Angustifolia* 3 y 6% reducido en grasa (FAA3 y FAA6; respectivamente), Fructanos de *A. potatorum* 3 y 6% reducido en grasa (FAP3 y FAP6; respectivamente).

De esta manera, el nivel de adición de fructanos impactó de manera diferente los atributos sensoriales evaluados. En el caso de los tratamientos FAP3 y FAP6 se comportaron de manera similar en las puntuaciones de sabor por arriba de RG y ligeramente debajo de CG lo que lo coloca con una buena percepción de sabor sin que esta se vea afectada por la concentración de fructanos.

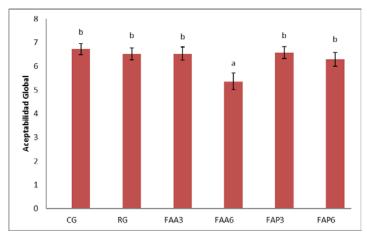


Figura 3. Valores de puntuación promedios obtenidos para la aceptabilidad global del yogurt adicionado con fructanos. Control sin fructanos completo en grasa (CG), Control sin fructanos reducido en grasa (RG), Fructanos de *A. Angustifolia* 3 y 6% reducido en grasa (FAA3 y FAA6; respectivamente), Fructanos de *A. potatorum* 3 y 6% reducido en grasa (FAP3 y FAP6; respectivamente). A: Cremosidad; B: Viscosidad.

Por último, las puntuaciones de aceptabilidad global (Figura 3) todos los tratamientos en general obtuvieron puntuaciones arriba de 6 en una escala de 1 a 9 a excepción del tratamiento FAA6 que

tuvo la menor aceptabilidad general según nuestro panel. Para los testigos CG (6,71), RG (6,53) y los adicionados con las dos variedades de fructanos al 3% FAA3 (6,52) y FAP3 (6,57) fueron significativamente superiores a los tratamientos adicionados con fructanos al 6 %. La aceptabilidad general es un término complejo con un enfoque multidimensional que comprende la combinación de diferentes percepciones sensoriales, como el gusto, la viscosidad y la cremosidad, entre otros.

De forma general la adición de fructanos de agave pudo compensar o mejorar los atributos sensoriales de la grasa reducida del yogurt, mostrando que estos carbohidratos desarrollaron funcionalidades similares al yogurt completo en grasa. Esta mejora de los atributos en algunos casos fue dependiente del pociento adicionado y del tipo de fructano utilizado.

CONCLUSIONES

La incorporación de fructanos de agave angustifolia y potatorum en yogurt reducido en grasa modifico la percepción de los atributos sensoriales evaluados. La modificación de estas propiedades fue dependiente de la concentración y de la fuente de fructanos adicionada. La aceptabilidad global del producto fue similar a la obtenida por los controles CG y RG, sin embargo; la percepción de sabor que tuvo el panel destacó la mayoría de los tratamientos adicionados con fructanos de agave. Con esto podemos concluir que los fructanos de agave pueden ser utilizados para suplementar el yogurt dado que de manera general tuvo una buena aceptación general.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. A. Lourens-Hattingh, and B.C. Viljoen, "Yogurt as probiotic carrier food". Int Dairy J., Vol.11, 2001, pp. 1-17.
- 2. M. Elleuch, D. Bedigian, O. Roiseux, S. Besbes, C. Blecker, and H. Attia, "Dietary fiber and fiber-rich by-products of food processing: characterisation, technological functionality and commercial applications: a review". Food Chem., Vol.124, 2011, pp. 411-421.
- 3. K. J. Aryana, S. Plauche, R. M. Rao, P. McGrew, and N. P. Shah, "Fat-free plain yogurt manufactured with inulins of various chain lengths and Lactobacillus acidophilus". J Food Sci., Vol. 72, 3, 2007, pp. 79-84.
- 4. M. G. Lopez, N. A. Mancilla-Margalli, and G. Mendoza-Díaz, "Molecular structures of fructans from Agave tequilana Weber var. azul". J Agric Food Chem., Vol. 51, 2003, pp. 7835-7840.

VALORACIÓN DE COMPOSTA, ESTOPA DE COCO Y TEZONTLE COMO SUSTRATOS EN LA PRODUCCIÓN ORGÁNICA

Alejandra Rodríguez Farfán, Alicia de Luna Vega, Maricela Sandoval Canizales, Cecilia Jiménez Plascencia, María Milagros Orozco Delgado, Xóchitl Rocío Ávila Dávila

Universidad de Guadalajara, CUCBA, División de Ciencias Agronómicas, Departamento de Producción Agrícola, Km 15.5 carretera a Nogales, Las Agujas, Zapopan, Jalisco, México, Tel. 0133-3777-1169

RESUMEN

El presente trabajo se realizó durante 2016 en el campo experimental y Laboratorio del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara. El objetivo general fue evaluar de la composta como sustrato. Se evaluaron cuatro variables físicas y doce variables químicas. En el caso de las características físicas, estas presentaron valores dentro de los rangos recomendados como sustrato para fines agrícolas. En el caso de las características químicas el pH final de la composta fue neutro, la conductividad eléctrica final se ubicó dentro de norma, los valores de absorbencia disminuyen conforme la composta avanza en el proceso de maduración, si bien la cantidad de nutrientes encontrados en la composta no son tan altos, estos cumplen con los requerimientos mínimos de las normativas para ser utilizado como sustrato y mejorador de suelo en aplicaciones hortícolas.

Palabras claves: materia orgánica, mejoradores de suelo, hortalizas

INTRODUCCIÓN

Las propiedades físicas más importantes de un sustrato son la densidad, la porosidad y su reparto entre las fases sólida y líquida, es decir, la porosidad de aire y la capacidad de retención de agua. La curva de desorción o de liberación de agua representa las proporciones de agua y aire en el sustrato a diferentes tensiones comprendidas en el intervalo entre 10 y 100 cm, simulando la succión por la planta del agua retenida por el sustrato. La curva de desorción permite calcular la porosidad de aire del sustrato y las diferentes fracciones de agua retenida: agua disponible o fácilmente asimilable, agua de reserva y agua difícilmente asimilable. En principio, los criterios de interpretación de las propiedades físicas tradicionalmente empleados son válidos para los nuevos métodos desarrollados en las normas técnicas europeas, aunque en ciertos casos puede requerirse de alguna adecuación (Masaguer et al., 2013).

El composteo es una forma importante de reciclar elementos orgánicos residuales de la agricultura y la ganadería. Una de las principales tecnologías es el uso de composta que el productor puede elaborar en su unidad de producción, utilizando los materiales de que dispone localmente. En la práctica, para valorar la calidad de un sustrato no basta con conocer las propiedades generales de sus principales componentes, sino que es necesario determinarlas para cada ingrediente o mezcla particular, ya que las variaciones suelen ser muy importantes. Las propiedades físicas de los sustratos de cultivo son determinantes. Una vez que la planta esté creciendo en él, no es posible modificar las características físicas básicas de dicho sustrato. (De Luna y Vázquez, 2009).

El uso del compost como sustrato o componente de sustratos ha sido objeto de un excelente trabajo (Abad et al., 2008), en el que se analizan los principales factores limitantes y se efectúan unas recomendaciones genéricas, planteándose alternativas de futuro que permitan obtener compost de calidad, con unas propiedades adecuadas para su empleo como sustrato o componente de sustratos de cultivo. El grado de madurez del compost es, juntamente con la salinidad, una de las características más importantes que condicionan la promoción del compost de biorresiduos, ya que los compost frescos, no suficientemente maduros, presentan fitotoxicidad residual, que puede afectar negativamente a la fisiología de las raíces y las plantas. La búsqueda de sustratos alternativos a base de materiales orgánicos que sean de fácil acceso y que resulten

baratos, es uno de los principales objetivos de los productores hortícolas (Dede *et al.*, 2006). Normalmente, dichos materiales son procesados para formar composta antes de ser usados como sustratos y tienen efectos benéficos en las plantas, si se usan en proporciones adecuadas. En este sentido, Cadahia (2005) menciona que la primera etapa de la aplicación de un sustrato en el cultivo es la caracterización del mismo, con objeto de conocer sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Las propiedades de los materiales son factores limitantes, que determinan el manejo posterior del sustrato; es importante que la mezcla o sustrato reúna características tales como: las propiedades físicas y químicas.

La mayor parte de los factores cualitativos más importantes de una composta depende de la planificación del compostaje y de su utilización. Para casi todas las aplicaciones, el indicador fundamental de la calidad de una composta es la respuesta observada en el desarrollo de las plantas (Stoffella y Kahn, 2005). Por lo cual el presente trabajo plantea como objetivo la utilización de la composta como sustrato en la producción orgánica

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el campo experimental, así como en el laboratorio de Agromicrobiología del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara. Se ubica en el predio Las Agujas, municipio de Zapopan, Jalisco, en las coordenadas 20° 44′ 44″ de latitud N, 103° 54′ 62″ de longitud O y una altitud de 1,567 msnm, con temperatura media anual 22.8°C, con temperatura del mes más frío 4.8°C La temperatura del mes más caliente es superior a 10°C. Precipitación media anual 892.2 ml.

La elaboración de la composta se realizó utilizando 50 kg de estiércol de bovino, 50 kg de residuos de frutas, verduras y residuos de podas (pasto y árboles) 50 kg de rastrojo de maíz, 500 g de levadura para pan y 500 g de azúcar, estos ingredientes se pusieron a fermentar durante 21 días, la preparación consistió en construir un "montón" a partir de capas paralelas de cada uno de los materiales, se aplicó el agua y la mezcla de melaza y levadura para humedecer sin provocar escurrimiento.

En los primeros tres días se mezcló el montón por la mañana y por la tarde y a partir del cuarto día, se volteó una sola vez. Finalmente, entre los 12 y 15 días el abono fermentado logró su maduración, su temperatura fue igual a la ambiental, adquiriendo un color gris claro, estaba seco y de consistencia suelta después se hicieron análisis, tomando los parámetros de pH, nitrógeno, fósforo, potasio y materia orgánica para las variables químicas y para las físicas, capacidad de absorción de agua, capilaridad, densidad aparente e infiltración.

Se utilizaron en total de tres tratamientos consistentes en composta estopa de coco y tezontle. Para determinar la calidad como sustrato, se plantearon las variables físicas químicas y biológicas. En las variables físicas se determinaron las siguientes mediciones según el manual de Fisher *et al.* (2003): a) Densidad aparente (gr cm⁻³), b) Capacidad de absorción de agua (gr cm⁻³), c) Capilaridad (gr cm⁻³), d) Infiltración (min). Variables químicas, pH, nitrógeno, fósforo, potasio y materia orgánica. Las determinaciones físicas, y químicas, así como el pH, conductividad eléctrica y absorbencia fueron efectuadas en el Laboratorio ambiental y de abonos orgánicos ubicado en el CUCBA, de la Universidad de Guadalajara. Para determinar la calidad como abono orgánico de la composta, se plantearon las variables físicas y químicas. El diseño experimental, fue el denominado bloque completo al azar. Los datos obtenidos en las diferentes variables, se sometieron al análisis de varianza y a la prueba de separación de medias denominada DMS P> 0.05.

En las variables físicas y químicas no hubo repeticiones, por lo que los resultados se presentan en forma de cuadros.

Variables físicas; Capacidad de absorción de agua. La determinación de la capacidad de absorción de agua se realizó en una maceta con capacidad de 300 ml y se colocó sobre una palangana. La maceta se rellenó del sustrato hasta la marca (250 ml) dejándola caer varias veces para comprimir y rellenando nuevamente hasta la marca, una vez nivelado el sustrato se pesó (peso seco), se

agregó agua a la palangana hasta una altura poco menor a la altura de la maceta, se retiró la maceta una vez que la superficie del sustrato se observaba ligeramente cubierta de agua, se dejó escurrir toda el agua de la maceta y posteriormente se pesó (peso húmedo).

Capilaridad. Para determinar la capilaridad se utilizó una maceta de 300 ml y se rellenó la maceta con composta hasta la marca (250 ml), se dejó caer varias veces y se volvió a rellenar hasta la marca, se registró su peso (peso seco), se agregó agua a la palangana (3 cm) y se depositó la maceta dentro, se retiró después de 15 min.; se dejó escurrir por 10 min.; y se pesó (peso húmedo).

Densidad aparente. Para la determinación de la densidad (peso/volumen) se utilizó una probeta de 500 ml de capacidad, a la que se le registró el peso. El sustrato se depositó en la probeta hasta los 400 ml y se pesó. Se agitó para disminuir el espacio vació y nivelar la superficie y leer el volumen compactado.

Velocidad de infiltración. Para la prueba de infiltración se utilizó una maceta de plástico de 300 ml de capacidad. El sustrato se colocó en la maceta hasta los 250 ml En una probeta se midieron 100 ml de agua, la que se agregó a la maceta haciendo movimientos circulares. Se activó el cronometro al momento de la caída del agua y se detuvo hasta que ésta se filtró completamente en el sustrato. Los resultados se registraron como el tiempo de infiltración de los 100 ml.

Variables químicas: Medición de pH y conductividad eléctrica (CE). Se pesó un frasco vacío y sin tapadera, se pesaron 20 gr. de sustrato y se depositaron en el frasco, se midieron 40 ml de agua destilada en una probeta, se vació al recipiente y se cerró el frasco, se agito durante 10 minutos en el agitador (AROS 160). En la suspensión se determinó el pH y la CE con un equipo Hanna (H1-9810). Las demás variables químicas se determinaron de acuerdo a los manuales establecidos en el laboratorio de agromicrobiología.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados para los parámetros evaluados en porcentaje fueron: Materia orgánica 25, pH 7.94, nitrógeno 1.51, potasio 0.798, fósforo 0.76, calcio 1.99. La capacidad de absorción de agua, presentó un porcentaje superior al rango recomendado como medio de sustrato. En este mismo sentido, la capilaridad, la velocidad de infiltración, así como la densidad aparente, presentaron valores dentro de los rangos recomendados de las propiedades físicas de la composta.

Variables físicas, capacidad de absorción de agua. El ensayo para evaluar la utilización de la composta como medio de cultivo al aumentar la cantidad de agua neta disponible para las plantas y reducir la frecuencia del riego. La capacidad de absorción de agua con un valor de 41.6% en la composta, siendo este un porcentaje superior al optimo que oscila entre el 20% y el 30% (Ansorena, 2014). El porcentaje de absorción de agua capilar fue de 9.36. La densidad aparente representa el peso seco del medio con relación al volumen total que ocupa. Conforme aumenta la densidad aparente, las condiciones del drenaje y la porosidad para el aire disminuyen. La velocidad de infiltración de la composta la cual se expresa en minutos necesario para que se absorba el agua a través de la superficie de una muestra de sustrato seco, alcanza un nivel óptimo cuando es igual o inferior a 5 minutos (Ansorena, 2012); en el presente estudio fue de 36 segundos.

El contenido de nitrógeno total es la suma de sus formas orgánicas e inorgánicas, por lo tanto, la cantidad del N presente puede ser un buen indicador de la madurez de la composta (Stoffella y Kahn, 2005). El contenido de nitrógeno (N), es lo más importante para el cultivo cuando la composta es aplicada como complemento o sustituto de otras fuentes de nutrientes, el contenido de nitrógeno presente en la composta indica un porcentaje de nitrógeno mayor al valor mínimo requerido según la norma chilena (NCh-2880.Of2004).

En lo que respecta al contenido de materia orgánica esta debe ser mayor o igual al 20% según la norma chilena (NCh-2880.Of2004), el cuadro muestra el contenido de materia orgánica de la composta es de 25% siendo este considerado un valor alto

Solamente una parte del fósforo (P) de una muestra de composta será utilizable por las plantas. Esencialmente, la totalidad del potasio (K) es utilizable por las plantas. (Stoffella y Kahn, 2005). Los valores expresados en porcentajes presentes en la composta se observan en el cuadro 1; según Ansorena (2014) presenta un porcentaje mínimo de fósforo y potasio (0.37 y 0.36 % respectivamente.

Cuadro No. 1. Composición química de la composta e indicadores de calidad considerados en la evaluación de las compostas adaptado de la normativa chilena y norteamericana

Parámetros en composta	Parámetros obtenido	Rangos típicos en una composta
Materia orgánica (%)	28	20 - 60
Cenizas (%)	76	60 - 80
Carbono orgánico (%)	16.50	
Relación carbono/nitrógeno (C/N)	28	25 - 30
Nitrógeno total (%)	1.83	1.3
Fósforo (%)	0.70	0.2 - 1
Potasio (%)	0.440	0.2 - 2
Sodio (%)	0.340	0.52
Calcio total (%)	1.98	1 - 6
Magnesio (%)	0.38	0.4 - 1
pH	7.69	7 - 14
Conductividad eléctrica (mmhos/cm)	2.46	1 - 8
Propiedades físicas		
Densidad aparente (gm/ml)	0.85	
Capacidad de absorción (%)	41.6	20 – 30
Velocidad de infiltración segundos	36	Menor a 5 minutos
Humedad (%)	46.29	30 - 60
Tamaño partículas (mm)	13	10 - 25

Cuadro No. 2. Variables químicas y físicas cuantificadas en los sustratos

	Tezontle	Estopa de coco	Composta	Sustrato ideal
Densidad aparente gr/cm ³	0.682	0.059	0.85	0.4
Densidad real gr/cm ³	2.65		2.60	
Espacio poroso %	74.24	96.1	73.12	85
Materia orgánica %		93.8	28.0	80
Aire %	58.68	44.9	58.65	20-30
Agua fácilmente disponible %	5.42	19.9	6.15	20-30
Agua de reserva%	2.25	3.5	2.35	4.10
Agua dífilamente disponible%	7.89		6.26	
pH	4.6	5.71	7.69	5.2-6.3
C. E	0.02	3.52	2.46	3.5
N mg/l	1	0.21	1.83	100-199
P mg/l	9	41	7	6-10
K mg/l	52	8.56	44	150-249
Ca mg/l	330	26	198	200

Mg mg/l	338	20	380	70
Capacidad de absorción gr de	25	52.3	41.6	600-1000
agua/100gr MS				

CONCLUSIONES

Con base a los resultados, la cantidad de nutrientes no son tan altos en la composta, pero cumplen con los requerimientos mínimos de la normativa para ser utilizado como sustrato en la producción de cultivos.

BIBLIOGRAFIA

- 1. Abad, M., Fornes, F., Mendoza-Hernández, D. y García de la Fuente, R. 2008. Actas de Horticultura 53:17-31.
- 2. Ansorena, M.J. 1994. Sustratos. Propiedades y caracterización, Ediciones Mundi-Prensa, España, pp. 172.
- 3. Ansorena, J., Batalla, E., Merino, D. y Moreno, A. 2012. El compost de biorresiduos como componente de sustratos. Horticultura Nº 300: 42-47.
- 4. Ansorena, J., Batalla, E. y Merino, D. 2014. Propiedades fisicoquímicas del compost de residuos de alimentos y su empleo como componente de sustratos. XI Jornadas de la SECH. Zizurkil, 25-27 jun.
- 5. Cadahia, L.C. 2005 Fertirrigación cultivos hortícolas, frutales MUNDI-PRENSA LIBROS.
- 6. Dede.E; Berrospe-O. A; Ordaz.C V.M; Rodríguez. M.M.; Quintero.L.R Cachaza como producción plántula sustrato para la de de tomate Rev. Chapingo Ser.Hortic vol.18 no.1 Chapingo ene./abr. 2014De Luna, V.A. y E.A. Vázquez. 2009. Elaboración de abonos orgánicos, Segunda edición, Universidad de Guadalajara, México, pp. 86. Instituto Nacional de Normalización. 2005. Norma chilena oficial para el control de la calidad de compostas (NCh-2880.Of2004), Decreto exento no. 89, Chile.Masaguer Rodríguez, Alberto; Vidueira, Pablo; Moliner Aramendia, Ana María y Zárate Nicolás, Baldomero Hortencio (2013). Physical characterization of growing media using standard methods (CEN)- Limitations of Applicability for pine bark and vermiculite. En: "Proceedings of the International Symposium on Growing Media, Composting and Substrate Analysis.", 17/10/2011 - 21/10/2011, Barcelona, Spain. pp. 85-89.
- 7. Stoffella, J.P. y A.B. Kahn. 2005. La utilización de compost en los sistemas de cultivo hortícola, Mundi-Prensa, Madrid España, pp. 397.

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE AGAVE DE LA ESPECIE TEQUILANA

Martha Patricia Sandoval Anguiano, González Castañeda Jacquelina y Castillo Anguiano

ENMSI-UG. paty_sa1@yahoo.com.mx; martha_910@hotmail.com

DICIVA_UG. jaqueqc1@hotmail.com

RESUMEN

El estudio de la diversidad genética de las plantas del género *Agave*, tiene dificultades originadas por la posibilidad de hibridación, según Gentry¹. A pesar de ello, algunos genotipos tienen poca variación, como sucede con la especie *Agave tequilana*, mientras que otras especies como *Agave angustifolia* presentan variación genotípica y fenotípica muy importante. El objetivo de este trabajo fue el estudiar la variabilidad entre las accesiones de la especie de *Agave tequilana*

Se evaluaron 14 caracteres de cincuenta accesiones de *Agave tequilana*, originarias del municipio de Romita, Guanajuato y evaluadas por el programa Statistical Program Social (SPSS). El análisis de Componentes principales dio como resultado dos componentes que suman el 77.158% de la varianza total. El primero explica un 60.007 % y el segundo un 8.491%. El dendrograma obtenido por el Método de Conglomeración de Vinculación entre grupos, divide en tres grupos a las plantas en estudio. Un primer grupo formado por 32 accesiones de *Agave tequilana*, un segundo y el más chico con 7 plantas y el tercero formado por 11 individuos.

El Agave tequilana mostró poca variabilidad de entre los cincuenta individuos en estudio. La estructura foliar parece depender de un conjunto de factores interrelacionados que pudieran llevar al fitomejorador a considerarlos en conjunto y no separadamente. El número de espinas laterales en 10 centímetros de hoja correlacionó negativamente con algunas variables, por lo que pudiera convertirse en un factor importante a considerar dentro del fitomejoramiento de Agaves

INTRODUCCIÓN

El estudio de la diversidad genética dentro del género Agave, presenta dificultades originadas por las muchas variantes derivadas de su posibilidad de hibridación natural inter e intraespecífica, según lo establecido por Gentry (1982). A pesar de ello, algunos genotipos se han mantenido con relativamente poca variación, como sucede con las plantas de la especie *Agave tequilana*, mientras que otras especies como *Agave angustifolia* presentan una variación genotípica y fenotípica muy importante. Por lo que el objetivo del trabajo fue el estudiar la variabilidad y las relaciones filogenéticas entre las accesiones de la especie de *Agave tequilana* pertenecientes al grupo Rigidae.

PARTE EXPERIMENTAL

Accesiones en estudio

Cincuenta accesiones de *Agave tequilana*, originarias de la plantación de la Ex Hacienda de Silva del municipio de Romita Guanajuato y conservadas dentro de la colección viva de Agaves de la División de Ciencias de la Vida (DICIVA, de la Universidad de Guanajuato, las que fueron

caracterizadas morfológicamente y evaluadas por el programa Statistical Program Social Science (SPSS). Se evaluaron 14 caracteres para cada accesión: Altura de planta, longitud de la hoja, diámetro de dosel, anchura máxima de la hoja, anchura de la base de la hoja, anchura del cuello de la hoja, grosor de la base de la hoja, número de espinas laterales en 10 centímetros del borde de la hoja, longitud de la espina principal, altura de gancho lateral, anchura de la espina lateral, número de hijos, número de hojas y diámetro de la piña.

RESULTADOS

En *Agave tequilana* de las 14 variables presentaron los valores máximos: Diámetro de dosel, altura de la planta, longitud de la hoja, así como el número de hojas; Longitud de la espina principal, diámetro de la piña, y anchura de la base de la hoja, son las siguientes características en valores superiores. Cuatro de esas variables dieron origen a las mayores diferencias, pues generaron la mayor desviación estándar. (Cuadro 1).

Cuadro 1. Datos descriptivos de las características morfológicas de Agave tequilana.

	Min.	Máx.	Med.	Desv.
	IVIII I.	iviax.	wea.	St.
1	25	132	94.94	21.38 3
2	33	92	71.56	13.39 2
3	50	170	128.9 4	29.73 7
4	2	9	7.20	1.453
5	4	14	10.50	1.919
6	2	7	5.25	1.175
7	1	4	2.79	.881
8	6	9	8.22	.864
9	9	20	15.16	2.289
10	2	7	4.92	1.353
11	1	4	2.70	.814
12	0	12	3.12	2.918

13				
13	6	70	42.92	12.91
				7
14	5	19	14.78	2.944

Nomenclatura: 1.- Altura de planta. 2.- Longitud de la hoja (cm). 3.- Diámetro de dosel (cm), 4.- Anchura máxima de la hoja (cm). 5.- Anchura de la base de la hoja (cm). 6.- Anchura del cuello de la hoja (cm). 7.- Grosor de la base de la hoja (cm). 8.- Número de espinas laterales en 10 centímetros en el margen de la hoja. 9.- Longitud de la espina principal (mm). 10.- Altura de gancho lateral (mm). 11.- Anchura de la espina lateral (mm). 12.- Número de hijos. 13.- Número de hojas. 14.- Diámetro de la piña.

Análisis Morfológicos

Análisis de componentes principales

El análisis de Componentes principales dio como resultado dos componentes que suman el 77.158% de la varianza total. El primero explica un 60.007 % y el segundo un 8.491. El alto porcentaje de la variación explicada por la varianza total del primer componente sugiere que contiene variables que pueden discriminar accesiones individuales de Agave tequilana. (Cuadro 2).

Cuadro 2. Valores diferencias y proporciones de varianza para los dos principales componentes en entre diferentes accesiones de *Agave tequilana*.

Componente		Suma de saturaciones		
	Total	% de la varianza	% acumulado	
1	9.613	68.667	60.007	
2	1.189	8.491	77.158	

En el primer componente, las variables que tienen mayor influencia e importancia, sobre todo porque parecen incidir sobre los valores de la estructura foliar son: Altura de planta, longitud de la hoja, diámetro de dosel, grosor de la base, anchura del cuello, número de hojas, anchura de la base, anchura máxima y diámetro de la piña con valores superiores a 0.80, variables que se pueden asociar a estructura foliar. Para el segundo componente las variables que más influyen son: Altura de gancho lateral y anchura de la espina lateral, en cambio, correlacionaron de forma inversa el número de espina y longitud de la espina. (Cuadro 3).

Cuadro 3. Matriz de componentes de la caracterización de Agave tequilana

Matriz de components	Componente	
	1	2

Altura de Planta (cm)	.942	.195
Longitud de la hoja (cm)	.912	.238
Diâmetro de dosel (cm)	.911	.321
Anchura máxima de la hoja (cm)	.849	.376
Anchura de la base (cm)	.853	.301
Anchura del cuello (cm)	.883	.277
Grosor de la base (cm)	.896	.225
Número de espinas	.031	845
Longitud de la espina (mm)	.552	154
Altura de gancho lateral (mm)	.523	.724
Anchura de la espina lateral (mm)	.636	.621
Número de hijos	.645	.309
Número de hojas	.854	.237
Diámetro de la piña	.833	.212

El primer componente incluye a altura de planta, la longitud de la hoja, diámetro de dosel y grosor de la base con valores superiores a 0.89, relacionado con la estructura foliar de los diferentes Agaves para el componente uno y para el componente dos, las variables más destacadas fueron: La altura de gancho lateral así como la anchura de la espina lateral; en cambio Rodríguez-Garay *et al* (2009), encontraron que en el primer componente las variables que contribuyen fueron: número de espinas laterales, anchura de la base de las espinas laterales y distancia entre espinas laterales.

El dendrograma obtenido por el Método de Conglomeración de Vinculación entre grupos (Figura 1), divide en tres grupos a las plantas en estudio. El primero formado por 32 individuos de *Agave tequilana*, con un coeficiente de distancia de 5.0 muy homogéneo y el de menor variabilidad; mientras que para el segundo grupo hay 7 individuos, con una recorrido de 11.63 presentando la mayor diversidad y distancia genética y el tercer grupo con una distancia genética de 6.14, lo que muestra un poco más de especies, lo cual muestra un poco más de diversificación; la variación de *Agave tequilana* es menor que la de las especies fourcroydes o angustifolia Valenzuela (1997), lo que concuerda con el reporte de Gil-Vega, *et al.*, (2006), quienes reportan la variabilidad molecular de la misma especie. De forma similar a los resultados encontrados por Gil-Vega, *et al* (2001), donde concluyen que la variación genética para *Agave tequilana* fue virtualmente inexistente entre plantas, dentro de campos, entre campos, y entre productores.

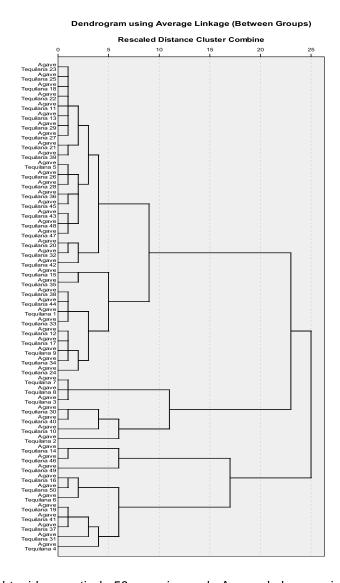


Figura 1. Dendrograma obtenido a partir de 50 accesiones de Agave de la especie: A. tequilana.

CONCLUSIONES

- 1.- El Agave tequilana mostró poca variabilidad de entre los cincuenta individuos en estudio.
- 2.- La estructura foliar parece depender de un conjunto de factores interrelacionados que pudieran llevar al fitomejorador a considerarlos en conjunto y no separadamente.
- 4.- El número de espinas laterales en 10 centímetros de hoja correlacionó negativamente con algunas variables, por lo que pudiera convertirse en un factor importante a considerar dentro del fitomejoramiento de Agaves.
- 5.- La distancia genética entre accesiones de los diferentes individuos fue relativamente pequeña para *Agave tequilana*, la distancia mayor encontrada es de 11.62 unidades de distancia genética.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Gentry, H. (1982). *Agaves of Continental North America*. University of Arizona Press, Tucson Arizona, USA, 670 pp.
- 2. Gil-Vega K., Díaz C., Nava_Cedillo, A., Simpson J. (2006). *AFLP analysis of Agave tequilana varieties*. Plant Sci. 170, 904-909.
- 3. Gil-Vega, K., González, M., Martínez de la Vega, O., Simpson, J., Vandemark, G. (2001). *Analysis of genetic diversity in Agave tequilana var. Azul using RAPD markers.* Euphytica 119. 335-341
- Rodríguez-Garay, B., Lomelí Sencion, J., Tapia-Campos, E., Gutiérrez Mora, A., García-Galindo, J., Rodríguez Domínguez, J., Urbina López.D., Vicente Ramírez, I. (2009). Morphological and molecular diversity of Agave tequilana Weber var. azul and Agave angustifolia Haw. Var. Lineño. Industrial Crops and Products 29, 220-228.
- 5. Valenzuela, A.G. (1997). *El agave tequilero: su cultivo e industria*. 2nd. Ed. Monsanto.Press, St. Louis., pp 29-32.

ELABORACIÓN DE PELICULAS BIOCOMESTIBLES PARA LA CONSERVACIÓN DE PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS

Oscar Cisneros Moctezuma, Luis Torres Bustillos, Esther Bautista Ramirez y Yolanda de las Mercedes Gómez y Gómez

Instituto Politécnico Nacional- Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología¹ IPN-UPIBI., Departamento de Bioprocesos. Lab de Farmacología, Ciudad de México. ygomezipn@hotmail.com

RESUMEN

Los daños y las pérdidas de frutos a nivel nacional son de toneladas. El uso de películas con la adición de compuestos activos de origen natural, que protejan a los frutos son una alternativa para alargar la vida de las frutas. El objetivo del presente trabajo es el desarrollo de un recubrimiento comestible de guitosán con la adición de compuestos bioactivos de Brassica oleracea var. capitata (f. rubra) que alarguen la vida de anaquel del jitomate. Se identificación de los principales grupos de metabolitos secundarios del extracto metanolico. La actividad antimicrobiana se cuantifico por el método Kirby-Bauer y la antioxidante por el método de ABTS del extracto total de col-morada. La formulación de la película fue quitosán 2.4% y 2.3% del extracto metanolico. Se dividieron los jitomates en tres grupos; grupo-control (sin película), grupo-película de quitosán, grupo-película de quitosán-extracto. En el estudio se evaluó la firmeza y apariencia del jitomate durante 15 días a 4°C y temperatura ambiente, mediante un diseño experimental al azar de 2 réplicas y dos repeticiones. En el tamiz fitoquímico Brassica oleracea var. capitata dio positivo a fenoles, flavonoides, taninos, alcaloides, saponinas y glucósidos cardiacos. La capacidad antioxidante con el radical ABTS fue de 96.22%. El extracto presento actividad inhibitoria contra; S tipy, P aureoginosa, E agglomerans, S dysenterias, E coli, B subtilis, S mutans, B cereus, L monocytogenes y C albicans. Durante la prueba de firmeza se observó un descenso menos pronunciado en los jitomates cubiertos con quitosán sin embargo los de quitosán-extracto presentaron menos infecciones por microorganismos a 4°C y temperatura ambiente. Los jitomates presentando una buena apariencia visual con el tratamiento de quitosán-extracto. El tratamiento de quitosán-extracto obtuvo la mayor firmeza con ambos tratamientos.

Agradecimiento: **Secretaria de Ciencia, Tecnología e Innovación** de la Ciudad de México, por el apoyo al proyecto, SECITI/049/2016/Folio 154.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se estima que las pérdidas poscosecha de productos frescos varían entre 25% y 50% de la producción (depósito de documentos de la FAO, 2016), estas pérdidas ocurren en cualquiera de una de las etapas del mercadeo, pueden comenzar en la cosecha, durante o después del acopio y distribución y finalmente cuando el producto llega a los hogares de los consumidores para ser procesadoslos.

Las películas o recubrimientos comestibles se han estudiado durante los últimos años para mejorar las propiedades organolépticas, incrementar la vida de anaquel y reducir el impacto en la contaminación ambiental que se genera por el uso de envases no degradables.

La aplicación de películas y recubrimiento comestibles basadas en biomoléculas forman una atmósfera modificada en el interior de los productos vegetales y a su vez le proporcionan una capa protectora, reducen la pérdida de agua en los productos frescos, regulan los procesos de transferencia de masa involucrado oxígeno y dióxido de carbono, permiten el control de la respiración y retrasan el envejecimiento.

Una innovación de los recubrimientos es que pueden ser utilizados como vehículos para adicionar diferentes tipos de componentes a la formulación como antimicrobianos, antioxidantes, saborizantes y colorantes (Ramos & Bautista, 2009). También se pueden adicionar extractos provenientes de otras plantas que proporcionen los mismos beneficios como es el caso de los extractos de col blanca (*Brassica oleracea var. capitata f. alba*) y col morada (*Brassica oleracea var. capitata f. rubra*) que tienen actividad antioxidante y antimicrobiano. Los recubrimientos antimicrobianos ayudan a retardar, reducir o inhibir el crecimiento de los microorganismos presentes en el medio ambiente y que llegan a los alimentos. La contaminación microbiana afecta la calidad de los alimentos reduciendo su vida útil y aumenta el riesgo de la trasmisión de enfermedades

El quitosano es insoluble en agua y tiene la propiedad de formar películas por si solo, a partir de soluciones diluidas en ácidos orgánicos, mediante variadas metodologías siendo la más utilizada evaporación del solvente y moldeado. En este contexto el quitosano posee propiedades únicas que lo hacen un ingrediente ideal para el desarrollo de películas comestible y su aplicación en sistemas alimentarios como agente antimicrobiano, ya que presenta una baja toxicidad, con un $DL_{50}=16$ mg/kg, valor que sitúa al quitosano en un nivel similar a la azúcar y lo hace menos tóxico que la sal. Por otra parte, es deseable que los polímeros formadores de películas sean biodegradables y que no generen productos dañinos como resultado de su degradación. Algunos estudios han demostrado que la quitina y el quitosano se biodegradan *in vivo* debido a su susceptibilidad a la hidrólisis enzimática de los enlaces β (1 \rightarrow 4) mediada por la enzima lisozima, presente en el organismo humano.

El quitosano como agente antimicrobiano presenta varias ventajas sobre otros tipos de envases activos, ya que posee una mayor actividad antibacteriana, un espectro de acción más amplio, una tasa de inhibición mayor, y menor toxicidad para las células de mamíferos (Hirano 1999; Begín, A. and VanCalsteren, M.R. 1999) .En general se reconoce que levaduras y mohos son los microorganismos más sensible al quitosano, seguido por bacterias Gram-positivas y Gramnegativas (Aider *et al.*, 2010). Las propiedades antimicrobianas de soluciones y películas de quitosano han sido reportadas en varios estudios, en donde este biopolímero ha mostrado una gran capacidad de disminuir la multiplicación de una amplia variedad de bacterias principalmente.

PARTE EXPERIMENTAL

La col morada (*Brassica oleracea var. capitata f. rubra*) se obtuvieron de un mercado local de CDMX, se picó finamente y secar durante 72 h a 35°C ± 2°C, una vez seca, se realiza la extracción de los metabolitos secundarios con metanol maceran en un mortero, se sónico durante 15 minutos. Se realizó el **tamiz fitoquímico** del extracto de metanol.

Actividad antioxidante con radical ABTS.- Se usará una solución con el reactivo ABTS a 7 mM con agua destilada y se mezcló 1:1 con una solución de persulfato de potasio a 2.45 mM; se dejó reposar 16 horas en la oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente se diluye con alcohol hasta una absorbancia de 0.7 (± 0.01) a una longitud de 754 nm. Se toman 980 μL del radical ABTS⁺ y 20 μL de la muestra sin dilución; y se mide su absorbancia. Se realizó una curva tipo con Vitamina C a las concentraciones de 0.02, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16 y 0.2 mg/mL; se realizara una segunda curva tipo con Trolox a las concentraciones de 0.1, 0.24, 0.5, 0.75, 1 y 1.25mM.

Actividad antimicrobiana.- Se prepararán 450 mL de medio para antibióticos no. 1 y 90mL del medio para antibióticos no. 2 respectivamente y se esterilizaron.

Posteriormente el medio no. 1 se divide en 9 porciones (50 mL) para inocular con 50 μ L de cada microorganismo. Las bacterias que se utilizaran son: *S. aureus, Y. enterocolitira, K. vhisnoscleromatis, E. agglomerans, E. coli, K. pneumonia c. L. monoaytogenes, B. cereus y C. albicans.* Una vez que se inoculó fue agregado al medio no. 1, en condiciones estériles se procede a vaciar en cajas Petri 10 mL del medio no. 2, (el cual servirá de soporte), y ya gelificado se agrega el medio no. 1 (inoculado); una vez gelificado se procedió a colocar los discos de papel de filtro de 6 mm, utilizando los extractos, con disolvente de cloroformo, metanol y hexano. Los discos fueron preparados con 100 μ L de extractos. Finalmente se incubaron a 37°C durante 24 horas. Una vez que pasó el tiempo se midieron los halos de inhibición de cada extracto y se calculó el porcentaje de inhibición.

Formulación de películas.- Se preparó una la solución de quitosán 2.5 % m/v se añade ácido acético glacial y se ajusta el pH de la solución a 5 con NaOH 0,1 M (El-Ghaouth *et al.*, 1991). En una segunda formulación a este quitosán se le agrega el extracto de metanol de la col morada al 2.3 %. A Posteriormente, los jitomates se almacenaron a 4±0.5°C y 28±1°C durante 20 días y evaluados cada cuatro días. Los jitomates no tratados serán utilizados como control.

Pérdida de peso.- La pérdida de peso fresco será monitoreada, tomando el peso de tres frutos/verdura de cada tratamiento seleccionados al azar a los 4, 8, 12, y 16 días de almacenamiento, y calculado como el porcentaje de pérdida de peso con respecto al peso inicial.

La firmeza se determinó utilizando el equipo *FRUIT HARDNESS TESTER Modelo FR-5120*, introduciendo un cilindro metálico de diámetro 1/4", sobre una de las caras en la zona media del fruto, se expresó el resultado en Newton.

RESULTADOS

En el análisis **fitoquímico** de *Brassica oleracea var. capitata f. rubra* resultó positivo, fenoles, esteroides, flavonoides, azucares reductores, saponinas, taninos, quinonas, cumarinas, glucósidos cardiacos y sesquitepenlactonas.

Actividad antioxidante. Para la curva estándar de ABTS se utilizó Vitamina C. La linealidad de la curva fue de 0.98. El % de inhibición se determinó despejando la ecuación de la recta. La mayor capacidad antioxidante la presento con el extracto de metanol 99.6% de inhibición y 89.93% con agua.

Tabla 1.-Capacidad antioxidante de *Brassica oleracea var. capitata f. rubra* utilizando el radical ABTS

Disolvente	% de inhibición	Concentración Vitamina C (mg/ mL)	Capacidad antioxidante VEAC (mg eq. de vitamina C/100 g de muestra)
Agua	89.93±0.040	0.20±0.003	118.87±0.059

Metanol	99.56±0.199	0.24±001	342.55±0.707

Determinación de la sensibilidad antimicrobiana

Para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana se impregnaron los discos de papel filtro con el extracto de metanol para obtener los mm de halo de inhibición (Tabla 2).

Tabla 2.- Resultados de la prueba de sensibilidad de los extractos de Brassica oleracea var. capitata f. rubra

	Nombre del microorganismo	Metanol
	S. tipy.	10 mm
	P. aureoginasa	10.5 mm
SONI	E. agglomerans	11.5 mm
Gram negativos	S. dysenteriae	10 mm
Gram	E. coli	8.5 mm
	B. subtilis	10 mm
SO.	S. mutans	10 mm
Gram positivos	B. cereus	9.5 mm
	L. monocytogenes	12 mm
Hongo	C. albicans	12.5 mm

Nota: s/h= sin halo de inhibición

La figura 1 y 2 representan la pérdida de peso de los jitomates con las diferentes formulaciones durante 15 días de almacenamiento a temperatura ambiente y 4°C respectivamente, la determinación se realizo diariamente.

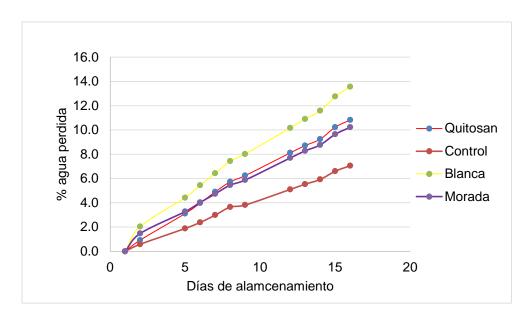


Figura1. Porciento de agua perdida en jitomate a temperatura ambiente

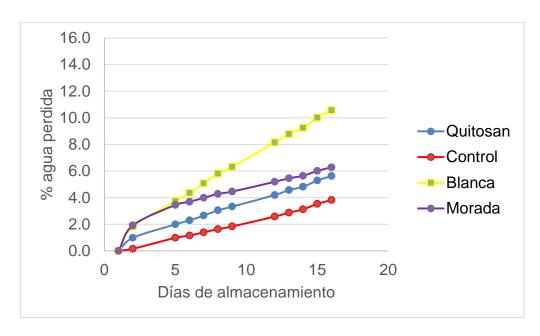


Figura 2. Porciento de agua perdida en jitomate a 4ºC

A continuación, se presentan las gráficas de la determinación de la dureza en el jitomate, durante 20 días de almacenamiento.

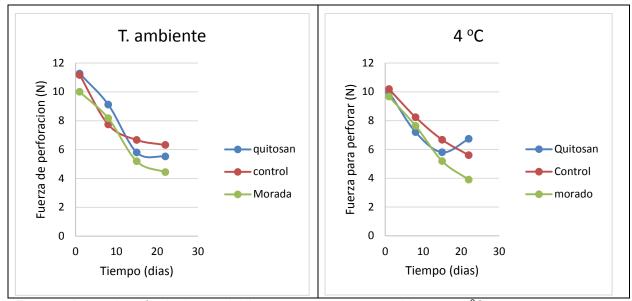


Figura 3. Determinación de dureza del jitomate a temperatura ambiente y a 4°C

CONCLUSIONES

El recubrimiento comestible a base de quitosán y extracto de col morada es una tecnología que permite prolongar por alrededor de 2 semanas más la vida útil del jitomate.

El recubrimiento comestible de quitosán con la adicción de extractos de la col mora y/o col blanca aplicado a jitomate mejorar su apariencia y no permitió el crecimiento de hongos y bacterias sobre el jitomate, sin embargo no permitió reducir la pérdida de peso del producto.

El tratamiento de quitosán-extracto obtuvo la mayor firmeza con ambos tratamientos.

De las tres formulaciones que se utilizaron la de quitosán con col morada fue la que mayor protección antimicrobiana brindo, además retardo los cambios del color de jitomate, mejorando la apariencia de los jitomates dándoles un brillo más obscuro.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review LWT-Food science and technology. 43, 837-842.
- 2. Hirano, S. (1999). Chitin and chitosan as novel biotechnological materials. Polym Int., 48:732-734.
- 3. Begín, A. and VanCalsteren, M.R. (1999). Antimicrobial film produced from chitosan. Int. J. Biological Macromol, 26: 63-67
- 4. FAO. (2016). Organización de las Naciones Unidad para la Alimentación y la Agricultura.FAO. (D. d. agricultura, Ed.)
- 5. Galietta, G., & Harte, F. (2004). Aumento de la vida util poscosecha de tomate usando una pelicula de proteina de suero de leche. Universidad de la República Oriental del Uruguay

- 6. El Ghaouth, A., Ponnampalam, R., Castaigne, F., & Arul, J. (1992). Chitosan coating to extend the storage life of tomatoes. Hort-Science, 27 (9), 1016–1018.
- 7. El Gaouth, A., Arul, J., Wilson, C., Benhamou, N. (1997). Biochemical and cytochemical aspects of the interactions of chitosan and *Botrytis cinerea* in bell pepper fruit. Postharvest Biology and Technology. 12, 183 194.
- 8. Ramos-García, M. L., Bautista-Baños, S., Barrera-Necha, L. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofruticolas. Revista Mexicana de Fitopatología, 28 (1), 44 57
 - * Agradecimiento: **Secretaria de Ciencia, Tecnología e Innovación** de la Ciudad de México, por el apoyo financiero al proyecto, SECITI/049/2016/Folio 154

ANÁLISIS DE LA SITUACIÓN ACTUAL DE LOS CULTIVOS DE MAGUEY, NOPAL TUNA Y NOPAL VERDURA EN AXAPUSCO

Florencia del Carmen Salinas Pérez y Lorena Elizabeth Chávez Güitrón

Universidad Tecnológica de Tecámac

Irnchavez@yahoo.com

RESUMEN

La región teotihuacana comprende los municipios de Temascalapa, Axapusco, Nopaltepec, Otumba, Acolman, Tecámac, San Juan Teotihuacán y San Martín de las Pirámides, cuyas condiciones climáticas, geográficas, edáficas, y ecológicas han sustentado el desarrollo de cultivos de maguey, nopal tuna y nopal verdura. Actualmente la región enfrenta problemas de baja productividad, lo que ha generado bajos ingresos para las familias, falta de actividad agrícola y escasa actividad agroindustrial. Para establecer un diagnóstico, se diseñó una encuesta con los datos generales de los productores, datos socioeconómicos, actividad principal que realizan, apoyos económicos, datos de la unidad de producción de maguey, nopal tuna y nopal verdura. Se realizó un muestreo no probabilístico, de 70 productores de maguey, nopal tuna y nopal verdura, interesados en participar. Se organizaron foros de discusión para el levantamiento de las encuestas y entrevistas en ejidos y rancherías del municipio de Axapusco. Se utilizó estadística descriptiva y métodos gráficos para analizar los datos. Los resultados más relevantes son: el 97% de los productores tienen una edad entre 50 y 70 años, falta de maguey como cultivo intensivo (actualmente pocos productores se dedican a este cultivo), sustitución del maguey por cebada, baja productividad en los cultivos de nopal tuna y nopal verdura, falta de asesoría técnica y apoyos qubernamentales a este sector y de un programa integral de industrialización de los productos, las vías de comercialización son inoperantes, aplicación excesiva de plaguicidas en los cultivos y precios sujetos al intermediarismo. Aunque existe interés por parte de los productores en estos cultivos, se requiere organización de productores, incentivos económicos, asesoría y proporcionar valor agregado a sus productos.

INTRODUCCIÓN

El municipio de Axapusco posee una extensión territorial de 230.94 km² y está constituido por pequeños cerros. La población se dedica a la agricultura y en sus cultivos los que más resaltan son la producción de nopal tunero y maguey. Cuenta con 2,938 hectáreas sembradas de nopal tunero, 14 hectáreas sembradas de nopal verdura y 130 hectáreas sembradas de maguey.

El Estado de México es el tercer productor más importante de nopal verdura, y aporta 8% de la producción nacional, entre los municipios con mayor producción se encuentra Axapusco (SAGARPA, 2012).

El cultivo de nopal tunero representa actualmente una alternativa económica viable para los productores, esta es una de las actividades más importantes y de las pocas opciones agrícolas, debido a las condiciones edáficas y climáticas de la zona. En esta región se cultivan dos tipos de tuna: la llamada "blanca" y la "roja". La tuna blanca ha sido clasificada como *Opuntia albicarpa* y la roja como *Opuntia megacantha*.

El Estado de México es el tercer productor a nivel nacional de tuna con un 3.5% del total, en los últimos años se ha incrementado tanto la superficie sembrada como la superficie cosechada.

En la última década la superficie sembrada de tuna ha permanecido estable en el estado de México, pero la producción ha disminuido 29% entre 2003 y 2010. Esto se debe a que los rendimientos han disminuido casi un tercio en el periodo mencionado (SAGARPA; 2012). La relación superficie/producción de tuna es de 2,938 hectáreas sembradas y 32,946 toneladas.

El maguey, *Agave salmiana* (Fig. 1), la planta más característica del Altiplano de México, y su producto principal, el pulque, forma parte de la tradición cultural del pueblo mexicano. La producción anual promedio de pulque es de 250 mil litros (Olvera, 2013). Debido a su alto nivel de explotación de la cutícula de sus pencas para elaborar mixiotes, corte de pencas para la barbacoa; construcción de techos, obtención de gusanos chiniculles, así como para forrajes, fibras para la fabricación de reatas, celulosa, papel, saponinas, bebidas y la explotación de miel para usos medicinales han provocado la disminución del inventario de plantas de maguey, por todo lo anterior actualmente es una de las especies que están en peligro de extinción.



Figura 1. Agave salmiana

El objetivo del proyecto es realizar un diagnóstico de la situación actual de la producción de nopal tuna, nopal verdura y maguey en las comunidades: Atla Tecuatitlán, Xaltepec, Francisco I. Madero, San Felipe Zacatepec, San Pablo Xúchil, Santa María Actipac, Santo Domingo Aztacameca, Ranchería Xacatepec y Xala, del municipio de Axapusco.

TEORÍA ANTECEDENTES

México es considerado uno de los países con mayor diversidad de especies, el maguey requiere de un tiempo de maduración promedio de 10 años para poder utilizarse en la obtención de agua miel y elaboración de pulque, mezcal, tequila y otras variedades de aguardiente, por lo que se trata de un recurso que necesita tiempo para recuperarse.

Monterrubio (2007), hace la observación "que a partir de 1880 durante el Porfirismo" con la introducción del ferrocarril al país, la producción artesanal de pulque obtuvo ventajas por una mayor demanda del producto ocasionada por un canal de comercialización directo hacia las grandes ciudades.

Durante la segunda mitad del siglo xx continuó el auge de expendios y locales que comercializaban el pulque en la región centro del país, esta situación demandó una producción extensiva del agave en el campo. Olvera (2013) menciona que en 1984 se alcanzó la mayor producción de aguamiel (9'885,739 l), pero a partir del terremoto de 1985 la producción tuvo una reducción del 99.57%, solo se produjeron 43,146 lts.

Actualmente, la industria de este tipo de productos está padeciendo las consecuencias de la sobreexplotación y la deforestación de zonas dedicadas al cultivo del agave, por lo que la oferta es baja. Además de la práctica del saqueo y robo con violencia por parte de gavillas organizadas (Nanacamilpa y Calpulalpan en Tlaxcala y en la región Teotihuacán en el Edo. de México), aunque se cuenta con una ley de protección al maguey (Cúlhuac, 2013) en el Edo. De México, el delito de robo está tipificado como no grave, además de la no acción por parte de las autoridades lo anterior ha ocasionado llevar al agave pulquero casi al punto de la extinción. Otro de las situaciones que afectó a las comunidades productoras de pulque fue la desaparición del tren de pasajeros, ya que este medio de comunicación permitía la transportación del pulque de forma directa hacia la ciudad de México (Monterrubio, 2007). Lo anterior se ve reflejado en las siguientes estadísticas: de 1990 a la fecha, la producción de maguey ha disminuido de 20 millones de plantas a un millón 600 mil (Olvera, 2013).

En 2011, la superficie cultivada de nopal en México fue más de 12,644 hectáreas, generando un valor de producción de \$1,340 millones de pesos (Siap, 2012). Alrededor del 70% de la producción nacional se comercializa en la central de abasto de Iztapalapa, en la ciudad de México (Saravia-Tasayco, 2002); callejas *et al.*, 2006).

El Estado de México es el tercer productor más importante de nopal verdura, y aporta el 8% de la producción nacional, algunos productores de los municipios con mayor producción están ubicados en Otumba, San Martín de las Pirámides, Temascalapa, Nopaltepec, Axapusco, y San Juan Teotihuacán (Sagarpa, 2012).

PARTE EXPERIMENTAL

Se aplicó una encuesta aleatoria a 70 productores agrícolas de diferentes localidades de Axapusco (Axapusco, Atla, Santo Domingo, Santa María Actipac, San Felipe Zacatepec, San Martín y San Pablo Xúchil). Las encuestas fueron aplicadas entre los meses de febrero y mayo del 2016. La cédula fue diseñada considerando datos generales del productor y socioeconómicos, actividad principal que realizan, apoyos económicos con los que cuentan, producción obtenida para la actividad: maguey, nopal tuna, nopal verdura; así como productos agroindustriales. Los datos obtenidos se analizaron con estadística descriptiva (Statistica para Windows). También se realizaron foros de discusión con los productores encuestados (Figura 2)



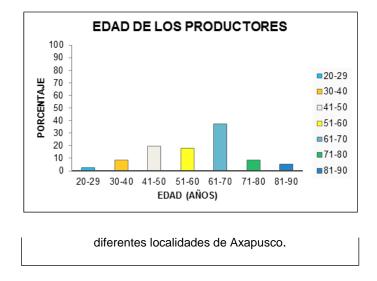
_ _ _

RESULTADOS

Aspectos generales de los productores

Dentro de la zona de estudio, el 51.38% de los productores encuestados de la región son de la tercera edad, el 45.82% de los productores tienen entre 30 y 60 años y el 2.77% tienen entre 20 y

29 años de edad (Figura 3). Otro de los aspectos generales de esta zona es el arraigo de la población ya que existe poca migración de los ejidos y rancherías de este municipio.



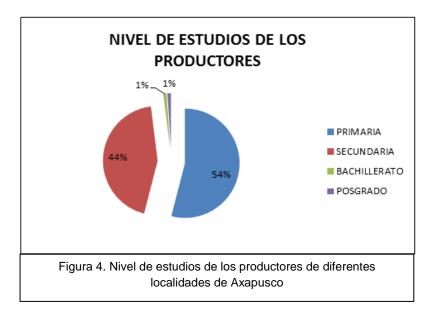
El 97% de los productores encuestados de Axapusco son del sexo masculino y el 3% de los productores son mujeres. Con respecto al estado civil de los productores encuestados el 64% están casados, el 17% viven en unión libre y el 1% es viudo. El 30% de los productores encuestados tienen un dependiente económico, el 22.85% dos, el 27.14% tres, el 14.28% cuatro, y el 5.71% cinco.

Ingresos mensuales

El 10% de los productores encuestados obtienen menos de \$1,000 pesos mensuales de ingresos, el 75.9% perciben de \$1,000 a \$4,000 pesos, el 9% entre \$4,100 y \$8,000; el 4.98% entre \$8,100 y \$12,000. El 45 % de los productores encuestados perciben mensualmente menos del salario mínimo vigente en el momento de la aplicación de la encuesta, que es de \$73.04 diarios.

Nivel de estudios

En cuanto al nivel de estudios de los productores encuestados el 54 % cuentan con primaria, el 43%, con estudios de secundaria, el 1% con estudios de bachillerato y el 1% posgrado (Figura 4).



Actividad principal

Con respecto a la actividad principal el 86.11% de los encuestados son productores agrícolas, el 4.16% se dedican a la construcción, el 6.94 % al hogar, el 1.38% son empleados y el 1.39% a actividades comerciales.

Manejo de los cultivos

Poda y Deshierbe

La poda es una actividad cultural necesaria para lograr el desarrollo agrícola que requieren estos cultivos, considerando las limitaciones del suelo, agua y nutrientes. El 82% realizan esta actividad, la mayoría de ellos podan de forma anual.

Dentro de las actividades de manejo el deshierbe es una actividad importante, ya que favorece el desarrollo de la planta y las labores de cosecha se facilitan. Esta actividad se realiza en el periodo de lluvias. El 78% de los productores realizan esta actividad. De los productores que deshierban el 57% de los productores deshierban de forma manual, utilizando mano de obra familiar, el 29% realizan esta actividad de forma manual y química y el 14 % solamente lo realizan de forma química.

Fertilización y Control de Enfermedades

De los productores de nopal tuna y verdura encuestados el 75% fertilizan, de estos el 62% realiza esta actividad con estiércol fresco vacuno, el 27% fertilizan utilizando químicos y el 11% utilizan ambos tipos de fertilización. Con respecto a la periodicidad de la fertilización el 43 % de los productores realizan esta práctica anualmente. Los productores de maguey encuestados fertilizan con estiércol, la periodicidad de la fertilización es anual.

Con respecto al control de enfermedades el 74% de los productores encuestados de diferentes localidades de Axapusco realizan actividades de control de plagas en sus parcelas.

Aspectos de comercialización

Los productos que comercializan los productores de nopal y maguey son: Tuna blanca y roja, nopal verdura, aguamiel, pulque, pencas de maguey y gusanos de maguey. Las operaciones de compra venta se realizan con pagos en efectivo. El 92% de los agricultores que producen tuna blanca la comercializan a un precio entre \$30.00 a \$80.00 y solamente el 8% de los productores la venden entre \$60.00 y \$120.00. Con respecto a los lugares donde se distribuye la tuna blanca y roja, el

81% la comercializan en Santiago Tolman, el 13 % en San Martín de las Pirámides, el 3 % en Toluca y el 3 % en la Ciudad de México. Con respecto a los productos obtenidos a partir del maguey, estos se comercializan de forma local, el aguamiel a un precio entre \$2.00-\$3.00 por litro, el pulque \$10.00 por litro y la penca de maguey de \$3.00 a \$5.00 por unidad y los gusanos de maguey entre \$200 a 300/l.

Apoyos institucionales

La Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL) otorga un apoyo denominado pensión universal para adultos mayores. Este apoyo se brinda a los mexicanos de 65 años o más y que comprueben una estancia en el país de 25 años o más. El beneficio económico es de \$1,160.00 bimestralmente. El 54% de los productores encuestados de diferentes localidades de Axapusco cuentan con este apoyo.

Apoyos agropecuarios

El 47% de los productores encuestados de diferentes localidades de Axapusco son beneficiarios de apoyos agropecuarios recibidos por instancias gubernamentales. Estos apoyos provienen en un 38% de los casos del Programa de Apoyos Directos del Campo (PROCAMPO), 6% del Programa de PROAGRO Productivo otorgado por SAGARPA y el 3% por la Secretaria de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).

Asesoría Técnica

Solamente el 10% de los productores encuestados recibe asesoría técnica. Esta es impartida en la mayoría de los casos por instancias gubernamentales como (Secretaría de Desarrollo Agropecuario) SEDAGRO; así como también talleres impartidos por investigadores del Universidad Autónoma de Chapingo y en algunas ocasiones han recibido talleres contratados por el municipio de Axapusco.

Problemática identificada por los productores agrícolas de Axapusco.

Entre los problemas más importantes identificados con respecto a la producción de tuna, destaca la falta de organización de los productores, falta de apoyos gubernamentales para el campo, insuficientes asesorías técnicas y capacitación a los productores, canales de comercialización directos (Productor-Consumidor), dar valor agregado al producto, erosión del suelo, falta de agua y utilización de herbicidas sin restricción.

Los productores que cultivan tuna en el Estado de Zacatecas enfrentan una problemática similar (Gallegos et al., 2003) a la detectada con los productores de Axapusco. La mayor parte de estos últimos comercializan la tuna a intermediarios en Santiago Tolman, lo que provoca precios bajos para el producto. Como consecuencia existe una baja rentabilidad de esta actividad. Ante esta problemática es necesario planear e implementar acciones que permitan incrementar la rentabilidad de la producción de tuna.

Con respecto a la producción de maguey las problemáticas más relevantes son: largo tiempo de desarrollo de la planta, por lo que se ha sustituido la producción de maguey por cultivos alternativos (maíz, cebada y haba); las campañas de desprestigio del pulque han disminuido su consumo, ya que existe una subvaloración social por esta bebida; la práctica del saqueo con violencia por parte de grupos organizados que sustraen pencas para la elaboración de barbacoa, mixiotes, consumo de la flor y obtención de gusanos de maguey ha desalentado a los productores para la explotación de este recurso, se requiere una ley de protección al Maguey que contemple sanciones a los individuos que roben y/o dañen a la planta. Lo anterior ha ocasionado que el agave pulquero esté al borde de su extinción en esta región. En Oaxaca están en peligro de extinción al menos ocho variedades de maguey silvestre, planta con la que se produce el mezcal, bebida que identifica y da renombre a la entidad. "De acuerdo con los productores oaxaqueños, el

riesgo de la desaparición de los magueyes se debe a la sobreexplotación y la falta de apoyo gubernamental en programas de manejo, control y conservación de la planta, lo que ha provocado que pocos productores se dediquen a la explotación de esta planta" ("Varias especies de maguey en riesgo de desaparecer, 2016"). Aunque existe interés por reforestar en Axapusco, la falta de semilla, de obtención de planta por medio de hijuelos, la escasez de agua y erosión de los suelos ha limitado el desarrollo de esta actividad. Otra de las problemáticas es la falta de nuevas tecnologías para la industrialización del pulque. Los productores encuestados manifestaron interés en explotar la planta siempre y cuando exista una legislación que tipifique este delito y se le recupere económicamente al productor cuando se dañen sus plantas. La reforestación con maguey es importante para el ecosistema, forma parte de la cadena biológica, lo que repercutiría en la recuperación de los suelos.

Para resolver esta problemática y evitar la extinción de la planta de maguey se proponen las siguientes estrategias:

- 1. Inclusión en la Ley para la protección al Maguey del Estado de México un apartado de sanciones por daño a la planta.
- 2. Establecimiento de bancos de germoplasma de Agave (manso, púa larga, chalqueño y ayoteco, variedades de grandes rendimientos para la extracción de jarabe de fructosa y aguamiel).
- 3. Establecimiento de laboratorios de cultivo "in vitro" para la propagación y conservación de diferentes variedades de esta planta.
- 4. Diversificación de productos a partir de la planta de Agave, como inulina, jarabe de fructosa, mezcal, y aprovechamiento del ixtle.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el municipio de Axapusco la caracterización del proceso de producción de maguey, nopal tuna y nopal verdura, es compleja y heterogénea. Actualmente existe una falta de participación de los jóvenes en la actividad agrícola en esta región, una pérdida del maguey como cultivo intensivo, pocos productores se dedican a este cultivo, se ha sustituido el maguey por otros cultivos alternativos, como la cebada y falta una ley de protección al maguey que incluya sanciones por daño a la planta: Con respecto al nopal existe una baja productividad del nopal tuna y nopal verdura, falta de asesoría técnica a los productores, existen pocos apoyos gubernamentales para este sector, las vías de comercialización con las que cuentan son inoperantes y los precios son regulados por el intermediarismo.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Aguilar, B., Enríquez, J., Rodríguez, G., Granados, D., & Martínez, B. (2014). El estado actual de *Agave salmiana* y *A. mapisaga* del Valle de México. Revista Mexicana de Agroecosistemas, 1(2), 106-120.
- Gallegos V., C.; Cervantes H., J.; Corrales G., J.; Medina G., G; G. (2003). La cadena productiva del nopal en Zacatecas: bases para un desarrollo sostenido. En: Hernández, C., Carlos, E., & Martínez Campos, Á. R. (2013). Análisis de la cadena productiva del pulque del Estado de México y Tlaxcala. Primera edición. Zacatecas, México:
- 3. niversidad Autónoma de Chapingo. Fundación Produce Zacatecas A.C., Secretaría de Economía,
- 4. Monterrubio, A. L. (2007). Las haciendas pulgueras de México (Vol. 35). México: UNAM.

- 5. Olvera J. 2013. Despiertan los gigantes, el pulque y el maguey pulquero. Recuperado el 30 de diciembre del 2013. De: http://agroenvi.com.mx/despuertan-los-gigantes-el-pulque-y-el-maguey-pulquero/.
- 6. Saravia-Tasayco, P.L. 2002. Agrupamientos productivos (cluster) del nopal. Secretaría de Economía. (SE). www.contactopyme.gob.mx/estudios/docs/nopal_mexico.PDF (consultado octubre 2016).
- 7. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2012. Plan Recto del Sistema Producto Nopal y Tuna del Estado de México. 29 p.
- 8. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP 2012). Cierre de la producción agrícola. Nopalitos. http://www.siap.gob.mx (consultado octubre 2016).
- 9. Varias especies de maguey en riesgo de desaparecer. En: Foro ambiental Recuperado el 18/10/2016. En: http://www.foroambiental.com.mx/varias-especies-de-maguey-en-riesgo-de-desaparecer/