



TENDENCIAS EN LA INVESTIGACIÓN AGROALIMENTARIA Y CIENCIA ANIMAL



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

“ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE”

SEMANA DE DIFUSIÓN Y DIVULGACIÓN CIENTÍFICA 2019

Tendencias en la investigación agroalimentaria y ciencia animal

C O L E C C I Ó N
ÁNGEL RAMOS SÁNCHEZ
Textos de enseñanza en Ciencias Agropecuarias

Guillermo Narváez Osorio
Rector

Roberto Antonio Cantú Garza
División Académica de Ciencias Agropecuarias

Tendencias en la investigación agroalimentaria y ciencia animal

Luis Manuel Gómez Díaz Durán
Laura Mercedes Lagunes Gálvez
Salomé Gayosso Rodríguez



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

“ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE”

Primera edición, 2021

© Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

ww.ujat.mx

ISBN: 978-607-606-556-3

Para su publicación esta obra ha sido dictaminada por el sistema académico de pares ciegos. Los juicios expresados son responsabilidad del autor o autores y fue aprobada para su publicación.

Queda prohibida la reproducción parcial o total del contenido de la presente obra, sin contar previamente con la autorización expresa y por escrito del titular, en términos de la Ley Federal de Derechos de Autor.

Foto de portada: Secretaría de Relaciones Públicas de la UJAT.

Hecho en Villahermosa, Tabasco, México

El presente volumen recoge los artículos correspondientes a proyectos e investigaciones científicas presentadas por profesores investigadores y alumnos destacados de la División Académica de Ciencias Agropecuarias durante la Semana de Difusión y Divulgación Científica de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

ÍNDICE

Prólogo	9
Influencia del secado sobre la actividad antioxidante del extracto de flor y hoja de <i>Solanum marginatum</i>	10
Funcionalidad metabólica de compuestos fenólicos y glucósidos mayoritarios en extractos de hojas y tallos de una variedad criolla de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni adaptada al cultivo en el sureste mexicano	24
Contenido de azadiractina en semillas de neem (<i>Azadirachta indica</i> a. Juss) colectadas en diferentes localidades del estado de Tabasco	41
Aislamiento de levaduras con potencial probiótico a partir de una bebida maya (balché)	57
Estimación de la vida útil en aderezos a base de cúrcuma (<i>Curcuma longa</i>) mediante la evolución del índice de peróxidos	66
Evaluación de la preferencia y aceptabilidad sensorial de una bebida a base de sábila (<i>Aloe barbadensis</i> Miller)	78
Evaluación de la calidad de huevo de diferentes marcas	85
Galletas enriquecidas con harinas compuestas de legumbres y oleaginosas para el mejoramiento de la seguridad alimentaria	94
Estado nutrimental del pimiento morrón cultivado en hidroponía con tres concentraciones de una solución nutritiva	108
Propiedades físicas de un luvisol cultivado con seis especies forestales en Tabasco, México	120
Evaluación de la calidad y rendimiento de ADN genómico de sangre de perros empleando dos protocolos basados en la técnica de “salting out”	134
Riqueza y abundancia de escarabajos estercoleros en un rancho bovino de Tabasco	146
Caracterización de unidades de producción porcina en el municipio de Nacajuca, Tabasco, México	157

Comité Científico

Nombre	Institución
Dra. Liliana Aguilar Marcelino	Colegio de Posgraduados
Dra. Lourdes Baeza Mendoza	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. Juan Barajas Fernández	División Académica de Ingeniería y Arquitectura-UJAT
Dra. Hortensia Brito Vega	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. Gerardo Rogelio Cansino Arroyo	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dra. María Del Refugio Castañeda Chávez	Instituto Tecnológico de Boca del Río
Dra. Carolina Conde Mejía	División Académica Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez
Dr. Carlos Alberto Corzo Sosa	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. Maximiano Antonio Estrada Botello	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. Pedro García Alamilla	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dra. Salomé Gayosso Rodríguez	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dra. Angélica Del Rosario Gil Magaña	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. Edmundo Gómez Méndez	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. José Javier Huijara Vasconcelos	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dra. Laura Mercedes Lagunes Gálvez	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. Antioco López Molina	División Académica Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez
Dra. Eloisa López Hernández	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
M. en C. Serapio López Jiménez	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. Carlos Luna Palomera	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. César Márquez Quiroz	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. Facundo Joaquín Márquez Rocha	Centro para la Producción más Limpia, Tabasco. Instituto Politécnico Nacional
Dra. Edith Miranda Cruz	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dra. Angélica Alejandra Ochoa Flores	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dra. María De Los Ángeles Olán Acosta	División Académica de Ingeniería y Arquitectura-UJAT
Dra. Viridiana Olvera Hernández	División Académica de Ciencias de la Salud-UJAT
Dra. Cintli Martínez Ortiz De Montellano	Facultad de Medicina, Veterinaria y Zootecnia, UNAM
Dr. Rodolfo Osorio Osorio	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dra. Martha Hilda Pérez Vega	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. Santiago Ramírez Vera	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dra. Lilí Rodríguez Blanco	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. Alberto Rosado Aguilar	Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UADY
Dra. Rosa Ma. Salinas Hernández	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. José Rodolfo Velázquez Martínez	División Académica de Ciencias Agropecuarias-UJAT
Dr. Arnoldo Wong Villareal	Universidad Tecnológica de la Selva, Ocosingo, Chiapas

PRÓLOGO

"La ciencia más útil es aquella cuyo fruto es el más comunicable"
Leonardo Da Vinci

Si consideramos que el conocimiento científico es un producto eminentemente social, la importancia de la difusión y, eventualmente la divulgación, debe ser un imperativo de aquellos que se dedican a la generación de nuevo conocimiento científico, sobre todo en las universidades públicas.

Es por esto que la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, en el Plan de Desarrollo Institucional 2016-2020, menciona que “en aras de coadyuvar al progreso del estado, se propiciará la amplia divulgación de los resultados obtenidos en los trabajos de investigación, procurando que la población visualice el alcance social que la actividad científica tiene, de tal forma que se apropien del conocimiento empleándolo para la productividad y la innovación”. De esta forma, el libro “Tendencias en Investigación Agroalimentaria y Ciencia Animal”, es una muestra de este esfuerzo institucional en poner al alcance de la comunidad científica y la sociedad en general, los resultados de las investigaciones que profesores-investigadores y alumnos generan en su quehacer diario.

La producción de alimentos en la actualidad está basada en la sobreexplotación de los recursos naturales, la contaminación y el agotamiento de cuerpos de agua y suelos, y una disminución de la biodiversidad de los ecosistemas, donde la seguridad alimentaria para las generaciones futuras es cuestionable. Apostar por cadenas de suministro regionales y la reducción del consumo de agentes químicos contaminantes en la producción de vegetales, carnes, lácteos y sus derivados, representa una alternativa para la producción de alimentos inocuos y la sostenibilidad agropecuaria.

En respuesta a esta problemática global, la producción de alimentos regionales demanda alimentos nutritivos con componentes adicionales que favorezcan la salud; impulsando el desarrollo de investigaciones por instituciones de

investigación local, que permitan la generación y el desarrollo de tecnología con especies vegetales endémicas y alimentos procesados, como una alternativa disponible para la producción de alimentos funcionales y nutracéuticos con capacidad antioxidante, microbial y antiglicémica, entre otros, así como la conservación de las propiedades funcionales y organolépticas.

Influencia del secado sobre la actividad antioxidante del extracto de flor y hoja de *Solanum marginatum*

Joany Ivvete Chan Marín¹

José Rodolfo Velázquez Martínez¹

Areli Carrera Lanestosa¹

Lourdes Baeza Mendoza¹

Nicolás González Cortes.²

Juan Guzmán Ceferino¹

RESUMEN

La búsqueda de alimentos funcionales y nutraceuticos son un reto para la ciencia y tecnología de los alimentos, por lo cual el interés en las propiedades antioxidantes de las plantas es reciente; algunos autores han evaluado la capacidad de captura de radicales libres y el contenido de fenoles principalmente en frutas; sin embargo, algunas especies de plantas como la sosa *Solanum marginatum* L. han sido poco estudiadas. El objetivo de este trabajo fue conocer el contenido fenólico total y la actividad antioxidante de la flor y hoja de la sosa extraídos con etanol y agua. Los datos se analizaron mediante diseño completamente al azar con tres réplicas. Los tratamientos fueron extractos de flor y hoja (frescos y deshidratados, respectivamente). Las variables de respuestas fueron: compuestos fenólicos, taninos, DPPH y determinación de actividad antioxidante total (IC₅₀). Se encontró mayor contenido de compuestos fenólicos en los extractos de flor y hoja deshidratada, mientras que el contenido de taninos fue mayor en el extracto de flor deshidratada. Por otro lado, en cuanto

¹ División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, km 25, Carr. Villahermosa-Teapa, Ra. La Huasteca, 2a Sec. C.P: 86298. Centro, Tabasco, México.

² División Académica Multidisciplinaria de los Ríos. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carr. Tenosique-Estapilla km 1 s/n. Tenosique, Tabasco, 86901. México.

* jgceferino@hotmail.com; juan.guzman@ujat.mx.

al tipo de extracto, no se encontró diferencia estadística significativa ($p < 0.05$), por lo que la mejor condición para obtener con mayor actividad antioxidante en función del contenido polifenólico y taninos, es aplicar un proceso de extracción etanólica de hoja y a la flor de sosa deshidratada.

Palabras clave: *Solanum marginatum*, polifenol, radical, antioxidante.

INTRODUCCIÓN

La sosa (*Solanum marginatum* L.) pertenece a la familia de las Solanáceas, comúnmente conocida en la zona oriental de Cuba como berenjena. A pesar de que cuenta con ciertas particularidades como son las espinas tanto en hojas como tallos, y la forma lobulada de sus hojas, esta especie cuenta con propiedades medicinales atribuidas tradicionalmente como antimicrobianas, antiartrítico y antiinflamatorio (Rios *et al.*, 2017; CONABIO, 2018). Esta planta cuenta con un elevado potencial terapéutico, ya que constituye una alternativa farmacológica de marcado interés en el tratamiento de muchas enfermedades (Pérez *et al.*, 2010), como el cáncer (Plantas Medicinales de México, 2011); sin embargo, esta especie es poco conocida y utilizada. No obstante que existen recomendaciones del consumo de la hoja en infusión, se desconoce la cantidad o concentración necesaria de los compuestos polifenólicos necesarios para capturar los radicales libres y la cantidad mínima para reducir los radicales en un 50 %. Así mismo, existe poca o nula investigación sobre el efecto biológico presente en la hoja y flor.

Se ha demostrado que el secado es un factor que determina la actividad de los compuestos polifenólicos tal como lo reporta Ahmad-Qasem *et al.* (2016) ya que este influye en la composición y su potencial durante el almacenamiento, el cual puede disminuir un 10 %. Aunado a lo anterior, se ha comprobado que la influencia de las condiciones ambientales en los que se encuentra una especie es otro factor con gran influencia sobre su composición y la concentración de los compuestos antioxidantes (Dörr *et al.*, 2019).

Aunado a lo anterior, los antioxidantes son sustancias que disminuyen las reacciones de oxidación causadas por el oxígeno atmosférico en diferentes biomoléculas (Restrepo *et al.*, 2010), por lo que los antioxidantes son capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. Podemos encontrar sustancias o compuestos en los alimentos que presentan efectos antioxidantes naturales como la vitamina E, la vitamina C y carotenos, y son los primordiales para el buen funcionamiento del organismo; sin embargo, el suministro de otros antioxidantes podría tener efectos beneficiosos y ser una alternativa de prevención en las enfermedades, tal es el caso de los compuestos polifenólicos (Montoya *et al.*, 2004).

Los compuestos fenólicos constituyen una gran familia de metabolitos secundarios con distintas características químicas y propiedades biológicas. Una de ellas es la que se encarga de neutralizar la acción de radicales libres, que evita o retarda los procesos de lipoperoxidación y consecuentemente, disminuye así el daño celular (Avello *et al.*, 2008).

El actual estilo de vida, los inadecuados hábitos alimenticios, así como el consumo de alimentos con bajo rendimiento nutrimental y baja capacidad antioxidante, son factores que influyen sobre el desarrollo de algunas enfermedades. Por ejemplo, en la dieta común se incluye comida rápida con un alto contenido en grasas, alimentos chatarra, así como alimentos enlatados que contienen conservadores, bebidas con alto contenido de azúcar como los refrescos, etc. por lo que se ve reducido el consumo de compuestos naturales. Esto ha causado graves problemas de salud en la sociedad como la desnutrición, obesidad y el incremento de diversas enfermedades crónico degenerativas, como consecuencia del estrés oxidativo (Delgado *et al.*, 2010).

Los compuestos activos obtenidos de plantas son ampliamente utilizados en la industria farmacéutica y cada día es mayor el número de plantas y metabolitos de interés. Sin embargo, el cambio climático ha traído como consecuencia

numerosas modificaciones en la distribución y la abundancia de las especies vegetales y en consecuencia el riesgo de extinción de algunas plantas; lo anterior significa una pérdida del potencial de conocimiento a partir de los metabolitos con propiedades medicinales y de interés agronómico (Barrón *et al.*, 2011).

OBJETIVO

Conocer el efecto del secado sobre contenido polifenólico y la actividad antioxidante de extractos de flor y hoja de la sosa.

MATERIALES Y MÉTODOS

La flor y hoja de la sosa fueron recolectadas en el poblado El Águila, del municipio de Balancán, Tabasco. Las muestras cosechadas fueron almacenadas en bolsas de papel y transportadas al Laboratorio de Análisis Instrumental de la División Académica Multidisciplinaria de los Ríos, ubicada en el km 1 de la carretera Tenosique-Estapilla.

Las muestras fueron lavadas con agua común y posteriormente se mantuvieron en reposo durante 4 h a temperatura ambiente para eliminar el exceso de agua. Una porción de las muestras se evaluó en fresco y otra porción se destinó para la deshidratación. La deshidratación se realizó a 60 °C en una estufa (Binder®) durante 24 a 48 h.

Posteriormente, las muestras (frescas y deshidratadas) se homogenizaron por separado en un procesador de alimentos (Oster®). Las extracciones se maceraron con etanol al 70 % y agua destilada, se aplicó por calentamiento a 60 °C durante 3 h. Los extractos obtenidos se filtraron mediante vacío y se depositaron en

frascos de color ámbar y se almacenaron a una temperatura de congelación hasta su uso (Iqbal *et al.*, 2017).

Contenido polifenólico total. El contenido polifenólico total se determinó por el método del Folin-Ciocalteu, reportado por (Rouis-Soussi *et al.*, 2014). Se realizó una curva de calibración con ácido gálico (5 a 250 ppm) para expresar el contenido en EAG/g (equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra). Después de dejar reaccionar la muestra con los reactivos por 30 min, se leyó la absorbancia a 790 nm en un espectrofotómetro UV/VIS (Spectronic).

Taninos condensados. La cuantificación de los taninos condensados se realizó por el método del HCl-Butanol, de acuerdo con (Pérez-Jiménez, 2011). Se realizó una curva de calibración de catequina a una concentración de 5 a 500 ppm; después la mezcla de reacción entre muestra y reactivos se leyó la absorbancia de 460 nm en un espectrofotómetro de UV/VIS (Spectronic). Los resultados se expresaron como equivalente de catequina (mg AC/g).

Atrapamiento de radicales libres. La actividad de captura de radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracil) se realizó de acuerdo al método propuesto por Eva *et al.* (2008). La actividad de captura de los extractos se comparó con diferentes concentraciones de una solución de ácido gálico de 0.01 a 1 mg/mL. Después de la reacción en ausencia de luz a temperatura ambiente, se leyó la absorbancia a 520 nm en un espectrofotómetro de UV/VIS (Spectronic). Los resultados se expresarán en porcentaje de captura mediante la siguiente ecuación:

$$\% C = \frac{\text{Absorbancia del radical} - S\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del radical}} \times 100$$

Determinación de IC₅₀ de la capacidad antioxidante. El valor IC₅₀ es la cantidad de antioxidante necesario para disminuir la concentración inicial de DPPH a una concentración del 50 %. Se determinó a partir de las gráficas de capturas de radicales DPPH (Othman *et al.*, 2007).

Análisis de datos. Los datos obtenidos se analizaron por medio del análisis de varianza (ANOVA) para un diseño completamente al azar ($p < 0.05$). Los tratamientos fueron extractos acuoso y etanólico de hoja y flor (fresca y deshidratadas, respectivamente). Las variables de respuestas fueron: compuestos polifenólicos totales, taninos, actividad de captura de radical DPPH, determinación de la actividad antioxidante total (IC_{50}). Se compararon las diferencias estadísticas entre el método de extracción (acuoso y etanólico). Se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$). Se aplicó un análisis de correlación de Pearson para estimar el efecto de la concentración de polifenoles sobre el porcentaje de capturas de radical DPPH. Los análisis se realizaron con el programa Statgraphics plus 5.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

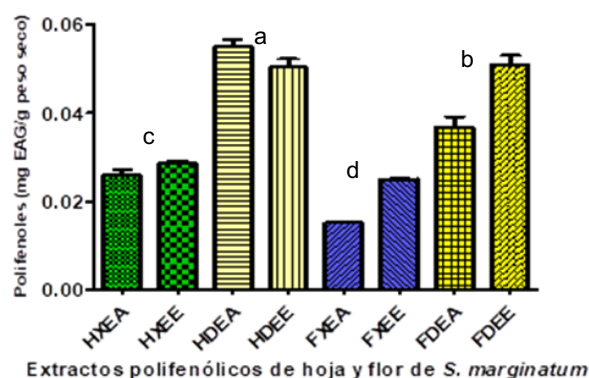
Contenido polifenólico total. La Figura 1 muestra la concentración polifenoles totales obtenidos en las hojas y las flores mediante extracción acuosa y etanólica (H = hoja; F = flor; D = deshidratado; X = fresco). Se encontró diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos evaluados. Es evidente que, tanto en el extracto acuoso y etanólico hoja deshidratada (HDEA y HDEE) se obtuvieron mayores concentraciones de compuestos polifenólicos totales.

Los contenidos mayoritarios de compuestos polifenólicos se deben a la ausencia de agua, ya que las muestras en estado fresco poseen de 10 a 12 % de humedad. Bajo esta perspectiva, es conveniente si se requiere mayor rendimiento de polifenoles.

Los resultados de esta investigación difieren con los obtenidos por Gnana *et al.* (2013), para *Solanum torvum* Swartz, que reportan que la cantidad de polifenoles presentes en las hojas son mínimas; mientras que el contenido de polifenoles en el extracto de flor deshidratada es aproximadamente de 0.25 mg/g. De igual manera reportan que en el fruto deshidratado la concentración es de 2.70 mg/g.

Figura 1. Contenido polifenólico total de extracto acuoso y etanólico de hoja y flor de *S. marginatum*. (H = hoja; F = flor; D = deshidratado; X = fresco, EA = extracto acuoso, EE = extracto etanólico).

Los valores presentados son los promedios \pm desviaciones estándar, (n= 5). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey (P<0.05).



De acuerdo con Rugna et al. (2007) y con Elekofehinti et al. (2013), reportan un contenido de polifenoles en el fruto de *Solanum anguivi*, de aproximadamente 17.13 mg/g de muestra. Los fitoquímicos presentes en los tejidos de las plantas pueden sufrir modificaciones cualitativas o cuantitativas cuando se cambian las condiciones ambientales, en los diferentes estados fenológicos o cuando se trata de diferentes especies, tal como reportan Ćetković et al. (2012), para *Solanum lycopersicum*, un contenido de polifenoles de 1.789 a 5.206 mg/g aproximadamente, entre ellos se mencionan el ácido clorogénico, caféico, rosmarínico, p-cumárico, quercetina, entre otros.

También existen evidencias reportadas por Perla et al. (2012), respecto al efecto de tratamiento de cocción sobre el contenido de polifenoles de diferentes especies de *Solanum tuberosum*, con valores de 1.2 a 4.4 mg/g de muestra. Aunado a lo anterior, los solventes aplicados como medio de extracción juegan un papel importante, ya que influyen en la polaridad, y que repercute sustancialmente en cuanto a solubilidad de polifenoles (Azmir et al., 2013).

Concentración de taninos. En la Figura 2 se muestran los contenidos de taninos en los que el análisis estadístico indicó diferencias estadísticas ($p < 0.05$). Se observa que en el extracto acuoso y etanólico de flor deshidratada (FDEA y FDEE) se presenta la mayor concentración de este fitoquímico, que a la vez representa el doble de lo encontrado en los extractos de hoja deshidratada. Los taninos son compuestos polifenoles capaces de precipitar proteínas que, desde el punto de vista nutricional, reducen la digestibilidad de las proteínas y los aminoácidos (Scull y Savón, 2003); sin embargo, se les atribuyen efectos positivos sobre la salud de quienes los consumen habitualmente en la dieta, especialmente por su actividad como antioxidantes (Vázquez-Flores *et al.*, 2012). De ahí la importancia de su evaluación en hojas y flores de sosa.

Con respecto a los taninos puede variar dependiendo de la parte de la planta que se haya evaluado. Otros factores que afectan la presencia de taninos en vegetales son las condiciones ambientales, genéticas o estado de maduración del fruto o la planta (Cheynier, 2005). Así mismo, es importante la parte del fruto que se considere como fuente de taninos, por ejemplo, en las manzanas, la mayor proporción de taninos condensados se encuentran en la cáscara (Prior y Gu, 2005). Los vegetales y frutos tienen la capacidad de acumular taninos en diferentes partes de la planta, como en las semillas, frutos, madera, raíz, hojas. En condiciones normales, los taninos vegetales representan del 2 al 7 % del peso fresco de la planta (Haslam, 2007).

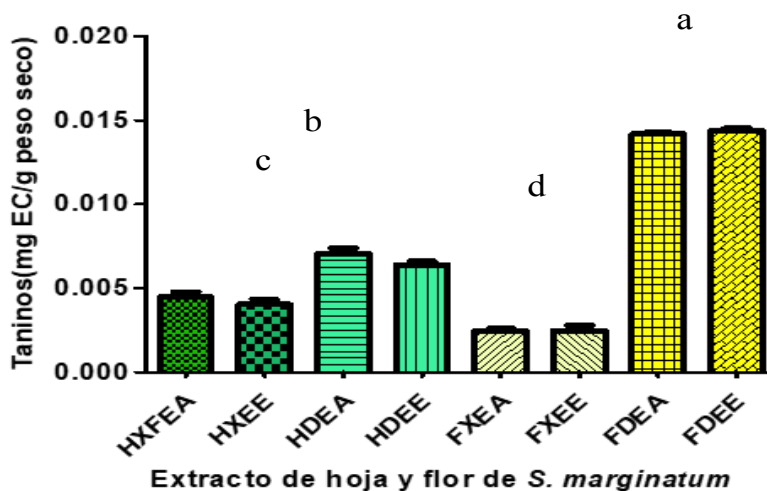


Figura 2. Contenido de taninos condensados de extracto acuoso y etanólico de hoja y flor de *S. marginatum*. (H = hoja; F = flor; D = deshidratado; X = fresco, EA = extracto acuoso, EE = extracto etanólico).

Los valores presentados son los promedios \pm desviaciones estándar, (n= 5). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

Existen evidencias reportadas por López-Cobo *et al.* (2014) que *Solanum tuberosum* es portadora de derivados de ácido caféico como: cafeoil putrescina, ácido 1-cafeoilquinicoáil, Bis (dihydrocaffeoyl) espermina, ácido clorogénico, ácido 4-cafeoilquínico, Bis (dihydrocaffeoyl) espermidina, Tris (dihydrocaffeoyl) espermina, rutina, kaempferol-3-O-rutinósido, ácido quínico 3,4-Di-cafeoyl, ácido quínico 3,5-Di-cafeoyl, ácido quínico 4,5-Di-cafeoil, y N 1, N 4, N 8 tris (dihydrocaffeoyl) espermidina, y derivados de ácido ferúlico como: ácido quínico 5-O-feruloil, derivado de ácido ferúlico, y N- [2-hidroxi-2- (4-hidroxifenil) etil] ferulamida, los cuales tienen propiedades antioxidantes.

Existen reportes que indican que a pesar de las concentraciones de compuestos fenólicos en tomate de árbol pueden ser similares o menores que a lo encontrado en frutas, y que posee mayor capacidad antioxidante comparadas con las

mayormente consumidas como la naranja, kiwi, uva roja, pera o de manzana; por lo que se puede asumir que también el IC₅₀ del tomate (Solanacea) presente a menor concentración efecto activo para reducir la concentración de radicales, es probable que en *Solanum marginatum* esten presentes derivados de hidroxycinnamoyl, entre los cuales 3- ácido O-caffeoylquinico y ácido rosmarínico, además de pelargonidina 3- O -rutinosido y delphinidina 3-O -rutinosido.

Actividad antioxidante. En la Figura 3 se puede observar el efecto de captura de radicales DPPH de los extractos y del control positivo. El análisis estadístico ($p < 0.05$) indicó diferencias en los porcentajes de captura. El control positivo en todas las concentraciones evaluadas logró una captura superior al 90 %. Mientras que los extractos logran una captura de 10 a 80 % aproximadamente, en las concentraciones evaluadas. Sin embargo, el mayor efecto se observó en el extracto acuoso de hoja fresca (FXEA), ya que a menor concentración el efecto de captura fue mayor; sin embargo, existe una tendencia que a mayor concentración mayor efecto de captura.

Por otro lado, el análisis de correlación ($p < 0.05$) indicó diferencias significativas en el caso de los extractos acuoso (HDEA) y etanólico (HDEE) de hoja deshidratada con una correlación positiva, respectivamente. Misma correlación se observó en los extractos acuoso y etanólico de flor y hoja deshidratada, tal como se observa en la Figura 3a y 3b. La importancia de los polifenoles como antioxidantes consiste en que transfieren un electrón a los radicales libres, convirtiéndose así en estables al tener sus electrones apareados. De acuerdo a la literatura, cuando esto ocurre, se evitan daños a las células y tejidos causados por el estrés oxidante. En consecuencia, una dieta rica en polifenoles puede modular algunos efectos fisiológicos secundarios de estrés oxidante y prevenir

por ejemplo la obesidad u optimizar el tratamiento de la diabetes (Bagchi *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2002 y Wu, 2006).

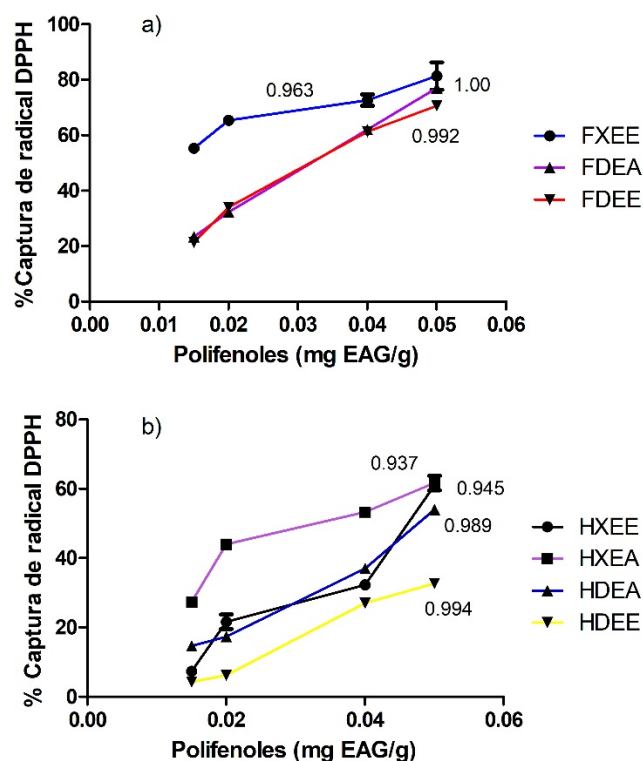


Figura 3. Efecto de la capacidad de captura de los extractos de flor (a) y hoja (b) de *S. marginatum* sobre los radicales DPPH y su correlación con el contenido de polifenoles. Los valores presentados son los promedios \pm desviaciones estándar, (n= 5).

En cuanto al IC_{50} , se aprecia en la Figura 4, que el análisis estadístico indicó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos, siendo el extracto etanólico de flor fresca (FXEE) el mejor, ya que a menor concentración se logra reducir los radicales al 50 %.

De acuerdo con Othman *et al.* (2007) se considera más eficaz a medida que la concentración de polifenoles o de cualquier otra sustancia bioactiva tiene efectos a menor concentración. Según los reportes de Andre *et al.* (2007) este efecto de reducción se debe a la diversidad de compuestos polifenólicos que pueden estar presentes en una muestra, en su caso señalan que en *Solanum tuberosum*, existe presencia de carotenoides y ácido clorogénico (0.42 a 2.19 mg/g y 16.33 mg/g respectivamente) ambos pertenecientes al grupo de polifenoles.

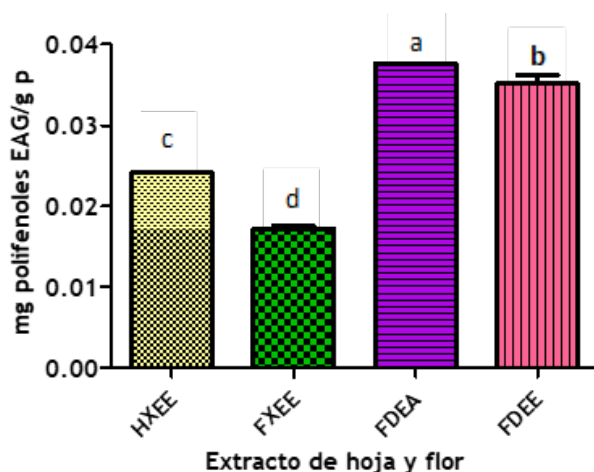


Figura 4. Cantidad mínima de antioxidante para reducir al 50 % los radicales DPPH. (H = hoja; F = flor; D = deshidratado; X = fresco, EA = extracto acuoso, EE = extracto etanólico). Los valores presentados son los promedios \pm desviaciones estándar, (n= 5). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

CONCLUSIONES

La flor y la hoja de *Solanum marginatum* son una fuente potencial de compuestos polifenólicos, así como de taninos con actividad antioxidante o de captura de radical DPPH, dicha actividad está en función del solvente utilizado para su extracción y de la concentración. El extracto etanólico de flor fresca es una condición recomendada para reducir al 50 % de radical antes mencionado. También es conveniente evaluar otros solventes y otras técnicas de extracción ya que se constató, que el secado favorece el contenido de polifenoles totales y de taninos: sin embargo, la mayor actividad antioxidante se observó en los extractos acuoso y etanólico de hoja fresca. También es recomendable un

análisis de perfil de polifenoles mediante HPLC-MS para estimar la concentración de cada compuesto.

REFERENCIAS

- Avello, M., Valladares, R., Ordoñez, J. (2008). Capacidad antioxidante de *Aristolelia chilensis* (Molina) Stuntz. *Revista Cuba de Plantas Medicinales*, 13, 4, 2-7.
- Ahmad-Qasem, M. H., Ahmad-Qasem, B. H., Barrajión-Catalán, E., Micol, V., Cárcel, J. A., & García-Pérez, J. V. (2016). Drying and storage of olive leaf extracts. Influence on polyphenols stability. *Industrial Crops and Products*, 79, 232–239. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.006>.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, a., Sahena, F., Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>.
- Ćetković, G., Savatović, S., Čanadanović-Brunet, J., Djilas, S., Vulić, J., Mandić, A., & Četojević-Simin, D. (2012). Valorisation of phenolic composition, antioxidant and cell growth activities of tomato waste. *Food Chemistry*, 133(3), 938–945. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.007>.
- Dörr, O. S., Zimmermann, B. F., Kögler, S., & Mibus, H. (2019). Influence of leaf temperature and blue light on the accumulation of rosmarinic acid and other phenolic compounds in *Plectranthus scutellarioides* (L.). *Environmental and Experimental Botany*, 103830.
- Elekofehinti, O. O., Kamdem, J. P., Kade, I. J., Rocha, J. B. T., & Adanlawo, I. G. (2013). Hypoglycemic, antiperoxidative and antihyperlipidemic effects of

saponins from *Solanum anguivi* Lam. fruits in alloxan-induced diabetic rats. *South African Journal of Botany*, 88, 56–61.

- Iqbal, S., Sivaraj, C., & Gunasekaran, K. (2017). Antioxidant and Anticancer Activities of Methanol Extract of Seeds of *Datura stramonium* l. *Free Radicals and Antioxidants*, 7(2), 184–189.
- Eva R. Ll., Castañeda, B., Vásquez, L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *Revista Académica Perú Salud*, 15(1), 42-46.
- Pérez-Jiménez, J. (2011). Metodología para la evaluación de ingredientes funcionales antioxidantes. Efecto de fibra antioxidante de uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos. 272. Retrieved from https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/1671/6494_perez_jimenez_jara.pdf?sequence=1.
- Perla, V., Holm, D. G., & Jayanty, S. S. (2012). Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers. *LWT-Food Science and Technology*, 45(2), 161–171. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.08.005>.
- Rios, R., Silva, H. B. F. da, Carneiro, N. V. Q., Pires, A. de O., Carneiro, T. C. B., Costa, R. dos S., Figueiredo, C. A. (2017). *Solanum paniculatum* L. decreases levels of inflammatory cytokines by reducing NFKB, TBET and GATA3 gene expression in vitro. *Journal of Ethnopharmacology*, 209, 32–40.
- Rouis-soussi, L. S., Hamdi, N. B., Ayeb-zakhama, A. El, Flamini, G., Ben, H., & Harzallah-skhir, F. (2014). South African Journal of Botany Phytochemicals, antioxidant and antifungal activities of *Allium roseum* var.

grandiflorum subvar. typicum Regel. *South African Journal of Botany*, 91, 63–70.

Scull, I. y Savón, L. (2003). Determinación de polifenoles totales y taninos condensados en harina de forraje de cuatro variedades de *Vigna unguiculata*. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 37, 4, 403-407.

Vázquez-Flores, A., Álvarez-Parrilla, E., López-Díaz, J., Wall-Medrano, A., de la Rosa, L. (2012). Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia Chihuahua*, 6, 2, 84-93.

**FUNCIONALIDAD METABÓLICA DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y
GLUCÓSIDOS MAYORITARIOS EN EXTRACTOS DE HOJAS Y TALLOS DE UNA
VARIEDAD CRIOLLA DE *Stevia rebaudiana* BERTONI ADAPTADA AL CULTIVO EN
EL SURESTE MEXICANO**

*Areli Carrera Lanestosa*¹
*Rodolfo Velázquez Martínez*¹
*Lourdes Baeza Mendoza*¹
*Juan Guzmán Ceferino*¹

RESUMEN

Los remedios naturales a base de plantas medicinales se han incrementado en los últimos años debido a que la evidencia científica les ha conferido diversas actividades biológicas y ha confirmado que los compuestos bioactivos contenidos en los extractos son benéficos para la salud. Se determinó el contenido de cinco compuestos fenólicos y dos glucósidos mayoritarios en extractos de *S. rebaudiana* variedad INIFAP C01: acuoso y etanólico de Muna (AMU) y (EMU) y acuoso y etanólico de Mocochoá (AMO) y (EMO). El extracto EMU, presentó un mayor contenido de compuestos fenólicos (2.25 g/100 g) y de glucósidos mayoritarios (17.12 g/100 g). La mayor inhibición enzimática fue obtenida con los extractos EMU y EMO con 95.04 y 91.58 % sobre la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) y con 52.85 y 86.78 % sobre α -amilasa. La *S. rebaudiana* variedad criolla INIFAP C01 contiene fitoquímicos que pueden ser coadyuvantes en la promoción de la salud, inhibiendo enzimas presentes en el metabolismo.

¹ División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, km 25, Carr. Villahermosa-Teapa, Ra. La Huasteca, 2a Sec. CP. 86298. Centro, Tabasco, México.

INTRODUCCIÓN

Stevia rebaudiana es una planta herbácea perenne que pertenece a la familia de las Asteráceas, originaria de la flora espontánea en el hábitat semiárido de las laderas montañosas de Paraguay (González-Moralejo, 2011). Crece como arbusto salvaje hasta 65 - 80 cm de altura, con hojas sésiles dispuestas de manera opuesta y generalmente se propaga de manera asexual (Goyal et al., 2010). De su primitivo hábitat en Paraguay ha pasado a cultivarse en extensas áreas, especialmente en países como China, Brasil, Japón, Corea, Tailandia, Taiwán e Israel (González-Moralejo, 2011).

Existen al menos 230 especies de *Stevia*; sin embargo, *S. rebaudiana* Bertoni es conocida popularmente por su capacidad edulcorante y por ello llamada la 'Hierba Dulce del Paraguay' (Rojas et al., 2018). Las hojas han sido utilizadas por la tribu indígena guaraní desde los tiempos pre-colombinos para endulzar los alimentos; sin embargo, no fue sino hasta 1887 que el científico americano Bertoni la descubrió. *S. rebaudiana* ha aumentado su renombre después de probarse a conciencia la ausencia de toxicidad y en la mayor parte del mundo se considera segura para el consumo humano (González-Moralejo, 2011).

Actualmente es cultivada de forma comercial para usos como edulcorante y se le han encontrado hasta ahora más de 100 metabolitos secundarios (González-Moralejo, 2011). Los constituyentes responsables de la dulzura de esta planta se documentaron en 1931 cuando los químicos franceses M. Bridel y R. Lavieille lograron aislar los glucósidos de esteviol que provocan su sabor, a los que llamaron esteviósidos y rebaudiósidos que están contenidos sobre todo en las hojas (Jahan et al., 2010). Por ello esta planta cobra un alto valor entre los vegetales nativos de estos países, debido a que contiene glucósidos bajos en calorías, con gran poder edulcorante (Orozco et al., 2010).

Los metabolitos secundarios son compuestos químicos derivados de las plantas, los cuales no actúan como nutrientes en las frutas, verduras, granos y otros alimentos vegetales, sino como antioxidantes, pigmentos y protectores de la planta (Muñoz & Ramos, 2007). Actualmente, se tiene el conocimiento de que los metabolitos secundarios se producen mediante vías metabólicas adicionales al metabolismo primario, conocido como metabolismo secundario (Muñoz & Ramos, 2007). Poseen actividad farmacológica, antioxidante, anti-inflamatoria, aumento del potencial inmune, influencia sobre el ciclo celular y diferenciación celular e inducción de apoptosis. Además, han demostrado su efectividad para el tratamiento de cáncer, enfermedades gastrointestinales, dérmicas, del sistema nervioso central, cardiovasculares y diabetes, entre otras (Esquivel-Gutiérrez *et al.*, 2012). Sharma *et al.* (2006) mostraron que las hojas frescas de *S. rebaudiana* contienen una gran cantidad de agua (80 a 85 %). Las hojas contienen una mezcla compleja de compuestos como diterpenos de tipo labdano, triterpenos, alcaloides, esteroides (campesterol, estigmasterol, β -sitoesterol), saponinas, taninos, flavonoides (kaempferol, luteolina, quercetina, apigenina avicularina, centaureidina), ácidos (ácido clorogénico, ácido ascórbico, ácido cafeico), clorofila, β -caroteno, cariofileno, vitaminas (riboflavina, tiamina), así como elementos químicos como: cromo, cobalto, magnesio, hierro, potasio, fósforo, estaño, Zn, entre otros (Rojas *et al.*, 2018).

OBJETIVOS

Cuantificar los compuestos fenólicos y los glucósidos mayoritarios de esteviol presentes en los extractos acuosos y etanólicos de hojas y tallos de *S. rebaudiana* Bertoni, variedad criolla “INIFAP C01”.

Evaluar la actividad inhibitoria de la ECA de los extractos acuosos y etanólicos de hojas y tallos de *S. rebaudiana* Bertoni, variedad criolla “INIFAP C01” utilizando ensayos *in vitro*.

Evaluar la actividad inhibitoria de la α -amilasa de los extractos acuosos y etanólicos de hojas y tallos de *S. rebaudiana* Bertoni, variedad criolla “INIFAP C01” utilizando ensayos *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODO

Obtención de la materia prima. Se obtuvieron muestras de *S. rebaudiana* variedad criolla seleccionada “INIFAP C01”, recolectadas en tiempo de lluvias (noviembre y diciembre del año 2015); en los municipios de Muna y Mocochoá, del estado de Yucatán, México. *Obtención de extractos acuosos y etanólicos.* Se obtuvieron extractos acuosos y etanólicos de las muestras de hojas y tallos molidos de acuerdo a la metodología propuesta por Dutta et al. (2010).

Cuantificación de compuestos fenólicos y glucósidos de esteviol en extractos acuosos y etanólicos de hojas y tallos de S. rebaudiana. El equipo utilizado para el estudio fue un HPLC-RP-DAD, marca Agilent technologies modelo 1200 series con detector de arreglo de diodos, equipado con automuestreador, desgasificador y controlador de temperatura para la columna. El método para la cuantificación de los compuestos fenólicos, se desarrolló basándose en los sistemas de elución de los métodos reportados por Rezaei-Golmished et al. (2015) y la cuantificación de los glucósidos de esteviol en los extractos, se realizó mediante el método reportado por el JECFA (2010). Donde la fase móvil fue una mezcla 32:68 (v/v) de acetonitrilo y solución amortiguadora de sodio fosfato 10 mmol/L (pH 2.6), con flujo isocrático de 1 mL/min y detector UV a 210 nm.

Evaluación biológica de extractos acuosos y etanólicos de hojas y tallos de S. rebaudiana Bertoni, variedad criolla “INIFAP C01” utilizando ensayos in vitro. Actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (ECA). Se determinó la actividad inhibitoria de la ECA a los extractos de hojas y tallos de *S. rebaudiana*, con una concentración de 1 mg/mL para extractos etanólicos y de 2 mg/mL para los acuosos, disueltos en agua o etanol al 95 % según el tipo de extracto. Se llevó a

cabo el ensayo de acuerdo al método de Hayakari *et al.* (1978) en la cual la ECA hidroliza el Hipuril-L-Histidil-L-Leucina hasta ácido hipúrico e His - Leu.

Ensayo de inhibición de la actividad de la α -amilasa. Para determinar la actividad de la α -amilasa *in vitro* de los extractos se empleó la metodología reportada por Dineshkumar *et al.* (2010), basada en la inhibición de la α -amilasa. Se adicionaron en tubos 200 μ L de almidón marca Maizena® e incubaron en un baño María VWR® Heating circulator modelo 1130-2S a 100 °C por 5 min y posteriormente se incubó a 37 °C por 5 min. Se agregaron 200 μ L de Dimetil Sulfoxido (DMSO) al 50 %, 200 μ L de los distintos extractos disueltos en agua o etanol al 95 % según el tipo de extracto, a una concentración de 1 mg/mL, 200 μ L de α -amilasa pancreática porcina (2 U/ml), 100 μ L de amortiguador (Tris-HCl 0.5 M, cloruro de sodio 0.01 M, pH 6.9), 500 μ L de 3,5-dinitrosalicilato (DNS) al 0.1 %. Las mezclas se dejaron reaccionar por 10 min a 100 °C y se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 15 min. Las absorbancias de las mezclas se determinaron en un espectro Thermo Scientific Evolution 220 UV-VIS a una longitud de onda de 540 nm.

RESULTADOS

Cuantificación de compuestos fenólicos y glucósidos de esteviol en extractos acuosos y etanólicos de hojas y tallos de S. rebaudiana. Compuestos fenólicos. En la Figura 1 se presenta el cromatograma del extracto etanólico de hojas de *S. rebaudiana*, respectivamente, donde la línea de color azul muestra los picos cromatográficos de los estándares y la línea de color rojo muestra los del extracto vegetal, indicando con ello que los compuestos identificados corresponden a los estándares evaluados.

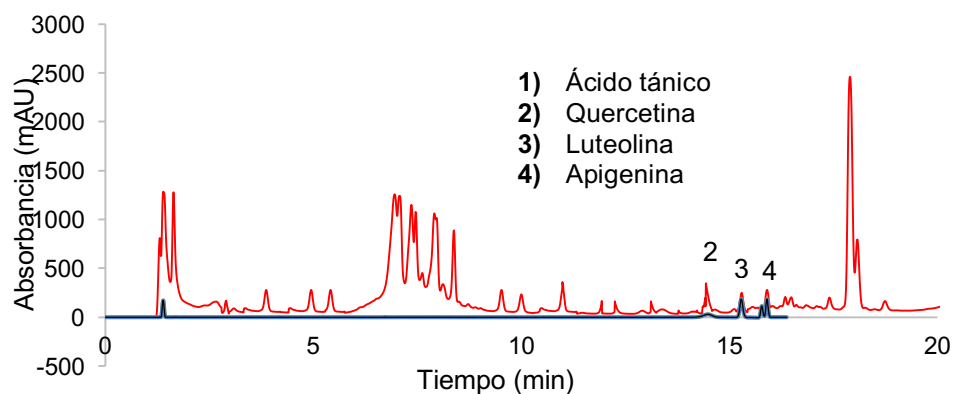


Figura 1. Cromatograma de extracto etanólico de hojas de *S. rebaudiana* Bertoni (variedad criolla C01).

Los resultados encontrados en este estudio, muestran que el extracto etanólico del municipio de Muna presentó la mayor concentración de los compuestos fenólicos evaluados (2.25 ± 0.04 g/100 g de hoja seca; Cuadro 1); lo que demuestra que en este estudio el disolvente etanólico extrajo una mayor cantidad de metabolitos secundarios que el disolvente acuoso, debido a que los flavonoides como las flavonas y los flavonoles son analitos menos polares y son mejor extraídos con disolventes de menor polaridad. La obtención de estos analitos es importante debido a que presentan propiedades medicinales ya conocidas y descritas en diversos estudios donde se les ha atribuido la mejora de diversas enfermedades como úlceras, diabetes, inflamación, cáncer, etc. (Ibrahim et al., 2015).

Cuadro 1. Contenido de compuestos fenólicos expresados en g/100g de *S. rebaudiana* (variedad criolla C01) (Promedio \pm DE).

Extractos	Tallos	Hojas
AMU	*2.03\pm0.07c	*2.20\pm0.05c
Quercetina	N/D	0.078 \pm 0
Luteolina	0.076 \pm 004	N/D

Apigenina	0.068±0.001	0.080±0.01
Ácido tánico	1.90±0.008	2.04±0.07
Kaempferol	N/D	N/D
EMU	*1.50±0.02b	*2.25±0.04d
Quercetina	N/D	0.10±0
Luteolina	0.055±0.06	0.083±0.04
Apigenina	0.066±4.10	0.11±0.001
Ácido tánico	1.38±0.07	1.96±0.14
Kaempferol	N/D	N/D
AMO	*1.51±0.03b	*1.72± 0.16b
Quercetina	N/D	0.062±007
Luteolina	N/D	0.084±0.08
Apigenina	0.057±0.004	0.079±0.006
Ácido tánico	1.45±0.001	1.49±0.12
Kaempferol	N/D	N/D
EMO	*1.36± 0.02a	*1.64 ± 0.08a
Quercetina	N/D	0.11±0
Luteolina	N/D	0.082±0.01
Apigenina	0.051±0	0.086±0.004
Ácido tánico	1.31±0.02	1.36±0.12
Kaempferol	N/D	N/D

N/D.- No Detectado. AMU.- Acuosos de Muna. EMU.- Etanólico de Muna. AMO.- Acuosos de Mococho. EMO.- Etanólico de Mococho. *Suma de los analitos según el tipo de extracto. ^{a-d} Letras distintas en la misma columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

Las concentraciones de quercetina en extractos acuosos y etanólicos de ambos municipios, estuvieron en un rango de 0.062-0.11 g/100 g, solo presente en los extractos de hoja. Las concentraciones de apigenina estuvieron en un rango de 0.051-0.068/0.079-0.11 en tallo u hoja seca respectivamente. Para la cuantificación de compuestos fenólicos como luteolina y ácido tánico, este estudio es el primero al respecto, ya que no se encontraron reportes de

cuantificación por HPLC de estos analitos en la *S. rebaudiana*. Los resultados de concentración de luteolina en extractos acuosos y etanólicos de ambos municipios, estuvieron en un rango de 0.055-0.076/0.082-0.084 y de ácido tánico en 1.31-1.90/1.36-2.04 g/100 g de tallo u hoja seca respectivamente.

Glucósidos de esteviol. En la Figura 2 se presenta el cromatograma del extracto etanólico de hojas de *S. rebaudiana*, donde la línea de color azul muestra los picos cromatográficos de los estándares y la línea de color rojo muestra los del extracto vegetal, indicando con ello que los compuestos identificados corresponden a los estándares evaluados.

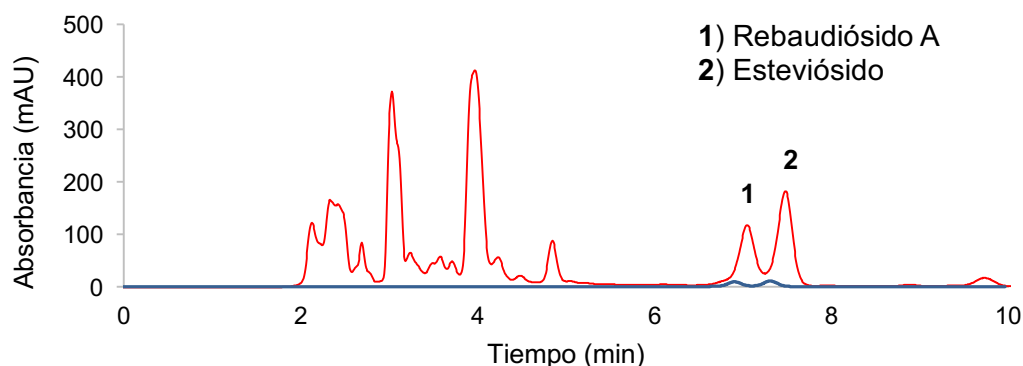


Figura 2. Cromatograma del extracto etanólico de hojas de *S. rebaudiana* Bertoni (variedad criolla C01).

Los resultados estuvieron en un rango de 0.62-1.13/6.61-10.09 g/100 g de tallo u hoja seca para esteviósido y 0.55-1.18/5.52-7.47 g/100 g de tallo u hoja seca para rebaudiósido A, respectivamente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Contenido de glucósidos de esteviol expresados en g/100g de tallo u hoja seca de *S. rebaudiana* (variedad criolla C01) (Promedio \pm DE).

Extractos	Tallos	Hojas
AMU	*1.68 \pm 0.002^c	*13.77 \pm 0.002^c
Esteviósido	0.90 \pm 0	8.25 \pm 0.002
Rebaudiósido A	0.77 \pm 0.001	5.52 \pm 1.09
EMU	*1.17 \pm 0.003^a	*17.12 \pm 0.02^d
Esteviósido	0.62 \pm 0.002	10.09 \pm 0.02
Rebaudiósido A	0.55 \pm 0.0005	7.02 \pm 1.09
AMO	*2.31 \pm 0.004^d	*14.25 \pm 0.004^b
Esteviósido	1.13 \pm 0.004	6.78 \pm 0.06
Rebaudiósido A	1.18 \pm 0.009	7.47 \pm 0.002
EMO	*1.43 \pm 0.005^b	*14.06 \pm 0.09^a
Esteviósido	0.65 \pm 0.006	6.61 \pm 0.07
Rebaudiósido A	0.78 \pm 0.0008	7.45 \pm 0.09

AMU.- Acuoso de Muna. EMU.- Etanólico de Muna. AMO.- Acuoso de Mocochoá. EMO.- Etanólico de Mocochoá. *Suma de los analitos según el tipo de extracto. a-h Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).

Evaluación biológica de extractos acuosos y etanólicos de hojas y tallos de S. rebaudiana Bertoni, variedad criolla "INIFAP C01" utilizando ensayos in vitro. Actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (ECA). Los resultados de los extractos de hojas y tallos de S. rebaudiana, a una concentración de 1 mg/mL mostraron un rango de inhibición de la ECA de 5.85 - 95.04 % en Muna y 14.68 - 91.58 % en Mocochoá, encontrándose diferencias estadísticas significativas entre los tipos de disolventes ($p < 0.05$). Los extractos etanólicos de ambos municipios fueron los que presentaron una mayor inhibición de esta enzima, donde EMU mostró una inhibición de 92.10 ± 4.70 (hojas y tallos) y EMO de 89.10 ± 4.20 (hojas y tallos) (Figura 3)

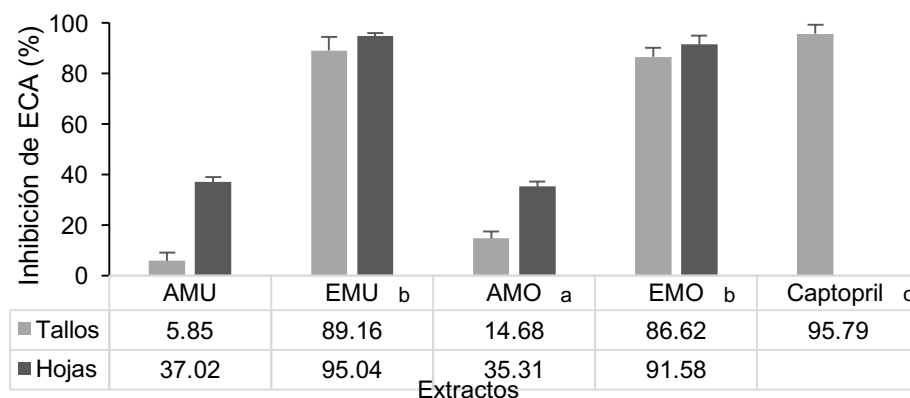


Figura 3. Actividad inhibitoria de *S. rebaudiana* sobre la ECA. a-c Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$). AMU.- Acuoso de Muna. EMU.- Etanólico de Muna. AMO.- Acuoso de Mocochoá. EMO.- Etanólico de Mocochoá.

Se puede observar en la Figura 3 que los extractos etanólicos a una concentración de 1 mg/mL tuvieron mayores porcentajes de inhibición de ECA, en comparación con los extractos acuosos en ambos municipios, aun cuando estos últimos se analizaron a una concentración de 2 mg/mL.

Ensayo de inhibición de la actividad de la α -amilasa. Los extractos acuosos y etanólicos de hojas y tallos de *S. rebaudiana* a una concentración de 1 mg/mL, mostraron un rango de inhibición de α -amilasa de 13.0 - 52.85 % en Muna y 10.69 - 86.78 % en Mocochoá, encontrándose diferencias estadísticas significativas entre los tipos de extractos ($p < 0.05$) (Figura 4).

En la Figura 4, se observa que la acarbosa obtuvo un porcentaje de inhibición de 93.41%, mostrando diferencia estadística significativa con los extractos de *S. rebaudiana* ($p < 0.05$). El extracto EMO fue el que presentó una mayor inhibición de esta enzima con un promedio en hojas y tallos de 59.92 ± 29.48 . Los porcentajes alcanzados en este estudio de los extractos etanólicos de hojas a una concentración de 1 mg/mL, mostraron un rango de actividad inhibitoria de 52.85 - 86.78 % de ambos municipios.

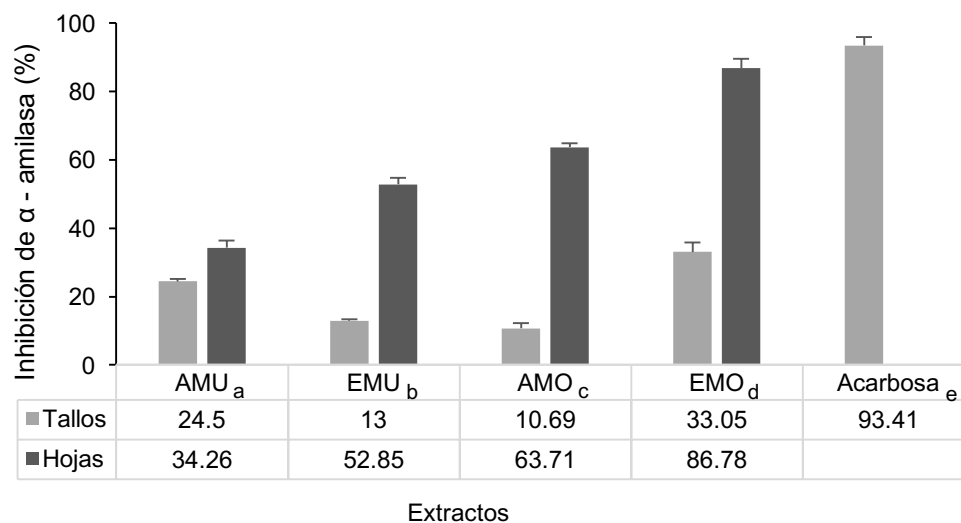


Figura 4. Actividad inhibitoria de *S. rebaudiana* sobre la actividad de la enzima α -amilasa a-e Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$). AMU.- Acuoso de Muna. EMU.- Etanólico de Muna. AMO.- Acuoso de Mocochoá. EMO.- Etanólico de Mocochoá.

DISCUSIÓN

Cuantificación de compuestos fenólicos y glucósidos de esteviol en extractos acuosos y etanólicos de hojas y tallos de *S. rebaudiana*. *Compuestos fenólicos*. La mayor concentración de metabolitos secundarios encontrados en Muna puede deberse a que en este municipio el crecimiento de *S. rebaudiana* estuvo en condiciones subóptimas de crecimiento y bajo un mayor estrés de cultivo. Muna se encuentra localizado a 29 m sobre el nivel del mar, su suelo es denominado leptosol cuyas características son suelos pocos profundos, de color oscuro limitados con roca, exhiben elevada retención de humedad hasta un 80 %, una mayor concentración de sales y por ende alta conductividad eléctrica. En comparación con el suelo del municipio de Mocochoa que se encuentra localizado a 9 m sobre el nivel del mar, el cual es denominado suelo regosol con textura areno-arcillosa, óptimos para el crecimiento de *S. rebaudiana*, con una humedad del 70 % y baja conductividad eléctrica, generando un menor estrés de crecimiento y cultivo (Ramírez *et al.*, 2011).

Las concentraciones de quercetina y apigenina en el presente estudio fueron mayores comparado con los resultados de Periche et al. (2016), los cuales evaluaron extractos hidroalcohólicos de hojas (agua-metanol 1:1) de *S. rebaudiana*, por HPLC; y encontraron una concentración de quercetina y apigenina de 0.039 g/100 g de hojas secas para ambos analitos. La menor concentración de estos flavonoides encontrados por Periche, pudo deberse a que el extracto hidroalcohólico de hojas obtenido por este autor, fue por medio de una mezcla de agua con metanol (1:1); no obstante, en el presente estudio la extracción fue realizada con etanol al 95 %, el cual es un disolvente menos polar que el agua y el metanol; pudiendo entonces haber extraído una mayor cantidad de flavonoides con características menos polares.

Mehenni et al. (2016) encontraron en extractos etanólicos de hojas en *P. lentiscus* una concentración de luteolina de 0.061 g/100 g de hojas secas. Por otra parte, Ghasemzadeh et al. (2010) reportaron una concentración de ácido tánico en extracto de hojas en *Z. officinale* Roscoe de 0.022 g/100 g de hoja seca. López-Corona (2013) reportó una concentración de kaempferol en extracto metanólico hidrolizado de hojas de *C. graciliar* de 8.64 µg/mL. Las diferencias encontradas en los resultados de este trabajo en comparación con los publicados, puede deberse a que *S. rebaudiana* contiene una mayor concentración de compuestos fenólicos que otras plantas estudiadas, además del tipo de disolventes utilizados para cada extracción y el tipo de material utilizado.

Glucósidos de esteviol. El contenido de glucósidos encontrados en los extractos acuosos y etanólicos de hojas, fueron similares a los publicados por Aranda-González et al. (2014) quienes reportan valores para esteviósido y rebaudiósido A de 8.80 ± 0.14 y 4.03 ± 0.01 g/100 g de hoja seca respectivamente. En otro estudio publicado por Moguel et al. (2011) obtuvieron valores menores de esteviósido y rebaudiósido A de 5.09 ± 0.04 y 2.42 ± 0.08 g/100 g de hoja seca respectivamente, en comparación con el presente estudio. Ambos trabajos reportados fueron

realizados en el estado de Yucatán, con extractos acuosos de hojas de *S. rebaudiana* variedad criolla.

Esta diferencia en el contenido de glucósidos mayoritarios puede deberse a que la planta utilizada en este estudio es una variedad criolla seleccionada del INIFAP que ha mostrado ser menos susceptible a enfermedades y plagas, así como tener un mayor rendimiento. Además, es importante resaltar que el periodo de recolección de *S. rebaudiana*, realizado en este trabajo fue en noviembre-diciembre del año 2015 (temporada de lluvias y temperaturas bajas) y al padecer mayor estrés de cultivo, destacó una mayor concentración de metabolitos secundarios en comparación con los trabajos anteriormente descritos, los cuales fueron recolectados en mayo (temporada de sol), con condiciones de temperatura y precipitación pluvial óptimo para el cultivo de *S. rebaudiana* (Betancur & Segura, 2015).

Evaluación biológica de extractos acuosos y etanólicos de hojas y tallos de S. rebaudiana Bertoni, variedad criolla "INIFAP C01" utilizando ensayos in vitro. Actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (ECA). Los distintos porcentajes de inhibición de los extractos acuosos y etanólicos, pueden deberse a que cada disolvente utilizado presenta una polaridad diferente y estos pueden extraer los analitos polares o menos polares con mayor facilidad según sea el caso. En la Figura 3, se observa que el captopril obtuvo un porcentaje de inhibición de 95.79 %, mostrando diferencia estadística significativa con los extractos de *S. rebaudiana* ($p < 0.05$).

En este trabajo, los porcentajes de inhibición de los extractos etanólicos de *S. rebaudiana*, fueron mayores a los publicados por Ivanov et al. (2013), los cuales analizaron extractos hidroalcohólicos a una concentración de 1 mg/mL de tallos de *E. angustifolium* L y *G. pratense* L. y de raíces de *S. officinalis* L. encontrando un porcentaje inhibición de 51.8 y 57.6 % para los extractos de tallos y 55.4 % para los extractos de raíces. Sin embargo, fueron similares a los reportados por

Arenas-Carbajal et al. (2009), los cuales trabajaron con hojas de *S. scutellarioides*; realizando extractos con etanol, acetato de etilo y éter de petróleo a una concentración de 0.2 % p/v, obteniendo una inhibición de ECA de 70.92, 93.80 y 80.61 % respectivamente. Asimismo, fueron similares a los de Sharifi et al. (2013), los cuales reportaron para extractos hidroalcohólicos (metanol-agua 80/20 v/v) de hojas de *C. microphylla* C. y *Q. infectoria* G. un porcentaje de inhibición de 93.9 y 80.9 % respectivamente.

Los resultados obtenidos en los porcentajes de inhibición de ECA de los extractos acuosos de *S. rebaudiana* fueron menores a lo publicado por Quintal-Martínez et al. (2018), los cuales encontraron porcentajes de inhibición de 26.03 % en extractos acuosos de *S. rebaudiana* a una concentración de 400 µg/mL, aumentando la inhibición enzimática hasta 69.72 % en cápsulas de extracto acuoso de *S. rebaudiana* a partir de gelificación ionotrópica usando alginato de sodio e inulina. En la matriz encapsulada pudieron excluirse los compuestos de alto peso molecular y residuos de material vegetal, reduciendo posiblemente el efecto de interferencia de los otros componentes del extracto, al efecto inhibitor de ECA de los compuestos fenólicos (Quintal-Martínez et al., 2018).

Ensayo de inhibición de la actividad de la α -amilasa. Los resultados obtenidos en este estudio en los extractos acuosos fueron similares a los reportados por Ruiz-Ruiz et al. (2015), los cuales analizaron extractos acuosos de hojas de *S. rebaudiana* a una concentración de 1 mg/mL, y encontraron un porcentaje de inhibición enzimática de 66.57 %. De igual manera fueron mayores a los publicados por Bhutkar & Bhise, (2012) los cuales trabajaron extractos acuosos de hojas de *C. roseus* y *C. bonducella* a una concentración de 9 mg/mL, mostrando una inhibición de α -amilasa de 68.02 y 71.93 %, respectivamente; sin embargo, fueron menores a lo reportado para extractos acuosos de tallos de *U. tomentosa* al 5 %, la cual presentó un porcentaje de inhibición enzimática de 75 % (Ranilla et al., 2010).

Los resultados de la actividad inhibitoria de los extractos etanólicos de hojas fueron menores a los publicados por Dineskumar *et al.* (2010), los cuales analizaron extractos etanólicos de hojas de *A. indica* y *T. cordifolia* a una concentración de 100 µg/mL y obtuvieron porcentajes de inhibición de 66.66 y 36.41 %, respectivamente. De igual manera fueron menores a los reportados por Keerthana *et al.*, (2013), los cuales trabajaron con extractos etanólicos de hojas de *C. bonplandianum* a una concentración de 100 µg/mL y encontraron porcentajes de inhibición de 83.60 %.

Es importante resaltar que, en todos los trabajos descritos, los extractos alcohólicos mostraron una inhibición mayor a los extractos acuosos de las diversas plantas analizadas, aun cuando la concentración utilizada para los análisis fue menor (100 µg/mL); esto puede deberse al mayor contenido de analitos extraídos con disolvente menos polar que con disolvente polar (agua). Con estos resultados se pudo evidenciar que *S. rebaudiana* cultivada en los municipios de Muna y Mocochá puede ser una excelente alternativa para reducir los niveles de glucosa en sangre, debido a los diversos compuestos bioactivos que contiene y que son importantes para la salud.

CONCLUSIONES

La cuantificación de compuestos fenólicos y glucósidos mayoritarios, indicó que el mayor contenido fue encontrado en los extractos de hojas. Con relación al tipo de disolvente utilizado se encontró que el etanol al 95 % logró extraer un mayor contenido de metabolitos secundarios y el sitio que tuvo un mayor contenido de analitos evaluados fue el municipio de Muna. Se observó que los extractos etanólicos de hojas, exhibieron un mayor contenido de flavonoides (quercetina, apigenina y luteolina), mientras que los extractos acuosos mostraron un mayor contenido de ácido tánico. Estos resultados indican que, para obtener altas

concentraciones de metabolitos secundarios, las plantas de *S. rebaudiana* deben cultivarse en condiciones de estrés como el existente en suelos del municipio de Muna (elevada retención de humedad hasta un 80 %, una mayor concentración de sales y por ende alta conductividad eléctrica) para que ésta pueda sintetizarlos.

La mayor actividad inhibitoria de las enzimas ECA se encontraron en los extractos etanólicos de hojas de Muna; mientras que para α -amilasa la mayor actividad inhibitoria se encontró en los extractos etanólicos del municipio de Mocochá. Esto indica que los metabolitos secundarios encontrados (quercetina, luteolina, apigenina, ácido tánico, esteviósido y rebaudiosida A) en los extractos de hojas de *S. rebaudiana* pudieron actuar como inhibidores competitivos o incompetitivos, inhibiendo la unión enzima-sustrato de ECA y α -amilasa proporcionando con ello una mayor protección contra enfermedades actuales como hipertensión arterial y diabetes mellitus.

REFERENCIAS

- Aranda-González, I., Segura-Campos, M., Moguel-Ordoñez Y., & Betancur-Ancona, D. (2014). *S. rebaudiana* Bertoni. Un potencial adyuvante en el tratamiento de la DM, *CyTA – Journal of Food*, 12, 218-226.
- Arenas-Carvajal, R., Pachón-Gómez, E., Méndez-Callejas, G. & Guzmán-Avenidaño, A. (2009). Estudio del efecto inhibitorio de extractos de *Salvia scutellarioides* sobre la actividad de la enzima convertidora de angiotensina. *Universitas Scientiarum*, 14, 141-150.
- Betancur-Ancona, D., & Segura-Campos, M. (Eds.). (2015). *S. rebaudiana*, Chemical composition, uses and Health promoting aspects. Food and Beverage Consumption and Health. Nova. Yucatán, Mexico. Pp. 1-21.

- Bhutkar, M. A. & Bhise, S. B. (2012). In vitro assay of alpha amylase inhibitory activity of some indigenous plants. *Int J Chem Sci*, 10, 457-462.
- Dineshkumar, B. Analava, M., & Manjunatha, M. (2010). Studies on the anti-diabetic and hypolipidemic potentials of mangiferin (Xanthone Glucoside) in streptozotocin-induced Type 1 and Type 2 diabetic model rats. *Int J Adv in Pharma Sci*, 75-85.
- Dutta, P.K., Razu, M.M.T., Alam, M.K., Awal, M.A. & Mostofa, M. (2010). Comparative efficacy of aqueous extract of Stevia (*S. rebaudiana* Bertoni) leaves and metformin hydrochloride (Comet®) in streptozotocin induced diabetes mellitus in rats. *Int J Biol Res*, 2(8), 17-22.
- Esquivel-Gutiérrez, E.R., Noriega-Cisneros, R., Bello-González, M.A., Saavedra-Molina, A., & Salgado-Garciglia, A.R. (2012). Plantas utilizadas en la medicina performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J Cromatogr*, 1217, 1463-1470.
- Ghasemzadeh, A.; Jaafar, H.Z.; Rahmat, A. Elevated Carbon Dioxide Increases Contents of Flavonoids and Phenolic Compounds, and Antioxidant Activities in Malaysian Young Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.) Varieties. *Molecules*. 2010, 15, 7907-7922.
- González-Moralejo, S. A. (2011). Aproximación a la comprensión de un endulzante natural alternativo, la *S. rebaudiana* Bertoni: producción, consumo y demanda potencial. *Agro*, 17, 57-69.
- Goyal, S.K., Samsher & Goyal, R.K. (2010). Stevia (*S. rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. *Int J Food Sci and Nut*, 61, 1-10.
- Hayakari, M., Kondo, Y. & Izumi, H. (1978). A rapid and simple spectrophotometric assay of Angiotensin-Converting Enzyme. *Anal Biochem*, 84, 361-369.
- Ibrahim, R.M., El-Halawany, A.M., Saleh, D.O., El-Shabrawy, O.A.E. & El-Hawary, S.S. (2015). HPLC-DAD-MS/MS profiling of phenolics from *Securigera securidaca* flowers and anti-hyperglycemic and anty-hyperlipidemic activities. *Rev Brasileira de Farmacognosia*, 25, 134-141.

- Ivanov, S. A., Garbuz, S.A., Malfanov, I. L, & Ptitsyn, L.R. (2013). Screening of Russian Medicinal and Edible Plant Extracts for Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE I) Inhibitory Activity. *Russ J Bioorganic Chem*, 39, 743-749.
- Jahan, I.A., Mostafa, M., Hossain H., Nimmi, I., Sattar, A., Alim, A., & Moeiz, S.M.I. (2010). Antioxidant activity of *S. rebaudiana* Bert. Leaves from Bangladesh. *J. Bangl Pharm*, 13, 67-75.
- JECFA. Steviol glycosides. In: FAO, editor. FAO JECFA Monographs. (2010). p. 17-21.
- Keerthana, G., Kalaivani, M.K. & Sumathy, A. (2013). In vitro alpha amylase inhibitory and anti-oxidant activities of ethanolic leaf extract of *Croton bonplandianum*. *Asian J Pharm Clin Res*, 6, 32-36.
- Mehenni, C., Kilani-Atmani, D., Dumarcay, S., Perrin, D., Gerardin, p. & Atmani, D. (2016). Hepatoprotective and antidiabetic effects of *Pistacia lentiscus* leaf and fruits extracts. *J and Food and Drug Anal*, 2-17.
- Moguel, O., Ruiz, R., Ramírez, J., Aviles, B., García A. (2011). Glycosides content in leaves of four genotypes of *S. rebaudiana* Bertoni in plantations established in Quintana Roo, México. *VI Reunión Nacional de Innovación Agrícola*, León Gto. P. 268.
- Muñoz J.A.M., & Ramos E.F. (2007). Phenolics compounds of the diet and his biomedical properties. *Rev Hor Méd*, 7, 23-31.
- Periche, A., Castelló, M.L. Heredia, A. & Escriche, I. (2016). Effect of different drying methods on the phenolic, flavonoid and volatile compounds of *S. rebaudiana* leaves. *Flavour Fragr J*, 31, 173-177.
- Quintal-Martínez, J.P., Ruiz-Ruiz, J.C. & Segura-Campos, M.R. (2018). Release Kinetic Studies of *Stevia rebaudiana* Extract Capsules from Sodium Alginate and Inulin by Iontropic Gelation. *Advances in Materials Science and Engineering*. Volume 2018.
- Ramirez, J.G., Aviles, B. W., Moguel, O.Y.B. Gongora, G. S. & May, L.C. (2011). *Estevia (Stevia rebaudiana, Bertoni)*, un cultivo con potencial productivo en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y

- Pecuarias. Centro de Investigación Regional Sureste. Mérida, Yucatán, México. 88 p.
- Ranilla, L.G., Kwon, Y.I., Apostolidis, E. & Shetty, K. (2010). Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Biores Techn*, 101, 4676-4689.
- Rezaei-Golmished, A., Hassan Malekinejad, E., Asri-Rezaei, S., Abbas-Farshid, A. & Akbary, P. (2015). Hawthorn ethanolic extracts with triterpenoids and flavonoids exert hepatoprotective effects and suppress the hypercholesterolemia-induced oxidative stress in rats. *Iran J Basic Med Sci*, 18, 691-699.
- Rojas, E., Bermúdez, V., Motlaghzadeh, Y., Mathew, J., Fidilio, E., Faria, J., Rojas, J., Cabrera de bravo, M., Contreras, J., Mantilla, L.P., Angarita, L., Sepúlveda, P.A. & Kuzmar, I. (2018). *Stevia rebaudiana* Bertoni and its Effects in Human Disease: Emphasizing its Role in Inflammation, Atherosclerosis and Metabolic Syndrome. *Curr Nutr Rep*. published on line: 11 de Julio 2018.
- Ruiz-Ruiz, J.C., Moguel-Ordoñez, Y.B., Matus-Basto, A.J. & Segura-Campos M.R. (2015). Antidiabetic and antioxidant activity of *Stevia rebaudiana* extracts (Var. Morita) and their incorporation into a potential functional bread. *J Food Sci Technol*, 52, 7894-7903.
- Sharifi, N., Souri, E., Ziai, S.A., Amin, G. & Amanlou, M. (2013). Discovery of new angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors from medicinal plants to treat hypertension using an in vitro assay. *J Pharm Sci*, 27, 74.
- Sharma, N., & Mogre, R. (2007). Effect of Stevia intervention on lipid profile. In: *On serving farmers and saving farming—India imperative and global perspective*, GBPUA&T, Pantnagar, 10-12 January, 85pp.

CONTENIDO DE AZADIRACTINA EN SEMILLAS DE NEEM (*Azadirachta indica* A. JUSS) COLECTADAS EN DIFERENTES LOCALIDADES DEL ESTADO DE TABASCO

*Karla María Hernández Hernández*¹

Angélica Alejandra Ochoa Flores^{1*}

*Josafat Alberto Hernández Becerra*²

*Hugo Sergio García Galindo*³

*Carlos Alberto Corzo Sosa*¹

RESUMEN

Se evaluó el rendimiento en aceite y el contenido de azadiractina en el aceite extraído de las semillas de frutos de neem colectados en diferentes localidades del estado de Tabasco. El aceite de neem se obtuvo por el método de extracción con solventes asistida por ultrasonificación; el rendimiento del aceite obtenido se determinó por peso, en balanza analítica y su contenido de azadiractina se determinó por HPLC. Se encontraron diferencias significativas en el rendimiento en aceite, así como en el contenido de azadiractina del aceite extraído de semillas de frutos de neem colectados en las diferentes zonas del estado de Tabasco; siendo estas diferencias más grandes para el contenido de azadiractina en el aceite, que para el rendimiento en aceite extraído de las semillas de neem, entre las diferentes localidades evaluadas. El mayor rendimiento en aceite, 53.39 ± 9.84 g por cada 100 g de semilla, se obtuvo de los frutos de neem colectados en las instalaciones de la DACA UJAT; mientras que la mayor concentración de azadiractina, 3.20 ± 0.24 mg de azadiractina por g de semilla, se encontró en los

¹ División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, km 25, Carretera Villahermosa-Teapa, Ra. La Huasteca, 2a Sec. CP. 86298. Centro, Tabasco, México.

² División de Procesos Industriales, Universidad Tecnológica de Tabasco, Carretera Villahermosa-Teapa km 15, Villahermosa, Tabasco, México.

³ UNIDA, Instituto Tecnológico de Veracruz, M.A. de Quevedo 2779, Col. Formando Hogar, Veracruz, Veracruz, México.

* Autor de correspondencia: angelica.ochoa@ujat.mx.

aceites extraídos de las semillas de los frutos de neem colectados en las instalaciones de la UTTAB.

INTRODUCCIÓN

El neem (*Azadirachta indica* A. JUSS), es una planta cuyo origen exacto es incierto, la mayoría de los autores coinciden en que es originario de zonas secas de la India y Birmania, ubicado en la región tropical del suroeste asiático (Pijoan, 2004). En la actualidad se encuentra distribuido en más de 78 países, en los continentes asiático y africano, en Oceanía, centro y sur de América; se estima que en el mundo existen 200 millones de árboles que crecen bajo cultivo y muchos más de forma silvestre (Ogbuewu *et al.*, 2011).

El neem pertenece a la familia *Meliaceae*, familia ampliamente distribuida en los trópicos y subtropicos, que incluye a 51 géneros con aproximadamente 575 especies. Estos árboles son generalmente de madera dura y colorida, hojas persistentes o deciduas, flores bisexuales y/o unisexuales, con números cromosómicos de $2n = 16$; sus flores son blancas y sus frutos amarillos, utilizado en la medicina tradicional en muchos países debido a su propiedades curativas y beneficios a la salud ampliamente documentados (Cruz y del Ángel, 2004).

En la india se ha utilizado por mucho tiempo para reducir la glucosa en sangre, al incrementar la secreción de insulina, lo que permite la mayor entrada y utilización de la glucosa por las células. Incrementa el número de leucocitos y activa las células NK, del sistema inmune, para la defensa del organismo, siendo un buen remedio para el resfriado; aumenta la capacidad del organismo para eliminar virus y bacterias que provocan diversas enfermedades (Navarrete *et al.*, 2017; Pijoan, 2004).

El aceite de neem, obtenido de sus semillas, está compuesto principalmente de glicéridos, de olor parecido al del ajo, contiene más de 50 tetranortriterenoides, de los cuales la azadiractina, es su componente insecticida más potente (Arias *et*

al., 2009). Ha sido reportado que el contenido de azadiractina en semillas obtenidas de árboles de neem en diferentes partes del mundo e incluso en diferentes regiones de un mismo país es variable (Angulo-Escalante *et al.*, 2004). Algunos autores sugieren que estas diferencias se deben a condiciones ambientales locales como humedad relativa, precipitación o temperatura (Kumar y Parmar, 1997). Sin embargo, otros investigadores indican que árboles cultivados bajo las mismas condiciones de suelo y clima, presentan diferencias significativas en su capacidad de producción de azadiractina, por lo que sugieren que la diversidad genética es determinante para la producción de azadiractina y no los factores ambientales (Sidhu *et al.*, 2003). Debido a que la azadiractina es el componente activo del neem que se utiliza para determinar la calidad de su aceite, es importante su determinación en las plantaciones localizadas en diferentes regiones del estado de Tabasco.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo del trabajo fue evaluar el rendimiento en aceite y el contenido de azadiractina en el aceite extraído a partir de las semillas de frutos de neem colectados de árboles localizados en diferentes zonas del estado de Tabasco.

MATERIALES Y MÉTODO

Colecta y preparación de las semillas de neem. Las semillas de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) se obtuvieron de los frutos de árboles localizados en 12 diferentes localidades del estado de Tabasco (Cuadro 1). Los frutos fueron colectados en agosto de 2018. Se muestrearon árboles en Ocuilzapotlán, Fraccionamientos Las Rosas, Lagunas e Indeco, en las márgenes de la Laguna de las ilusiones, en La Huasteca, en las instalaciones del Colegio Arjí, Plaza Altabrisa, Colegio Tabasco, Universidad Tecnológica de Tabasco (UTTAB), División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) y División Académica de Ciencias Básicas (DACB) de la UJAT (Figura 1). Se colectó un kilogramo y medio

de fruto maduro, de color amarillo, de las ramas de los árboles seleccionados en cada localidad. En el laboratorio, los frutos frescos maduros fueron lavados manualmente, se les eliminó la cáscara y la pulpa, para obtener las semillas; las semillas se lavaron manualmente y se secaron bajo sombra a temperatura ambiente; después se les eliminó también de forma manual la cascarilla o testa. Las semillas sin testas fueron almacenadas a 8 °C hasta su uso.

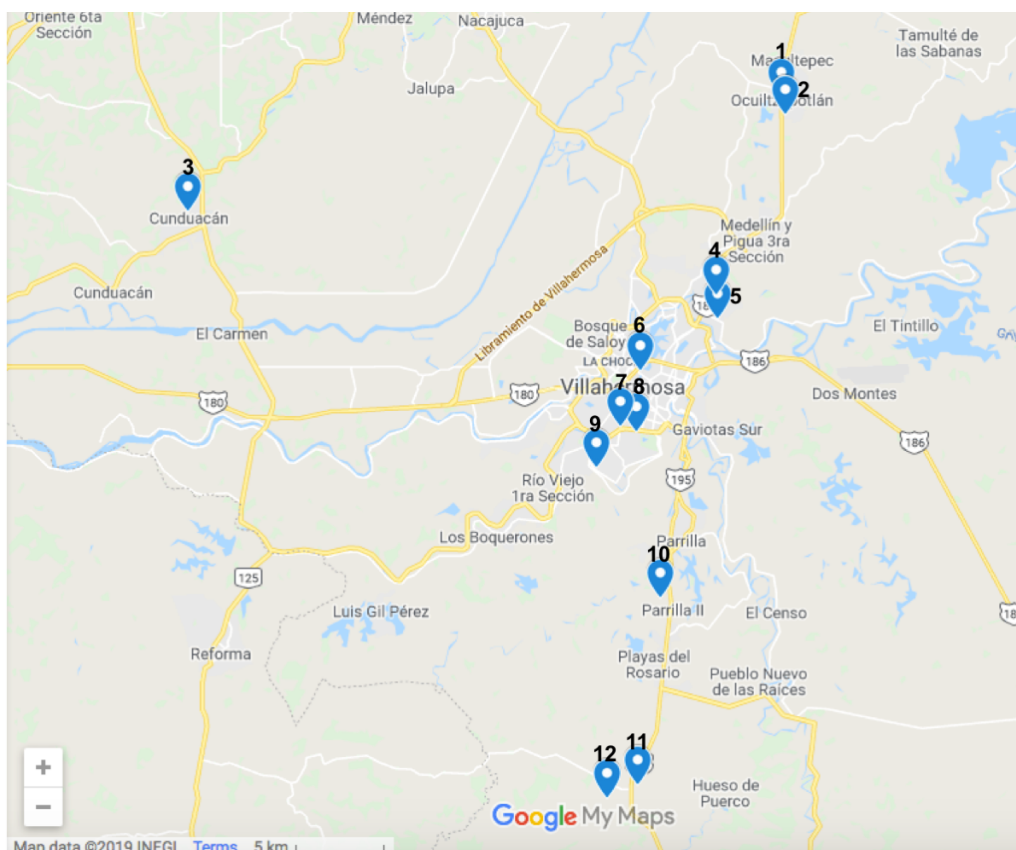
Obtención del aceite de neem. El aceite se obtuvo por el método de extracción con solventes asistida por ultrasonicación, empleando para ello un equipo ultrasónico de la marca Cole-parmer, modelo cpx-956-217r, así como acetona grado reactivo como solvente de extracción. Las semillas sin testa se sometieron a una molienda en mortero con pistilo y las semillas molidas se colocaron en un matraz de Erlenmeyer de 250 mL con tapón de rosca para llevar a cabo la extracción del aceite. Para la extracción se utilizó una relación de semilla:solvente de 1:10 (p:v), una temperatura de 30 °C y un tiempo de ultrasonicación de 30 minutos. La mezcla de extracción (aceite de neem:solvente) se separó de las semillas por filtración sobre papel Whatman 1; después se hizo pasar sobre sulfato de sodio anhidro grado analítico para eliminar la humedad; finalmente, el aceite de neem se separó del solvente con ayuda de un rotaevaporador y se almacenó a 8 °C.

Cuadro 1. Localización en el estado de Tabasco, de los árboles de neem utilizados para el muestreo de semillas analizadas en este estudio.

Localidad	Ubicación*			Número de identificación en el mapa
	Latitud	Longitud	Altitud (m)	
Ocuilzapotlán	18.131014	-92.865052	5	1
Las Rosas	18.122167	-92.863216	6	2
DACB UJAT	18.074485	-93.171648	15	3
Lagunas	18.033865	-92.898869	7	4
Indeco	18.021812	-92.898291	7	5
Laguna ilusiones	17.996358	-92.938048	17	6
Colegio Arjí	17.969003	-92.94873	17	7
Plaza Altabriza	17.966025	-92.940319	17	8

Colegio Tabasco	17.948722	-92.960738	9	9
UTTAB	17.884951	-92.92800	9	10
La Huasteca	17.792701	-92.939483	14	11
DACA UJAT	17.785946	-92.955521	11	12

Fuente: <https://www.coordenadas-gps.com/>



Fuente: <https://www.google.com.mx/maps>

Figura 1. Sitios de muestreo de semillas de árboles de neem en el estado de Tabasco, utilizados en este estudio.

Determinación del rendimiento en aceite. Se determinó el rendimiento en aceite, en g por cada 100 g de semillas del árbol de neem, para cada una de las diferentes localidades. Una vez separado de los restos del material extraído y del solvente utilizado para su extracción, el aceite fue pesado en una balanza analítica. El rendimiento en aceite (RA) de la cantidad de aceite obtenido (WA; g) para la cantidad de semilla procesada (WS; g) se calculó, de acuerdo con Esparza-Díaz *et al.* (2010), con la ecuación: $RA = (WA \times 100 / WS)$.

Preparación del aceite de neem para la cuantificación de azadiractina. El aceite se sometió a una limpieza con diclorometano, de acuerdo con la metodología descrita por Schaaf *et al.* (2000). A 3 g de aceite se adicionan 3 mL de agua, se agita y adicionan entonces 6 mL de diclorometano, la mezcla se agita por 45 min y después de reposo, se recupera la fase orgánica. La fase acuosa se lava dos veces más con diclorometano. Las tres fases orgánicas se mezclan y se hacen pasar por sulfato de sodio anhidro. El diclorometano se recupera con ayuda de un rotaevaporador y el aceite se almacena a 8 °C hasta su análisis.

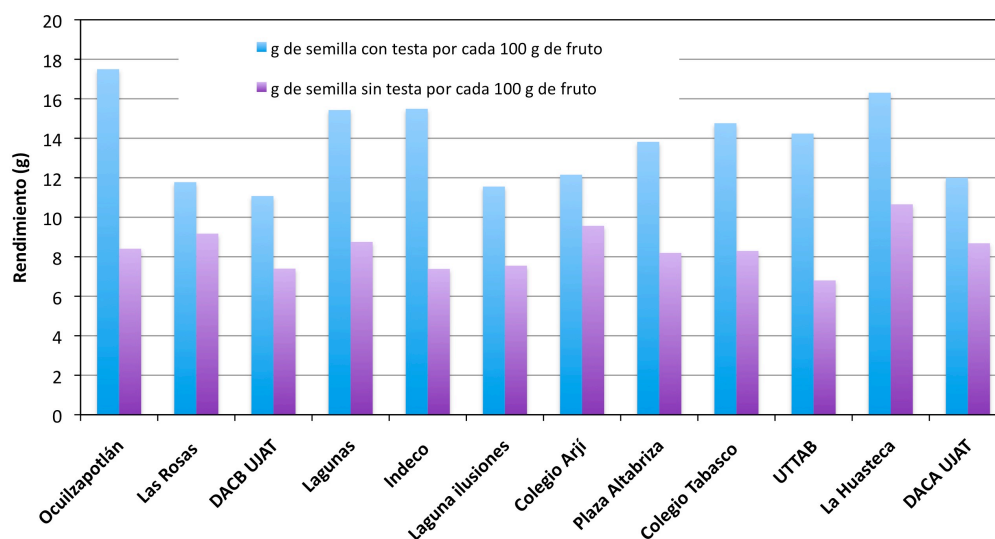
Cuantificación de azadiractina en el aceite. La concentración de azadiractina en el aceite extraído de las semillas de árboles de neem, para cada una de las diferentes localidades evaluadas, se determinó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), de acuerdo con la metodología descrita por Kaushik (2002). Se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alta resolución equipado con un automuestreador Waters717plus, una bomba cuaternaria HPLC Waters 600, un detector UV-Visible Waters 2487 y una columna polimérica de fase reversa Hamilton PRP-1 de 250 x 4.1 mm, empacada con una resina de tamaño de partícula de 10 µm y tamaño de poro de 100 Å. La fase móvil consistió en agua-acetonitrilo (60:40) a un flujo isocrático de 1 mL/min por 50 min. La detección de azadiractina se llevó a cabo por absorbancia UV, a una longitud de onda de 217 nm, utilizando un estándar certificado de Sigma-Aldrich (St. Louis MS.) con pureza de 95 %. El pico correspondiente a la azadiractina se detectó a los 7.2 minutos.

Diseño experimental y análisis estadístico. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar para determinar el efecto de la localización de los árboles de neem muestreados en el estado de Tabasco, sobre el rendimiento en aceite de neem extraído a partir de las semillas de sus frutos, en g por cada 100 g de semilla sin testa, g por cada 100 g de semilla con testa y g por cada 100 g de fruto; así como sobre el contenido de azadiractina en el aceite de neem extraído a partir de las semillas de sus frutos, en mg por g de aceite, mg por g de semilla sin testa,

mg por g de semilla con testa y mg por g de fruto. Los resultados obtenidos se analizaron por medio de un análisis de varianza, con posterior análisis de comparación de medias. Se empleó para ello una prueba de Tukey a una $p < 0.05$. El paquete estadístico utilizado fue STATISTICA V. 6.0.

RESULTADOS

El rendimiento en semillas obtenido para los frutos colectados de los árboles de neem localizados en las 12 diferentes localidades muestreadas en el estado de Tabasco se muestran en la Figura 2. Para las semillas con testa se obtuvo un rendimiento promedio de 13.84 ± 2.11 g de semilla por cada 100 g de fruto, con rendimientos desde 11.08 g de semilla para los frutos que fueron colectados en las instalaciones de la División Académica de Ciencias Básicas de la UJAT (DACB UJAT), hasta un máximo de 17.50 g para los frutos colectados en la localidad de Ocuitzapotlán. Para las semillas sin testa, el rendimiento fue de 8.4 ± 1.07 g de semilla por cada 100 g de fruto, en promedio; obteniéndose el rendimiento



máximo en semilla (10.66 g) para los frutos colectados en la localidad de La Huasteca, mientras que el menor rendimiento (6.80 g) se obtuvo para los frutos colectados en las instalaciones de la Universidad Tecnológica de Tabasco (UTTAB).

Figura 2. Rendimiento en semilla, con testa y sin testa, para los frutos colectados de árboles de neem localizados en las 12 localidades muestreadas en el estado de Tabasco.

En la Figura 3 se muestra el rendimiento en semilla sin testa por cada 100 g de semilla, para los frutos colectados de árboles de neem localizados en cada una de las 12 localidades muestreadas. El valor medio para esta variable fue de 61.84 ± 11.10 g de semilla sin testa por cada 100 g de semilla; obteniéndose desde 21.30 g de testa por cada 100 g de semilla, hasta 52.23 g, para los frutos colectados en las instalaciones del Colegio Arjí y de la UTTAB, respectivamente.

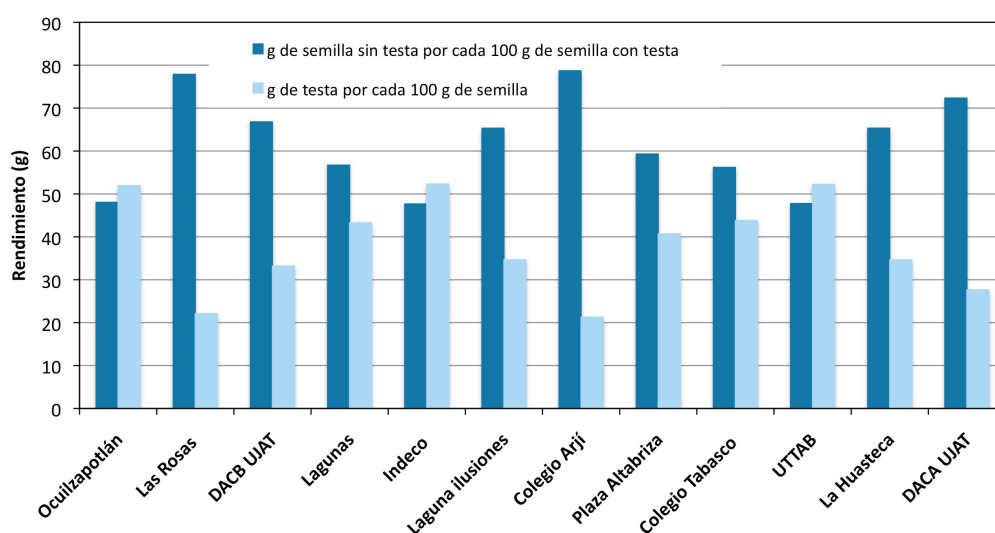


Figura 3. Rendimiento en semilla sin testa por cada 100 g de semilla, para los frutos colectados de árboles de neem localizados en las 12 localidades muestreadas en el estado de Tabasco.

El rendimiento en aceite de neem, en g por cada 100 g de semilla sin testa, g por cada 100 g de semilla con testa, así como en g por cada 100 g de fruto, para los árboles muestreados en cada una de las diferentes localidades, se muestra en la Figura 4. En relación con el rendimiento en aceite para la semilla sin testa, se obtuvo un rendimiento promedio de 44.30 ± 5.57 g por cada 100 g de semilla. Con un rendimiento mínimo de 33.59 g de aceite por cada 100 g de semilla sin testa, para los frutos colectados en el Fraccionamiento Lagunas, y un máximo de 53.39 g de aceite por cada 100 g de semilla sin testa, para los frutos colectados en las instalaciones de la División Académica de Ciencias Agropecuarias de la UJAT

(DACA UJAT). El rendimiento en aceite para la semilla con testa, mostró un valor medio de 27.33 ± 5.73 g por cada 100 g de semilla; con rendimientos, mínimo y máximo, de 19.06 y 38.63 g de aceite por cada 100 g de semilla, también para los frutos colectados en el Fraccionamiento Lagunas y en las instalaciones de la DACA UJAT, respectivamente.

En lo que se refiere al rendimiento en g de aceite de neem por cada 100 g de fruto, para los árboles muestreados en cada una de las 12 diferentes localidades (Figura 4), éste fue en promedio de 3.71 ± 0.60 g de aceite por cada 100 g; también para esta variable obtenida, los valores mínimos (2.94) y máximo (4.64) fueron para los frutos colectados en el Fraccionamiento Lagunas y en las instalaciones de la DACA UJAT, respectivamente.

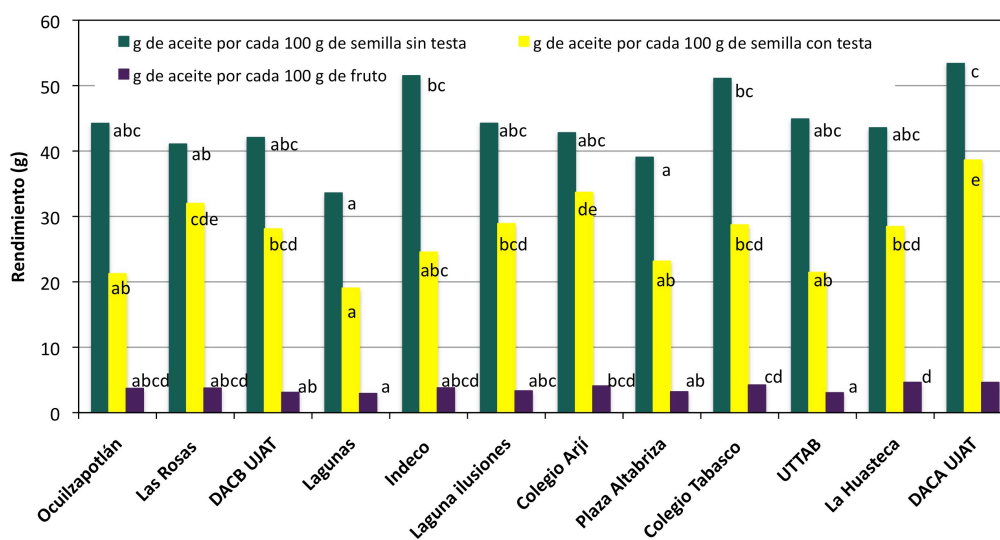
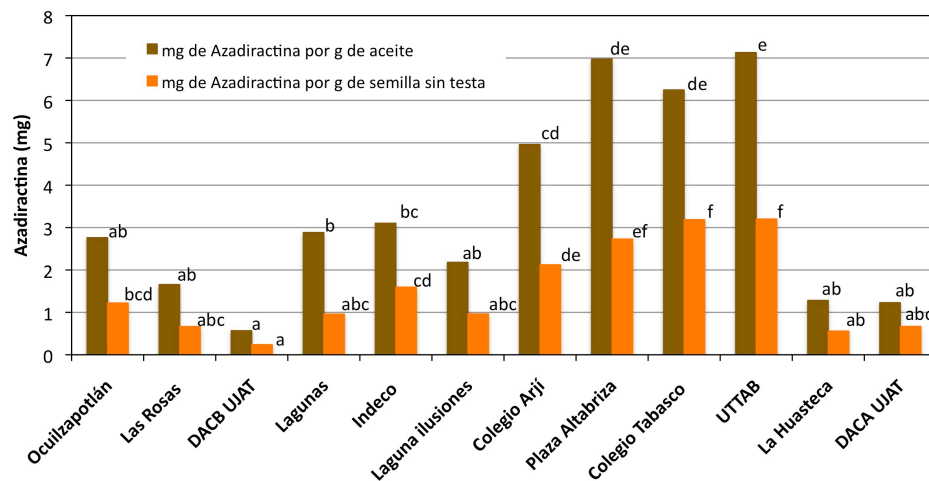


Figura 4. Rendimiento en aceite, en g por cada 100 g de semilla o fruto, de los árboles de neem muestreados en 12 localidades del estado de Tabasco. Para las barras del mismo color, letras distintas representan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Los resultados obtenidos para el contenido de azadiractina en el aceite de neem extraído a partir de las semillas sin testa, en mg por g de aceite, así como en mg por g de semilla, para cada una de las 12 localidades evaluadas, se muestran en la Figura 5. En ésta se observa que las semillas de los frutos colectados en las instalaciones de la UTTAB, presentaron el mayor contenido de azadiractina por

gramo de aceite (7.13 mg), así también como por gramo de semilla sin testa (3.20 mg); así mismo, en esta Figura se observa que el menor contenido de azadiractina por gramo de aceite (0.57 mg) y por g de semilla sin testa (0.24 mg), corresponden a los frutos colectados en las instalaciones de la DACB UJAT. El contenido medio de azadiractina en el aceite de neem extraído a partir de las semillas sin testa, en Tabasco, en mg por g de aceite, fue de 3.42 ± 2.33 mg; mientras tanto, el contenido medio de azadiractina, en mg por g de semilla sin testa, fue de 1.51 ± 1.05 mg por g de semilla.

En la Figura 6 se muestra el contenido de azadiractina en mg por g de semilla con testa y en mg por g de fruto, para las 12 localidades muestreadas en el estado de Tabasco, en este estudio. Para estas dos variables de respuesta, se observa

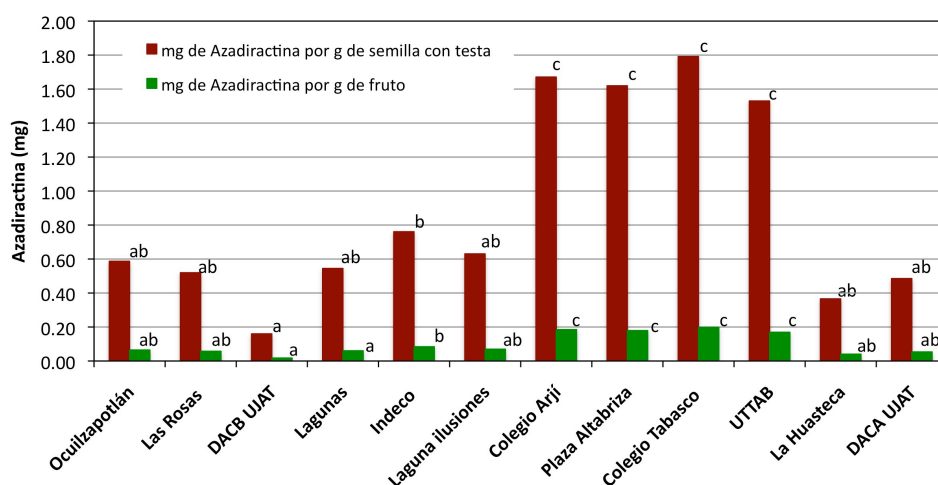


que los frutos colectados en las instalaciones del Colegio Tabasco presentaron el mayor contenido de azadiractina, en mg por gramo de semilla con testa (1.79 mg), así como por gramo de fruto (0.20 mg); mientras que, el menor contenido de azadiractina por gramo de semilla con testa (0.16 mg), así como por g de fruto (0.02 mg), corresponden también, como lo fue para el menor contenido de azadiractina por gramo de aceite y por g de semilla sin testa, a los frutos colectados en las instalaciones de la DACB UJAT.

Figura 5. Contenido de azadiractina en el aceite de neem extraído a partir de las semillas sin testa, de los árboles de neem muestreados en el estado de Tabasco. Para las barras del mismo color, letras distintas representan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Figura 6. Contenido de azadiractina en las semillas y en los frutos de los árboles de neem muestreados en 12 localidades del estado de Tabasco. Para las barras del mismo color, letras distintas representan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Finalmente, en relación con el aceite extraído a partir de las semillas de los frutos de neem colectados de los árboles localizados en las diferentes localidades del estado de Tabasco, podemos decir que el mayor rendimiento en aceite se obtuvo de los frutos de neem colectados en las instalaciones de la DACA UJAT (Figura 4); mientras que la mayor concentración de azadiractina se encontró en los aceites



extraídos de las semillas de los frutos colectados de los árboles localizados en las instalaciones de la UTTAB, del Colegio Tabasco, de la Plaza Altabriza y del Colegio Arjí (Figuras 5 y 6); siendo importante destacar que todas estas localidades de muestreo se encuentran localizadas relativamente cerca unas de otras, además de encontrarse todas éstas en la zona centro del estado de Tabasco.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio para el rendimiento de semilla con testa, en g por cada 100 g de fruto, para los frutos de los árboles de neem muestreados en las diferentes localidades del estado de Tabasco (Figura 2),

concuerdan con lo reportado por Estrada-Ortíz *et al.* (2005), quienes indican rendimientos en semilla desde 14.30 % hasta 15.75 %.

En lo que se refiere a los resultados obtenidos para el rendimiento en semilla sin testa (o almendra), en g por cada 100 g de semilla con testa, para los frutos colectados de árboles de neem localizados en el estado de Tabasco (Figura 3), éstos resultaron superiores a los obtenidos por Estrada-Ortíz *et al.* (2005), quienes reportan rendimientos en almendra entre 39.1 y 45.30 %. Mientras que, en relación con la testa (o cascarilla) en nuestro estudio, los valores obtenidos para g de testa por cada 100 g de semilla resultaron inferiores a los reportados por Estrada-Ortíz *et al.* (2005), valores de entre 46.5 y 60.3 %. Estas diferencias, de acuerdo con Pütz (1996), pueden haber sido influenciadas por el tiempo de almacenamiento y las condiciones ambientales como humedad relativa y temperatura, así como por los cambios intrínsecos al envejecimiento fisiológico de las semillas; los que producen una disminución notable del peso de la almendra, sobre todo durante los dos primeros meses de almacenamiento.

Por otro lado, los resultados obtenidos en esta investigación para el rendimiento en aceite de neem, en g por cada 100 g de semilla sin testa, para los frutos de los árboles de neem muestreados en la diferentes localidades del estado de Tabasco (Figura 4), están en concordancia con los resultados publicados por Estrada-Ortíz *et al.* (2005), quienes reportan rendimientos que van desde un 28.9 %, hasta un 39.2 %; indicando además que estas variaciones pueden ser debidas a una reducción del agua intrínseca de la almendra, durante su almacenamiento. Por su parte, Arias *et al.* (2009), reportan un rendimiento en aceite de las semillas de neem de 38.00 ± 0.01 %.

En lo que se refiere al contenido de azadiractina en el aceite de neem extraído a partir de las semillas sin testa, de los frutos de árboles de neem muestreados en la diferentes localidades del estado de Tabasco (Figura 5), éste fluctuó entre los 0.24 y los 3.20 mg de azadiractina por gramo de semilla; valores que concuerdan

con los resultados obtenidos por Angulo-Escalante *et al.* (2004), Arias *et al.* (2009), Esparza-Díaz *et al.* (2010), así como por Orozco-Sánchez y Rodríguez-Monroy (2007); quienes reportan valores de 2.0 a 4.21, 1.13, 0.2 a 3.8 y de 0.21 a 5.13 mg por g de semilla, respectivamente.

Al evaluar el efecto de la localización de los árboles de neem muestreados en el estado de Tabasco, sobre el rendimiento en aceite de neem extraído a partir de las semillas de sus frutos, en g por cada 100 g de semilla sin testa, g por cada 100 g de semilla con testa y g por cada 100 g de fruto; así como sobre el contenido de azadiractina en el aceite de neem extraído a partir de las semillas de sus frutos, en mg por g de aceite, mg por g de semilla sin testa, mg por g de semilla con testa y mg por g de fruto; se observa un efecto significativo de la localización de los árboles de neem, sobre las siete variables de respuesta analizadas (Cuadro 2).

Podemos decir entonces que si existen diferencias en el rendimiento en aceite, así como en el contenido de azadiractina en el aceite extraído a partir de las semillas de los frutos de neem colectados de árboles localizados en diferentes zonas del estado de Tabasco; encontrándose un mayor efecto significativo para el contenido de azadiractina en el aceite extraído a partir de las semillas de los frutos de neem, que para el rendimiento en aceite, entre las 12 diferentes localidades muestreadas (Cuadro 2).

En concordancia con estos resultados, Elteraifi y Hassanali (2011) evaluaron el contenido de azadiractina en el aceite extraído de las semillas de diez ecotipos de neem en Sudán, en diferentes condiciones agroecológicas; encontrando diferencias significativas en el contenido de Azadiractina de los aceites provenientes de árboles de neem de las diferentes localidades, dependiendo del clima, la lluvia, el tipo de suelo, la latitud y la altitud. Sin embargo, no encontraron diferencias en el contenido de aceite de las semillas de los frutos de los árboles, entre estas regiones. Estos autores concluyen que los árboles que crecen en altitudes más bajas, presentan muy bajo contenido de azadiractina,

mientras que los que crecen en altitudes mayores a 470 m sobre el nivel del mar, presentan un mayor contenido de azadiractina; que la lluvia es el principal factor, que afecta positivamente el contenido de azadiractina en el aceite; que la combinación de temperatura y lluvia presentan una correlación positiva sobre el contenido de azadiractina en las semillas; y que la latitud y la altitud tienen un efecto directo sobre el nivel azadiractina

Cuadro 2. Análisis de Varianza que describe el efecto de la localización de los árboles de neem muestreados en el estado de Tabasco, sobre las variables de respuesta analizadas.

Variables de respuesta	Grados de libertad debidos al factor	Suma de cuadrados debida al factor	Cuadrado medio debido al factor	Grados de libertad debidos al error	Suma de cuadrados debida al error	Cuadrado medio debido al error	F	P*
g aceite por cada 100 g de semilla sin testa	11	1025.2	93.20	24	389.4	16.22	5.745	1.74e-4
g de aceite por cada 100 g de semilla con testa	11	1083.2	98.47	24	201.8	8.41	11.71	3.81e-7
g de aceite por cada 100 g de fruto	11	11.822	1.0747	24	2.979	0.1241	8.658	6.01e-6
mg de AZA por g de aceite	11	179.19	16.290	24	11.62	0.484	33.65	6.84e-12
mg de AZA por g de semilla sin testa	11	36.51	3.319	24	2.55	0.106	31.29	1.52e-11
mg de AZA por g de semilla con testa	11	11.306	1.0278	24	0.807	0.0336	30.58	1.96e-11
mg de AZA por g de fruto	11	0.13855	0.012595	24	0.00989	0.000412	30.58	1.96e-11

*El valor de P es significativo si es ≤ 0.05 .

Gruber (1991), estudió también el contenido de azadiractina en árboles de cinco localidades distintas en Nicaragua, durante un período de 4 años; encontrando

una gran influencia de los factores climáticos y edáficos en la síntesis y degradación de azadiractina. Ermel (1995), analizó diferentes muestras de árboles de neem de diferentes partes del mundo, observando grandes variaciones entre las diferentes localidades; como en nuestra investigación, también encontró que las variaciones en el contenido de aceite eran menores que las observadas para el contenido de azadiractina.

Por su parte, Kumar y Parmar (1997), al igual que Rengasamy y Parmar (1995), establecen variaciones en el contenido de azadiractina entre diferentes ecotipos, crecidos en las mismas regiones de la India, e incluso entre árboles del mismo ecotipo, crecidos en la misma localidad.

CONCLUSIONES

Se encontraron diferencias significativas en el rendimiento en aceite, así como en el contenido de azadiractina en el aceite extraído a partir de las semillas de los frutos de neem colectados de árboles localizados en diferentes localidades del estado de Tabasco; encontrándose mayores diferencias para el contenido de azadiractina en el aceite extraído a partir de las semillas de los frutos de neem, que para el rendimiento en aceite, entre las diferentes localidades evaluadas.

El mayor rendimiento en aceite de neem extraído a partir de las semillas de los frutos colectados de árboles localizados en diferentes zonas del estado de Tabasco, se obtuvo de las semillas de los frutos colectados de los árboles localizados en las instalaciones de la DACA UJAT; mientras que, la mayor concentración de azadiractina se encontró en los aceites extraídos de las semillas de los frutos colectados de los árboles localizados en las instalaciones de la UTTAB, Colegio Tabasco, Plaza Altabrisa y Colegio Arjí.

REFERENCIAS

- Angulo-Escalante, M. A., Gardea-Béjar, A. A., Vélez de la Rocha, R., García-Estrada, R. S., Carrillo-Fasio, A., Chaidez-Quiroz, C., Partida-López, J. I. (2004). Azaridachtin a content in neem seeds (*Azadirachta indica* A. JUSS) collected in Sinaloa, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(4), 305-311.
- Arias, D., Vázquez, G., Montañez, L., Álvarez, R., Pérez, V. (2009). Determinación del Azadiractina de los aceites esenciales del árbol de Neem (*Azadirachta Indica*). *Revista Ingeniería UC*, 16(3), 22-26.
- Cruz, F. M., del Ángel, R. (2004). El Árbol de Nim, Establecimiento y Aprovechamiento en la Huasteca Potosina. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Huichihuayan y Campo Experimental Ébano. Folleto Técnico Número 3. San Luis Potosí, México.
- Dai, J., Yaylayan, V. A., Raghavan, G. S., Parè, J. R. (1999). Extraction and colorimetric determination of azadirachtin-related limonoids in neem seed kernel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(9), 3738-3742.
- Ermel, K. S. (1995). Azadirachtin content of neem seed kernels from different regions of the world. In *The neem tree: Azadichta indica* A. Juss and other meliaceous plants: sources of unique natural products for integrated pest management, medicine, industry and other purposes. Schmutterer, H. Ed. 89-92.
- Esparza-Díaz, G., López-Collado, J., Villanueva-Jiménez, J. A., Osorio-Acosta, F., Otero-Colina, G., Camacho-Díaz, E. (2010). Azaridachtin concentration, insecticide efficacy and phytotoxicity of four neem *Azadirachta indica* A. JUSS. extracts. *Agrociencia*, 44, 821-833.
- Estrada-Ortíz, J., López-Díaz, M. A., Castillo-Rodríguez, B., Díaz-Fish, V. (2005), Variación del peso de la semilla de nim y sus componentes durante su almacenamiento. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias Uncuyo*, XXXVII (1), 81-86.
- Elteraifi, I. E., Hassanali, A. (2011). Oil and Azadirachtin contents of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed kernels collected from trees growing in

- different habitats in Sudan. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(3), 1063-1072.
- Gruber, A. K. (1991). Wachstum, Fruchtertrag und Azadirachtingehalt der Samen von *Azadirachta indica* A. Juss. auf verschiedenen Standorten in Nicaragua. Tesis Doctoral. Universidad Técnica de Berlín. Alemania. 158 p.
- Kaushik, N. (2002). Determination of azadirachtin and fatty acid methyl esters of *Azadirachta indica* seeds by HPLC and GLC. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 374, 1199-1204.
- Kumar, J., Parmar, B.S. (1997). Neem oil content and its key chemical constituents in relation to agro-ecological factors and regions of India. *Pesticide Research Journal*, 9, 216-225.
- Navarrete, B., Valarezo, O., Cañarte, E., Solórzano, R. (2017). Efecto del nim (*Azadirachta indica* Juss) sobre *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) y controladores biológicos en el cultivo del melón *Cucumis melo* L. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*, 25(1), 33-44.
- Ogbuewu, I. P., Odoemenam, V. U., Obikaonu, H. O., Opara, M. N., Emenalom, O. O., Uchegbu, M. C., Okoli, I. C., Esonu, B. O., Iloeje, M. U. (2011). The growing importance of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) in agriculture, industry, medicine and environment: A review. *Research Journal of Medicinal Plants*, 5:230-45.
- Orozco-Sánchez, F., Rodríguez- Monroy, M. (2007). Cultivo de células en suspensión de *Azadirachta indica* para la producción de un bioinsecticida. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(3), 251-258.
- Pijoan, M. (2004). El neem, la “farmacia de la aldea”. *Etnofarmacología*, 23(5), 128-133.
- Pütz, J. (1996). *Neem, Indian's miraculous healing plant*. Healing Arts Press. Rochester, Vermont. 92 p.
- Rengasamy, S., Parmar, B. S. (1995). Azadirachtin A content of seeds of neem ecotypes in relation to the agroecological regions of India. *Pesticide Research Journal*, 7(2), 140-148.

- Schaaf, O., Jarvis, A. P., Van der Eschb, S. A., Giagnacovo, G., Oldham, N. J. (2000). Rapid and sensitive analysis of azadirachtin and related triterpenoids from Neem (*Azadirachta indica*) by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 886, 89-97.
- Sidhu, O. P., Kumar, V., Bel, H. M. (2003). Variability in neem (*Azadirachta indica*) with respect Azadirachtin content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 910-915.

AISLAMIENTO DE LEVADURAS CON POTENCIAL PROBIÓTICO A PARTIR DE UNA BEBIDA MAYA (BALCHÉ)

Isamar López López¹

Selene Janet Ordaz Gómez¹

Leidy Erandy Hernández Magaña¹

Minerva Aurora Hernández Gallegos¹

José Rodolfo Velázquez Martínez^{2*}

RESUMEN

Los alimentos funcionales se definen como cualquier alimento en forma natural o procesada que contenga componentes nutritivos y adicionales que favorecen a la salud. Uno de los componentes con mayor importancia son los probióticos, estos son microorganismos vivos que pueden ayudar a mejorar la respuesta inmunológica y mantener la microbiota intestinal estable, los cuales, se pueden encontrar en bebidas fermentadas como el balché. Sin embargo, no se han reportado estudios de esta bebida con microorganismos con potencial probiótico. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es aislar y evaluar cepas de levaduras que posean características probióticas. Las cepas se aislaron en medio Sabouraud fortificado con extracto de levadura a partir de una muestra de la bebida Balché. Se realizaron pruebas hemolíticas, pruebas de antagonismo contra bacterias patógenas, y pruebas gástricas e intestinales *in vitro*. De las 15 cepas aisladas a partir de la muestra de balché, se identificaron cuatro cepas sin actividad hemolítica de las cuales dos presentaron inhibición sobre bacterias patógenas *Staphylococcus aureus* (*S. aureus* ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*

¹ División Académica Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera Estatal Libre Villahermosa-Comalcalco. Km. 27+000 s/n Ranchería Ribera Alta, C.P. 86205. Jalpa de Méndez, Tabasco, México.

² División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, km 25, Carretera Villahermosa-Teapa, Ra. La Huasteca, 2a Sec. CP. 86298. Centro, Tabasco, México.

*autor de correspondencia: jrodolfovelazquez@gmail.com

ATCC 6639) y *Candida albicans* (*C. albicans* 10234) durante las pruebas de antagonismo, así mismo, las dos cepas fueron capaces de sobrevivir a la simulación gastrointestinal disminuyendo únicamente dos unidades logarítmicas quedando con concentraciones de 1×10^6 UFC/mL, ambas cepas. En conclusión, se logró identificar dos cepas con potencial probiótico a partir de la bebida ancestral maya Balché.

INTRODUCCIÓN

El término “alimento funcional” se introdujo por primera vez en Japón a mediados de la década de 1980 y se refiere a alimentos procesados que proveen beneficios a la salud del consumidor y/o reducen el riesgo de enfermedades (Corbo, Bevilacqua, Petruzzi, Casanova & Sinigagli, 2014). Otra definición aceptada, indica que cualquier alimento funcional en forma natural o procesada contiene componentes nutritivos que favorecen la salud del consumidor (Stanton, Ross, Fitzgerald & Van Sinderen, 2005). Dentro de la diversa gama de alimentos funcionales podemos ubicar a leches fermentadas, bebidas fermentadas, cereales fortificados, pan enriquecido, cereales enriquecidos, margarinas enriquecidas, entre otros. Y de los componentes que los ubican como alimentos funcionales podemos mencionar a los ácidos grasos omega-3, ácido oleico, ácido fólico, calcio, vitaminas A y D, microorganismos probióticos, por mencionar algunos (Araya & Lutz, 2003).

Los probióticos se definen como microorganismos vivos, principalmente bacterias aplicadas a diversos alimentos en cantidades adecuadas, mejorando la flora intestinal de personas y animales que los ingieren, dando como resultados efectos benéficos a la salud (Saarela, Mogensen, Fonden, Mättö & Mattila-Sandholm, 2000). Se destacan como probióticos los Lactobacilos y Bifidobacterias, también se sabe de algunos estreptococos, enterococos, levaduras e incluso hongos los cuales están presentes en diversos alimentos fermentados (Lorente & Serra, 2001). Los productos alimenticios fermentados

son considerados un vehículo importante de probióticos (bacterias y levaduras), prebióticos o ambos por lo que se les asocia a una amplia variedad de beneficios a la salud (Ramírez-López & Vélez-Ruiz, 2016). Los efectos fisiológicos relacionados incluyen la reducción de pH en el intestino, producción de sustancias antibacteriales, reducción de colesterol en la sangre, eliminación de cancerogénesis, mejoramiento de la absorción de calcio y reconstrucción de la microflora intestinal después de desórdenes causados por diarrea, terapia de antibióticos y radioterapia (Huertas, 2010). México cuenta con diferentes bebidas autóctonas dentro de las más conocidas se encuentran el pozol, tejuino y pulque y se ha demostrado que son una fuente importante de bacterias probióticas (Ramos & Schwan, 2017). El balché es una bebida fermentada ceremonial ampliamente utilizada en rituales religiosos y medicinales por los mayas de la península de Yucatán, preparada con la corteza del árbol que lleva su nombre (Menna, Inés, & Lozano Cortés, 2004). Sin embargo, no existen reportes del potencial probiótico que tienen las levaduras existentes en esta bebida.

OBJETIVO GENERAL

El Aislar levaduras con potencial probiótico a partir de la bebida Balché de origen Maya.

Aislar levaduras a partir de la bebida Maya Balché.

Evaluar el potencial probiótico de las levaduras aisladas mediante resistencia a condiciones gastrointestinales *in vitro*, pruebas hemolíticas e inhibición de patógenos.

MATERIALES Y MÉTODO

Aislamiento de levaduras. Las levaduras se aislaron a partir de una muestra de la bebida Balché adquirida en las fiestas de día de muertos en el mercado de la comunidad de San Carlos del Municipio de Macuspana, Tabasco. Se aislaron por

dilución seriada en medio de cultivo agar papa dextrosa y agar Sabouraud, se seleccionaron las cepas por diferenciación de la morfología de colonias y celular. Las cepas seleccionadas se almacenaron en caldo Sabouraud con glicerol al 50 % a -80 °C.

Manejo de cepas. Bacterias patógenas y levadura probiótica como referencia. Se utilizaron las cepas *Escherichia coli* (E. coli ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (S. aureus ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (B. subtilis ATCC 6639) y *Candida albicans* (C. albicans ATCC 10234), como microorganismos patógenos y *Saccharomyces boulardii* como levadura probiótica, todas las cepas se encontraban en crioconservación, se activaron en caldo Infusión Cerebro Corazón (ICC).

Levaduras aisladas. Las cepas se aislaron utilizando medio Sabouraud Fortificado con 2 g/L de Extracto de Levadura (SFEL) y se conservaron en el mismo medio con glicerol al 50 % a -80 °C. Al inicio de cada prueba, las cepas se activaron a partir del crioconservado en glicerol y los inóculos.

Estandarización del Inóculo. Se estandarizaron con dos cultivos consecutivos en caldo SFEL cada 12 h, con el objetivo de obtener una concentración celular de 1×10^8 UFC y este cultivo fresco es el que se utilizó en las pruebas.

Actividad hemolítica. Se prepararon cajas (9 cm) de agar sangre utilizando base de agar sangre con el 10 % de sangre de cordero, realizando la mezcla a una temperatura inferior a 40 °C. Las levaduras a partir de un cultivo fresco se sembraron por agotamiento 24 h previas a la prueba de hemólisis. Del cultivo por agotamiento de las levaduras se tomó una colonia y se sembró por estriado en las cajas Petri con agar sangre y se incubaron por 24 - 36 h a 37 °C. Los resultados se expresaron según el tipo de hemólisis, considerando como hemólisis α (hemólisis parcial y la zona de crecimiento se rodea de un halo color verdoso), hemólisis β (hemólisis total y el halo que rodea a la colonia es totalmente transparente) y hemólisis γ (cuando no existe hemólisis y el

microorganismo no es capaz de destruir los hematíes de la sangre). Se utilizó como control a *Saccharomyces Boulardii* (hemólisis γ) y *E. coli* (hemólisis α).

Determinación de antagonismo de levaduras aisladas del balché ante microorganismos patógenos. Para las pruebas de antagonismo se utilizaron cajas Petri cuadradas de 12x12 cm con 30 mL de agar ICC inoculado por inmersión con 3 mL de bacterias patógenas *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* y *C. albicans* de un cultivo estandarizado a una concentración de 1×10^8 UFC. Las cepas con potencial probiótico se inocularon por punción sobre las cajas Petri inoculadas con las bacterias patógenas y se incubaron por 24 h a 37 °C. Se observó la presencia o ausencia de halos de inhibición y se marcaron con inhibición (+), inhibición Media (+-) y sin inhibición (-).

Resistencia a condiciones gastrointestinales in vitro. Se evaluó la supervivencia de las cepas en estudio al ser sometidas a condiciones gastrointestinales in vitro, que consiste en simulación gástrica y de intestino delgado in vitro.

Simulación gástrica “in vitro”. La simulación gástrica (SG) in vitro se llevó a cabo utilizando una solución gástrica, la cual se preparó con 0.0027g/L pepsina en buffer de fosfatos a 0.05 M ajustando a pH 2.3 con HCl concentrado, posteriormente se esterilizó por ultrafiltración con membrana. La simulación se realizó con 1 mL de las cepas, que se pusieron en contacto con 9 mL de SG, se incubaron a 37 °C por una hora. Al finalizar la simulación, se determinó la viabilidad final por conteo en placas agar SFEL, las cuentas de viabilidad se hicieron por triplicado.

Simulación intestino delgado “in vitro”. La simulación intestinal (SI) se preparó utilizando 0.009g/L pancreatina y 0.0405g/L de Oxgall (sales biliares) disueltas en un buffer de fosfato 0.05 M a pH 7.4 ajustado con NaOH y se esterilizó por microfiltración, se agregó la solución intestinal en una relación 1:9 y se incubó a

37 °C a 150 rpm por 2 h. Posteriormente se determinó viabilidad por conteo en placa agar SFEL, haciendo las cuentas de viabilidad por triplicado.

RESULTADOS

Actividad hemolítica. De las 15 levaduras aisladas, 11 presentan hemólisis (α), mientras que las cepas 11.4, 10.1, 3.3.1 y 9.2 presentan hemólisis (γ), estas cumplen características de un microorganismo al no ser patógeno y tienen la capacidad para pruebas potencialmente probióticas (Cuadro 1).

Código de cepa	α	β	γ
10.2	X		
3.5	X		
11.4			X
10.1			X
4.1	X		
5.1.11	X		
3.3.1			X
9.2			X
7.5	X		
4.8	X		
7.3 ^a	X		
7.3B	X		
4.3	X		
4.4	X		
4.6	X		

Cuadro 1. Hemólisis de las levaduras aisladas del Balché.

Nota: Hemólisis α (hemólisis parcial) Hemólisis β (hemólisis total) y Hemólisis γ (sin hemólisis).

Antagonismo de levaduras aisladas del balché ante microorganismos patógenos. En el Cuadro 2, se muestran las cepas que presentaron hemólisis γ y de estas el 50% mostró actividad antagónica con las bacterias patógenas gram + y con la levadura patógena *Candida albicans*, no mostraron antagonismo con *E. coli* (gram -).

Cuadro 2. Antagonismo de las levaduras aisladas del Balché.

Cepa	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
11.4	-	-	+	+ -
10.1	-	+ -	+	+ -
3.3.1	-	-	-	-
9.2	-	-	-	-

Inhibición (+), inhibición media (+-) y sin inhibición (-).

Resistencia a condiciones gastrointestinales in vitro. En Las Figuras 1 y 2, se observa que las levaduras que presentaron actividad antagónica contra bacterias patógenas, fueron capaces de sobrevivir a la simulación gastrointestinal disminuyendo únicamente dos unidades logarítmicas y se observaron patrones de supervivencia similares en ambas cepas. La supervivencia de las cepas es un requisito indispensable para que se puedan incluir como probióticos en la dieta humana (García-Hernández *et al.*, 2012).

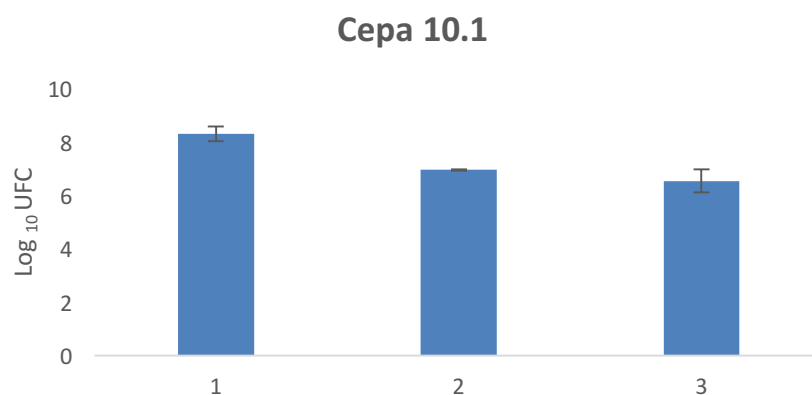


Figura 1. Pruebas gástricas (PG) e intestinales (PI) a la cepa 10.1, aislada del Balché.

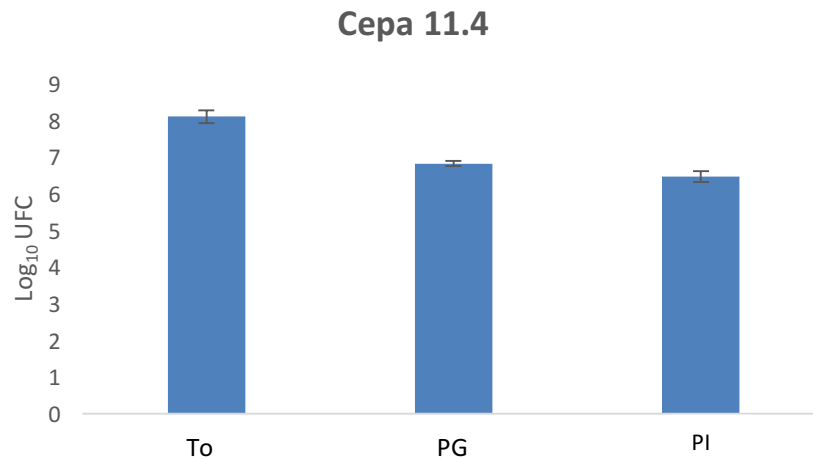


Figura 2. Pruebas gástricas (PG) e intestinales (PI) a la cepa 11.4, aislada del Balché

DISCUSIÓN

En México, hay una gran variedad de bebidas fermentadas tradicionales, siendo las levaduras los microorganismos predominantes en los alimentos fermentados, considerados seguros para el consumo humano, y son de gran importancia en el tracto gastrointestinal, aunque se encuentran en pequeñas cantidades (Romero-Luna *et al.*, 2018). La bebida balché es una bebida fermentada que alberga una gran cantidad de levaduras y sus beneficios a la salud están estrechamente relacionados, gracias a la participación de éstas. Sin embargo, la primera condición es que el microorganismo, con potencial probiótico debe satisfacer es, la supervivencia a las condiciones gastrointestinales en una concentración mayor a 1×10^6 UFC, ya que son factores de estrés que se encuentran en el tracto gastrointestinal tracto microorganismo (Pennacchia *et al.*, 2008). En el presente estudio las levaduras evaluadas presentan resistencia a las condiciones gástricas (cepa 11.4 (7×10^6 UFC/mL) y cepa 10.1 (9.5×10^6 UFC/mL) e intestinales (cepa 11.4 (3×10^6 UFC/mL) y cepa 10.1 (2×10^6 UFC/mL), por lo que pueden sobrevivir a condiciones gastrointestinales. La hemólisis β se asocia con mecanismos de virulencia por lo que las pruebas

hemolíticas son necesarias para garantizar la seguridad de los probióticos potenciales y así poder proponer su consumo (Romero-Luna *et al.*, 2018).

Las levaduras evaluadas 11.4 y 10.1, presentaron hemólisis γ , por lo que se pueden considerar seguras para consumo humano. Unas de los efectos benéficos que ofrecen los probióticos al consumidor es la inhibición de patógenos (Zubillaga *et al.*, 2001). En el presente estudio las cepas 11.4 y 10.1, presentaron ante las pruebas antagónicas tener un efecto inhibitorio ante bacterias Gram (+).

CONCLUSIONES

A partir de la bebida Balché, se logró aislar dos levaduras con algunas de las características establecidas para obtener el estatus GRAS (Generally Recognized as Safe) en bacterias probióticas, tales como: resistir a las condiciones del tracto gastrointestinal superior, actividad antimicrobiana hacia bacterias patógenas (antagonismo) y no ser patógenas (no hemolíticas). La bebida balché es fuente de bacterias con potencial probiótico.

REFERENCIAS

- Araya, H., & Lutz, M. (2003). Alimentos funcionales y saludables. *Revista chilena de nutrición*, 30(1), 8-14.
- Corbo, M. R., Bevilacqua, A., Petruzzi, L., Casanova, F. P., & Sinigaglia, M. (2014). Functional beverages: the emerging side of functional foods: commercial trends, research, and health implications. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 13(6), 1192-1206.
- García-Hernández, Y., Rodríguez, Z., Brandão, L. R., Rosa, C. A., Nicoli, J. R., Iglesias, A. E., Sánchez, T. P., Halaihel, N. (2012). Identification and in vitro screening of avian yeasts for use as probiotic. *Research in veterinary science*, 93(2), 798-802.

- Huertas, R. A. P. (2010). Bacterias ácido lácticas: Papel funcional en los alimentos. *Bioteología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 8(1), 93-105.
- Lorente, F. B., & Serra, D. J. (2001). Alimentos funcionales: probióticos. *Acta Pediatr Espan*, 59(3), 150-155.
- Pennacchia, C., Blaiotta, G., Pepe, O., & Villani, F. (2008). Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* strains from different food matrices and their preliminary selection for a potential use as probiotics. *Journal of Applied Microbiology*, 105(6), 1919-1928.
- Ramírez-López, C., & Vélez-Ruiz, J. F. (2016). Aislamiento, caracterización y selección de bacterias lácticas autóctonas de leche y queso fresco artesanal de cabra. *Información tecnológica*, 27(6), 115-128.
- Romero-Luna, H., Hernandez, H., María Ribas-Aparicio, R., Cauich-Sanchez, P., & Dávila-Ortiz, G. (2018). Evaluation of the Probiotic Potential of *Saccharomyces cerevisiae* Strain (C41) Isolated from Tibicos by In Vitro Studies. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11. doi:10.1007/s12602-018-9471-2
- Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mättö, J., & Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of biotechnology*, 84(3), 197-215.
- Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Van Sinderen, D. (2005). Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current opinion in biotechnology*, 16(2), 198-203.
- Sánchez, L., & Tromps, J. (2014). Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico. *Revista de Salud Animal*, 36(2), 124-129.

Zaid, A. A. (2018). Study the effect of probiotic bacteria isolated from foods on pathogens. *Biomedical Research*, 29(12), 2509-2515.

Zubillaga, M., Weill, R., Postaire, E., Goldman, C., Caro, R., & Boccio, J. (2001). Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. *Nutrition Research*, 21(3), 569-579.

ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL EN ADEREZOS A BASE DE CURCUMA (*Curcuma longa*) MEDIANTE LA EVOLUCIÓN DEL ÍNDICE DE PERÓXIDOS

Felicia García-López¹

Eloísa López-Hernández^{1*}

Carlos Alberto Corzo-Sosa¹

Edith Miranda-Cruz¹

Antonio Valadez-Villarreal²

RESUMEN

Los alimentos con alto contenido de grasas son susceptibles de sufrir el proceso de oxidación. La cúrcuma contiene polifenoles del tipo curcuminoídes y aceites volátiles que tienen un carácter antioxidante. La vida útil define el periodo de tiempo en el que un alimento mantiene características sensoriales y de inocuidad aceptables para el consumidor, almacenado bajo ciertas condiciones de temperatura, humedad, nivel de oxígeno, luz, procesamiento y empaque. El objetivo de este trabajo fue determinar la vida útil de dos aderezos formulados con y sin cúrcuma, almacenados a 15 °C, 25 °C y 35 °C, determinando el índice de peróxidos, como indicador de deterioro. La duración de la prueba a 15 °C fue de siete meses, a 25 °C y 35 °C, tres meses y cuarenta y dos días, respectivamente. La cinética de la reacción fue de orden cero. Las ecuaciones para estimar la vida útil del aderezo con cúrcuma fueron $10(3.3812 - 0.0519 T)$ y sin cúrcuma $10(3.2305 - 0.0469 T)$ en el cual T significa temperatura. El tiempo calculado con mayor vida útil fue de 15 meses a 15 °C, con cúrcuma y el de menor vida útil fue de 42 días sin

¹ División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, km 25, Carretera Villahermosa-Teapa, Ra. La Huasteca, 2a Sec. CP. 86298. Centro, Tabasco, México.

² Universidad Tecnológica de Tabasco, Km 14.6 Carr. VHSA-Teapa, Fraccionamiento Parrilla II, Centro, Tabasco, México.

* Autor de correspondencia: eloisa73@hotmail.com

cúrcuma a 35 °C. Se concluyó que los aderezos presentan vida útil prolongada, a bajas temperaturas con adición de cúrcuma, que actúa como antioxidante.

INTRODUCCIÓN

La vida útil de un alimento se define como el tiempo que transcurre desde que ha sido elaborado, y mantiene un nivel aceptable de sus propiedades fisicoquímicas, sensoriales y de seguridad en ciertas condiciones de almacenamiento hasta que ya no es apto para su consumo (Rojas-Padilla *et al.*, 2010). En general depende de su formulación, naturaleza química de sus componentes, proceso al que fue sometido, material del envase y /o empaque y de las condiciones ambientales de almacenamiento (humedad, temperatura, luz) (Fennema, 2008; García-Baldizón *et al.*, 2011). Estos factores, interactúan con sistemas bioquímicos internos del alimento pudiendo acelerar o disminuir los procesos de deterioro tales como crecimiento y actividad microbiana, reacciones físico-químicas, actividad enzimática, rancidez (oxidación lipídica), degradación de vitaminas, y cambios en características sensoriales (Mercado-Flores *et al.*, 2016).

El estudio de la vida útil de un alimento, es fundamental, cuando se trata de lanzar un nuevo producto al mercado, evaluar cómo afectan los cambios en los procesos de producción o evaluar la estabilidad en productos que han sufrido reformulaciones (García y Molina, 2008).

Los aderezos para ensaladas son sistemas químicos que se elaboran a partir de una fase oleosa dispersa, un surfactante (generalmente no iónico), y ácidos orgánicos incluidos en una fase acuosa, que contienen habitualmente, sales, glúcidos simples e hidrocoloides. A pesar de su alta acidez y su reducida actividad acuosa, se incluyen en su formulación preservadores como el benzoato de sodio y/o sorbato de potasio (Castro *et al.*, 2002).

Los aderezos, por su alto contenido de grasas, son susceptibles de sufrir el proceso de oxidación, lo que lleva a reducir su vida útil, de ahí que sean adicionados con sustancias que disminuyen estos procesos (Rondón *et al.*, 2004). La cúrcuma conocida también como turmeric contiene polifenoles de tipo curcuminoídes y aceites volátiles (Alvis *et al.*, 2012), entre ellos la curcumina (diferuloilmetano-1,7-bis-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona) es el principal polifenol curcuminoide encontrado, junto con otros dos compuestos de la misma naturaleza demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina, de bajo peso molecular y color amarillo en medio ácido. Son buenos agentes antioxidantes mostrando una importante actividad como neutralizante de radicales libres (González-Albadalejo *et al.*, 2015).

Las pruebas aceleradas de vida útil se refieren a cualquier método que sea capaz de evaluar la estabilidad de un producto, basado en los datos que se obtienen en un período de tiempo significativamente más corto que el período de vida útil real del producto (Guzmán *et al.*, Rojas-Padilla, 2010). son útiles para disminuir el tiempo de los ensayos y pruebas, los cuales se basan en someter el producto a condiciones de almacenamiento que aceleran las reacciones de deterioro (Kebede *et al.*, 2015; Derossi *et al.*, 2016; Paternina-Sierra, 2018).

OBJETIVO GENERAL

Determinar la vida útil de dos aderezos, adicionados con cúrcuma (*Curcuma longa*) en polvo y sin cúrcuma, almacenados a temperaturas de 15°, 25° y 35 °C.

MATERIALES Y MÉTODO

La presente investigación se realizó en los laboratorios de análisis de alimentos y análisis especiales de la Universidad Tecnológica de Tabasco, así como en el de Tecnología de Alimentos de la División Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

La materia prima *Cúrcuma longa*, se obtuvo comercialmente de un supermercado de la ciudad de Villahermosa, Tabasco, se secó el rizoma de cúrcuma a 65 °C hasta un 5 % de humedad, en un horno de laboratorio de la marca RIOSSA modelo H62, México, se molió en una licuadora industrial marca Oster, hasta obtener un polvo fino. Se elaboraron dos aderezos mezclando aceite vegetal, huevo, vinagre blanco y sal en una licuadora Vita-mix, (modelo VM0200 de 1400 W) se adicionó a un aderezo cúrcuma en polvo y otro sin cúrcuma, los aderezos fueron estabilizados con tween 40 de acuerdo al Cuadro 1.

Cuadro 1. Formulación de aderezos

Ingredientes	Sin cúrcuma (T1)	Con cúrcuma (T2)
Aceite vegetal	1000 mL	1000 mL
Huevo	250 g	250 g
Vinagre blanco	50 mL	50 mL
Sal	10 g	10 g
Tween (emulsificante)	25 mL	25 mL
Polvo de cúrcuma al 5% de humedad		25 g

Fuente inicial: Charley, 2014

Una vez realizadas las emulsiones se envasaron en frascos de vidrio de 100 ml, con tapa de rosca y se almacenaron a temperaturas de 15 °C, 25 °C, y 35 °C, utilizando las incubadoras siguientes: para baja temperatura (15 °C), Precision Scientific modelo 815 (Midland ON, Canadá), para 25 °C se usó la VWR modelo 1547 AT (Cornelius OR. USA), y para 35 °C, la Shellab modelo G17-22 MFG (Cornellius OR, USA). Labuza (1985), indica que la cantidad mínima de temperaturas para conducir un estudio de vida útil son tres. Se estableció utilizar el índice de peróxidos como variable de respuesta, debido a que este se encuentra directamente relacionado con el sabor rancio que se percibe en aderezos, mayonesas y productos semejantes con alto contenido de grasa (García-Baldizón *et al.*, 2008), las determinaciones se realizaron por triplicado, de acuerdo a la norma NMX-F-154-SCFI-2010 alimentos-aceites y grasas vegetales o animales- Determinación del valor de peróxido-método de prueba, en el Cuadro

2, se presenta la periodicidad de la toma de muestras del aderezo; el muestreo para la temperatura de 15 °C se extendió a siete meses, a 25 °C y 35 °C, a tres meses y cuarenta y dos días, respectivamente.

Cuadro 2. Secuencia de muestreo para el análisis del aderezo.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Periodo de medición (días)	Tiempo máximo de almacenamiento (días)	Muestreo (días)
15	30	210	0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, y 210
25	15	90	0, 15, 30, 45 y 60, 75, y 90
35	7	42	0, 7, 14, 21, 28, 35, y 42

RESULTADOS

Los resultados del índice de peróxidos (IP) de los tratamientos T1 y T2 en función del tiempo para cada temperatura se muestran en las Figuras 1, 2 y 3 respectivamente. Se puede observar que el IP de los aderezos, aumentó con respecto al tiempo y a mayores temperaturas, en estas mismas figuras se presentan las correspondientes regresiones lineales. La tendencia mostró que los incrementos en el IP se presentaron a una velocidad de deterioro mayor a medida que aumentó la temperatura de almacenamiento, lo cual se relaciona con el aumento de la rancidez del producto ocasionadas por las reacciones químicas que se presentan en alimentos con alto contenido de lípidos. El T1 a 35 °C presentó un IP de 16.18 meqO₂/Kg a los 42 días de almacenamiento; a 25°C y 90 días el IP fue de 16.57 meqO₂/Kg y a 15 °C se determinó que para los 200 días fue de 10.21 meqO₂/Kg. En el T2, se presentó el mismo comportamiento, a 35 °C presentó un índice de peróxidos de 15.48 meq O₂/Kg a los 42 días, a 25 °C el índice de peróxidos fue de 14.8 meq O₂/Kg, 90 días y a 15°C a los 210 días fue de 7.69 meqO₂/Kg.

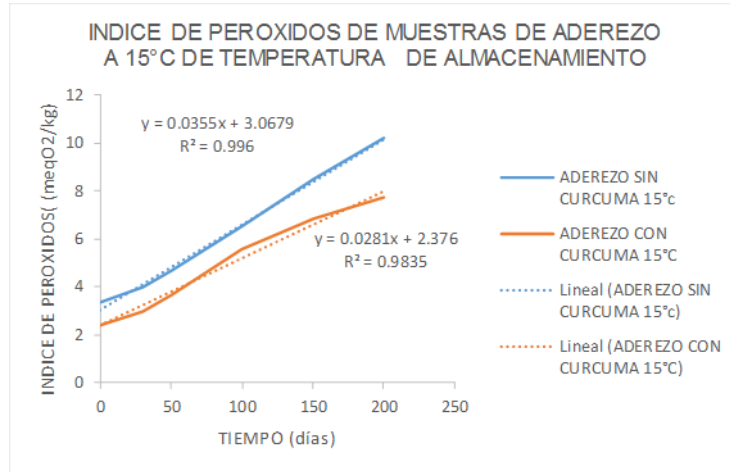


Figura 1. Comportamiento del índice de peróxidos en aderezos almacenados a 15 °C.

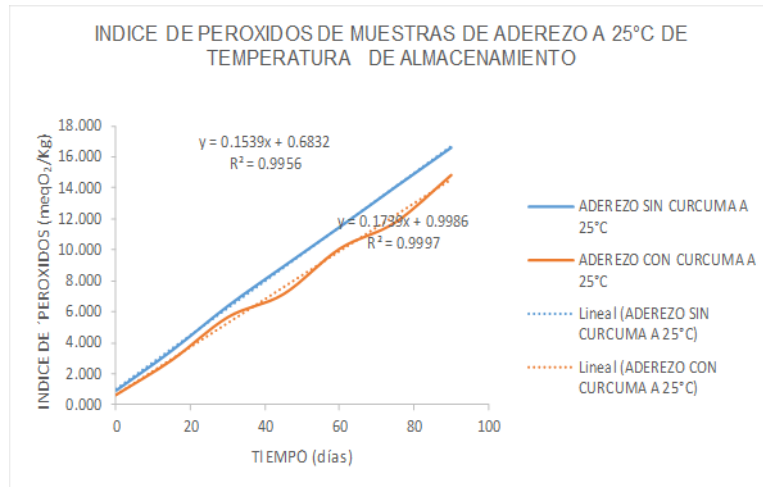


Figura 2. Comportamiento del índice de peróxidos en aderezos almacenados a 25 °C

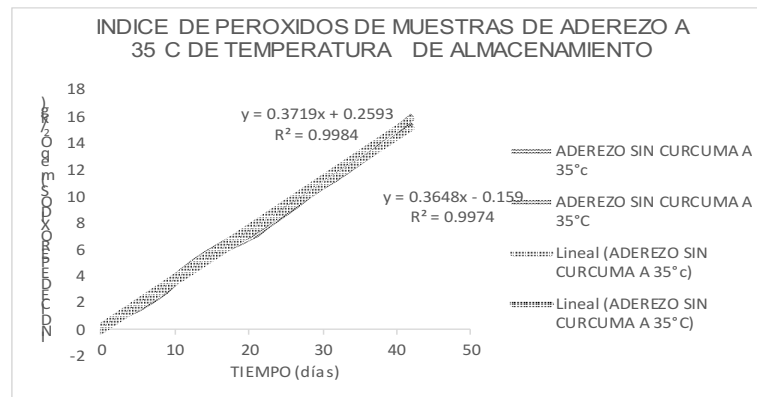


Figura 3. Comportamiento del índice de peróxidos en aderezos almacenados a 35 °C.

Con las tres constantes obtenidas, representadas por las pendientes de las ecuaciones presentadas en las figuras 1,2 y 3, para las tres temperaturas estudiadas, se aplicó el modelo de Arrhenius, en la forma como se expresa en la ecuación del ln k en función de 1/T) Figura 4.

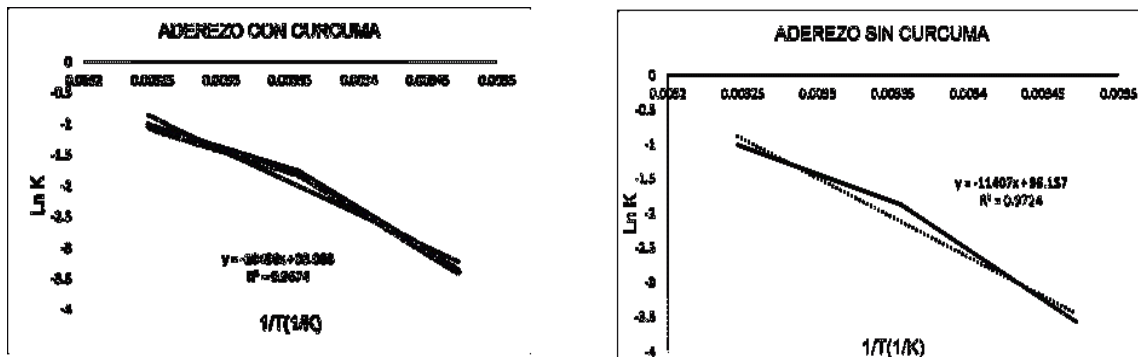


Figura 4. Ln k en función de 1/T de aderezos con cúrcuma y sin cúrcuma

Se graficó el logaritmo de la vida útil a (15, 25 y 35) °C, Figura 5, la ecuación de vida útil para el aderezo adicionado de cúrcuma fue $10^{(3.3812 - 0.0519 T)}$ y para el aderezo sin cúrcuma $10^{(3.2305 - 0.0469 T)}$.

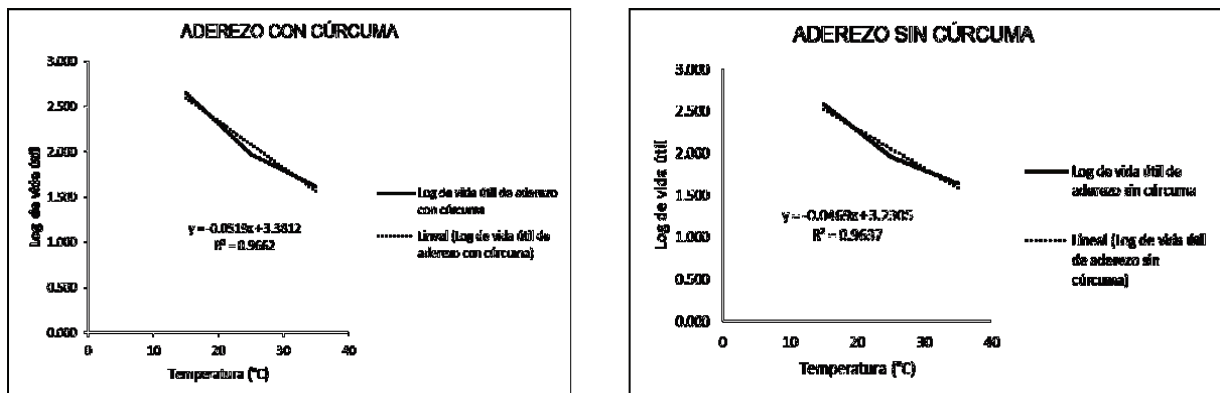


Figura 5. Log de vida útil de aderezos con y sin cúrcuma en función de las temperaturas

Cuadro 3. Comparación de medias del índice de peróxidos de los dos tratamientos a las tres temperaturas ensayadas

TRATAMIENTO	15°C	25°C	35°C
T1 (aderezo sin cúrcuma)	6.20 a	7.6 a	8.07 a
T2 (aderezo con cúrcuma)	4.86 b	5.81 b	7.50 b

Resultados de muestras analizadas por triplicado. Letras iguales muestran que no hay diferencia significativa al 95 %

En el Cuadro 3, se muestra que hubo diferencia significativa entre los dos tratamientos analizados, lo cual nos demuestra que la adición de cúrcuma a los aderezos, tiene un efecto positivo, al incrementar la vida útil.

El tiempo estimado de vida útil para los aderezos a las diferentes temperaturas se muestra en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Tiempo de vida útil en días de los aderezos a las diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	15 °C	25 °C	35 °C
Aderezo	(días)		
Aderezo con cúrcuma	399.6	121	42
Aderezo sin cúrcuma	336.5	114	41.7

DISCUSIÓN

Se aprecia que conforme transcurre el tiempo y se incrementan las temperaturas, el índice de peróxido aumenta, y presenta un comportamiento lineal. A 15 °C se obtuvo para la formulación de aderezo con cúrcuma, un valor final de índice de peróxidos de 7.699 meqO₂/Kg, correspondiendo a la ecuación $Y = 0.0281X + 2.376$, y en aderezo sin cúrcuma un valor final de 10.214 meqO₂/Kg con una $Y = 0.0355X + 3.0679$, en las formulaciones a 35 °C, el valor final para el aderezo con cúrcuma

fue de 15.484 meqO₂/Kg y $Y = 0.3648X - 0.159$ y sin cúrcuma 16.187 meqO₂/Kg, con la ecuación lineal de $Y = 0.3719X + 0.2593$. Comparando estos valores entre sí, la que presentó mayor incremento en el índice de peróxido fue la formulación elaborada sin cúrcuma y almacenada a 35 °C. Según Rondón *et al.*, (2004). Los incrementos del índice de peróxido ocurren a una velocidad de deterioro mayor a medida que se aumenta la temperatura de almacenamiento. El desarrollo de los peróxidos comienza en forma lenta y luego se incrementa con mayor velocidad. Los lípidos expuestos al aire reaccionan lentamente en un inicio, pero una vez que la rancidez se ha iniciado la velocidad se incrementa con bastante rapidez. Esto resulta de la formación de aldehídos y cetonas que dan a la grasa el sabor rancio seboso. El proceso de oxidación de los lípidos es de gran interés en la industria alimentaria, pues hace que los alimentos en que aparece sean inaceptables para el consumidor o disminuye la vida útil de éstos. Guzmán *et al.* (2016), estudiaron la vida útil de jamón de cerdo mediante pruebas aceleradas, el aumento del índice de peróxido en función del tiempo mostró una cinética de orden cero, una energía de activación de 8,4kJ·mol⁻¹ con relación a la temperatura de almacenamiento. La vida útil media a 5 °C fue de 20 días, lo cual indica que a 15 °C será de un poco más de 17 días y a 30 °C de 14 días, casi la mitad de la temperatura más baja, como se observa estos productos son denominados perecederos, con una vida útil corta, sin embargo, el estudio de pruebas aceleradas demostró ser útil para realizarlo en un corto tiempo. Pastor-Candela (2017), evaluó la vida útil mediante pruebas aceleradas de quinoa y pepitas de calabaza, resultando 488 y 272 días, de vida útil, respectivamente a una temperatura de 25 °C.

El valor de la energía de activación que se calculó para el aderezo con cúrcuma fue de 86 934 J/mol y sin cúrcuma 94 841 J/mol. Torres (2000) y Mercado-Flores *et al.* (2016) mencionan que la energía de activación para reacciones de oxidación de lípidos se encuentra en el ámbito de 41 842 J/ mol a 104 605 J/mol por lo que el resultado de este estudio se encuentra dentro de dicho ámbito.

Se obtuvo un valor máximo de índice de peróxidos de 16.57 meqO₂/kg para el cual se consideró que el producto ya no reunió las características necesarias para el consumo.

Además del efecto de las temperaturas, se notó efecto antioxidante, en los aderezos adicionados con cúrcuma y almacenados a 15 °C y 25 °C, no así en los almacenados a 35 °C. Alvis *et al.* (2012) encontraron en sus investigaciones que la cúrcuma posee potencial antioxidante similar al que ejerce el BHT en la inhibición de la oxidación para una matriz lipídica. La capacidad antioxidante de la curcumina se debe a que la forma dicetónica 1a es un potente dador de H. Experimentalmente, el carácter antioxidante ha sido ensayado de diferentes maneras, determinando la estructura de sus productos de oxidación vainillina y ácido ferúlico, usando los ensayos TRAP (radical trapping antioxidant parameter) y FRAP (ferric ion reducing antioxidant power), y en relación con su propiedad como neutralizante de radicales libres. La actividad antioxidante disminuye desde la curcumina, a desmetoxicurcumina y a bisdesmetoxicurcumina (González-Albadalejo *et al.*, 2015).

De acuerdo con las ecuaciones obtenidas para el aumento del índice de peróxidos en función del tiempo, el orden de reacción para la oxidación de aderezos es cero y la energía de activación para aderezo con cúrcuma fue de 86 934 J/mol y sin cúrcuma 94 841 J/mol.

La vida útil estimada del aderezo con cúrcuma a 15, 25 y 35 °C fue de 399.6, 121 y 42 días, respectivamente y para el aderezo sin cúrcuma, 336.5, 114 y 41.7 días.

CONCLUSIONES

La vida útil estimada del aderezo con cúrcuma a (15, 25 y 35) °C fue de 399.6, 121 y 42 días, y para el aderezo sin cúrcuma, 336.5, 114 y 41.7 días, respectivamente.

La ecuación general para estimar la vida útil a las diferentes temperaturas de almacenamiento de aderezos evaluadas con y sin cúrcuma fue vida útil = $10^{(3.3812 - 0.0519 T)}$ y $10^{(3.2305 - 0.0469 T)}$, respectivamente.

La adición de polvo de cúrcuma al aderezo mostró efecto antioxidante en las temperaturas más bajas estudiadas (15 y 25 °C), no así para la de 35 °C, que no se observó el efecto de disminución de índice de peróxidos y por consiguiente aumento de vida útil.

REFERENCIAS

- Alvis, A., Arrazola, G., y Martínez, W. 2012. Evaluación de la Actividad y el Potencial Antioxidante de Extractos Hidro-Alcohólicos de Cúrcuma (*Curcuma longa*). *Información Tecnológica*. 23(2),11-18.
- Castro M. P., Garro O. A., Campos C. A., Gerschenson L. N. (2002). Interactions Between Additives: Its Effect on Sorbate Stability and *Z. bailii* Minimum Inhibitory Concentration in Model Aqueous Systems Resembling Salad Dressings. *Food Sci Tech Int*. 8(1):33-39
- Derossi, A., Mastrandrea, L., Amodio ML., de Chiara, M.L.V., y Colelli, G. 2016. Application of multi-variate accelerated test for the shelf life estimation of fresh-cut lettuce. *J. Food Eng*. 169,122-130.
- Fennema, O. 2008. *Química de los Alimentos*. Zaragoza, España. 4 ed. 1025-1051.
- García-Baldizón, C., y Molina-Córdoba, M.C. 2008. Estimación de la vida útil de una mayonesa mediante pruebas aceleradas. *Ingeniería* 18 (1, 2), 57-64.
- García-Baldizón, G., Chacón Valle G., y Molina Córdoba M.E. 2011. Evaluación de la vida útil de una pasta de tomate mediante pruebas aceleradas por temperatura. *Ingeniería* 21(2), 31-38.

- González-Albadalejo J., D. Sanz, Claramunt R. M., Lavandera J. L., Alkorta I. y Elguero J. 2015. Curcumina y curcuminoides: química, estudios estructurales y propiedades biológicas. *An Real Acad Farm* 81(4) 278-310
- Guzmán, L.E., Martínez, D.D., Martínez, Z.D., Acevedo, D., y Montero, P. 2016. Estudio de la vida útil de jamón de cerdo mediante pruebas aceleradas, *Interciencia*, 41(7), 488-491.
- Kebede, B.T., Grauwet, T., Magpusao, J., Palmers, S., Michiels, C., Hendrickx, y M, Van Loey, A. 2015. An integrated fingerprinting and kinetic approach to accelerated shelf-life testing of chemical changes in thermally treated carrot puree. *Food Chem.* 179: 94-102.
- Labuza, T. P. y Schmidt, M. K (1985). Accelerated shelf-life dating of foods. *Food Technology*, 39 (9), 57-134.
- Mercado-Flores, J., López-Orozco M., Martínez-Soto G. y Abraham-Juárez M. R. 2016. Estimación de la vida de anaquel mediante pruebas aceleradas en fresa entera en bolsa de polietileno y pulpa de fresa congelada. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1(1), 636-640.
- Pastor-Candela, J. R. 2017. Estudio de vida útil en alimentos: Pipas de calabaza y quinoa. tesis grado en ciencia y tecnología de alimentos. Universidad Miguel Hernández de Elche Escuela politécnica superior de Orihuela. España
- Paternina-Sierra, K., Diofanor Acevedo-Correa, D., y Montero-Castillo P.M. 2018. Evaluación de la Vida Útil de una Pasta de Ajonjolí Azucarada mediante Pruebas Aceleradas. *Evanf. y tecnol.* 29(4), 3-12
- Rojas-Padilla, C., Arteaga-Miñano, H., Barraza-Jáuregui, G., Méndez Reyna, E., y Miano-Pastor, C. 2010. Estimación de la vida útil de corazones de alcachofa

(*Cynara scolymus* L.) marinados en conserva y el contenido de omega 3 y omega 6. *Scientia Agropecuaria* 1, 207 – 211.

Rondón, E., Pacheco, E. y Ortega, F. LUZ. 2004. Estimación de la vida útil de un análogo comercial de mayonesa utilizando el factor de aceleración Q10. *Rev. Fac. Agron.* 4(21), 68-83

SCFI. Norma Mexicana NMX-F-154 SCFI-2010. Alimentos-aceites y grasas vegetales o animales-Determinación del valor de peróxido. Método de prueba. pp. 1-9

Torres, S. 2000. Determinación del tiempo de vida en anaquel de aceite de oliva virgen mediante pruebas aceleradas. Tesis para optar el título de ingeniero en industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina. Perú.

EVALUACIÓN DE LA PREFERENCIA Y ACEPTABILIDAD SENSORIAL DE UNA BEBIDA A BASE DE SÁBILA (*Aloe barbadensis* Miller)

Nicolás de Jesús Cruz López¹

Rosa Ma. Salinas Hernández¹

José Manuel Salaya Domínguez¹

Hortensia Brito Vega¹

Edmundo Gómez Méndez¹

RESUMEN

Actualmente los consumidores consideran, no sólo el valor nutritivo del alimento, sino también su aporte a la salud, por lo que demandan productos novedosos y saludables. Una materia prima usada en la formulación de nutracéuticos es la sábila, que contiene 26 fitoquímicos bioactivos como taninos, saponinas, flavonoides y terpenoides. Sin embargo, éstos fitoquímicos actúan de forma sinérgica, y no se puede otorgar el efecto benéfico a uno solo. Así, el aprovechamiento de sus propiedades puede ser mediante bebidas a base del gel de sábila. El objetivo del estudio fue evaluar la preferencia y aceptabilidad sensorial de bebidas formuladas a base de sábila, para lo cual se desarrollaron tres formulaciones. La primera consistió en 85 % agua, 10 % sábila y 5 % miel de abeja (T1), la segunda 85 % jugo de naranja, 10 % sábila y 5 % miel (T2) y la tercera 45 % agua, 40 % jugo de naranja, 10 % sábila y 5 % miel (T3). Las bebidas fueron evaluadas para determinar la preferencia y aceptabilidad en una escala hedónica de nueve puntos. Los resultados indicaron que la bebida con 85 % jugo de naranja, 10 % sábila y 5 % de miel (T2), fue la preferida y también tuvo la mayor aceptación por los consumidores.

¹ División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, km 25, Carretera Villahermosa-Teapa, Ra. La Huasteca, 2a Sec. 86298. Centro, Tabasco, México.

*Autor de correspondencia: rosa.salinas@ujat.mx.

INTRODUCCIÓN

El ritmo de vida acelerado hace difícil balancear una dieta con todos los nutrientes esenciales para proveer energía, promover crecimiento, hacer frente a los problemas asociados con el proceso de envejecimiento y mantener los niveles óptimos de inmunidad. Así, actualmente los consumidores han comenzado a considerar a los alimentos, no sólo por su valor nutritivo, sino por sus beneficios a la salud.

El mercado de los nutraceuticos y alimentos funcionales está siendo dirigido por los consumidores que tienen un mayor entendimiento de la relación de la dieta y las enfermedades. Las aplicaciones más comunes de los nutraceuticos son la reducción del colesterol, enfermedades cardiovasculares y osteoporosis, seguido de desarrollo infantil, alta presión, diabetes, desórdenes gastrointestinales, menopausia y la intolerancia a la lactosa. Según Health Canadá (1998), los alimentos nutraceuticos se formulan en base a los ingredientes activos de plantas medicinales que tienen un beneficio fisiológico demostrado u ofrecen protección en contra de alguna enfermedad crónica.

Una materia prima usada en la formulación de productos nutraceuticos es la sábila, de la familia de las liliáceas, cuya variedad más utilizada durante siglos ha sido *Aloe barbadensis* Miller. Se estima que el mercado global de sábila es de 65 millones de dólares en productos primarios (plantulas, hojas y gel) y más de 200 mil millones de dólares en productos como champús, lociones, bebidas y medicamentos, con una proyección de crecimiento no menor a 12 % interanual (Eshun, 2004; Ramachandra y Srinivasa, 2008; Domínguez-Fernández *et al.*, 2012).

Arunkumar y Muthuselvam (2009) reportaron la presencia de 26 fitoquímicos bioactivos en la sábila, entre los que destacan taninos, saponinas, flavonoides y terpenoides. Sin embargo, aunque la sábila posee una de gama fitoquímicos

éstos actúan de forma sinérgica, por lo que no se puede otorgar el efecto benéfico a uno solo, entre los más estudiados se encuentran los mucos polisacáridos, éstos son sustancias que en pequeñas cantidades provocan cambios significativos en el metabolismo, además de actuar con los receptores en la superficie celular, no son tóxicas, ni residuales (Plaskett, 2001).

En la actualidad, diversas industrias se han orientado hacia la obtención del gel en diferentes presentaciones; este mercado ha ido evolucionando significativamente durante los últimos años (Reynolds, 1985; Kim *et al.*, 1998; Eshun y He, 2004; Ramachandra y Srinivasa, 2008). Así, una alternativa de aprovechamiento de sus propiedades puede ser mediante la elaboración de bebidas a base del gel de sábila.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo del presente estudio consiste en evaluar la preferencia y aceptabilidad sensorial de bebidas elaboradas a base de sábila.

MATERIALES Y MÉTODO

Las hojas de sábila fueron cosechadas en el municipio de Centro, Tabasco, y se trasladaron a la División Académica de Ciencias Agropecuarias. En el laboratorio fueron lavadas con agua y jabón para eliminar tierra e impurezas. Posteriormente se eliminaron las espinas y se extrajo el gel, el cual se dejó reposar para eliminar la aloína. El gel de sábila se cortó en cubos para licuar con el jugo de naranja, recién extraído, y la miel. Con este procedimiento se elaboraron tres diferentes formulaciones de la bebida a base de sábila. La primera formulación (T1) consistió en 85 % de agua, 10 % de sábila y 5 % de miel de abeja como una bebida refrescante, la segunda formulación fue elaborada con 85 % jugo de naranja, 10 % de sábila y 5 % de miel de abeja (T2); finalmente, la tercera se elaboró a base de 45 % de agua, 40 % de jugo de naranja, 10 % de sábila y 5 % miel de abeja (T3).

El producto elaborado de cada formulación se envasó en botellas de PET de 1 L y se almacenó en refrigeración hasta el inicio de la sesión de evaluación. El área de trabajo y los utensilios fueron sanitizados con una solución de 200 ppm de cloro, los participantes en el proceso utilizaron bata, cubreboca, cubrepelo y guantes desechables de látex como medidas de higiene durante el proceso.

Las diferentes formulaciones de la bebida recién elaborada fueron evaluadas por 40 jueces no entrenados, mediante una prueba de preferencia por ordenamiento (para tres muestras), cuyos resultados se analizaron con base en los valores críticos para determinar la preferencia según la norma UNE 87-023 (AENOR, 1995). Asimismo, se realizó una prueba de aceptabilidad en una escala hedónica de nueve puntos. Los resultados se analizaron mediante estadística descriptiva para identificar la bebida de mayor aceptabilidad global y por atributos. Las pruebas sensoriales se realizaron por duplicado en dos diferentes sesiones.

Para la evaluación se usaron muestras de 30 ml que fueron presentadas en orden aleatorio a los jueces, servidas en vasos de plástico transparente codificados con números aleatorios de tres cifras. Los jueces fueron instruidos para evaluar las muestras en el orden recibido y calificadas de acuerdo a la escala indicada. Entre una y otra muestra los jueces consumieron agua para eliminar el efecto de la muestra previa.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la prueba de preferencia indicaron una sumatoria mayor para el tratamiento 1 y menor para el tratamiento 2. Estos resultados se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Resultados de la sumatoria de valores asignados a cada una de las muestras.

Muestra	410 =T1	011 =T2	118 = T3
---------	---------	---------	----------

Sumatoria	78	33	57
-----------	----	----	----

Las sumatorias observadas indican que la muestra correspondiente al T2 fue ubicada en primer lugar de preferencia entre las tres muestras, contrario a lo observado para el T1.

Las diferencias absolutas entre los tratamientos fueron comparadas con los valores de sumatoria críticos a un nivel de significancia del 0.05 y de 0.01. Estos resultados se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Diferencias absolutas y comparación con valor crítico para ordenación por rangos con 5 % y 1% de significancia.

Muestras	Diferencia	VC 5 %	VC 1 %	Significancia
T1-T2	45	26	33	**
T1-T3	21	26	33	NS
T2-T3	24	26	33	NS

Los resultados indicaron que hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) en la preferencia entre T1 y T2. Sin embargo, no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$) entre T2 y T3 en cuanto a preferencia.

En cuanto a la aceptabilidad de las bebidas de los diferentes tratamientos, los resultados se muestran en la figura 1.

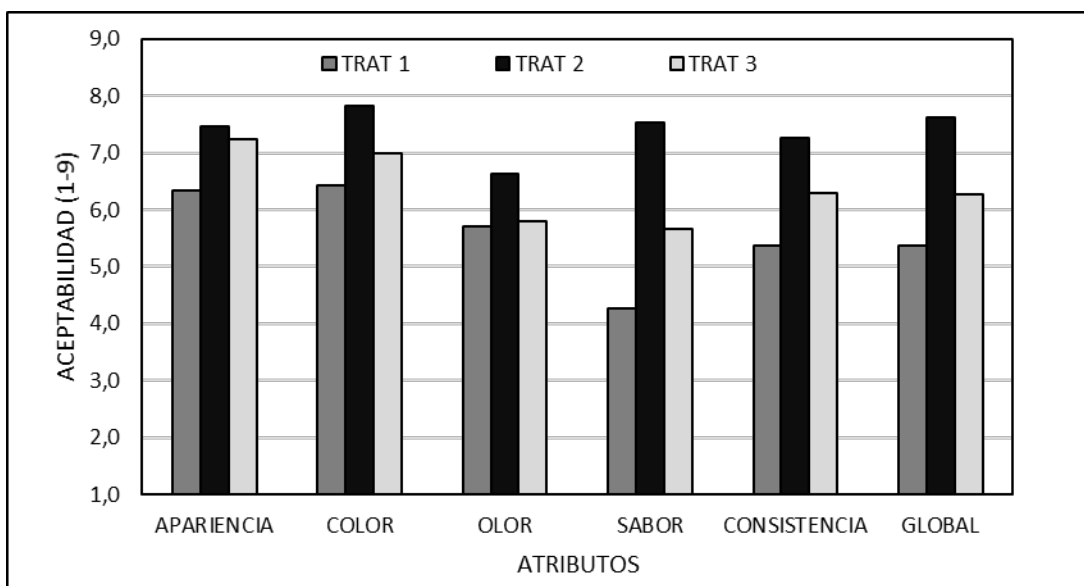


Figura 1. Aceptabilidad global y por atributos de las bebidas de sábila de los diferentes tratamientos evaluados.

DISCUSIÓN

La menor sumatoria obtenida en el T2 indica que esta formulación es la que recibió más calificaciones de preferencia en primer lugar en la prueba de ordenamiento. Es decir, fue la formulación preferida, contrario a lo observado en el T1. La comparación de las diferencias absolutas entre los tratamientos indicó una preferencia altamente significativa del T2 respecto al T1. Sin embargo, no hubo diferencia del T2 respecto al T3. Esto significa, que los consumidores prefirieron las muestras con 85 y 40 % de jugo de naranja indistintamente, esto podría indicar que el consumidor no requiere un intenso sabor a naranja para preferir la bebida sino solo una cantidad suficiente para otorgar el sabor a naranja. En este sentido, sería interesante determinar la proporción mínima necesaria de jugo de naranja para lograr la diferencia significativa en cuanto a preferencia respecto a la bebida sin jugo de naranja.

Los resultados de la prueba de aceptabilidad mostraron que la bebida del T2 tuvo la mayor aceptabilidad en todos los atributos, principalmente en cuanto a color

y sabor. Asimismo, tuvo la mayor aceptabilidad global respecto al resto de los tratamientos.

Los resultados obtenidos en la prueba de aceptabilidad coincidieron con los observados en la prueba de preferencia, en cuanto a que la bebida con un 85 % jugo de naranja, 10 % sábila y 5 % de miel como endulzante (T2), tuvo también la mayor aceptabilidad global y por atributos por parte de los consumidores.

En la Figura 1, se observa también la aceptabilidad de los atributos de las muestras del T3, siendo la apariencia y el color, seguidos de la consistencia, los que permitieron obtener resultados similares entre las bebidas del T2 y T3 en cuanto a preferencia.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que una bebida elaborada a base de sábila tiene buena aceptabilidad si se combinan los ingredientes que permitan tener un producto del agrado del consumidor, sin dejar de lado el aporte saludable de la sábila. Asimismo, indican que la preferencia por una bebida de sábila con menor contenido de jugo de naranja (40 %) no es significativamente diferente de la preferencia por una bebida elaborada con un 85 % de jugo.

REFERENCIAS

- Arunkumar S., Muthuselvam M. 2009. Analysis of Phytochemical Constituents and Antimicrobial Activities of *Aloe vera* L. Against Clinical Pathogens. *World Journal of Agricultural Sciences* 5 (5): 572-576.
- Domínguez-Fernández R.N., Arzate-Vázquez I., Chanona-Pérez J. J., Welti-Chanes J. S., Alvarado-González J. S., Calderón-Domínguez G., Garibay-Febles V., Gutiérrez-López G. F. 2012. El gel de *Aloe vera*: estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia

en la industria farmacéutica y alimentaria. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 11 (1): 23-43

Eshun, K. y He, Q. (2004). Aloe vera: A valuable ingredient for the food, pharmaceutical and cosmetic industries-A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44, 91-96.

Health Canada. 1998. In context: functional foods and nutraceuticals homepage (en línea). Consultado 12 mar. 2002. Disponible en <http://www.canoe.ca/HealthCFIC/functional.html>

Kim, K.H., Lee, J.G., Kim, D.G., Kim, M.K., Park, J. H. y Shin, Y. G. (1998). The development of a new method to detect the adulteration of commercial Aloe gel powders. *Archives of Pharmacal Research* 21, 514-520.

Plaskett, L. (2001). Aloe vera, Aloe in alternative medicine practice. Whole leaf homepage (en línea). Consultado 12 dic. 2001. Disponible en <http://www.wholeleaf.com>.

Ramachandra, C.y Srinivasa, P. (2008). Processing of Aloe vera leaf gel: A review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 3, 502510.

Reynolds, T. (1985). The compounds in Aloe leaf exudates: A review. *Botanical Journal of the Linnean Society* 90, 157-177.

UNE 87-023. (1995). Análisis Sensorial. Metodología. Ensayo de clasificación por ordenación. Madrid. AENOR. Ministerio de Industria y Energía. (Concuerda con ISO 8587-1988).

Agradecimientos

Este trabajo es parte del proyecto: Producción de sábila (Aloe vera L.) con fines medicinales en Tabasco. **Folio:** 486.

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE HUEVO DE DIFERENTES MARCAS

Ingrid Lisbeth Solís Pérez¹

Rosa Ma. Salinas Hernández^{1}*

Roberto Antonio Cantú Garza¹

Edith Miranda Cruz¹

Fidel Ulín Montejo²

RESUMEN

Las características de calidad del huevo están relacionadas entre sí. Comercialmente están determinadas por el peso, forma, color y solidez de la cáscara y el grado de limpieza; así como con los parámetros internos directamente relacionados con el grado de frescura y envejecimiento del huevo. El peso, forma, integridad de la cáscara y presencia e integridad de cutícula externa que recubre la cáscara, protegiendo de contaminaciones, se pueden evaluar externamente, por otro lado, las técnicas de calidad interior necesitan de la destrucción del huevo y se relacionan con índices morfológicos que varían con los procesos de envejecimiento. Asimismo, en el huevo abierto es posible medir el color de la yema, relacionado con la aceptación organoléptica del mismo. El objetivo del trabajo fue evaluar la calidad del huevo de tres diferentes marcas comerciales. Se evaluaron huevos almacenados a temperatura ambiente y en refrigeración luego de 0, 2, 5 y 8 días de almacenamiento. Las características evaluadas fueron: tamaño de cada huevo, peso, diámetro, altura, volumen, frescura por flotabilidad y fuerza de fractura. Asimismo, se determinó el color de la yema y la consistencia. Los resultados indicaron que los huevos de las diferentes marcas evaluadas fueron homogéneos en diámetro, volumen y color

¹ División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, km 25, Carretera Villahermosa-Teapa, Ra. La Huasteca, 2a Sec. CP. 86298, Centro, Tabasco, México.

² División Académica de Ciencias Básicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Cunduacán-Jalpa km. 1 Col. La Esmeralda CP. 86690, Cunduacán, Tabasco, México.

* Autor de correspondencia: rosa.salinas@ujat.mx.

de la yema. Mostraron diferencias en altura, frescura y consistencia de la clara. Durante el almacenamiento los principales cambios fueron en la frescura y consistencia, independientemente en la marca.

INTRODUCCIÓN

La avicultura en México es una muestra de un sector pujante dentro de la ganadería. La producción de huevo de gallina en México es equiparable a la de las naciones más desarrolladas y de hecho nos ubica dentro de los países con mayor producción a nivel mundial y somos el tercer país en cuanto a consumo per cápita (15.9 Kg./año), siendo superados únicamente por Rumania (23 Kg./año) e Israel (20 Kg./año) (ASERCA,1996).

El huevo como alimento se ha utilizado desde hace mucho tiempo, y su aprovechamiento se ha concentrado en el consumo directo, es decir, como huevo para plato, aunque también es usado para elaborar una gran variedad de productos, como son pasteles, mayonesas, postres, bizcochería, y otros más. La ingestión de huevo, al igual que otros productos, proporciona al ser humano proteínas de alta calidad que fomentan la nutrición del cuerpo, mejorando el desarrollo y la buena salud. Dos huevos de tamaño mediano satisfacen el 25 % de las necesidades proteínicas diarias de un hombre adulto de 65 kg. de peso; 50 % de la lisina que requiere; 40 % de triptófano, fósforo y vitamina A.

El precio de la proteína de huevo es comparativamente más barato que el de la carne o del pescado, sin contar que su adquisición es mucho más rápida y sencilla. Debido a su versatilidad y bajo costo con respecto a otras fuentes de proteína, y la facilidad de su preparación se integra fácilmente a la dieta de grandes sectores de la población. Para entender más sus características nutricias, es conveniente saber cómo se forma. En las aves la célula germinativa u óvulo (que dará lugar al polluelo, si es fecundado) se rodea en el ovario de las sustancias que constituyen la yema, la que a través de su paso por el oviducto

se cubre de varias capas de la pared del mismo, para que al final del tránsito se forme cascarón. De esta manera queda constituido el huevo, en el cual el 58 % del peso corresponde a la clara, 30 % a la yema y el 12 % restante al cascarón.

Adheridas al cascarón se encuentran dos membranas entre las cuales ha de formarse una cámara que conforme transcurre el tiempo de postura se va llenando de aire. Esto origina cambios físico-químicos en la clara que disminuyen su consistencia. El espacio gaseoso es un medio apto para el desarrollo potencial de bacterias patógenas. La yema por su alto contenido de agua y grasa, es más perecedera que la clara. La clara tiene una zona externa más fluida; una intermedia más espesa y otra interna también fluida. Sigue la membrana bitelina que limita la yema. En la clara cerca del 86 % es agua, el 11 % es proteína (de la cual el 65 % es albúmina).

Las diferentes razas de gallinas ponedoras producen huevos que a su vez presentan variaciones en el tamaño, forma, peso y color. Existen máquinas que separan los huevos de manera automática con base en su peso. También se toma en cuenta la calidad interna. Para obtener lotes uniformes es necesario clasificar los huevos de acuerdo a la calidad en varias clases.

Norma Oficial Mexicana (NMXFF-079-SCFI-2004) establece la siguiente clasificación: A) México Extra B) México 1 C) México 2 D) Fuera de clasificación.

Los vendedores clasifican a los huevos en tres grupos: 1° Huevos de color blanco, regulares en forma y tamaño, cáscara resistente y frescos. 2° Huevos blancos pero muy chicos, que se revuelven con los huevos grandes de color, para darles salida a los primeros. No tienen peso fijo. 3° Huevos sucios, rajados o de cáscara delgada, deformes. Estos últimos son vendidos en esta forma muy baratos, o bien se parten, vaciándolos en botes que se conservan en refrigeradores, para surtir con ellos a precios muy bajos a las panaderías, neverías, dulcerías, etc.

La clasificación de acuerdo al color se realiza en huevo blanco y huevo rojo o marrón y lo que determina el color es la raza de la gallina; en contra de lo que pudiera pensarse, el color no tiene ninguna relación con la calidad, sabor o valor nutritivo del huevo.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad de huevo de tres diferentes marcas comerciales que se expenden en la ciudad de Villahermosa, Tabasco.

MATERIALES Y MÉTODO

Se evaluaron huevos de tres diferentes marcas comerciales almacenados a temperatura ambiente y en refrigeración. La evaluación se realizó luego de 0, 2, 5 y 8 días.

Las características evaluadas fueron: tamaño de cada huevo, peso, diámetro, altura, volumen, frescura por flotabilidad y fuerza de fractura. Asimismo, se determinó el color de la yema y la consistencia de la clara.

El peso se determinó con una balanza, el diámetro y la altura igual se midieron con un vernier. El volumen se determinó por desplazamiento de agua en una probeta graduada. Para determinar la fuerza de fractura del cascarón se utilizó un penetrómetro marca Chatillón.

La frescura por flotabilidad se determinó de acuerdo con los seis niveles de frescura que se muestran en la Figura 1. Así, el nivel uno corresponde al huevo más fresco y el seis al huevo de menor frescura. Esto se basa en que, durante su almacenamiento, la cámara de aire del interior del huevo va aumentando de tamaño debido a la pérdida de humedad y de bióxido de carbono. Mientras más fresco sea el huevo, menor será el tamaño de la cámara de aire, y esto se puede

comprobar sumergiéndolo en un recipiente con agua. Si se hunde significa que está fresco. Si permanece parcialmente hundido es algo viejo pero comestible. Si, por el contrario, el huevo flota significa que la cámara de aire es muy grande y por lo tanto la densidad del aire hace que flote.

El color de la yema, se determinó se acuerdo con el abanico 15 tonalidades (Yolk color fan MR) que va desde el amarillo (numero 1) hasta el color más anaranjado que era la tonalidad número 15 (Figura 2). La consistencia de la clara se evaluó mediante una escala visual de 1 a 3, donde 1 correspondió a una clara de consistencia firme (que se mantiene contenida en torno a la yema al romper y vaciar el huevo sobre una superficie) y 3 a una clara de consistencia acuosa (que se esparce por la superficie al romper y vaciar el huevo).

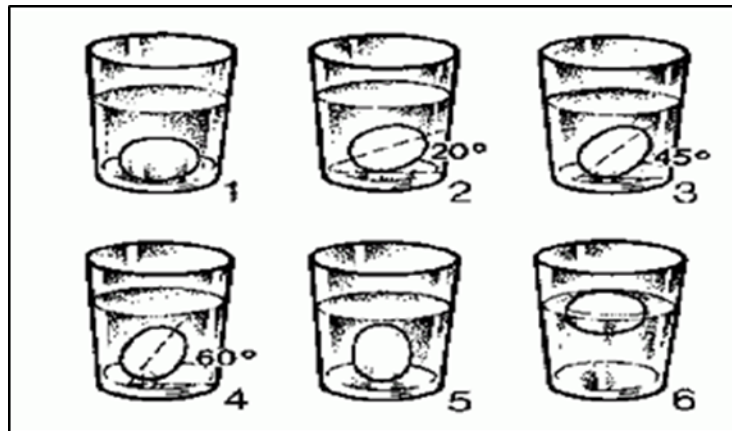


Figura 1. Evaluación de la frescura por frescura por flotabilidad del huevo en agua

La última observación fue la consistencia, la cual se evaluó en una escala del 1 al 5



Figura 2. Abanico de colores de la yema de huevo (Yolk color fan ^{MR})

Estas variables se evaluaron con cinco repeticiones, luego de cada periodo de almacenamiento para los huevos refrigerados y a temperatura ambiente.

Los resultados se analizaron mediante ANOVA para un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x2x4 donde los factores fueron la marca con tres niveles (1, 2 y 3), la temperatura de almacenamiento con dos niveles (ambiente y refrigeración) y el tiempo de almacenamiento con cuatro niveles (0, 2, 5 y 8 días). Asimismo, se realizó una prueba de Tukey para identificar los tratamientos diferentes. El análisis estadístico se realizó con el software SPSS.

RESULTADOS

Los resultados indicaron que no hubo diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los huevos de las marcas evaluadas, en cuanto a peso, diámetro, volumen, color de la yema. En la Figura 3 se muestra el peso promedio del huevo de las tres diferentes marcas evaluadas. Sin embargo, si se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en cuanto a la altura, frescura y consistencia de la clara. El huevo de la marca 3 resultó ser el de menor altura (Figura 4), mientras que el huevo de la marca 1 fue el de mejor consistencia de la clara.

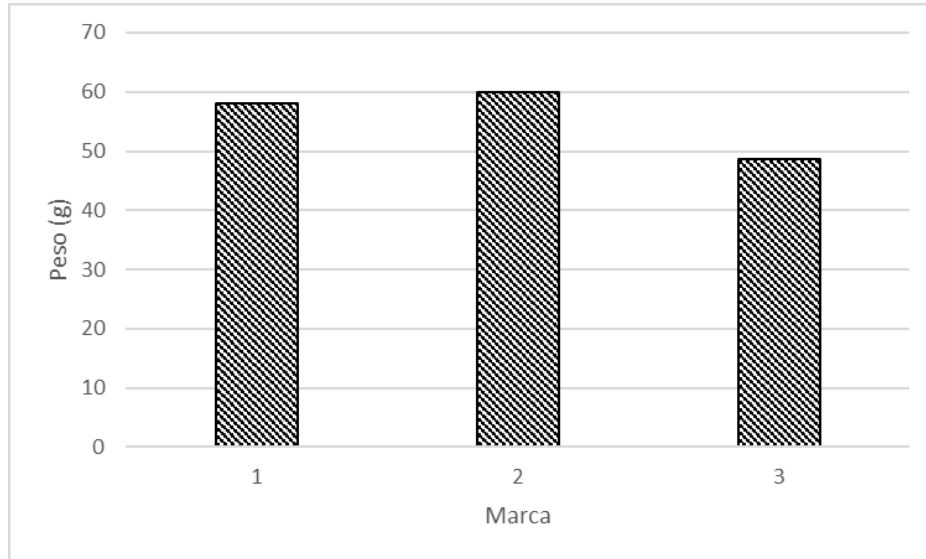


Figura 3. Peso promedio (g) del huevo de las tres diferentes marcas evaluadas.

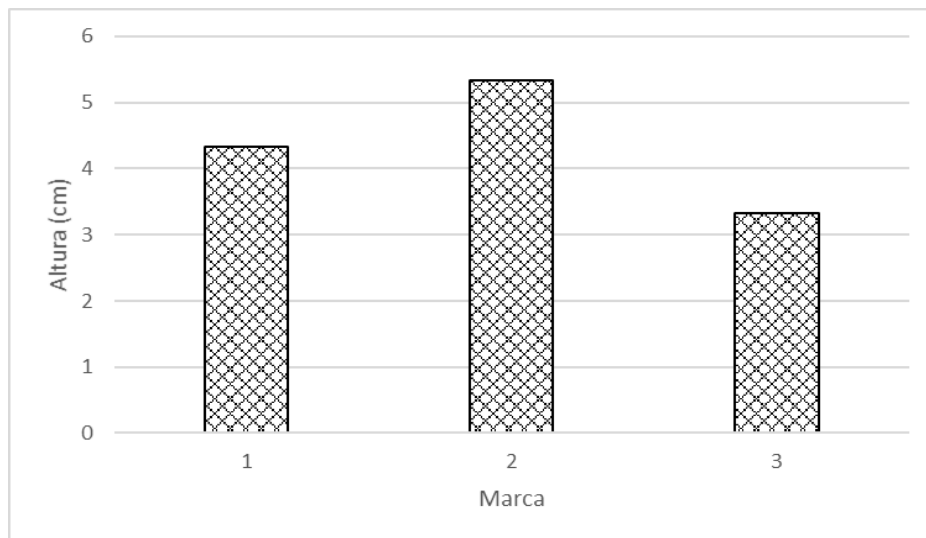


Figura 4. Altura promedio (cm) del huevo de las tres diferentes marcas evaluadas.

En cuanto al efecto de la temperatura, los huevos refrigerados conservaron sus características por mayor tiempo, independientemente de la marca. Así, los principales cambios se observaron en el peso, la consistencia de la clara y la frescura. Los cambios en frescura (evaluada como flotabilidad en escala del 1 al 6) en los huevos almacenados a temperatura ambiente y en refrigeración se

muestran en la Figura 5. Asimismo, la clara tuvo consistencia más líquida al pasar de los días.

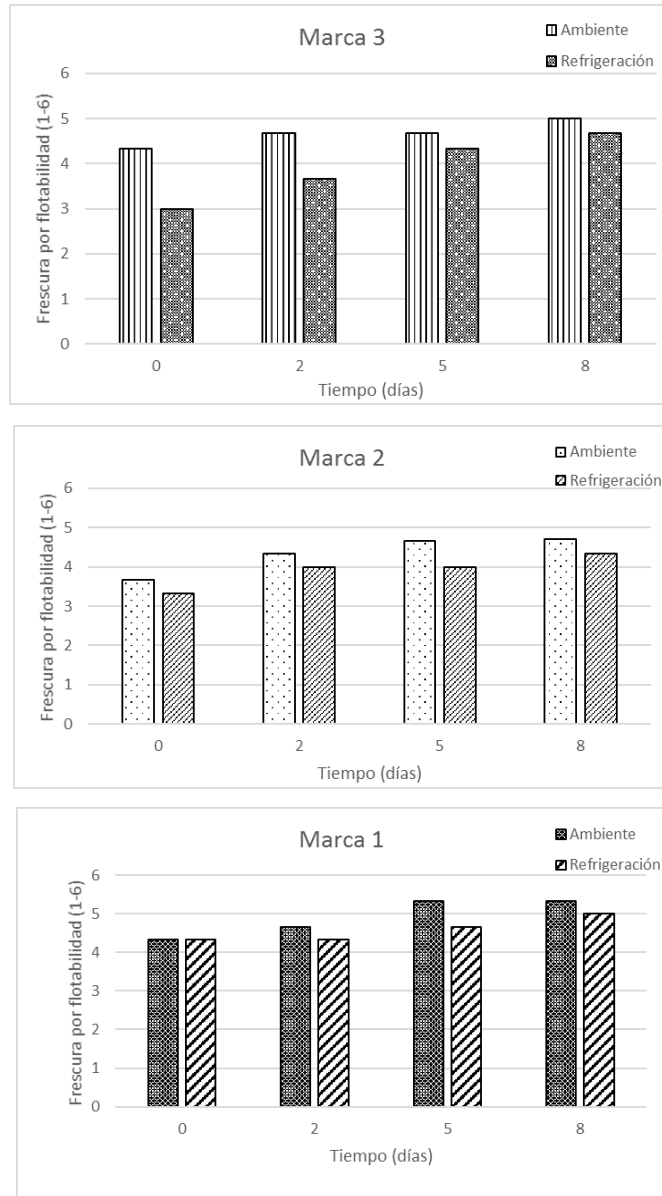


Figura 5. Cambios en la frescura de huevo almacenado a temperatura ambiente y en refrigeración

DISCUSIÓN

Se obtuvo que el huevo de las diferentes marcas fue homogéneo en cuanto al tamaño, esto se debe a los estándares establecidos en la NOM mencionada, la

cual obliga a los productores a clasificar y comercializar el producto por categorías de acuerdo a su calidad. Al respecto, ASERCA (1996) indica que es conveniente, por razones de economía, seleccionar los huevos de tamaño grande pues rinden más que los pequeños en relación a su peso.

En cuanto a la frescura inicial del huevo si se observaron diferencias entre las marcas, esto se debe a las diferentes condiciones de manejo del producto en los diferentes lugares donde se expende el producto, estos expendios pueden ser supermercados, mercado de abastos, tiendas de la esquina, o abarroteras, en todos estos lugares una de las principales diferencias son las condiciones de temperatura y el tiempo que se almacena el producto antes de la venta.

Por otra parte, los cambios observados como efecto de la temperatura de almacenamiento corresponden con los esperados, ya que a mayor temperatura el deterioro del producto es mayor y, en este caso, se reflejó en la pérdida de frescura y los cambios en la consistencia de la clara. Al respecto, de acuerdo con PROFECO (2016) en México el huevo generalmente se consume fresco, al ser recolectado y enviado a los centros de consumo en un plazo no mayor a cinco días, conservando la “envoltura” natural que produce la gallina para protegerlo del medio ambiente, lo que le permite una vida de hasta 20 días sin necesidad de refrigerarlo; sin embargo, refrigerado puede durar hasta cuatro semanas. Para almacenarlo es conveniente que se coloque con la parte ancha hacia arriba y la angosta hacia abajo. Esto permite que la yema, que es mucho más percedera que la clara, quede centrada en el huevo y permanezca lo más alejada posible de la cámara de aire, pues en este espacio se pueden desarrollar mayormente bacterias patógenas

Asimismo, uno de los caracteres del huevo que más interesa al avicultor para satisfacer a los consumidores es el color de la yema. Cuando ésta es de color claro los huevos se consideran de mala calidad o producidos por gallinas débiles y enfermizas. En cambio, son apreciados los huevos cuyas yemas son de un color

amarillo intenso, y se supone que son producidos por gallinas sanas y vigorosas. Esto corresponde con los resultados obtenidos en cuanto a que no se encontraron diferencias en el color de la yema de los huevos de las diferentes marcas evaluadas.

CONCLUSIONES

Los huevos de las diferentes marcas evaluadas fueron homogéneos en cuanto a las características de diámetro, volumen, color de la yema; sin embargo, mostraron diferencias en altura, frescura y consistencia de la clara. Durante el almacenamiento los principales cambios fueron en la frescura y consistencia, independientemente en las tres marcas evaluadas.

REFERENCIAS

Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados (ASERCA). 1996. Huevo. *Revista Claridades Agropecuarias* 36:3-23.

NMX-FF-079-SCFI-2004. Productos avícolas – Huevo fresco de gallina – Especificaciones y métodos de prueba.

SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, PESCA Y ALIMENTACIÓN. Norma Oficial Mexicana (NMXFF-079-SCFI-2004). Productos avícolas – Huevos frescos de gallina – Especificaciones y métodos de prueba). Normas Mexicanas. 27 pp. 2004.

PROFECO. (2016). Huevo: mitos y realidades. *Revista del Consumidor* 476: 34-42.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la participación de los estudiantes del PE de Medicina Veterinaria y Zootecnia: Ingrid Lisbeth Solís Pérez, Juan José de la Cruz Sánchez, Karen Itzel

Carrillo Castro, María del Carmen de la Cruz Jesús, Alejandra del Ángel León,
Geovanny José Álvarez Hernández y Andrea Yamilet Croda Andrade.

GALLETAS ENRIQUECIDAS CON HARINAS COMPUESTAS DE LEGUMBRES Y OLEAGINOSAS PARA EL MEJORAMIENTO DE LA SEGURIDAD ALIMENTARIA

Samantha Guadalupe Gomez Feria¹

María Concepción de La Cruz Leyva²

Eloísa López Hernández¹

Angélica Alejandra Ochoa Flores¹

Lilí Rodríguez Blanco^{1}*

RESUMEN

Uno de los retos permanentes para los investigadores en el área de los alimentos, es contribuir con aportes de la investigación científica, tecnológica e innovación para el desarrollo de productos alimentarios con un alto valor nutricional, accesibles para poblaciones diversas con problemáticas en la utilización y acceso adecuados a los alimentos que mejoren su seguridad alimentaria. Mediante el uso de harinas compuestas, se logró desarrollar galletas enriquecidas, con la sustitución de la harina de trigo integral, en un 15 % con una legumbre de la región (frijol pelón) y otro 15 % con cualquiera de las cuatro oleaginosas utilizadas (pipián, ajonjolí, girasol o chía); productos alternativos de gran consumo por la población y de producción nacional con alto contenido en proteína de origen vegetal, ácidos grasos benéficos y minerales. El aporte proteico y energético de las galletas desarrolladas, son un gran potencial para apoyar la desnutrición proteico-energética de grupos vulnerables, y contribuir al mejoramiento de la seguridad alimentaria.

¹ División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, km 25, Carretera Villahermosa-Teapa, Ra. La Huasteca, 2a Sec. CP: 86298. Centro, Tabasco, México.

² División Académica Multidisciplinaria de los Ríos. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Tenosique, Tabasco; México.

* Autor de correspondencia: lyrodblanco@gmail.com.

INTRODUCCIÓN

La seguridad alimentaria es un problema global y complejo, donde se requiere la participación de varios actores para definir y ejecutar estrategias que lleven al mejoramiento o solución de ésta. Desde el punto de vista académico, se requiere de los aportes de la investigación científica, tecnológica e innovación de los profesionales del área de los alimentos, enfocados principalmente hacia los países en vías de desarrollo, quienes presentan problemáticas socioeconómicas que complican la utilización y el acceso a los alimentos para la seguridad alimentaria.

La alimentación de países en desarrollo, a quienes se les proporciona fuentes de nutrientes baratos y deficientes en aminoácidos, minerales y vitaminas; pero ricas en carbohidratos a través de los cereales y otros almidones; ha generado en los grupos vulnerables de la población grandes deficiencias nutricionales y, por consiguiente, grandes problemas de salud asociados. Esta problemática global, ha motivado la exploración de diversas materias primas locales como fuente de proteína vegetal, que ayude a mejorar el valor nutricional de productos alimenticios de consumo masivo como son el pan y las galletas, privilegiando el aumento del aporte de proteína y otros nutrientes, asociados a las materias primas que se utilizan para el desarrollo de productos alimenticios alternativos (Umaña *et al.*, 2013; Yousaf *et al.*, 2012).

El desarrollo de harinas compuestas, surgió debido a la dependencia que presentaban varios países hacia el trigo importado (problemática que aún sigue vigente) para la elaboración de sus productos alimenticios; por lo cual, se planteó la estrategia de sustituir una parte de la harina de trigo, por otras harinas con un contenido proteico. Así, las harinas compuestas son mezclas de cereales y productos vegetales diferentes al trigo, que buscan reemplazar una proporción

del trigo, para mejorar el valor nutricional con proteínas suplementarias, por ejemplo, las de origen vegetal (Elías, 1996).

Entre los tipos de alimentos más importantes y con gran potencial para el desarrollo de harinas compuestas se encuentran los cereales, legumbres y semillas, para mejorar principalmente el aporte de proteínas en los productos predominantemente a base de cereales. Las legumbres han jugado un papel importante en la dieta del ser humano, constituyen hasta la actualidad la fuente principal de proteína vegetal y mineral en la población vulnerable del mundo, con un contenido de proteína de casi tres veces más que en los cereales, y ricas en aminoácidos esenciales como la lisina, pero deficientes en aminoácidos azufrados (metionina y cisteína), los cuales están presentes en el trigo; por lo cual, las legumbres y el trigo son los complementos más adecuados para el desarrollo de una harina compuesta (Gupta *et al.*, 2015; Šramková *et al.*, 2009). El fundamento para el desarrollo de mezclas o harinas compuestas de legumbres y cereales es la complementación de los aminoácidos presentes en éstos, generándose así un aumento en la cantidad de proteína y una mayor digestibilidad de los productos obtenidos (Marrugo-Ligardo *et al.*, 2016; Umaña *et al.*, 2013). Es importante señalar que las proteínas aportan los aminoácidos necesarios para la síntesis de nuevas proteínas, péptidos y moléculas de bajo peso molecular, requeridas para llevar a cabo diversas funciones biológicas para el desarrollo óptimo de los seres humanos (Wu, 2016).

Sin embargo, las legumbres con un gran valor nutricional, contienen también varios tóxicos naturales que por sus propiedades químicas actúan como compuestos antinutritivos (Gonçalves *et al.*, 2016), entre ellos el ácido fítico es el de mayor importancia en el ámbito de la salud y nutrición humana. La estructura del ácido fítico le proporciona una capacidad única de quelar fuertemente varios cationes, principalmente Ca, Mg, Fe y Zn, formando sales insolubles llamadas fitatos, compuestos que generan un efecto adverso en la absorción intestinal de estos minerales en el ser humano y ocasionando su deficiencia; también impacta

negativamente, en la utilización de proteínas y lípidos; aspectos de gran importancia, sobre todo en los individuos que dependen nutricionalmente de alimentos vegetales (Kumar *et al.*, 2010). Por consiguiente, las semillas y legumbres requieren un procesamiento previo, como la fermentación y/o germinación, procesos biológicos eficientes para disminuir el contenido de ácido fítico, aunque también existen otros procesos físicos. El procesamiento, favorece la liberación de los nutrientes y por consiguiente los hace disponibles para su aprovechamiento por el ser humano (Rodríguez-Blanco *et al.*, 2018; Kumar *et al.*, 2010).

En los últimos años se ha generado un gran interés por contar con alimentos de bajo costo, accesibles para poblaciones vulnerables, principalmente niños, que cuenten con proteína completa y disponible biológicamente. Entre ellos, los productos alimenticios que apoyen con el aporte de este nutriente esencial, mediante la combinación de diferentes fuentes vegetales, como cereales, legumbres, tubérculos, frutas y otros (Ubekova *et al.*, 2015; Gupta *et al.*, 2015; Igbabul *et al.*, 2014; Malomo *et al.*, 2011). En esta búsqueda, en la presente investigación un aspecto importante ha sido utilizar materia prima regional, y dos de los productos de panificación con alta demanda, el pan y las galletas, debido a su consumo masivo y la factibilidad de sustituir una parte de la harina de trigo por otras harinas alternativas de origen vegetal con alto contenido proteico; proporcionando de esta manera una ventaja económica y nutricional al producto final (Bressani *et al.*, 2008; Elías, 1996).

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar galletas con valor nutricional y alto contenido de proteína, mediante la utilización de harinas compuestas a base de productos de la región como la legumbre frijol pelón (*Vigna unguiculata*) y cuatro oleaginosas (*Salvia hispanica*, *Cucurbita argyrosperma* Huber, *Sesamun indicum* y *Helianthus annuus*), previamente

procesadas para la disminución del ácido fítico con el fin de favorecer la disponibilidad y utilización biológica de los nutrientes.

MATERIALES Y MÉTODO

Para la elaboración de las harinas integrales, se utilizaron las semillas de: frijol pelón o cowpea (*Vigna unguiculata*) (Lagunes, Gallardo, Becerril y Bolaños, 2008), chía (*Salvia hispanica*), calabaza o pipián (*Cucurbita argyrosperma* Huber), ajonjolí (*Sesamun indicum*) y girasol (*Helianthus annuus*), que fueron adquiridas comercialmente; al igual que la harina de trigo integral. Las semillas fueron procesadas previamente, para favorecer la disminución de factores tóxicos naturales principalmente ácido fítico; las semillas de frijol pelón y pipián fueron fermentadas (Onweluzo y Nwabugwu, 2009), mientras que las de chía, girasol y ajonjolí fueron tostadas.

Las semillas secas después de ser procesadas fueron molidas en un molino para café (Krups, modelo GX4100), con el fin de obtener las harinas integrales de cada una de ellas, las cuales se almacenaron a temperatura ambiente en recipientes de plástico, hasta su uso.

Las harinas compuestas (HCI) se elaboraron de acuerdo con Pérez-Hernández *et al.* (2018), a partir de las harinas integrales de cada semilla, cuya formulación se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Formulación de las harinas compuestas integrales (% en masa).

Tratamiento (harina compuesta)	Trigo	Frijol pelón	*Oleaginosa
1	70	15	15
2	70	15	15
3	70	15	15
‡4	70	15	&15

°Testigo

100

*Oleaginosas en cada HCI: 1: Pipián, 2: Ajonjolí, 3: Girasol y 4: °Mixta: Girasol-Chía-Ajonjolí: °(5 % de c/u). °Testigo: harina de trigo comercial enriquecida con Ácido Fólico, Hierro y Zinc.

El desarrollo de las galletas experimentales (galletas integrales de harinas compuestas) se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento establecido por la Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) y De León (INCAP). Se pesaron cada uno de los componentes de acuerdo con la formulación siguiente: 100 % de la harina compuesta (Cuadro 1), 19 % de azúcar, 26 % de mantequilla, 3 % de polvo de hornear, 7 % de vainilla y 22 % de huevo. Después del pesado, en una batidora doméstica se mezclaron de forma homogénea la mantequilla y el azúcar, posteriormente se agregó el huevo y la vainilla, y se integró de forma uniforme; finalmente se agregó la harina compuesta y el polvo para hornear, hasta obtener una masa homogénea. La masa se amasó en una tabla, y mediante moldes se les dio forma. Las galletas terminadas se colocaron en una charola con papel encerado, dejando 10 cm de distancia entre cada galleta, se hornearon durante 25 min en un horno doméstico (io Mabe, modelo 108030HI) precalentado a 175 °C. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se almacenaron en bolsas de plástico.

A partir de las galletas elaboradas se realizó un análisis proximal para determinar el contenido de humedad, proteínas, extracto etéreo y cenizas, de acuerdo con los métodos oficiales de análisis de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000). El contenido de carbohidratos totales (% peso seco) y energía, se estimó de acuerdo con Pasricha, Satpathy y Gupta (2014). Las determinaciones se hicieron por triplicado.

Los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA utilizando el software SAS 9.2 para Windows, y una comparación múltiple de medias de acuerdo con el estadístico de Tukey.

RESULTADOS

En el Cuadro 2 se presenta el análisis proximal de las harinas integrales obtenidas, las cuales presentaron valores de humedad bajos y variables, con un rango de 0.50 a 3.45 %. El porcentaje de cenizas también presentaron valores variables con un rango de 1.06 a 4.96 %. Para el extracto etéreo se observaron valores similares en todas las oleaginosas, excepto para el frijol, con un rango de 19.76 a 32.28 %. Con relación en el contenido de proteína, se observaron los valores más altos en la harina integral de pipián, mientras que las otras harinas presentaron valores similares. En cuanto al contenido de carbohidratos totales, la harina de frijol y de ajonjolí presentaron los valores más altos, con 55.55 y 45.87 %, respectivamente.

Cuadro 2. Análisis proximal y contenido de energía de las harinas integrales (% peso seco)

Tipo de harina	Humedad	Cenizas	Extracto etéreo	Proteína	Carbohidratos	Energía Kcal/100 g
Ajonjolí	0.50±0.05 ^c	4.66±0.00 ^b	25.20±2.23 ^a	23.78±0.61 ^b	45.87±1.67 ^a	505.37
Chía	2.56±0.07 ^a	4.58±0.01 ^c	31.01±4.22 ^a	20.47±0.19 ^b	41.38±4.11 ^b	526.50
Frijol	3.45±1.04 ^a	1.06±0.01 ^e	19.76±1.96 ^b	20.17±0.76 ^b	55.55±3.75 ^a	480.75
Girasol	1.20±0.01 ^b	3.45±0.01 ^d	32.28±0.18 ^a	23.41±2.13 ^b	39.65±2.31 ^b	542.80
Pipián	2.22±0.00 ^a	4.96±0.00 ^a	31.57±0.00 ^a	35.86±0.00 ^a	25.39±0.01 ^c	529.14

Medias con la misma letra en cada columna, no son diferentes significativamente (P<0.05)

En la Cuadro 3, se muestra el análisis proximal de las galletas desarrolladas a partir de las harinas compuestas. Los rangos de humedad estuvieron entre 1.84 a 5.09 %. Las cenizas presentaron valores similares en todas las galletas. Los valores del extracto etéreo y de proteína en las galletas experimentales fueron más altos que en el testigo, mientras que los valores estimados de carbohidratos fue más alto en la galleta testigo que en el resto de las galletas elaboradas con harinas compuestas.

Cuadro 3. Análisis proximal y contenido de energía de las galletas desarrolladas (% peso seco).

Tratamiento No	Nombre	Humedad	Genizas	Extracto Etéreo	Proteína	Carbohidratos	Energía (Kcal/100 g)
1	Pipián	5.09±0.03 ^a	2.79±0.01 ^a	21.17±0.87 ^a	13.07±0.66 ^a	57.88±0.25 ^b	474.34
2	Ajonjolí	3.73±0.69 ^b	2.93±0.02 ^a	22.55±0.50 ^a	12.35±0.28 ^a	58.43±0.07 ^b	486.07
3	Girasol	1.84±0.04 ^c	2.95±0.02 ^a	20.41±1.69 ^a	12.86±0.35 ^a	61.94±2.05 ^a	482.91
4	*Mixta	2.68±0.00 ^b	2.74±0.11 ^a	21.82±1.15 ^a	12.76±0.04 ^a	60.00±1.30 ^b	487.38
5	°Testigo	2.10±0.11 ^c	2.73±0.06 ^a	18.38±0.33 ^b	10.12±0.54 ^b	66.66±0.39 ^a	472.57

Medias con la misma letra en cada columna, no son diferentes significativamente ($p < 0.05$).

°Testigo. Harina de trigo comercial fortificada con Ácido Fólico, Hierro y Zinc. *Mixta: Girasol-Chía-Ajonjolí.

Uno de los análisis de rutina en cualquier alimento es el análisis químico proximal, como una medida de control para verificar que cumplan con las especificaciones o requerimientos establecidos durante su formulación, tanto en el establecimiento como en el mantenimiento de la calidad de los alimentos. En este sentido, las harinas integrales (Cuadro 2) utilizadas como materia prima para las galletas desarrolladas mostraron diferentes valores de humedad entre sí, con valores menores al valor establecido en la NOM-247-SSA1-2008, por lo cual se asegura una buena calidad de las harinas procesadas y utilizadas en la formulación de harinas compuestas integrales.

De los cinco tipos de harinas analizadas, destaca significativamente ($p < 0.05$) el contenido de proteína (35.86 %) de la harina de pipián, cuyo valor es el más alto entre las distintas harinas estudiadas. Incluso, este valor supera al valor encontrado (30.17 %) por Bautista *et al.* (2016) en harina de semilla de *Cucurbita argyrosperma Sororia*. Los contenidos de proteína en el resto de las harinas integrales no presentan diferencias significativas ($p < 0.05$), y se encuentran en un intervalo de 20.17 a 23.78 %; dichos valores son similares a los encontrados por Elhardallou *et al.* (2015) para frijol pelón (22.30 %), y por Gómez *et al.* (2016) para frijol negro con un 22.1 % de proteína.

La formulación de alimentos con un alto contenido de proteína de buena calidad, principalmente proteínas de origen vegetal, es prioritaria en varios países del mundo, con el fin de utilizar estas formulaciones en sustitución de las proteínas de origen animal, que por su baja disponibilidad y alto costo no están al alcance de las poblaciones de escasos recursos que garanticen su seguridad alimentaria. Por ello, la importancia de utilizar harinas compuestas en el desarrollo de productos alimenticios.

Con relación en el contenido de carbohidratos, estos valores estimados mostraron diferencias significativas entre la mayoría de ellas ($p < 0.05$), la harina de pipián presentó diferencia significativa con respecto a las otras cuatro harinas integrales, y con el valor más bajo de 25.39 %. Este valor es menor que el reportado por Adebayo *et al.* (2013) en semilla de *Cucurbita pepo* (66.64 %); mientras que la harina de frijol pelón (*Vigna unguiculata*) presentó los valores de carbohidratos más altos con relación a las harinas analizadas (55.55 %), pero menor al reportado por Gómez *et al.* (2016) para frijol negro con un porcentaje de 65.1 %. Respecto al extracto etéreo se observó que las harinas integrales de oleaginosas presentan valores altos y similares entre ellas, en un intervalo de 25.20 a 32.28 % y sin diferencias significativas ($p < 0.05$), mientras que la harina integral de frijol pelón presentó el valor más bajo, con un 19.76 % ($p < 0.05$). Con relación en la energía proporcionada por cada harina integral, la harina con frijol pelón presenta el valor más bajo respecto con las otras cuatro harinas de oleaginosas, las cuales presentan valores altos y significativamente similares ($p < 0.05$), debido a su alto contenido de grasas poliinsaturadas beneficiosas para la salud.

El contenido de cenizas presenta diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las distintas harinas integrales, cuyo intervalo fue de 1.06 a 4.96 %, parámetro de importancia dado que representa el contenido total de minerales presentes en los alimentos.

En cuanto a las galletas desarrolladas (Figura 1), éstas corresponden a galletas tipo I o galletas finas de acuerdo con la NMX-F006-1983, las cuales no deben de superar el 6 % de humedad. En este caso, las galletas experimentales obtenidas cumplen con este parámetro (Cuadro 3).



Figura 1. Galletas integrales elaboradas con harinas compuestas de trigo:legumbre:oleaginosas (70:15:15).

En este producto alimenticio, el parámetro de mayor importancia en este estudio fue el contenido de proteína encontrado para cada tipo de galleta elaborada con harinas compuestas. Con base en los resultados del Cuadro 3, se observa que en las cuatro galletas desarrolladas con la formulación trigo:legumbre:oleaginosa (70:15:15) el contenido de proteína no presenta diferencias significativas ($p < 0.05$), y sus valores son muy similares (12.35 a 13.07 %), no obstante, existe una diferencia significativa con respecto a las galletas desarrolladas con la harina testigo; cabe destacar que las galletas de harinas integrales presentan valores altos del contenido de proteína con relación al encontrado en el testigo (galleta de trigo integral). Los valores de proteína obtenidos en las galletas experimentales son similares a los descritos por Gómez *et al.* (2016) con un 25 % de sustitución con frijol nativo, y 13 % de proteína; y mayores a los descritos por Cruz *et al.* (2015), con un 45 % de sustitución con frijol nativo, y un 9.65 % de proteína.

Respecto al contenido de carbohidratos, la galleta testigo presentó el valor más alto ($p < 0.05$), seguida de la galleta de girasol (61.94 %), pero significativamente diferentes ($p < 0.05$) a los valores estimados en las galletas experimentales

elaboradas con las harinas integrales de pipián, ajonjolí y mixta. Con relación al contenido de extracto etéreo, las galletas experimentales presentaron valores similares sin diferencias significativas, en un intervalo de 20.41 a 22.55 %, pero significativamente diferente al valor encontrado en la galleta testigo (18.38 %), que es inferior al de las otras galletas. Estos valores superiores al valor del testigo se explican por el aporte de las grasas poliinsaturadas beneficiosas presentes en las oleaginosas (Carrillo-Gómez *et al.*, 2017; Moreira *et al.*, 2013; Martínez-Mejía *et al.*, 2017; Martínez *et al.*, 2007) y utilizadas en la formulación de las harinas compuestas.

Los altos valores observados en el contenido de cenizas en todas las galletas, sugiere un alto contenido de minerales, incluyendo el testigo, que esta adicionado con Hierro y Zinc. El aporte de energía de cada una de las galletas experimentales fue similar al testigo, una porción (32 g) de galletas experimentales equivale a dos unidades, que aportan de 151 a 155 Kcal, incluyendo al testigo, valores similares a las galletas integrales comerciales multigrano, que contienen linaza, girasol, chía o ajonjolí, con 143 a 153 Kcal en la misma porción (32 g). A su vez, la porción de galletas integrales desarrolladas con las harinas compuestas aporta 4 g de proteína, información similar a la declarada para galletas integrales multigrano comerciales (NOM-051-SCFI/SSA1-2010).

CONCLUSIONES

Con base en los hallazgos obtenidos en el análisis proximal de las harinas integrales y de las galletas desarrolladas se logró desarrollar galletas con harinas compuestas mediante la sustitución de la harina de trigo integral, en un 15 % con una legumbre (*Vigna unguiculata*), y otro 15 % con cualquiera de las harinas integrales de las cuatro oleaginosas utilizadas (pipián, ajonjolí, girasol o chía), productos alternativos de gran consumo por la población y de producción nacional debido a que cumplen con las NOM-247-SSA1-2008 y NOM-051-

SCFI/SSA1-2010. El aporte proteico y energético de las galletas desarrolladas tienen un gran potencial para apoyar la desnutrición proteico-energética de grupos vulnerables, así como aportar minerales y ácidos grasos para contribuir en el mejoramiento de la Seguridad Alimentaria.

REFERENCIAS

- A.O.A.C. (2000). Official methods of analyses. Washington, D.C., USA: The Association of Official Analytical Chemists.
- Adebayo O. R., Farombi A. G., y Oyekanmi A. M. (2013). Proximate. Mineral and anti-nutrient evaluation of pumpkin pulp (*Cucurbita pepo*). *Journal of Applied Chemistry*, 4(5), 25-28.
- Bautista J., Barragán R., Martínez S., Camarena A., Barboza C., y León G. (2016). Caracterización físicoquímica de la semilla de chilacayota (*Cucurbita argyrosperma* Sororia). *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1(1), 378-382.
- Bressani, R., Lezama, C., Gudiel, E., Rodas, B., De Ruíz, A. S, De Palomo, P., Villatoro, C., y Alvarado G. (2008). El uso de productos agrícolas locales en el desarrollo de alimentos complementarios. *Revista de la Universidad del Valle de Guatemala*, 17, 34- 55.
- Carrillo-Gómez, C.E., Gutiérrez-Cuevas, M., Muro-Valverde, M., Martínez-Horner, R. y Torres-Bugarín, O. (2017). La chía como súper alimento y sus beneficios en la salud de la piel. *El Residente*, 12 (1), 18-24.
- Cruz, R. K., Guzmán, H., Herrera, M. D., Cid, J. A., y Juárez, M. (2015). Galletas con harina de frijol de alta calidad nutricional y nutracéutica. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC-INIFAP. Folleto Técnico Núm. 66, 21 páginas.

- De León, L. (2018). La galleta escolar nutricionalmente mejorada. *Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. Guatemala*. Notas Técnicas No. 005. 2 p. Recuperado de: http://www.redmujeres.org/biblioteca%20digital/galleta_escolar_nutricionalmente_mejorada.
- Elhardallou S. B., Ikhlas I. K., Adil A., Gobouri, A. A., y Abdel-Hafez S. H. (2015). Aminoacid Composition of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) Flour and its protein isolates. *Food and Nutrition Sciences*. 6, 790-797.
- Elías, L. G. (1996). Concepto y tecnologías para la elaboración y uso de harinas compuestas. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 121(2), 179-182.
- F.A.O. (2018). Procesados de cereales. Fichas técnicas. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-au166s.pdf>.
- Gómez, G. A., Ramos, O. J., Gómez, S. E., y Chávez, C. E. (2016). Estudio proximal y sensorial de galletas sustituidas parcialmente con harina de leguminosas nativas y modificadas. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(2), 95-101
- Gonçalves, A., Goufo P., Barros A. M., Domínguez-Perles R., Trindale H., Rosa E. A. S., y Rodrigues M. (2016). Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp), a renewed multipurpose crop for a more sustainable gri-food system: nutritional advantages and constraints. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 2941-2951. doi: 10.1002/jsfa.7644.
- Gupta, R. K., Gangoliya, S. S., y Singh, N. K. (2015). Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. *Journal Food Science and Technology*, 52(2), 676-684

- Igbabul, B., Num, G., y Amove, J. (2014). Quality evaluation of composite bread produced from wheat, maize and orange fleshed sweet potato flours. *American Journal of Food Science and Technology*, 2(4), 109-115
- Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P. S., y Becker, K. (2010). Dietary roles of phytase in human nutrition. *Food Chemistry*, 120, 945-959.
- Lagunes, L. C., Gallardo, F., Becerril, H., y Bolaños, E. D. (2008). Diversidad cultivada y sistema de manejo de *Phaseolus vulgaris* y *Vigna unguiculata* en la región de la Chontalpa, Tabasco. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 14(1), 13-21.
- Malomo, S. A., Eleyinmi, A. F., y Fashakin, J. B. (2011). Chemical composition, rheological properties and bread making potentials of composite flours from breadfruit, breadnut and wheat. *African Journal of Food Science*, 5(7), 400-410.
- Marrugo-Ligardo, Y. A., Montero-Castillo, P. M., y Duran-Lengua, M. (2016). Evaluación nutricional de concentrados proteicos de *Phaseolus lunatus* y *Vigna unguiculata*, *Información Tecnológica*, 27(6), 107-114 doi: 10.4067/S0718-07642016000600011
- Martínez, Y., Valdivié, M., Lao, A., y Leyva, L. (2007). Potencialidades de la semilla de calabaza como alimento para monogástricos. Nota Técnica, *Revista ACPA*, 4: 20.
- Martínez-Mejía, Escamilla-Flores, Rodríguez-Ortega, Gómez-Mercado y Barrón-Yáñez, (2017). Evaluación de híbridos de girasol (*Helianthus annuus* L.) en régimen de temporal en el Valle del Mezquital, Hidalgo. México, Universidad Politécnica de Francisco I. Madero, México. DF., 61 páginas.

- Moreira I, Carbajal, A., Cabrera, A. y Cuadrado C. (2013). Tablas de composición de alimentos. Guía de prácticas. Editorial: Pirámide, 19ª edición. 496 páginas. Madrid, España.
- NMX-F006-1983. Alimentos. Galletas. Food. Cookie. Normas Mexicanas. *Dirección General de Normas*.
- NOM-051-SCFI/SSA1 (2010). Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados. Información comercial y sanitaria. Ciudad de México, México: *Diario Oficial de la Federación*.
- Onweluzo, J. C., y Nwabugwu C. C. (2009). Fermentation of millet (*Pennisetum americanum*) and Pigeon Pea (*Cajanus cajan*) seeds for flour production: Effects on composition and selected functional properties. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(6), 737-744.
- Pasricha, V., Satpathy, G., y Gupta, R. K. (2014). Phytochemical & antioxidant activity of underutilized legume *Vicia faba* seeds and formulation of its fortified biscuits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(2), 75-80.
- Pérez-Hernández, W.T., De la Cruz-Magaña, Y., Miranda-Cruz, E., Ochoa-Flores, A. A., Corzo-Sosa, C. A., López-Hernández, E., Hernández-Rodríguez, C. O., y Rodríguez-Blanco, L. (2018). Evaluación proximal y mineral en pan de caja de harinas compuestas a base de trigo, leguminosas y oleaginosas. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3, 41-47.
- Rodríguez-Blanco, L., Lucas-Florentino, B., Miranda-Cruz, E., y Guerrero-Olazarán, M. (2018). Contenido de Ácido Fítico y Fósforo Inorgánico en *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris* Germinadas a Diferentes Temperaturas. *Información Tecnológica*, 29(3), 39-46.

- Sramková, Z., Gregova, E., y Sturdík, E. (2009). Chemical composition and nutritional quality of wheat grain. *Acta Chimica Slovaca*, 2(1), 115-138.
- Ubekova, S. B., Musaeva, S., Dautkanova, D. R., Dautkanov, N. B., y Usembayeva, Z. K. (2015). Usage of composite flour in pastry products. *Research Journal of Applied Sciences*, 10(2), 59-62
- Umaña, J., Álvarez, C., Lopera, S. M., y Gallardo, C. (2013). Caracterización de harinas alternativas de origen vegetal con potencial aplicación en la formulación de alimentos libres de gluten. *Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia*. Recuperado de: www.alimentoshoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/download/230/223
- Wu, G. (2016). Dietary protein intake and human health. *Food and Function*, 7, 1251-1265.
- Yousaf, A. A., Ahmed, A., Ahmad, A., Hameed, T., Randhawa, M.A., Hayat, I., y Khalid, N. (2012). Nutritional and functional evaluation of wheat flour cookies supplemented with gram flour. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 1-6. doi: 10.3109/09637486.2012.694851.

ESTADO NUTRIMENTAL DEL PIMIENTO MORRÓN CULTIVADO EN HIDROPONÍA CON TRES CONCENTRACIONES DE UNA SOLUCIÓN NUTRITIVA

Maximiano Antonio Estrada-Botello^{1*}

Esperanza Sánchez-Hernández

Rufo Sánchez-Hernández¹

Juan de Dios Mendoza-Palacios¹

Salomé Gayosso Rodríguez¹

RESUMEN

La producción del pimiento morrón (*Casicum annun*) en un sistema protegido en Tabasco es una tecnología reciente, sin embargo, requiere algunos estudios. Por ello, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar los nutrientes en savia de dos genotipos de pimiento morrón cultivados en hidroponía con tres concentraciones de una solución nutritiva. Para ello se realizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 2X3, en donde el factor A fueron los genotipos (Novus y California) el factor B las concentraciones (20, 23, 30 mg L⁻¹) de la solución nutritiva. Se evaluó la concentración de nitratos, calcio, potasio y magnesio en savia de la hoja. Los datos se sometieron a una prueba de medias con Tukey (p<0.05). Los resultados indican que en la mayoría de las variables que se relacionan por el genotipo no presentaron diferencias estadísticas (p<0.05) y no así por la concentración solución nutritiva (p<0.05), en donde la solución con concentración de 23 mg L⁻¹ afectó significativamente el estado nutrimental del cultivo. Lo que indica que el genotipo no influyó en los parámetros evaluados y la concentración de la solución nutritiva es importante para determinar los parámetros productivos del pimiento morrón.

¹ División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, km 25, Carretera Villahermosa-Teapa, Ra. La Huasteca, 2a Sec. CP: 86298. Centro, Tabasco, México.

* Autor de correspondencia: eabmax@hotmail.com.

INTRODUCCIÓN

El pimiento morrón (*Capsicum annum L.*) se cultiva a nivel mundial como una de las principales hortalizas; además es una de las que más sobresalen en el mercado nacional y de exportación (Hernández-Fuentes *et al.*, 2010; Sandoval-Chávez *et al.*, 2011). En México, se cultiva una superficie de 9200 ha, con un rendimiento de 45 a 133 ton ha⁻¹ dependiendo del sistema de cultivo (Agroproductores, 2019). Este se produce tanto en condiciones de cielo abierto y en condiciones protegidas; siendo en esta última, donde se tiene la mayor producción, la cual asciende a 1.85 millones de toneladas (López-Baltazar *et al.*, 2013), consumiéndose en fresco, seco o industrializado (Ix-Nahuat *et al.*, 2013). De acuerdo con Muñoz-Ramos (2004) la producción de hortalizas bajo condiciones protegidas y con el uso de sistemas hidropónicos permite incrementar los rendimientos al propiciar un ambiente que facilita el crecimiento y desarrollo del cultivo. Los factores determinantes en la producción agrícola en hidroponía es la solución nutritiva (SN) que se suministra a través del riego (Ramos-Gourcy, 2006; Reche, 2010), ya que Bugarín-Montoya *et al.* (1998) indican que un inadecuado balance en la SN puede afectar el crecimiento de las plantas debido al incremento en las concentraciones de sales. En este sentido, Chaman-Medina (2007) menciona que el exceso de sales puede ejercer un efecto osmótico, toxicidad iónica, así como disturbios en la toma y translocación de iones necesarios para la nutrición de las plantas. Por lo que es necesario conocer las concentraciones de los nutrientes para realizar correcciones por deficiencias. Debido a que los productores necesitan una manera de monitorear la concentración de nutrientes durante la producción de los cultivos (Studstill *et al.*, 2003). Por ello algunos estudios han determinado algunos rangos de las concentraciones de nutrientes en la savia del cultivo de pimiento morrón, por

ejemplo, Hochmuth (1994) encontraron rangos de 500 a 1600 y de 2000 a 3500 mg L⁻¹ para nitratos y potasio, respectivamente.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la absorción de nutrientes de dos genotipos de pimiento morrón cultivados en hidroponía por efecto de la aplicación de tres soluciones nutritivas.

MATERIALES Y MÉTODO

El trabajo se realizó en la División Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, ubicada en el kilómetro 25 de la Carretera Villahermosa-Teapa, Centro Tabasco. En un sistema hidropónico bajo condiciones de invernadero en una estructura tipo Megavent Tropical de 8.0 m de ancho por 20 m de largo.

La producción de plántulas se realizó en charolas de plástico con 200 cavidades con sustrato peat-moss, se colocó una semilla por cavidad a 0.5 cm de profundidad. El trasplante se llevó a cabo cuando las plantas presentaron en promedio 15 cm de altura para el 17 cm. Las plántulas fueron colocadas en bolsas negras para vivero de 20x30 cm calibre 500. El sustrato que se usó para el desarrollo del cultivo fue tepetzil, a las bolsas se les hizo orificios a una altura de 10 cm para drenar el agua del riego aplicado. La densidad de siembra fue 4.2 plantas m⁻² (42, 000 ha⁻¹), con una planta por bolsa.

El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial 2x3 con cuatro repeticiones la unidad experimental fue conformada por tres plantas, los genotipos evaluados fueron pimiento morrón California, Novus (Factor A) y tres concentraciones de una solución nutritiva (SN, Factor B) de 20, 23, y 30 mg L⁻¹ (Cuadro 1).

Cuadro 1. Concentraciones de la solución nutritiva.

	Aniones			Cationes			Total
	NO ₃	PO ₄	SO ₄	Ca	K	Mg	
S1 (20 mg L ⁻¹)	6.48	0.91	2.79	1.97	6.55	1.31	20
S2 (23 mg L ⁻¹)	9.18	0.77	2.68	3.46	5.38	1.54	23
S3 (30 mg L ⁻¹)	11.89	0.99	3.47	4.55	7.08	2.02	30

Se aplicaron ocho riegos durante el día a partir de las ocho horas hasta las 15 horas, con intervalos entre riegos de 60 minutos, con duraciones de 3 minutos por riego con base a lo recomendado por Estrada-Botello *et al.* (2009), en el que se aplicó una concentración base, proveniente de las soluciones nutritivas de la Solución Universal de Steiner, los faltantes de cada concentración se aplicaron manualmente cada tercer día en un volumen de 500 mL (esto se hizo tres veces por semana).

Concentración de Ca, Mg, K y NO₃ en savia de la hoja: La determinación de Ca, Mg, K y NO₃ en savia de la hoja fue con la metodología que presenta Cadahia (2008). Se maceraron tres hojas de cada tratamiento en un mortero cerámico para extraer la savia. Del extracto de la savia se tomó una alícuota de 0.5 que se diluyó en matraces de 50 mL con agua destilada. De la dilución se tomaron 10 mL para determinar Ca y Mg directamente de un equipo sensor marca HANNA Instrument. Para K y NO₃ se tomaron unas gotas y se colocaron directamente en los cardys portátiles y se tomó la lectura.

Absorción de nutrientes en la planta: A partir de la concentración del material vegetal obtenido en el análisis químico se multiplicó por la cantidad de agua acumulada en la planta, la cual se obtiene restando el peso de la materia verde menos la materia seca.

Concentración de Ca, Mg, K y NO₃ en el fruto: La determinación de Ca, Mg, K y NO₃ en el fruto fue con la metodología que presenta Cadahia (2008) para savia. Se extrajo el jugo del fruto maduro. A partir del extracto se tomó una alícuota de 0.5, la cual se diluyó en matraces de 50 mL. De esta dilución se tomaron 10 mL para determinar Ca y Mg en un sensor marca HANNA Instrumens; la lectura se tomó directamente del equipo; para K y NO₃ se tomaron unas gotas de jugo y se colocaron directamente en los cardys portátiles y se tomó la lectura.

A la información obtenida se les aplicó un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$) para cada una de las variables, mediante el Programa estadístico STATGRAPHICS 5.0. (Anónimo, 2000).

RESULTADOS

Las concentraciones de Ca durante las etapas de la floración y fructificación no presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para el factor genotipo ni en la interacción genotipo X SN; sin embargo, sí existió para el factor SN, siendo la de 23 mg L⁻¹ la que registró las mayores concentraciones de este nutriente en el tejido de las plantas; sin embargo, se observó que las concentraciones de Ca se incrementaron con la etapa de muestreo, siendo mayores en el genotipo Novus y con la concentración de 23 mg L⁻¹ y las menores con la solución de concentración de 23 mg L⁻¹ (Cuadro 2).

El Mg es un nutriente que presentó diferencias altamente significativas ($p \leq 0.001$) durante todos los muestreos, tanto para el factor genotipo, como para el factor SN; no así para la interacción entre genotipo X SN (Cuadro 2). Por su parte, para el factor genotipo y la interacción genotipo X SN, las concentraciones de K y NO₃ no presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en ninguna etapa del estudio. Caso contrario para el factor SN, donde las diferencias fueron altamente significativas ($p \leq 0.001$).

Las concentraciones en el fruto de Ca y Mg fueron mayores en el genotipo Novus; mientras que la de los iones NO₃ y K se presentaron en el genotipo California. En los dos primeros se presentaron diferencias altamente significativas; no así en el caso de la concentración de Ca y NO₃ en el fruto. El efecto de la SN sobre la concentración de los nutrientes registró diferencias altamente significativas, excepto en la interacción genotipo X MS el en ion Mg (Cuadro 4).

Cuadro 2. Concentración de Calcio, Magnesio, Potasio y Nitratos en la savia de la hoja del pimiento morrón.

Genotipo	Floración (mg L ⁻¹)				Fructificación (mg L ⁻¹)				Cosecha (mg L ⁻¹)			
	Ca	Mg	K	NO ₃	Ca	Mg	K	NO ₃	Ca	Mg	K	NO ₃
California	100.83a	97.0a	28.41a	51.0a	2753.33a	500.0a	51.66 ^a	4750.0a	2772.5a	S/D	2366.67a	3508.33a
Novus	1001.0a	101.0a	32.16a	53.83b	2770.0a	5950.0a	30.25b	4808.33	3072.5a	32.16a	2408.33a	3683.33a
a												
Solución												
S1(20 mg L ⁻¹)	107.0b	92.5b	25.12b	33.5b	2100.0b	5887.50b	37.5b	4087.5b	2000.0b	23.62b	2075.0b	2212.5b
S2(23 mg L ⁻¹)	150.62a	160.75a	49.25a	100.75a	4687.5a	9787.5a	67.37 ^a	7475.0a	5050.0a	46.5a	3037.5a	6850.0a
S3(30 mg L ⁻¹)	45.12c	43.75c	16.5c	23.0 b	1497.5b	1950.0c	18.0c	2775b	1717.5b	16.25b	2050.0b	1725.0b
Genotipox Solución												
Novus Sol 1	118.0	98.5	29.5	24.25	2100.0	5950.0	29.25	4175.0	2075.0	29.5	2100.0	2350.0
Novus Sol 2	141.25	160.75	50.5	122.5	4700.0	9850.0	45.5	7475.0	5425.0	50.5	3050.0	6850.0
Novus Sol 3	43.75	43.75	16.5	14.75	1510.0	2050	16.5	2775.0	1717.0	16.5	2075.0	1850.0
California Sol1	96.0	86.5	20.75	42.75	2100.0	5825.0	45.75	4000.0	1925.0	17.75	2075.0	2075.0
California Sol2	160.0	160.75	48.0	79.0	4675.0	9725.0	89.75	7475.0	4575.0	42.5	3037.5	6850.0
California Sol3	46.5	43.75	16.5	31.25	1485.0	1850.0	19.5	2775.0	1717.5	16.0	2050.0	1600.0
Significancia												
Genotipo	ns	ns	ns	***	ns	ns	***	ns	ns	***	ns	ns
Solución	***	***	***	**	**	***	***	**	**	**	**	**
Genotipoxsolución	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	ns

*Letras iguales significa que no hay diferencias significativas de acuerdo con la prueba Tukey *: P≤0.05,**: P≤0.005,*** P≤0.001; NS= no significativo. Ca= Calcio, Mg= Magnesio, K=Potasio, NO₃ = Nitratos, S/D=sin dato

Genotipo	Floraciòn (mg L ⁻¹)				Frucificaciòn (mg L ⁻¹)				Cosecha (mg L ⁻¹)			
	Ca	Mg	K	NO ₃	Ca	Mg	K	NO ₃	Ca	Mg	K	NO ₃
California	1653.08 a	1809.19	979.12a	90519.2a	52490.8a	420.93a	38249.2a	57867.4 ^a	1019.18b	1822.71b	100583.0a	210545.0a
Novus	1611.03 a	2001.43	603.88b	97639.2a	61836.7a	530.34a	39046.7a	62065.0a	1280.22a	2329.38a	113203.0a	240723.0a
Soluciòn												
S1(20 mgL ⁻¹)	1509.08b	1551.66	63493b	68801.3b	33631.3b	329.22b	29201.2b	31141.1b	827.16b	1100.66b	69043.8b	196185.0b
S2(23 mgL ⁻¹)	2677.84a	3331.03	1397.2a	160599.0a	105253.0a	839.58a	54102.5a	121221.0a	2119.82a	4424.74a	205148.0a	421163.0a
S3(30 mgL ⁻¹)	709.287c	833.25c	342.37c	52837.5b	32607.5b	258.1	32640.0b	21536.3b	502.1c	702.725b	46486.3b	59553.8c
Genotipox Soluciòn												
Novus S 1	1598.92	1639.25	488.25	69795.0	34605.0	398.25	28250.0	31737.5	974.75	803.625	69525.0	198450.0
Novus S2	2537.47	3522.05	1010.15	170448.0	118580.0	926.7	55307.5	124395.0	2348.35	5711.45	222108.0	459388.0
Novus S3	696.775	843.0	313.25	52675.0	32325.0	266.07	33582.5	30062.5	517.55	473.05	47975.0	64330.0
California	1419.24	1464.07	781.62	67807.5	32657.5	260.2	30152.5	30544.8	679.57	1397.7	68562.5	193920.0
S1												
California	2818.02	3140.0	1784.25	150750.0	91925.0	752.47	52897.5	118047.0	1891.3	3138.02	188188.0	382938.0
S2												
California	721.8	823.5	371.5	53000.0	32890.0	250.12	31697.5	25010.0	486.65	932.4	44997.5	54777.5
S3												
Significancia												
Genotipo	ns	ns	***	Ns	ns	ns	ns	Ns	***	***	ns	ns
Soluciòn	***	***	***	***	***	**	**	**	***	**	**	***
GenotipoX soluciòn	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	ns

Cuadro 3. Absorción de Calcio, Magnesio, Potasio y Nitratos en la planta con base a la cantidad de agua en la planta.

*Letras iguales significa que no hay diferencias significativas de acuerdo con la prueba Tukey *: $P \leq 0.05$; **: $P \leq 0.005$; *** $P \leq 0.001$; NS= no significativo.
Ca= Calcio, Mg= Magnesio, K=Potasio, NO_3 = Nitratos.

Cuadro 4. Concentraciones de Calcio, Magnesio, Potasio y Nitratos en el fruto del pimiento morrón.

Genotipo	Cosecha (mg L ⁻¹)			
	Ca mgL ⁻¹	Mg mgL ⁻¹	NO ₃ mgL ⁻¹	K mgL ⁻¹
California	180.0a	27.66b	178.33a	53.16a
Novus	186.6a	35.83a	173.25a	31.91b
1				
Solución				
S1(20 mg L ⁻¹)	183.75b	25.75b	160.0b	38.62b
S2(23 mg L ⁻¹)	210.0a	51.25a	236.25a	68.25a
S3(30 mg L ⁻¹)	156.25c	18.25b	131.12b	20.75c
Genotipoxsolucion				
Novus Sol 1	187.5	31.5	160.0	30.75c
Novus Sol 2	212.5	57.0	240.0	40.0b
Novus Sol 3	160.0	19.0	119.0	18.0c
California Sol1	180.0	20.0	160.0	46.5b
California Sol2	207.5	45.5	232.5	89.5a
California Sol3	152.5	17.5	142.5	23.5c
Significancia				
Genotipo	Ns	**	Ns	***
Solución	***	**	***	***
GenotipoXsolución	Ns	ns	Ns	***

DISCUSIÓN

Las concentraciones obtenidas Ca y K en la etapa de floración se encontraron en los rangos mencionados por Cadahia (2008), en el que indica que, para Ca, Mg, K y NO₃ se tiene las siguientes concentraciones 45 a 220, 228 a 2110, 6300 a 8200 y 407 a 1200 mg L⁻¹, respectivamente para el cultivo de pimiento morrón. En general las concentraciones de todos los elementos y compuestos no se encontraron en los rangos mencionados por Cadahia (2008), en algunos casos

superaron dichas concentraciones (Cuadro 2). Además, variaron con la etapa fenológica del cultivo como lo indica Gómez *et al.* (2017). Por otro lado, con otras técnicas de análisis químicos se encontró que los nitratos son los que se encuentran en mayor cantidad que los otros elementos (Reyes-Flores *et al.*, 2016) tendencias que presentó este estudio. Además, la importancia del equilibrio entre cationes (K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+}) al momento de diseñar la SN, radica en evitar posibles efectos antagónicos, particularmente la que se presenta entre el Ca y el K; mientras que altos niveles K y Mg pueden incrementar la incidencia de la pudrición apical del fruto (Díaz *et al.* (2009); daños que no se presentaron en esta investigación al no tener una solución balanceada. Además, se observó que el genotipo Novus, absorbe mayor cantidad de nutrientes con respecto al California; y que la SN de 23 mg L^{-1} es la que favorece dicha tasa de absorción (Cuadro 3). Se observó que el ion que se absorbe en mayor cantidad fue el NO_3 ; al respecto, la literatura reporta que el Nitrógeno en sus diferentes formas iónicas, es el nutriente que más demandan las plantas en su nutrición (Bidwell, 1979), además se encontró que la concentración de la solución nutritiva afectó al cultivo como lo demuestra indica Santiago-López *et al.* (2016).

Con respecto al fruto, Capulín-Grande *et al.* (2007) mencionan que la máxima acumulación de N, P, K, Ca y Mg en el fruto de pimiento morrón, se presenta al inicio de la fructificación, ya que después de este periodo, se observa una caída en las concentraciones al inicio del desarrollo del fruto, esto coincide con este trabajo como se muestra en el Cuadro 4.

CONCLUSIONES

Los genotipos cultivados no modificaron sustancialmente los parámetros evaluados de concentración de nutrientes en el peciolo de la hoja, absorción de nutrientes, y calidad del fruto; sin embargo, efecto de las concentraciones de las soluciones nutritivas afectaron los parámetros evaluados.

REFERENCIAS

- Anónimo. 2000. Statgraphics 5.0 Stat. Graph., Plus-Ware. Products help line. Statgraphics Software Manual. STSC, Inc. Software Publishing Group, Manugistics. Inc. Rockville, Maryland, USA. pp: 914-919.
- Agroproductores. 2019. El cultivo de pimiento morrón en México. <http://agroproductores.com/pimiento-morron-en-mexico/>. Fecha de consulta 25 de septiembre de 2019.
- Bidwell R., G. S. 1979. Fisiología vegetal. Traducción al español por: Guadalupe Gerónimo Cano Cano y Manuel Rojas Garcidueñas. AGT Editor S.A. México, D.F. pp: 784.
- Bugarín-Montoya, R., G.A. Baca C., J. Martínez H. y J. L. Tirado T. 1998. Amonio/nitrato y concentración iónica total de la solución nutritiva en crisantemo crecimiento y floración. *Terra* 16(2):113-124.
- Cadahía, L., C. 2008. La savia como índice de fertilización. Cultivos hortícolas y frutales. Ed. MundiPrensa. México. pp: 129-131.
- Capulín-Grande, J., R. Núñez-Escobar., J. L. Aguilar-Acuña., M. Estrada-Botello., P Sánchez-García y J. J. Mateo-Sánchez. 2007. Uso de estiércol líquido de bovino acidulado en la producción de pimiento morrón. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 13(1): 5-11.
- Chaman-Medina, M.E. 2007. Variación en el contenido de prolina en *Capsicum annum* L. inducido por NaCl. *Arnaldoa* 14(2): 251-258.
- Díaz, M., I. H., C. Laffita M., M. Placeres, V., O. Veloz A., S. Pulido M., y B. Guerrero O. 2009. Relaciones nitrógeno potasio en fertirriego para el cultivo protegido del tomate en suelo Ferralítico Rojo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 44(5): 429-436.

- Estrada-Botello, M. A., E. de la Cruz-Lázaro., N. P Brito-Manzano., A. Gómez-Vázquez., J. de D. Mendoza-Palacios., E. Gómez-Méndez. y U. Noverola-López. 2009. Producción de tomate rojo en hidroponía bajo condiciones protegidas en el trópico húmedo. Editorial Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Tabasco, México pp: 31.
- Gómez S., M. I, Magnitskiy, S. y Rodríguez, L. E. (2017). Diagnóstico de K + y NO₃ - en savia para determinar el estado nutricional en papa (*Solanum tuberosum* L. subsp. andigena). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*,11(1), 133-142.<https://dx.doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.6132>.
- Hernández-Fuentes, A. D., M. R. Campos y J.M. Pinedo-Espinoza. 2010. Comportamiento poscosecha de pimiento morrón (*Capsicum annum* L.) var. California por efecto de la fertilización química y aplicación de lombrihumus. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 11(1): 82-91.
- Hochmuth (1994). Efficiency ranges for nitrate-Nitrogen and potassium for vegetables petiole sap quick tests. *HortTechnology*, 4(3) 218-222
- Ix-Nahuat, J. G., L. Latournerie-Moreno., A. M. Pech-May., J.M. Tun-Suárez., G. Ayora-Ricalde., J.O. Mijangos-Cortes y S. Montes-Hernández. 2014. Valor Agronómico de Germoplasma de chile dulce (*Capsicum annum* L.) En Yucatán, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 29 (3): 231-242.
- López-Baltazar, J., A. Méndez-Matías., L. Pliego-Marín., E. Aragón-Robles y M.L. Robles-Martínez. 2013. Evaluación agronómica de sustratos en plántulas de chile 'onza' (*Capsicum annum* L.) en invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* (6): 1139-1150.
- Muñoz-Ramos, J.J. 2004. Manejo del cultivo de pimiento en invernadero. En: J.Z. Castellanos. (Ed). Manual de producción hortícola en invernadero. 2a Ed. INTAGRI. México. pp: 257-281.

- Ramos-Gourcy, F. y A. de Luna-Jiménez. 2006 Evaluación de tres variedades de chile (*Capsicum annuum* L.) en cuatro concentraciones de una solución hidropónica bajo invernadero. *Investigación y Ciencia* 14 (34): 6-11.
- Reche, M. J. 2010. Cultivo del pimiento dulce en invernadero. Consejería de Agricultura y Pesca, Servicio de Publicaciones y Divulgación. pp:239.
- Reyes-Flores, M., M. Sandoval-Villa, N. Rodríguez-Mendoza, L. I. Trejo-Téllez, J. Sánchez-Escudero y J. Reta-Mendiola. 2016. Concentración de nutrientes en efluente acuapónico para producción de *Solanum lycopersicum* L. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Pub. Esp. Núm. 17*: 3529-3542.
- Sandoval-Chávez, R.A., R.A Martínez-Peniche., M. Hernández-Iturriaga., E. Fernandez-Escartín., S. Arvizu-Medrano y L. Soto-Muñoz. 2011. Control biológico y químico contra *Fusarium stilboides* en pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) en poscosecha. *Revista Chapingo, serie Horticultura* 17 (2): 161-172.
- Santiago-López, E. Sánchez-Chavez, J. R. Esparza-Rivera, M. Fortis-Hernández y A. Moreno-Reséndez. 2016. Organic nutrient solutions in production and antioxidant capacity of cucumber fruits. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2016. 28(7): 518-521.
- Studstill, D, Simonne E, Hutchinson C, Hochmuth R, Dukes M, Davis W. 2003. Petiole Sap Testing Sampling Procedures for Monitoring Pumpkin Nutritional Status. *Communications In Soil Science & Plant Analysis* 34 (15/16): 2355-2362.

PROPIEDADES FÍSICAS DE UN LUVISOL CULTIVADO CON SEIS ESPECIES FORESTALES EN TABASCO, MÉXICO

José Mauricio López Iris¹
Ulises López Noverola¹
Rufo Sánchez Hernández¹
Juan de Dios Mendoza Palacios¹
José Armando León Nájera¹

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue evaluar las propiedades físicas de un Luvisol, ocupado con seis especies forestales y un pastizal. Las especies forestales tienen aproximadamente 20 años de establecidas y el pastizal más de 30 años, con pastoreo extensivo de ganado bovino. El estudio se realizó en el rancho escuela de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, de la UJAT. Se localiza en el Sureste del País, con una altitud de 15 msnm, clima cálido húmedo clasificado como Am y Af, precipitación promedio de 1800 mm y temperatura promedio anual de 26.5 °C. En cada agrosistema se delimitaron tres unidades de muestreo de 20 X 25 m (500 m²) de manera aleatoria. Se tomaron muestras simples de 0-10 y 10-20 cm de profundidad para evaluar la densidad aparente y muestras compuestas de 0-20 cm para las demás determinaciones. Se determinó densidad aparente (D_a), densidad real (D_r), porosidad (P_o), capacidad de campo (CC), punto de marchitez permanente (PMP) y textura. Los métodos empleados están en la NOM-021-RECNAT-2000. Se encontró una disminución de la densidad aparente y de la porosidad en los sistemas forestales con respecto al pastizal; es decir una mejor estructura, aireación y retención de la humedad en dichos sistemas

¹ División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, km 25, Carretera Villahermosa-Teapa, Ra. La Huasteca, 2a Sec. CP: 86298. Centro, Tabasco, México.

INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores beneficios que tienen los sistemas forestales es el aporte de materia orgánica (MO) al suelo, por lo que constituyen la fuente principal de alimentación de la biomasa microbiana de los suelos (López-Noverola *et al.*, 2013). La actividad microbiana es la responsable de la mineralización de la MO y reciclaje de nutrientes, que además favorecen las propiedades físicas y químicas del suelo (Astier *et al.*, 2001). La acumulación de MO retiene una gran cantidad de los nutrientes extraídos del suelo por los árboles que al desintegrarse liberan nutrientes que son reutilizados por la vegetación y los microorganismos (Ayres *et al.*, 2006).

El mantenimiento de los sistemas forestales proporciona estabilidad en los procesos edáficos de formación, así como en las condiciones ambientales y funcionales de los ecosistemas, conocer el funcionamiento de estos sistemas a través de su caracterización física es fundamental y ayuda a prevenir cambios no deseados en ecosistemas agrícolas, forestales y/o pecuarios (Bosco *et al.*, 2004). Asimismo, la utilización de este conocimiento puede resultar importante en proyectos de recuperación de áreas degradadas o para el manejo de sistemas forestales que tiendan a la sostenibilidad de la productividad mediante una planificación, amortiguando el impacto sobre el ambiente (Jose, 2009; Murray-Núñez *et al.*, 2011).

El suelo en que se ubica el rancho escuela de la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA), está clasificado como Luvisol crómico (López-Palma y Cisneros, 2000). Son suelos profundos que presentan un horizonte "A" de color pardo o pardo oscuro, con contenidos de Materia Orgánica (MO), que varían de pobres a moderadamente ricos. Presentan un enriquecimiento de arcilla en el subsuelo (horizonte "B" Argílico), con una saturación de bases del 50 % o más.

Son frecuentemente rojos a claros, y presentan una ligera compactación. La presencia del horizonte B árgico con arcilla roja del tipo 1:1 (barro rojo), es la característica particular que identifica a estos suelos (López-Palma y Cisneros, 2000; ISRIC/SICS/FAO, 2015). Desde el punto de vista físico estos suelos presentan una moderada permeabilidad interna y buen escurrimiento superficial, presentan manto freático elevado solo en épocas de lluvias. Generalmente, estos suelos se localizan en las laderas de las sierras o lomeríos. Se utilizan con pastizales, frutales y con especies forestales en los que se obtienen rendimientos sobresalientes. Son suelos altamente susceptibles a la erosión, principalmente aquellos utilizados en la agricultura y la ganadería en los que no han tomado las precauciones necesarias para evitar este fenómeno (Paruelo et al., 2005).

El rancho escuela de la DACA tiene una extensión de 100 ha. Una parte está ocupada por las instalaciones académicas y administrativas de la División (12 ha) otra por el área agrícola y experimental (frutales, forestales y cultivos anuales) y el resto lo ocupan instalaciones pecuarias (ganaderas y acuícolas). El área de estudio cuenta con seis especies forestales: teca (*Tectona grandis*), cedro (*Cedrela odorata*), macuilís (*Tabebuia rosea*), guayacán (*Tabebuia chrysantha*), melina (*Gmelina arborea*) y caoba (*Swietenia macrophylla*), establecidas a una distancia de 4 x 5 m. La plantación tiene una edad aproximada de 20 años y una altura promedio de 18 m. Cada especie forestal está establecida en franja de cinco hileras de aproximadamente 80 m de largo, en un área de 1600 m² en un suelo Luvisol crómico.

En esta área forestal se desconocen los cambios físicos ocurridos en el suelo como efecto del establecimiento de las especies señaladas. Por tal razón, se considera importante y necesario realizar una evaluación que permita conocer los cambios en la estructura y propiedades físicas que son importantes para el entendimiento de los sistemas, llámese forestal, agrícola o ganadero, tal como lo afirma Murray et al. (2014). Una de las funciones de los sistemas forestales es mejorar el suelo, mantener la productividad mediante un manejo racional que

impacte positivamente sobre el ambiente (Jose, 2009). El estudio de estos suelos, en el sistema forestal se justifica por el alto riesgo de erosión que por topografía y precipitación pluvial presentan (López-Palma y Cisneros, 2000). Los Luvisoles se ubican generalmente en la cima y hombreras de una Catena en la que predominan los aspectos geoquímicos y mineralógicos (Krasilnikov, 2011). Este trabajo permitirá determinar cuál de los sistemas forestales a evaluar mejora las propiedades físicas del suelo, en comparación al sistema de pastizal; ello permitirá generar recomendaciones sobre la especie o especies forestales que mayor beneficio aporte al suelo. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar los posibles cambios en las propiedades físicas de un suelo Luvisol, con plantaciones de diferentes especies forestales en comparación con un sistema de pastizal.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar las propiedades físicas de un Luvisol cultivado con seis especies forestales, para conocer los posibles cambios en dichas propiedades con respecto a un sistema de pastizal.

Objetivos específicos.

Determinar las principales propiedades físicas de un Luvisol bajo plantaciones de teca, melina, macuilís, cedro, caoba, guayacán y de un sistema de pastizal.

Valorar las propiedades físicas en los sistemas forestales, que más contribuyen a mejorar la fertilidad física del suelo.

MATERIALES Y MÉTODO

El estudio se realizó en los terrenos de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, (DACA) situada en el km 25 de la carretera Villahermosa-Teapa en la ranchería la Huasteca del municipio del Centro, Tabasco México. Se localiza

en el sureste del País, entre los 17° 15' y 18° 39' de latitud norte y los 91° 00' y 94° 07' de longitud oeste. Con una altitud de 15 msnm, un clima cálido húmedo clasificado como Am y Af, una precipitación promedio de 1800 mm y una temperatura promedio anual de 26.5°C (García, 2004).

Los tratamientos en estudio, están conformados por seis especies forestales y el sistema de pastizal. La plantación tiene una edad aproximada de 20 años y una altura promedio 18 m. Cada especie forestal está establecida a una distancia de 4 m entre plantas X 5 m entre hileras, en franja de cinco de aproximadamente 80 m de largo, en un suelo clasificado como Luvisol crómico (Palma-López y Cisneros, 2000). En cada especie forestal y en el sistema de pastizal, se establecieron tres unidades de muestreo de 20 X 25 m (500 m²) determinadas de manera aleatoria abarcando los cuatro callejones centrales de cada plantación. Las seis especies forestales fueron teca (*Tectona grandis*), cedro (*Cedrela odorata*), macuilis (*Tabebuia rosea*), guayacán (*Tabebuia chrysantha*), melina (*Gmelina arborea*), caoba (*Swietenia macrophylla*) y el pastizal de *Brachiaria brizantha*; este último como tratamiento testigo o de comparación. Todos los tratamientos se encuentran dentro de la misma División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) y en el mismo tipo de suelo (Luvisol crómico).

Se empleó un diseño de muestreo completamente aleatorizado considerando siete parcelas de muestreo o tratamientos con tres repeticiones. En cada parcela de muestreo se tomó una muestra compuesta por cada unidad de estudio.

Muestreo de suelo. Teniendo como objetivo, obtener una muestra de suelo representativa en cada una de las especies forestales en estudio, para evaluar las principales propiedades físicas del suelo, se realizaron dos muestreos por unidad experimental. El primero para determinar la densidad aparente, en el cual se utilizó un cilindro de acero inoxidable de 104.863 cm³ (Blake and Hartge, 1986). Este muestreo se realizó al centro de cada unidad experimental a dos profundidades, 0-10 y 10-20 cm. Se introdujo el cilindro con mucho cuidado

tratando de no alterar en lo posible el suelo, luego con un cuchillo se enrazó la muestra de suelo tratando de que ésta ocupara exactamente el volumen del cilindro. Posteriormente y con mucho cuidado se sacó la muestra de suelo del cilindro y se colocó en un bote de aluminio debidamente identificado y se llevó al laboratorio para determinar el peso seco de cada muestra de suelo. El segundo muestreo se realizó utilizando una barrena tipo Edelman. Se tomaron nueve submuestras de suelo en cada uno de los tratamientos señalados para conformar una muestra compuesta. Cada muestra simple o submuestra se tomó a una profundidad de 20 cm en zig-zag distribuidas a lo largo y ancho de cada unidad experimental. Se introdujo la barrena haciéndola girar en sentido de las manecillas del reloj, verificando la profundidad con una cinta métrica. Las muestras simples de suelo se fueron colocando en bolsas de polipropileno con capacidad de 5 kg, debidamente identificadas. Se limpió la barrena de manera cuidadosa cada vez que se tomaba una muestra de suelo en otra parcela de muestreo o unidad de estudio. Terminado el muestreo, las muestras se llevaron al Laboratorio de Suelos y Plantas para su preparación y posterior análisis físico.

Preparación de las muestras de suelos. Las muestras húmedas de suelo traídas de campo, se colocaron en charolas de plástico y se desmenuzarán para un secado a la sombra más rápido, con el propósito de detener algunas reacciones químicas y bioquímicas y lograr en el menor tiempo posible una estabilización, como es señalado por la NOM-21-RECNAT (2000). Una vez secas las muestras, éstas se molieron con un marro de madera, tratando de romper todos aquellos agregados del suelo (pero no las piedras o concreciones del suelo). Posteriormente las muestras de suelos molidas fueron pasadas por un tamiz con malla de 2 mm de abertura, tratando que la muestra de suelo en su totalidad fuera molida y pasada por el tamiz. Seguidamente cada muestra se colocó en charola para ir dividiéndola en cuartetos desechando los lados opuestos hasta reducir la muestra compuesta a 1.0 kg. Finalmente, las muestras de suelo se colocaron en

botes de polipropileno debidamente etiquetados, para su posterior análisis físico.

Análisis físicos de los suelos. Los análisis físicos que se determinaron al suelo fueron: densidad aparente (D_a), densidad real (D_r), porosidad (P_o), capacidad de campo (CC), punto de marchitez permanente (PMP), y textura. Estas determinaciones físicas se realizaron a través de los métodos señalados por la NOM-021-RECNAT (2000) con excepción de la D_a , que se determinó por el método del cilindro (Agostini *et al.*, 2014), el cual se describe a continuación: Una vez en el laboratorio, las muestras de suelos tomadas con el cilindro fueron colocadas en botes de aluminio debidamente identificados y puestos en la estufa a 105 °C por 48 horas. Posteriormente se determinó el peso seco de las muestras de suelo y se calculó la D_a de cada muestra de suelo a través de la relación:

$$D_a \text{ (g cm}^{-3}\text{)} = \text{PSS}/V_c$$

$$D_a = \text{Densidad aparente del suelo (g cm}^{-3}\text{)}$$

$$\text{PSS} = \text{Peso de suelo seco (g)}$$

$$V_c = \text{Volumen del cilindro (104.863 cm}^3\text{)}$$

Para el caso de P_o , ésta se determinó con base a la D_a y la D_r , a través de la relación (Flores y Alcalá, 2010):

$$P_o = \text{Volumen de vacíos/volumen del suelo} \times 100$$

$$\text{Volumen de vacíos} = \text{Volumen aparente} - \text{Volumen de las partículas del suelo}$$

$$\text{Volumen del suelo} = \text{Volumen de vacíos} + \text{Volumen de las partículas del suelo}$$

Análisis estadístico. Los datos obtenidos de los análisis físicos de los suelos fueron analizados mediante un procedimiento estándar ANOVA y pruebas de

comparación de medias de acuerdo a la prueba de Tukey, a través del paquete estadístico SAS para Windows versión 6.12 (SAS Institute, 1999).

RESULTADOS

Propiedades físicas del suelo en los agrosistemas: En el Cuadro 1, se presentan los estadísticos generales de las propiedades físicas determinadas en cada uno de los tratamientos establecidos en un suelo Luvisol crómico.

Cuadro 1. Media, desviación estándar e intervalo de variación de las propiedades físicas determinadas en los sistemas agroforestales establecidos en un Luvisol en el trópico húmedo de Tabasco, México.

Propiedades físicas	N	Media	Dev. Std.	Mínimo	Máximo
Da (0-10 cm) (g.cm ⁻³)	21	1.05	0.06	0.94	1.19
Da (10-20 cm) (g.cm ⁻³)	21	1.05	0.08	0.95	1.24
Da (0-20 cm) (g.cm ⁻³)	21	1.05	0.07	0.95	1.20
Dr (0-20 cm) (g.cm ⁻³)	21	2.68	0.12	2.50	2.93
Po (0-20 cm) (%)	21	60.75	3.02	53.38	66.63
CC (%)	21	34.05	1.76	31.60	37.90
PMP (%)	21	22.58	1.40	20.30	24.80
Arena (%)	21	26.87	5.21	18.80	39.40
Limo (%)	21	18.43	4.41	11.10	28.10
Arcilla (%)	21	54.68	5.32	44.50	64.20

Asimismo, en el Cuadro 2, se presenta una comparación de medias de cada una de las propiedades y para cada uno de los sistemas o tratamientos estudiados.

Cuadro 2. Comparación de medias de las propiedades físicas de los suelos estudiados en los sistemas agroforestales y de pastizal establecidos en un Luvisol en el trópico húmedo de Tabasco, México.

Asimismo, en el Cuadro 2, se presenta una comparación de medias de cada una de las propiedades y para cada uno de los sistemas o tratamientos estudiados.

Cuadro 2. Comparación de medias de las propiedades físicas de los suelos estudiados en los sistemas agroforestales y de pastizal establecidos en un Luvisol en el trópico húmedo de Tabasco, México.

Agrosistemas/ Tratamientos	D_a (0-10 cm)	D_a (10-20 cm)	D_a (0-20 cm)	D_r (0-20 cm)	Po	CC	PMP	Arena	Limo	Arcilla
g/cm ³							(%)			
Caoba	1.08 ab*	1.04 b	1.06 b	2.66 ab	60.04 b	33.46ab	22.3a	24.1a	20.8a	55.1a
Melina	1.05 ab	1.06 b	1.06 b	2.65 ab	60.15 b	36.07a	23.7a	22.8a	19.2a	58.0a
Teca	1.04 b	1.03 b	1.03 b	2.71 ab	61.95 ab	32.67ab	23.0a	31.4a	13.7a	54.9a
Cedro	1.01 b	1.00 b	1.01 b	2.64 ab	61.94 ab	34.10ab	22.9a	24.9a	16.0a	59.1a
Macuilis	1.02 b	1.01 b	1.02 b	2.57 b	60.38 b	35.70 a	23.3a	25.4a	16.8a	57.8a
Guayacán	0.98 b	1.02 b	1.00 b	2.88 a	65.33 a	34.33ab	22.7a	26.3a	20.9a	52.8a
Pastizal	1.16 a	1.22 a	1.19 a	2.70 ab	55.96 c	32.00b	21.0a	33.4a	21.4a	45.2a

* Medias con la misma letra no presentan diferencias significativas ($\alpha < 0.05$). D_a = Densidad aparente; D_r = Densidad real; Po = Porosidad total; CC = Capacidad de Campo; PMP = Punto de Marchitez Permanente.

DISCUSIÓN

La densidad aparente (D_a) promedio en los sistemas agroforestales y de un área de pastizal, presentó un valor de 1.05 g cm⁻³, a la profundidad de 0-10, 10-20 y de 0-20 cm (Cuadro 1), con una desviación estándar que osciló entre 0.06, 0.08 y 0.07 g cm⁻³, respectivamente. Los valores mínimos encontrados de la D_a fue de 0.94 g cm⁻³ y un máximo de 1.24 g cm⁻³. Valores similares de D_a (0.88-1.08 g cm⁻³), fueron encontrados por Chacón y Paiz, (2016), en suelos forestales de Guatemala, excepto los sitios de Purulhá en los que tuvieron una densidad de 1.64 g cm⁻³. La media de la densidad real (D_r) promedio de las partículas del suelo de 0-20 cm fue de 2.68 g cm⁻³, en la que se obtuvo una desviación estándar de 0.12 g cm⁻³; con un mínimo y un máximo de 2.50 y 2.93 g cm⁻³, respectivamente. La porosidad (Po) promedio de los suelos estudiados fue de 60.75 %, una desviación del 3.02 y un intervalo de variación entre 53.38 y 66.63 %.

La capacidad de campo (CC) promedio fue de 34 % de humedad retenida, con una desviación estándar de 3.02 y un intervalo de variación entre 31.60 y 37.90 % de humedad. El punto de marchitez permanente (PMP) promedio de los suelos

estudiados fue de 22.58 % de humedad retenida con una desviación de 1.40 y un intervalo de variación entre 20.30 y 24.80 % de humedad (Cuadro 1). Los porcentajes promedios de arena, limo y arcilla fueron de 26.87, 18.43 y 54.68 %; con desviaciones estándar 5.21, 4.41 y 5.32 %, respectivamente. Finalmente, los intervalos de estos componentes texturales para las arenas, limos y arcillas fueron de 18.80 y 39.40 %; de 11.10 y 28.10 %; y de 44.50 y 64.20 %, respectivamente (Cuadro 1).

Comparación de medias de las propiedades físicas. La D_a de los suelos en los sistemas forestales varió de 0.98 a 1.08 g cm⁻³ a la profundidad de 0-10 cm, en los que no hubo diferencias significativas; mientras que a esta misma profundidad en el sistema pastizal, fue mayor con 1.16 g cm⁻³ (Cuadro 2). Esta misma propiedad (D_a), tuvo valores similares a la profundidad de 10-20 y de 0-20 cm, en los sistemas forestales, y nuevamente la mayor D_a se encontró en el sistema pastizal, siendo de 1.22 y 1.19 g cm⁻³, respectivamente. Este cambio de uso de suelo de pastizal a forestal es un factor más, que hace que la D_a cambie; a los ya señalados por Rubio (2010), que menciona que la D_a depende de muchos factores, incluyendo la textura, estructura, contenido de MO, así como del manejo del mismo. En este mismo sentido, Hernández *et al.* (2017), encontraron que la D_a cambió de 0.49 a 1.00 g cm⁻³, en un Andosol de bosque, a uso agrícola; asimismo Romero-Barrios *et al.* (2015), señalan que a mayor D_a menor contenido de MO tienen los suelos. Por el contrario, la D_r , es menos variable y depende de los tipos de minerales y MO que conforman el suelo. En este estudio, la mayor D_r se obtuvo en el sistema forestal de guayacán, siendo de 2.88 g cm⁻³; y la menor en el sistema forestal de macuilis, con 2.57 g cm⁻³. Los demás sistemas forestales y el de pastizal, tuvieron valores intermedios de D_r en los que no hubo diferencias significativas (Cuadro 2). El valor promedio de la D_r para estos sistemas fue de 2.68 g cm⁻³, muy similar al señalado por varios investigadores para suelos minerales (porta *et al.*, 2003).

La menor porosidad total (P_o) de los suelos fue de 55.96 % correspondiendo al sistema de pastizal y la mayor, la presentó el sistema forestal de guayacán, seguido de teca y cedro con 65.33, 61.95 y 61.94 % respectivamente. Los demás sistemas forestales tuvieron valores intermedios, con los que no hubo diferencias significativas (Cuadro 2). La menor P_o encontrada en el sistema de pastizal puede deberse al efecto del pisoteo del suelo por los animales durante el pastoreo el cual incrementa el valor de la D_a y reduce el porcentaje de P_o . Al respecto, Cueto *et al.* (2008) mencionan que el contenido de humedad del suelo durante el tráfico tiene una mayor influencia en la disminución de la porosidad total que la presión sobre el suelo; fenómeno que ocurre en los suelos de pastoreo en el trópico húmedo, especialmente durante las épocas de lluvia.

La mayor capacidad de campo (CC), se presentó en los sistemas forestales de melina y macuilis con 36.07 y 35.70 % de humedad, respectivamente; y la menor se obtuvo en el sistema de pastizal con un 32.00 % de humedad; como era de esperarse por ser un suelo más compactado y con menor porosidad. Los demás suelos de los sistemas forestales presentaron valores intermedios de CC, entre los cuales no hubo diferencias significativas. Este comportamiento de la CC, en melina y macuilis puede deberse a que estos suelos tienen altos contenidos de arcillas y para el caso del pastizal la menor CC podría justificarse a que posee relativamente el menor contenido de estos materiales finos. La retención de agua a punto de marchitez permanente (PMP), en los suelos de los diferentes sistemas varió desde 21.00 hasta 23.70 %; entre los cuales no hubo diferencias significativas (Cuadro 2). Con respecto a la textura de los suelos en los diferentes agrosistemas, los porcentajes de arena variaron desde 22.8 a 33.4 %; los limos desde 13.7 a 21.4 %; y las arcillas variaron desde 45.2 a 59.1 %, en los que no se presentaron diferencias significativas para ninguno de los tres tamaños de partículas (Cuadro 2). Por lo que las partículas finas (arcillas) predominan en estos suelos, ya que están expuestos a una mayor compactación con el cambio de uso, o el paso de maquinaria, como ha sido señalado por Holthusen *et al.*

(2018). Asimismo, por el paso de animales como es el caso del suelo de pastizal, en el que se ha encontrado una reducción de la P_o y un incremento de la D_a ; indicadores de una mayor compactación del suelo (Cueto *et al.* 2008; Holthusen *et al.* 2018). Es importante señalar, que a pesar que estos suelos presentaron altos contenidos de arcillas (> de 45.2 %), poseen alrededor de 20 Cmol kg^{-1} , de capacidad de intercambio catiónico (CIC), debido al tipo de arcilla (Caolinita) que se reportan en estos suelos (López-Palma y Cisneros, 2000).

CONCLUSIONES

En cuanto a las propiedades físicas del suelo, existe una disminución de 12 % de la densidad aparente del suelo de 0 a 10 cm, en cuatro de los sistemas forestales con respecto al sistema de pastizal; y de 15.9 % en promedio, para todos los sistemas forestales a la profundidad de 10-20 cm. En consecuencia, se tiene una mayor porosidad en los sistemas forestales (60.04-65.33 %) con respecto al sistema de pastizal (55.96 %), en el estrato de 0-20 cm. Lo que permite una mejor estructura, aireación y retención de la humedad en dichos sistemas. Asimismo, se concluye, que el establecimiento de especies forestales en los suelos Luvisoles mejora la fertilidad física en parámetros fundamentales para el crecimiento, penetración, desarrollo y absorción nutrimental de las raíces.

REFERENCIAS

- Agostini, M. D. L. Á., Monterubbianesi, M. G., Studdert, G. A., & Maurette, S. (2014). Un método simple y práctico para la determinación de densidad aparente. *Ciencia del suelo*, 32(2), 171-176.
- Astier, M., Mass-Moreno, M. y Etchevers, B. J. (2001). Derivación de indicadores de calidad de suelos en el contexto de la agricultura sustentable. *Agrociencia* 36(5), 605.

- Ayres, E., Dromph, K. M., & Bardgett, R. D. (2006). Do plant species encourage soil biota that specialise in the rapid decomposition of their litter?. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(1), 183-186.
- Blake, G.R. and Hartage, K.H. (1986). Bulk Density. In: A Klute (ed.) *Methods of soil analysis, Part I. Second edition*. American Society of Agronomy, Madison, *Agronomy* 9:363-375.
- Bosco. J. I., Juan A. Blanco & Federico J. Castillo. (2004). Gestión forestal y ciclos de nutrientes en el marco del cambio global. En: Valladares, F. 2004. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Páginas 479-506. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A., Madrid.
- Chacón, E. A. V., & Paiz, B. A. M. (2016). Aplicación del índice de calidad de suelos en plantaciones forestales de Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 3(1), 47-54.
- Cueto, O. G., Coronel, C. E. I., Suárez, M. H., Bravo, E. L., & Iznaga, Á. S. (2008). Efecto de la humedad y la presión sobre el suelo en la porosidad total de un Rhodic Ferralsol. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 17(2), 50-54.
- Flores D., L., y Alcalá M., J. R. (2010). *Manual de Procedimientos Analíticos. Laboratorio de Física de Suelos*. UNAM. Instituto de Geología. Departamento de Edafología.
- García E. (2004). *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. 5ta. Edición. Instituto de Geografía. UNAM. Núm. 6, ISBN: 970-32-1010-4.
- Hernández, O., Gutiérrez, C., Ortiz, S., Sánchez, G., & Ángeles, C. (2017). The quality of Andosols under forestry, agroforestry and agricultural management in Zacatlán, Puebla. *Terra Latinoamericana*, 35(2), 179-189.

- Holthusen, D., Brandt, A. A., Reichert, J. M., & Horn, R. (2018). Soil porosity, permeability and static and dynamic strength parameters under native forest/grassland compared to no-tillage cropping. *Soil and Tillage Research*, 177, 113-124.
- ISRIC/SICS/FAO (2015). World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. *World Soil Resources Reports No. 106*. FAO, Rome. 191 p.
- Jose, S. (2009). Agroforestry for ecosystem services and environmental benefits: an overview. *Agroforestry Systems*, 76(1), 1-10.
- Krasilnikov, P. (2011). Distribución espacial de los suelos y los factores que la determinan. En: Geografía de suelos de México. P. Krasilnikov, F. J. Jiménez N, T. Teyna T., y N. E. García C. (Editores). Facultad de Ciencias de la UNAM. pp 1-40. ISBN: 978-607-02-2704-2.
- López-Noverola U.; De la Cruz-Lázaro, E.; Estrada-Botello, M.A.; Gómez V., A.; Mendoza-Palacios J. D.; Brito M. N. P.; y Sánchez H., R. (2013). La biomasa microbiana en suelos y su relación con la fertilidad. In: Tópicos selectos en agronomía tropical. Ed. Juan de Dios Mendoza Palacios...et al. 1ª. Edición. Villahermosa Tabasco. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. V. 2. 381-394 pp. ISBN: 978-607-606-133-6.
- López-Palma D. J. y Cisneros D., J. (2000). Plan de uso sustentable de los suelos de Tabasco. 2ª Ed. ISPROTAB-Fundación Produce Tabasco-Colegio de Posgraduados. Villahermosa, Tabasco, México. 118 p.
- Murray, R. M., Orozco, M. G., Hernández, A., Lemus, C., & Nájera, O. (2014). El sistema agroforestal modifica el contenido de materia orgánica y las

propiedades físicas del suelo. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 18(1): 23-31. ISSN 0188789-0.

Murray-Núñez, R. M., Bojorquez Serrano, J. I., Hernández Jiménez, A., Orozco Benítez, M. G., García Paredes, J. D., Gómez Aguilar, R., ... & Aguirre Ortega, J. (2011). Efecto de la materia orgánica sobre las propiedades físicas del suelo en un sistema agroforestal de la llanura costera norte de Nayarit, México.

NOM-021-RECNAT (2000). Norma Oficial Mexicana, Especificaciones de Fertilidad, Salinidad y Clasificación de Suelos, Estudio, Muestreo y Análisis. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 85 p. <http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/3335/1/nom-021-semarnat-2000.pdf>. Fecha de consulta: 15 de enero de 2019.

Paruelo, J. M., Guerschman, J. P., & Verón, S. R. (2005). Expansión agrícola y cambios en el uso del suelo. *Ciencia hoy*, 15(87), 14-23.

Porta Casanellas, J., López-Acevedo Reguerín, M., & Roquero de Laburu, C. (2003). Edafología: para la agricultura y el medio ambiente. (Ed) Mundi-Prensa. ISBN: 978-84-7114-468-3. Pp.929.

Romero-Barrios, C., García-Gallegos, E., & Hernández-Acosta, E. (2015). Materia orgánica y densidad aparente en suelos del suroeste de La Malinche, Tlaxcala, México. *Revista Iberoamericana de Ciencias*. Vol. 2 No. 5. 65-70.

Rubio Gutiérrez, A. M. (2010). La densidad aparente en suelos forestales del parque natural los alcornocales. Universidad de Sevilla. Sevilla. España. <http://digital.csic.es/bitstream/10261/57951/1/La%20densidad%20aparente%20en%20suelos%20forestales%20.pdf>

SAS Institute. (1999). SAS/STAT. Guide for personal computer. Ver. 6.12. Cary, NC, USA. 889 pp.

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD Y RENDIMIENTO DE ADN GENÓMICO DE SANGRE DE PERROS EMPLEANDO DOS PROTOCOLOS BASADOS EN LA TÉCNICA DE “SALTING OUT”

Oswaldo Margarito Torres-Chablé^{1*}

Claudia Virginia Zaragoza-Vera¹

Maritza Zaragoza-Vera¹

Guadalupe Arjona-Jiménez¹

Roberto Garduño-González²

RESUMEN

Se realizó un estudio para determinar la calidad y el rendimiento de ADN genómico de dos protocolos de extracción de ADN basados en la técnica de Salting out. Se evaluaron 50 muestras de sangre en cada protocolo empleando 100µL de sangre. Una vez realizadas las extracciones el ADN resultante fue resuspendido en agua ultra pura (grado molecular) y posteriormente cuantificada en Nanodrop® y las relaciones 260/280 y 260/230 fueron determinadas para conocer la calidad del ADN obtenido. Los datos se analizaron mediante estadística descriptiva y posteriormente, las medias de cada protocolo fueron sometidas a ANOVA de un factor. El protocolo 1 produjo en promedio una mayor cantidad de ADN comparado con el protocolo 2 (321.56 ng/µL ± 356.75 vs 175.48 ng/µL ± 324.16, P= 0.0024). Así también, las relaciones 260/280 (1.75±0.16 vs 1.20±0.17, P= 0.0015) y 260/230 (2.14±0.42 vs 1.10±5.32, P= 0.0020) fueron mejores para el protocolo 1. Los protocolos evaluados presentaron diferencias estadísticas tanto en la cantidad como en la calidad del ADN recuperado. La cantidad y calidad del ADN obtenido de muestras de sangre entera de perros

¹ Laboratorio de Enfermedades Tropicales y Transmitidas por Vector. División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, México.

² Universidad Autónoma Chapingo, Unidad Regional Sur-Sureste (URUSSE), Teapa, Tabasco, México.

* Autor de correspondencia: oswaldo.torres@ujat.mx

mediante el uso del protocolo 1 presentó la suficiente cantidad y calidad para ser empleado en diversas técnicas moleculares.

INTRODUCCIÓN

La extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN) a partir de muestras de distinta naturaleza biológica constituye la etapa previa para realizar análisis moleculares y genéticos. Obtener ADN relativamente puro y capaz de ser replicado mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) es fundamental para los posteriores usos a los que será destinado, como son las investigaciones forenses, poblacionales, taxonomía, diversidad genética y el diagnóstico de enfermedades (Alejos-Velázquez *et al.*, 2014; Bokhari, 2018; Richardson, 2018).

Existen diversos protocolos para llevar a cabo la extracción de ácidos nucleicos. El uso de cada técnica depende de la naturaleza biológica de la muestra, el tiempo destinado para realizar la extracción, la calidad y cantidad de ADN que se requiera obtener, el riesgo potencial al cual se expone el personal del laboratorio si se emplean reactivos peligrosos durante la extracción y el costo de los reactivos empleados para el procesamiento de las muestras (Falcón y Valera, 2007).

En general, los métodos de extracción de ADN tienen una serie de pasos básicos, que se cumplen independientemente del origen de la muestra. Estos son: 1) Disrupción celular (ruptura de la bicapa lipídica de las membranas celulares por tratamiento con detergentes, agentes quelantes, sales, etc.), 2) Eliminación de las proteínas (que constituyen los principales contaminantes del extracto), 3) Concentración del ADN (por precipitación con alcoholes), 4) Lavado (para eliminar restos de reactivos y solventes que puedan inhibir la Taq polimerasa) y 5) Re-suspensión del ADN puro en una solución (Riera *et al.*, 2010; Nasiri *et al.*, 2005; Kramvis *et al.*, 1996).

El uso de sales para la extracción de ADN (Salting-out) es una técnica la cual fue originalmente descrita por Miller *et al.* (1988), se caracteriza por ser una técnica de extracción sencilla y económica. Sin embargo, no ha sido reportado su uso como método de extracción de ADN genómico procedente de sangre de perros. El presente estudio tiene como objetivo evaluar dos protocolos basados en el uso de sales para la extracción de ADN genómico obtenido a partir de sangre de perros.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la cantidad y calidad de ADN extraído a partir de sangre entera de perros empleando dos diferentes protocolos basados en la técnica de Salting-out.

MATERIALES Y MÉTODO

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Enfermedades Tropicales y Transmitidas por Vector de la DACA en la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Muestras biológicas. Se realizó la extracción de ADN con los protocolos propuestos en un total de 50 muestras de sangre entera de perros. Las cuales se obtuvieron del “banco de muestras” del Laboratorio de Enfermedades Tropicales y Transmitidas por Vectores de la DACA-UJAT. Las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente y posteriormente, una alícuota de 100 μ L de sangre fue colocada en tubos Eppendorf® de 1.5 mL para realizar el procedimiento de extracción de ADN.

Metodología para realizar la extracción de ADN. La extracción de ADN a partir de las muestras de sangre se realizó empleando el método de Salting-out, con diferencias entre las sales empleadas en el protocolo 1 y protocolo 2.

En general, la principal diferencia entre los protocolos radica en que el protocolo 2 emplea una sola solución de extracción que contiene NaCl, EDTA y SDS. Además, el procedimiento para la lisis celular se llevó cabo en un solo paso. Mientras que en el protocolo 1 se emplea una solución para lisar eritrocitos empleando Triton X-100 y Sacarosa (repetiendo la lisis de eritrocitos tres veces), una solución para lisar leucocitos empleando NaCl y EDTA y una solución conteniendo proteinasa K para degradar enzimáticamente proteínas.

Protocolo 1.

- 1.- Se tomó una alícuota de 100 μ L de sangre con EDTA.
- 2.- Se agregaron 180 μ L de solución de lisis de eritrocitos, se mezcló en vortex e incubó 5 min a temperatura ambiente (TA).
- 3.- Se centrifugó a 13,000 rpm x 5 minutos y se descartó el sobrenadante (se repitieron tres veces los pasos 2 y 3).
- 4.- Se agregaron 60 μ L de solución de lisis de leucocitos, 10 μ L de solución de proteinasa K y 2 μ L de SDS al 20 % y se mezcló en vortex.
- 5.- Se incubó la mezcla por una hora a 65 °C agitando el preparado en vortex cada 10 minutos.
- 6.- Se agregó a la mezcla 30 μ L de Acetato de potasio (KAC), se mezcló levemente en vortex e incubó en hielo por 30 minutos.
- 7.- Se centrifugó a 13,000 rpm por 15 min y se pasó el sobrenadante a un tubo de serología nuevo usando micropipeta.
- 9.- Se agregó 200 μ L de isopropanol absoluto (frío), se invirtió el tubo diez veces, posteriormente se dejó precipitar toda la noche y se siguió el procedimiento al día siguiente.
- 10.- Se centrifugó a 13,000 rpm durante 15 min y se decantó.
- 11.- Se agregó 200 μ L de etanol al 70 % (frío), e invirtió el tubo diez veces.
- 12.- Se centrifugó a 13,000 rpm durante 5 min y se decantó.
- 13.- Se secó el pellet por 30 min en campana (se observó que no quedaran residuos de alcohol en las paredes o fondo del tubo).
- 15.- Se resuspendió el pellet en 50 μ L de solución de tris con EDTA pH 8.0 (TE), se invirtió el tubo diez veces y se dejó reposar 5 min a TA.

Soluciones a utilizar durante la extracción del ADN usando el protocolo 1.

Solución de lisis de eritrocitos:

Tris-HCl 10 mM pH 8.0.

Triton X-100 al 1 %.

Sacarosa al 11 %

Solución de lisis de leucocitos:

Tris-HCl 10 mM pH 8.0

NaCl 400 mM

EDTA 2 mM

Solución de proteinasa K

Proteinasa K 1 mg/mL

SDS al 1 %

EDTA 2 mM

Otras soluciones y reactivos empleados.

Solución de SDS al 20 %

Isopropanol absoluto.

Acetato de potasio (KAC) 3 M

Etanol al 70 %.

Protocolo 2.

- 1.- Se añadieron 300 μ L de buffer de extracción a la muestra de tejido o sangre (100 μ L), se cerró el tubo de 1.5 mL y se selló la tapa de cada tubo con Parafilm®.
- 2.- Se incubó en baño María por 1 hora a 65 °C.
- 3.- Se maceró con un pistilo o embolo de una jeringa de 3 mL. Se agitó la muestra en vortex por 5 segundos, se sellaron los tubos con Parafilm® y se colocaron nuevamente en baño maría toda la noche.
- 4.- Se centrifugaron las muestras a 14,000 rpm por 15 minutos. Se transfirió el sobrenadante a un tubo de 1.5 mL con 300 μ L de isopropanol.
- 5.- Se mezcló y dejó a TA por 10 minutos. Se centrifugó a 14,000 rpm por 20 minutos.
- 6.- Se decantó el sobrenadante.
- 7.- Se secó el pellet por 15-20 minutos y se resuspendió en 30 μ L de Buffer TE.

Soluciones a utilizar en el protocolo 2.

Buffer de extracción

200 mM TRIS-HCL PH 7.5

250 mM NaCl

25 mM EDTA

0.5 % SDS

Cuantificación y evaluación del ADN por espectrofotometría (Nanodrop®). Para la evaluación de la cantidad y pureza del ADN se utilizó un NanoDrop™ 2000 Thermo Fisher Scientific®. El NanoDrop® se estandarizó empleando TE como solución blanco, el brazo del equipo fue limpiado antes y después de la estandarización del equipo utilizando toallitas desechables sin pelusa. Una vez resuspendido el ADN se procedió a su evaluación colocando 1 µL de la muestra de ADN en el NanoDrop® y se tomó lectura de la relación A260/A280 de cada muestra (Alejos-Velázquez *et al.* 2014; Falcón y Valera, 2007).

Análisis de los datos obtenidos por espectrofotometría. Los datos obtenidos fueron evaluados por medio de estadística descriptiva, se obtuvieron medidas de tendencia central (media ± desviación estándar), rangos máximos y mínimos, ANOVA de un factor y prueba de comparación de medias mediante la prueba de diferencia mínima significativa, utilizando el programa estadístico IBM SPSS versión 22 (IBM Corporation, Armonk, NY).

Análisis de la calidad de las muestras de ADN obtenidas mediante PCR convencional. Para determinar la calidad de muestras de ADN obtenidas mediante ambos protocolos se analizaron ocho muestras provenientes de perros infectados por *Dirofilaria immitis*, las cuales habían sido determinadas en un estudio positivas a la infección, pero empleando diferente metodología de extracción de ADN de las muestras.

Se emplearon los cebadores DIDR F1 (5´AGT GCG AAT TGC AGA CGC ATT GAG3´) y DIDR R1 (3´AGC GGG TAA TCA CGA CTG AGT TGA 5´), los cuales han sido generados a partir de la región espaciadora transcrita 2 (ITS2) del ADN ribosomal de *D. immitis* y *A. reconditum* y amplifican a 542 pb para *D. immitis* (Rishniw *et al.*, 2006). Cada reacción de PCR fue realizada usando MgCl₂ a 1.5 mM, dNTPs 250 µM, Tris-HCl 20 mM (pH 8.4), KCl 50 mM, 2.5 U de *Taq* polimerasa y 2.5µl de solución de ADN en un volumen total de 25 µl. El procedimiento se inició con un paso de desnaturalización a 94 °C por 2 min y 32 ciclos de desnaturalización a 94 °C por

30 s, el tiempo de alineación fue de 30 s a 60 °C cuando se usaron los cebadores basados en ITS2. Posteriormente, una extensión de 30 s a 72 °C y una extensión final de 7 min a 72 °C (Torres-Chable *et al.*, 2018). La reacción se llevó a cabo en un termociclador SimpliAmp® Applied Biosystems (Thermo Fisher Scientific, USA). Los productos obtenidos de la PCR (10 µl), se examinaron en geles de agarosa y se compararon con un control positivo a *D. immitis* obtenido previamente en el Laboratorio de Enfermedades Tropicales y Transmitidas por Vectores de la DACA- UJAT.

RESULTADOS

Los resultados de la cantidad de ADN promedio en cada protocolo, la relación 260/280 y 260/230 para determinar la calidad del ADN obtenido se encuentran en el Cuadro 1. Puede apreciarse que en el protocolo de extracción 1 se obtuvo una mayor cantidad de ADN en comparación con el protocolo 2. Así también las medias obtenidas de las relaciones 260/280 y 260/230 fueron mejores para el protocolo de extracción 1.

Cuadro 1.- Evaluación de la cantidad y calidad del ADN obtenido en los protocolos evaluados.

VARIABLES	Protocolos	Media	DE	IC
ADN ng/ μ L	1	321.56	356.75	220.17- 422.94
	2	175.48	324.16	83.36 – 267.61
Relación 260/280	1	1.75	0.16	1.69 – 1.79
	2	1.20	0.17	1.14 – 1.24
Relación 260/230	1	2.14	0.42	2.02 – 2.27
	2	1.10	5.32	0.40 - 2.26

n= Número de muestras evaluadas (50). DE= Desviación estándar. IC= Intervalos de confianza.

Las tres variables evaluadas fueron sometidas a una prueba de normalidad mediante la prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov empleando el paquete estadístico SPSS. Los resultados de las tres variables presentaron un nivel de significancia menor a 0.05 (ADN $p= 0.0024$, Relación 260/280 $p= 0.0015$ y Relación 260/230 $p= 0.0020$) por tanto, la normalidad de los datos fue constatada y se procedió a realizar un análisis de varianza (ANOVA) de un factor. Los resultados del ANOVA pueden observarse en el Cuadro 2.

El análisis de varianza realizado muestra diferencias estadísticas entre los protocolos evaluados para las variables producción de ADN y para la relación 260/280, mientras que para la relación 260/230 no se observaron diferencias entre los protocolos.

Cuadro 2.- ANOVA de la cantidad y la calidad del ADN obtenido de dos protocolos basados en la técnica de Salting-Out.

VARIABLES	Suma de cuadrados	Grados de libertad	F	P
ADN	533425.73	1	4.59	0.03
Relación 260/280	7.56	1	264.73	0.0013

Relación 260/230 27.12

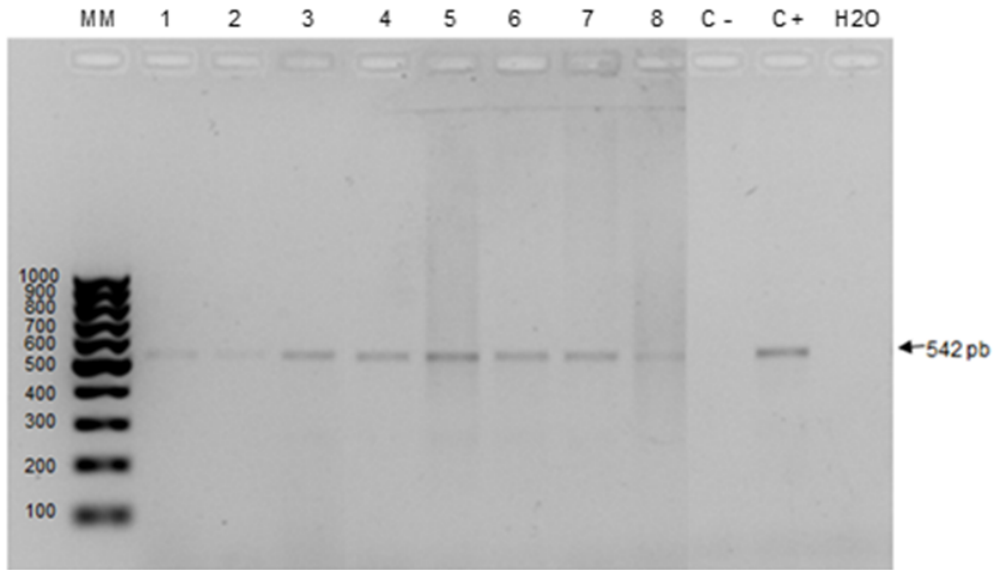
1

1.90

0.17

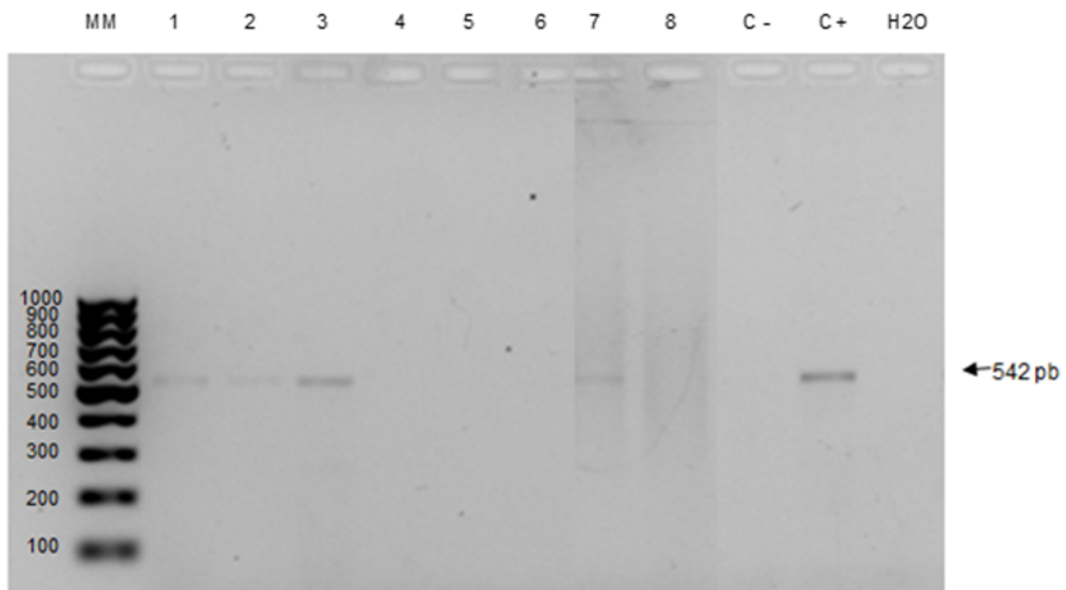
F: Valor del estadístico F de las medias. P: Valor de la significancia.

Durante la evaluación de las muestras de ADN obtenidas en ambos protocolos mediante PCR, se observó una marcada diferencia a favor del protocolo 1, ya que las ocho muestras de ADN positivas a *D. immitis* amplificaron sin mayor



problema empleando el protocolo 1. Sin embargo, solo cuatro de las ocho muestras extraídas empleando el protocolo 2 amplificaron adecuadamente como puede observarse en las Figuras 1 y 2.

Figura 1.- Productos de la PCR de perros positivos a *D. immitis* empleando los cebadores DIDR F1 y DIDR R1 y muestras de ADN extraídas mediante el protocolo 1 (Carriles 1 al



11). Se observa el amplicón esperado de 542 pb. CC- = Control negativo. CC+ = Control positivo. H₂O= Agua empleada para la reacción de PCR como control negativo interno. MM= Marcador de peso molecular Gene Ruler® 100pb DNA Ladder. Fermentas Life Sciences.

Figura 2.- Productos de la PCR de perros positivos a *D. immitis* empleando los cebadores DIDR F1 y DIDR R1 y muestras de ADN extraídas mediante el protocolo 2 (Carriles 1 al 8). Se observa el amplicón esperado de 542 pb. CC- = Control negativo. CC+ = Control positivo. H₂O= Agua empleada para la reacción de PCR como control negativo interno. MM= Marcador de peso molecular Gene Ruler® 100pb DNA Ladder. Fermentas Life Sciences.

DISCUSIÓN

Cuando se realiza la extracción de ácidos nucleicos a partir de una muestra biológica se busca obtener la mayor cantidad posible de ADN o ARN a partir de una muestra biológica (Falcón y Valera, 2007). Además, la técnica de extracción empleada debe ser capaz de brindar un ADN o ARN libre de impurezas (Shokrzadeh y Mohammadpour, 2018). Dentro de los principales contaminantes encontrados en una muestra de ADN recién obtenida se encuentran las proteínas y otros compuestos celulares como carbohidratos o lípidos provenientes de las membranas celulares, o bien sales o alcoholes provenientes de las soluciones de extracción (Shokrzadeh y Mohammadpour, 2018).

En los protocolos evaluados en el presente estudio puede observarse una mayor cantidad y pureza del ADN obtenido a partir del protocolo 1. En general, la cantidad de ADN obtenida en ambos protocolos fue menor a la obtenida por Samadi *et al.* (2011) empleando la combinación de sales y precipitación con cloroformo y alcohol isoamílico. Sin embargo, las medias de las relaciones 260/280 y 260/230 fueron similares a las obtenidas en el protocolo 1 del presente estudio. Así también, los resultados obtenidos en el protocolo 1 concuerdan con lo reportado por Río-Sánchez *et al.* (2016) quienes evaluaron un protocolo basado también en la técnica de salting-out y reportaron resultados similares en producción de ADN, así como en la relación 260/280.

Las diferencias entre el protocolo 1 y 2 del presente estudio se deben a los diferentes pasos y sales empleadas. El protocolo 1 implica un poco más de tiempo durante el procesamiento de las muestras en comparación con el protocolo 2. No obstante, la diferencia entre la cantidad de ADN puede deberse a que el paso con la solución de lisis de eritrocitos en el protocolo 1 fue repetido en tres ocasiones para eliminar la mayor cantidad de hemoglobina la cual puede ser un contaminante del ADN (sin embargo, esto hace un poco más laborioso el procedimiento). Así también, la adición de proteinasa K en el protocolo 1 contribuye a la degradación de proteínas capaces de contaminar el ADN que se extrae, lo cual ocasiona que la relación 260/280 de las muestras de ADN obtenidas disminuya su valor (Strauss, 1998). Sin embargo, es posible que en condiciones en las cuales no se cuente con reactivos como proteinasa K el protocolo 2 pueda ser empleado, aunque el uso del ADN obtenido mediante este protocolo deberá ser evaluado para poder ser usado en técnicas como la PCR, principalmente para evidenciar que la calidad sea suficiente para amplificar el fragmento de ADN que se desea evaluar. En ese sentido, se han detectado límites de detección empleando PCR convencional tan bajos como 5.3 pg equivalentes a 0.0053 ng (Chandrashekhar *et al.*, 2015) por lo que la cantidad de ADN obtenida en el protocolo 2 debería ser suficiente para amplificar el fragmento de ADN deseado mediante PCR convencional.

No obstante, al realizar PCR para amplificar un fragmento conocido del gen ITS2 de *D. immitis* en el presente estudio se observó que en las muestras de ADN provenientes del protocolo 2 contienen compuestos que interrumpen la reacción de PCR y, por tanto, no permiten la amplificación del fragmento esperado. En ese sentido este protocolo no es totalmente confiable para realizar técnicas moleculares como la PCR.

Los protocolos evaluados son relativamente rápidos de realizarse, baratos, técnicamente sencillos en su elaboración y no emplean sustancias tóxicas o mutagénicas. Adicionalmente, se ha comprobado en diversos estudios que esta

metodología es eficiente para obtener ADN capaz de ser empleado en estudios de genómica, tipificación y en estudios bioinformáticos (Suguna *et al.*, 2014; Chandrashekhar *et al.*, 2015; Río-Sánchez *et al.*, 2016).

CONCLUSIONES

Los protocolos evaluados presentaron diferencias estadísticas tanto en la cantidad como en la calidad del ADN recuperado. La cantidad y calidad del ADN obtenido de muestras de sangre entera de perros mediante el uso del protocolo 1 presentó la suficiente cantidad y calidad para ser empleado en diversas técnicas moleculares.

REFERENCIAS

- Alejos-Velázquez L, Aragón-Martínez M, Cornejo-Romero A: Extracción y purificación de ADN. Herramientas moleculares aplicadas en ecología Aspectos teóricos y prácticos. Editado por Cornejo-Romero A, Serrato-Díaz A, Rendón-Aguilar B, Rocha-Munive M. 1a ed. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC). Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I), 2014. pp. 27-52.
- Bokhari H: Exploitation of microbial forensics and nanotechnology for the monitoring of emerging pathogens, *Critical Reviews in Microbiology* 2018, 44:4, 504-52.
- Chandrashekhar KM, Isloor S, Veeresh BH, Hegde R, Rathnamma D, Murag S, Veeregowda BM, Upendra HA, Hegde NR. Limit of detection of genomic DNA by conventional PCR for estimating the load of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* associated with bovine mastitis. *Folia Microbiológica*, 2015, 60(6):465-472.

- Falcón L, Valera A: Las herramientas moleculares. *Ecología Molecular*. Editado por: Eguiarte L, Souza V, Aguirre X. México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad., 2007. pp. 499-516.
- Kramvis A, Bukofzer S, Kew MC: Comparison of hepatitis B virus DNA extractions from serum by the QIAamp Blood Kit, Gene Releaser, and the phenol-chloroform method. *Journal of Clinical Microbiology* 1996, 34:2731-3.
- Miller S, Dykes D, Polesky H: A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids research* 1988, 16:1215.
- Nasiri H, Forouzandeh M, Rasae MJ, Rahbarizadeh F: Modified salting-out method: high-yield, high-quality genomic DNA extraction from whole blood using laundry detergent. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2005, 19:229-32.
- Richardson RT, Bengtsson-Palme J, Gardiner MM, Johnson RM. A reference cytochrome c oxidase subunit I database curated for hierarchical classification of arthropod metabarcoding data. *Peer J*. 2018. 19p.
- Riera MA, Rojas ME, Zapata PD: Protocolo de extracción de DNA por salting-out para pequeños volúmenes de sangre. *Revista de Ciencia y Tecnología* 2010, 4-7.
- Ríos-Sánchez E, Calleros E, González-Zamora A, Rubio J, Martínez OC, Martínez A, Hernández S, Pérez-Morales R. Análisis comparativo de diferentes métodos de extracción de DNA y su eficiencia de genotipificación en población mexicana. *Acta Universitaria*, 26(4):56-65.

- Rishniw M, Barr SC, Simpson KW, et al: Discrimination between six species of canine microfilariae by a single polymerase chain reaction. *Veterinary Parasitology* 135:303-314, 2006.
- Samadi SS, Zununi VS, Soltanzad F, Kafil V, Barzegari A, Atashpaz S, Barar J. Highly effective DNA extraction method from fresh, frozen, dried and clotted blood samples. *BioImpacts* 2011, 1:(3)183–187.
- Shokrzadeh M, Mohammadpour A. Evaluation of a modified salt-out method for DNA extraction from whole blood lymphocytes: A simple and economical method for gene polymorphism. *Pharm Biomed Res* 2018, 4(2): 28-32.
- Strauss WM. Preparation of Genomic DNA from Mammalian Tissue. *Current Protocols in Molecular Biology* 1998, 42: 221-223.
- Suguna S, Nandal D, Kamble S, Bharatha A, Kunukulol R: Genomic DNA isolation from human whole blood samples by non enzymatic salting out method. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2014, 6:198-9.
- Torres-Chable OM, Baak-Baak CM, Cigarroa-Toledo N, Blitvich BJ, Brito-Argaez LG, Alvarado-Kantun YN, Zaragoza-Vera CV, Arjona-Jimenez G, Moreno-Perez LG, Medina-Perez P, Machain-Williams CI, Garcia-Rejon JE. Molecular detection of *Dirofilaria immitis* in dogs and mosquitoes in Tabasco, Mexico. *Journal of Vector Borne Diseases* 2018; 55:151-8.

RIQUEZA Y ABUNDANCIA DE ESCARABAJOS ESTERCOLEROS EN UN RANCHO BOVINO DE TABASCO

Guadalupe Calderon Rodriguez¹

Roger Ivan Rodriguez Vivas²

KarenRuiz-Jimenez¹

Jorge Alonso Peralta-Torres¹

Nadia Florencia Ojeda-Robertos^{1*}

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue estudiar la riqueza y abundancia de escarabajos coprófagos en época de Norte en un rancho bovino del estado de Tabasco. Se realizó un estudio observacional descriptivo prospectivo, en un rancho bovino de la región centro del Estado de Tabasco. Se realizaron visitas durante la época de lluvias, periodo que abarcó los meses de noviembre de 2018 a febrero de 2019, cada mes, se colectaron muestras cada 24 horas. Se utilizó un sistema de captura de escabajos mediante coprotrampas, las cuales permanecieron activas por un periodo de 48 horas. Se trazaron dos transeptos, con tres trampas cada una, para un total de seis coprotrampas. Se colectaron 131 ejemplares, pertenecientes a seis especies a la familia Scarabaeidae. Las especies más abundantes fueron *Digitonthophagus gazella* con el 72 %, seguido de la especie *Onthophagus batesi* (14 %), *Euoniticellus intermedius* (7 %), los cuales pertenecen a escarabajos con hábitos cavadoras. Las que presentaron menor abundancia fueron *Canthon* (*Glaphyrocantion*) *leechi*, es un escarabajo rodador (5 %), *Copris lugubris* (1 %) y *Onthophagus landolti* (1 %) los cuales tienen actividad cavadora. El presente estudio aporta información que puede ser utilizada para ampliar el

1 División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Km 25 Carr. Villahermosa-Teapa Ra. La Huasteca, 2ª sección, 86298, Centro, Tabasco, México.

2 Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Km 13.5 Carr. Mérida-Xmatkuil, CP. 97100, Yucatán, México.

*Autor de correspondencia: nojedar@hotmail.com

conocimiento de la estructura de la subfamilia Scarabaeinae y su relación e impacto con la ganadería bovina en el Estado de Tabasco.

Palabras clave: Diversidad, familia, coprófagos, ganadería, sustentabilidad.

INTRODUCCIÓN

La ganadería bovina extensiva y semi-intensiva se caracteriza por el uso de grandes extensiones de pastizales, introducidos o nativos; lo que origina que se sustituya la flora nativa, que, sin duda, conduce al cambio en la estructura poblacional de los organismos. En este sistema de producción coexisten organismos benéficos, tales como los escarabajos estercoleros, que utilizan las heces de herbívoros como fuente de alimento y materia para la construcción de nidos (Bishop *et al.*, 2005). La función ecológica de los escarabajos estercoleros es contribuir a la degradación del estiércol, realizando diversos servicios ecosistémicos entre los cuales encontramos el reciclaje de nutrientes del suelo, supresión de parásitos y control de plagas, diseminación de semillas, regulación de cadenas tróficas, además de ser considerados como indicadores de la transformación de hábitats (Nichols *et al.*, 2008).

Los escarabajos estercoleros remueven gran cantidad de tierra para introducir el estiércol en sus galerías, con lo que incrementan la permeabilidad y aireación del suelo, lo que se conoce como bioturbación; mejoran la calidad física del suelo y el rendimiento del pasto, pues al incorporar materia orgánica contenida en el estiércol, en particular el nitrógeno, se reduce su pérdida por evaporación, además de que se aprovechan los minerales que llegan al suelo. Asimismo, contribuyen a reducir la emisión de gas metano y, por lo tanto, el efecto invernadero y el cambio climático en nuestro planeta, ya que cuando el estiércol no es enterrado el gas metano que contiene es liberado a la atmósfera.

Los escarabajos estercoleros son insectos coleópteros que pertenecen a la familia Scarabaeidae, entre las subfamilias más importantes se encuentran:

Scarabaeinae, Aphodiinae y Geotrupinae de las cuales la primera es la más abundante y diversa (Pacho *et al.*, 2014). Existen 6,000 especies y 200 géneros de escarabajos estercoleros en el mundo, concentrándose una buena parte en la zona tropical con cerca de 1,300 especies y alrededor de 70 géneros (Halffter, 1991; Morón, 2003). En México existen reportadas 228 especies distribuidas en 25 géneros (Morón, 2003) que han sido descritas en los estados de Puebla, Veracruz, Chiapas, Campeche, Yucatán y Tabasco (Pacho *et al.*, 2014).

En estos insectos, se observa una diversidad de formas, tamaños y colores. Existen desde completamente negros hasta los más coloridos, opacos, brillantes o metálicos; y de talla pequeña, mediana y grande, a algunos se les puede identificar a simple vista, sin embargo, es necesario recurrir al uso de claves para identificar las especies de talla pequeña y determinar su riqueza y abundancia (número de individuos por especie) ya que de esta forma se mide la biodiversidad de un habitat.

En las zonas ganaderas, es importante describir la presencia de escarabajos estercoleros para conocer la riqueza, abundancia y distribución de estos organismos que son de gran beneficio para la reintegración de la materia orgánica al suelo de uso ganadero a través del año, ya que la riqueza y abundancia variará con la época de año, vegetación, tipo de suelo y presencia o ausencia de excretas de rumiantes.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo del presente trabajo fue describir la riqueza y abundancia de los escarabajos estercoleros en época de norte en un rancho bovino de la Huasteca Tabasco.

MATERIALES Y MÉTODO

Área de estudio. El estudio se realizó en el rancho bovino de doble propósito de la división Académica de Ciencias Agropecuarias, el cual está ubicado en la zona centro del estado de Tabasco. El clima de la región es cálido húmedo con lluvias durante el año, temperatura media anual de 27 °C, con mínima de 18.5 °C y máxima de 36 °C. El promedio de precipitación anual es de 2550 mm (De Dios-Vallejo, 2001).

Características de la unidad de producción. La función zootécnica de la unidad de producción es de doble propósito, en la que se crían bovinos de las razas *Bos indicus* y sus cruzas, entre las cuales están Holando-Cebú, Suizo y Simbrah. El sistema de producción del rancho se basa en pastoreo extensivo sin encierro en las noches. Las praderas están sembradas con pasto Cayman (*Brachiaria hybrido cv*), Mulato (*Brachiaria Híbrido* CIAT 36087), Remolino (*Paspalum notatum* Flüggé) y Egipto (*Dactyloctenium aegyptium* (L.) Willd. Con diferente grado de cobertura. Adicionalmente se les ofrece sal mineral y pasto de corte. El agua es suministrada a los animales en bebederos tipo pila.

El manejo sanitario de los animales, es proporcionado por un Médico veterinario Zootecnista, quien se encarga del manejo y aplicación de vacunas y desparasitaciones a los animales. El calendario de desparasitación de los animales, se basa en la aplicación de ivermectina externo e interno, dependiendo de la carga parasitaria animal y se aplica cada seis meses, Además se aplica amitraz en baños garrapaticidas por aspersion.

Diseño de muestreo. Se realizaron muestreos de los escarabajos cada 30 días durante un periodo de cuatro meses, de noviembre 2018 a febrero 2019, periodo que corresponde a la época de Nortes (De Dios- Vallejo, 2001). Los muestreos mensuales se realizaron durante dos días, para lo cual se trazaron dos transeptos con tres trampas cada uno (n=6). La separación entre cada trampa fue de 250

metros entre cada una y entre transeptos de 500 metros. Las trampas se georreferenciaron con el uso de GPS marca Garmin, modelo MAP 62sc.

Método de trampeo. Se utilizaron coprotrampas tipo pitfall o de caída libre, para lo cual primero, se ubicó el área y se limpió, posteriormente se cavaron huecos en el suelo con una profundidad de 30 cm y dentro de estos se colocó una bandeja con agua jabonosa, posteriormente, dentro de la bandeja se colocó un vaso con cebo de 200 g aproximadamente de excremento bovino fresco y se visitaron nuevamente al día siguiente para colectar los especímenes. Las trampas estuvieron activas durante un periodo de 48 horas, el cebo se repuso cada 24 horas.

Manejos de muestras. Los escarabajos estercoleros colectados por trampa y por día, fueron almacenados en frascos de vidrio con alcohol etílico al 70 % y posteriormente fueron trasladados al Laboratorio de Parasitología del Centro de investigaciones en Ciencias Agropecuarias, de la División Académica de Ciencias Agropecuarias para su posterior identificación.

Identificación taxonómica. La identificación a nivel de género y especie, se realizó en el Laboratorio de Parasitología de la Universidad Autónoma de Yucatán, para lo cual se utilizaron las claves descritas por Morrón (2003), Vaz-de-Mello *et al.* (2011) y Pacho-Avilés *et al.* (2014).

Análisis de datos. De cada coprotrampa (n=6) se obtuvo el número de individuos en cada día de muestreo (dos días) y para obtener el total de individuos colectados en el mes, se sumaron los escarabajos colectados en los dos días. Para obtener el número de individuos por mes (nov, dic, enero, febrero) se sumaron las seis trampas. Cada especie fue clasificada de acuerdo a la distribución espacial, temporal y por tamaño, reportadas en la literatura, obteniéndose la riqueza específica.

Adicionalmente, se obtuvo la abundancia por especie durante el periodo de estudio, para lo cual se calculó el porcentaje de individuos por cada especie mediante la fórmula:

Abundancia = Número de individuos por especie/total de individuos * 100.

RESULTADOS

Se recolectaron un total de 131 ejemplares durante el periodo de estudio, los cuales pertenecen a cinco géneros y a seis especies de la familia Scarabaeidae (Cuadro 1). Las especies identificadas fueron: *Digitonthophagus gazella*, *Onthophagus batesi*, *Euoniticellus intermedius*, *Canthon (Glaphyrocanthon) leechi*, *Copris lugubris* y *Onthophagus landolti*, las cuales variaron en número cada mes. El mes con mayor abundancia fue febrero y noviembre, seguidos de diciembre y enero (Cuadro 1).

La segregación espacial fue mayor para las especies cavadoras, ya que se encontraron cinco que pertenecen a esta clasificación que para las rodadoras en las que solo se encontró una especie con esta actividad (Cuadro 1). Para la segregación temporal, se determinó que la mayoría de los escarabajos colectados son diurnos (cuatro), encontrándose uno nocturno y uno crepuscular. Respecto al tamaño, la mayoría de los escarabajos identificados fueron de tamaño pequeño (tres especies), mediano (dos especies), y grande (una especie). Respecto a la formación de sus nidos, se encontró que cuatro especies son paracópridos, un endocóprido y un telecóprido. De estas especies, la más abundante durante el periodo de estudio fue *D. gazella* con el 72 %, seguido de la especie *O. batesi* (14 %), *E. intermedius* (7 %), las que presentaron menor abundancia fueron *C. leechi* (5 %), *C. lugubris* (1 %) y *O. landolti* (1 %) (Figura 1).

Cuadro 1. Especies y número de escarabajos de la subfamilia Scarabaeinae colectados en la época de norte (noviembre 2018 a febrero 2019) en un rancho bovino de la huasteca Tabasco.

Género/ Especies	Número de individuos por mes					Espacial	Temporal	Comportamiento reproductivo	Tamaño
	Nov	Dic	Ene	Feb	Abundancia				
Coprini									
Coprina									
<i>Copris lugubris</i> Boheman,1858	0	0	0	1	1	Cavador	Nocturno	Paracóprido	Grande
Canthonina									
<i>Canthon (Glaphyrocanton) leechi</i> Martínez,Halfpter y Halfpter 1964	2	5	0	0	7	Rodador	Diurno	Telocóprido	Pequeño
Oniticellini									
<i>Euoniticellus intermedius</i> Reiche,1849.	8	2	0	0	10	Cavador	Diurno	Endocòprido	Mediano
Onthophagini									
<i>Onthophagus landolti</i> Harol,1880	0	0	0	1	1	Cavador	Diurno	Paracóprido	Pequeño
<i>Onthophagus batesi</i> Howden & Cartwright,1964	0	8	4	6	18	Cavador	Crepuscular	Paracoprido	Pequeño
<i>Digitonthophagus gazella</i> Fabricius, 1787	30	2	1	61	94	Cavador	Diurno	Paracóprido	Mediano
Total de especímenes	40	17	5	69	131				

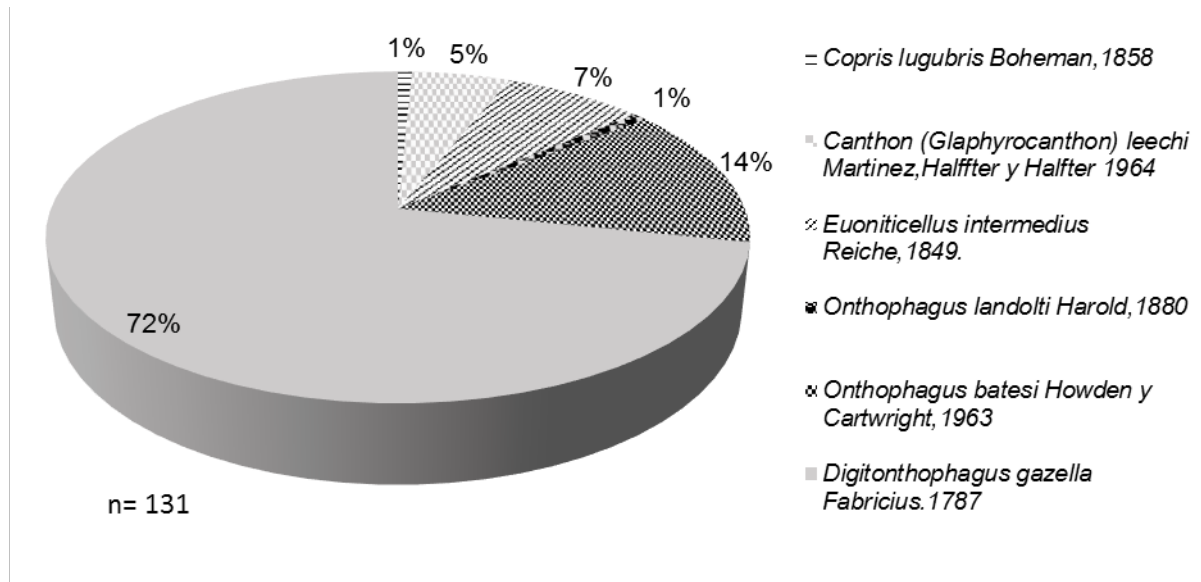


Figura 1. Riqueza y Abundancia de escarabajos estercoleros en un rancho bovino de la Huasteca, Tabasco.

DISCUSIÓN

Hasta donde se sabe la abundancia de escarabajos coprófagos de la subfamilia Scarabaeinae no ha sido estudiada en el estado de Tabasco, aunque se han encontrado guías, que reportan algunas especies de la familia en el Estado. En el presente estudio y durante el periodo de estudio, se colectaron 131 ejemplares en total, lo cual, es menor a lo reportado por Basto-Estrella (2012) y Reyes-Novelo (2007), quienes colectaron una mayor cantidad de especímenes en estudios realizados en el Estado de Yucatán.

Lo anterior, refleja una menor diversidad de escarabajos en el área de estudio, sin embargo y a pesar de que el trabajo se realizó en época de lluvias, existieron variaciones por mes de colecta y se determinó que la mayor abundancia de escarabajos fue febrero y noviembre (69 y 40 especímenes) seguidos de diciembre y enero (17 y 5).

Un factor importante que influye en la abundancia y riqueza poblacional, es la época del año ya que se sabe que existe efecto de la época sobre la actividad de

los escarabajos del estiércol, se ha demostrado relación entre la época de lluvias y la actividad y ciclo de vida de los escarabajos (Barraza *et al.*, 2010). En la época de secas, al endurecerse y compactarse el suelo, los escarabajos son incapaces de formar sus galerías en el suelo, lo cual repercute en la población.

Del total de especímenes colectados, la mayoría de las especies identificadas tienen actividad de cavadoras, diurnos y de tamaño pequeño, estas características, están relacionadas con la especie. Una de las características más importantes, es la formación de sus nidos para lo cual existe una clasificación dependiendo del comportamiento de la formación, en el presente trabajo se encontró que de las especies identificadas 4 son paracópridos, un endocóprido y un telecóprido.

De los especímenes colectados, se identificaron 4 géneros y 6 especies, la especie con mayor cantidad colectada fue el escarabajo *Digitonthophagus gazella*, seguida por *Onthophagus batesi*, *Euoniticellus intermedius*, *Canthon (Glaphyrocantón) leechi*, *Copris lugubris* y *Onthophagus landolti*. La proporción de especies de escarabajos puede variar de un estado a otro dependiendo de las características del suelo, ya que como reporta Basto-estrella (2012), y a diferencia de lo encontrado en el presente estudio, la autora reporta que la especie con mayor cantidad de especímenes colectados fué *O. landolti* con 61 %, siendo en este estudio la que se colectó en menor cantidad (1 %).

CONCLUSIONES

Se identificaron un total de seis especies de escarabajos coprófagos, todas de la subfamilia Scarabaeinae de la familia Scarabaeidae. Cabe destacar que en este estudio las especies con mayor abundancia fueron *D gazella* con el 72 %, seguido de la especie *O batesi* (14 %), *E intermedius* (7 %) y *C leechi*, (5 %),

Es importante continuar con este estudio a lo largo del año abarcando las diferentes épocas del año para seguramente ampliar la diversidad de especies

que se localizan en el área de estudio, así como entender mejor la función ecológica en el sistema de producción de la ganadería bovina en el Estado de Tabasco.

AGRADECIMIENTOS

A los Dres. Basto-Estrella Gertrudis y Reyes-Novelo Enrique por la ayuda para la identificación de los escarabajos. A Hernández-Hernandez Luis Ulises. A mis amigos (a) Jerónimo López Patricia, Caraveo Romero Karla A, Concepción Rubio Cecilia, Narváez Ballesteros Rosa I, Hernández Jiménez Cristóbal, Olan Guizar José E, por el trabajo de campo. Al director de la DACA por las facilidades para realizar el trabajo en los potreros de la división. A los laboratorios de parasitología de la DACA y UADY.

REFERENCIAS

- Barraza, M.J., Montes, F.J., Martínez, H.N., Deloya, C. (2010). Ensamblaje de escarabajos coprófagos (*Scarabaeidae: scarabaeinae*) del bosque tropical seco, Bahía Concha, Santa Marta (Colombia) *Revista Colombiana de Entomología*. 36: 285-291.
- Basto-Estrella, G.S., Rodríguez-Vivas, R.I., Delfin-Gonzales, H., Reyes-Novelo, E. (2012). Escarabajos estercoleros (*Coleoptera, Scarabaeinae*) de ranchos ganaderos de Yucatán, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 83:380-386.
- Bishop, A.L. McKenzie H.J., Spohr L.J., Barchia, I.M. (2005). Interactions between dung beetles (*Coleoptera: Scarabaeidae*) and the arbovirus vector *Culicoides brevitarsis* Kieffer (Diptera: Ceratopogonidae). *Australian Journal of Entomology*, 44:89-96.

- De Dios-Vallejo J (2001). El medio ambiente tropical. En Colección José N. Rovirosa (ed) Ecofisiología de los bovinos en sistemas de producción del trópico húmedo. UJAT, pp 17–39.
- Morón, M. A. (2003). Atlas de los escarabajos de México. Coleoptera: Lamellicornia, vol. 2. Familias Scarabaeidae, Trogidae, Passalidae y Lucanidae. Argania, Barcelona. p. 227.
- Nichols, E., S. Spector, J. Louzada, T. Larsen, S. Amezcuita, M.E. Favila. (2008), Ecological functions and ecosystem services provided by Scarabaeinae dung beetles. *Biological Conservation*. Volume 141, Issue 6, Pages 1461-1474.
- Pacho-Avilés, J., Rodríguez-Vivas, RI., Reyes-Novelo E. (2014). Catalogo y claves ilustradas de escarabajos coprófagos de Yucatán, México. Universidad Autónoma de Yucatán. 35 P.
- Reyes-Novelo, E. Delfín-Gonzalez H., Morron M.A. (2007). Copro-necrophagous beetle (*Coleoptera*, *Scarabaeidae*, *Scarabaeinae*) diversity in agroecosystem in Yucatan, Mexico. *Revista de Biología Tropical*. 55:83-99.
- Vaz-de-Mello, F. Z., W. D. Edmonds, F. C. Ocampo y P. Schoolmeesters. (2011). A multilingual key to the genera and subgenera of the subfamily Scarabaeinae of the New World (*Coleoptera*: *Scarabaeidae*). *Zootaxa* 2854:1-73.

CARACTERIZACIÓN DE UNIDADES DE PRODUCCIÓN PORCINA EN EL MUNICIPIO DE NACAJUCA, TABASCO, MÉXICO

*Sergio Isidro Landero Sánchez¹
Guadalupe Arjona Jiménez¹*

Luis Eliezer Cruz Bacab¹

Oswaldo Margarito Torres Chablé¹

Claudia Virginia Zaragoza Vera¹

RESUMEN

El objetivo fue caracterizar las unidades de producción porcina del municipio de Nacajuca Tabasco, para lo cual se visitaron 30 unidades de producción porcina del municipio. Los datos se recolectaron mediante la aplicación de una encuesta, donde se encontraron que los tipos de unidades de producción de mayor frecuencia es la de traspatio, en un 93 % (28), y un 7 % (2) en semi-intensivos. Además, que la utilización de fármacos y biológicos, como las vacunas que no aplican y el desparasitante de mayor utilidad es el Febendazol, seguido de la ivermectina.

INTRODUCCIÓN

La porcicultura representa la principal actividad pecuaria y fuente de proteína animal a nivel mundial, equivalente al 42 % de la producción total de carne en el mundo (Alonso y Rodríguez, 2016).

En México existen cerca de un millón de unidades de producción porcina, que se encargan de abastecer el mercado en el país; las unidades de producción porcina están categorizadas en base al nivel tecnológico en unidades de producción

¹ División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Km 25 Carr. Villahermosa-Teapa Ra. La Huasteca, 2ª sección, 86298, Centro, Tabasco, México.

* Autor de correspondencia: lupitarjona29@gmail.com

tecnificada, semi-tecnificada y de traspatio. Los dos primeros tienen una distribución geográfica definida, por el contrario, la unidad de traspatio se presenta en todos los Estados del país (Gutiérrez *et al.*, 2007). En el Estado de Tabasco en 2015, el inventario de cabezas porcinas a nivel nacional fue 257,863 porcinos (SIAP, 2016).

Debido a su producción y costumbres, el origen de gran parte de la población de cerdos existentes en el Estado de Tabasco, se cree que sigue siendo el sistema de traspatio el que más predomina, con animales derivados de varias cruces y sin asistencia técnica, dando como resultado crías de bajo peso y poco margen de utilidad. El medio de producción dominante son los traspacios de los hogares rurales en los cuales se utiliza una mínima infraestructura para control sanitario y alimentación. En Tabasco la porcicultura es básicamente para autoconsumo familiar, su engorda se lleva a cabo en los traspacios de las viviendas rurales sin tener un balance nutritivo y con nula asistencia técnica (Gutiérrez *et al.*, 2007).

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar los aspectos reproductivos, sanitarios, nutricionales, infraestructura y económicos de unidades de producción porcina en el municipio de Nacajuca, Tabasco.

MATERIALES Y MÉTODO

El presente trabajo se llevó a cabo en el municipio de Nacajuca que forma parte de la subregión centro, del estado de Tabasco, México. El cual está localizado al sureste de México, 18 °10` 07” y 93° 01` 12 “09, el clima tropical húmedo es una característica de la región. El municipio de Nacajuca tiene una temperatura media anual de 26.4 ° C siendo la máxima media mensual en mayo de 30.8 ° C y la mínima media en enero con 22.4 ° C, la máxima y la mínima absoluta alcanzan los 44 ° C y 12 ° C respectivamente (INEGI, 2018).

El diseño de muestreo seleccionado para este trabajo fue aleatorio simple, donde la población de estudio fue determinada por conveniencia de $n=30$. Una vez seleccionados los participantes, la recolección de datos se realizó mediante la aplicación de una encuesta y la entrevista aplicándose al propietario o encargado de la unidad de producción. Dicha encuesta estaba diseñada para obtener características informativas en las áreas de nutrición (tipo de alimento, frecuencia de alimentación), sanidad (frecuencia de desparasitación, vacunas), reproducción (forma de empadres, años de servicio), infraestructura y equipo (bebederos, comederos, techos, tipos de corrales), manejo (tipos de identificación), recursos humanos (grado de estudios, edad) y economía (inversión en medicación, alimento; finalidad de la crianza, precios de venta). Los datos se analizaron, a través de estadística descriptiva en el programa Excel® (Microsoft office®, 2010).

RESULTADOS

Manejo. Del total de unidades de producción porcina estudiadas en el municipio de Nacajuca, Tabasco, se encontró que el tipo de crianza y su manejo en general es determinante el sistema de traspatio con un 93 % (28) y un 7 % (2) semi-intensivo. En el manejo de las unidades de producción porcinas, se observó que el uso de identificación el 97 % (29) no identifican a sus animales y solo el 3 % (1) identifica y este lo realiza con arete de plástico; Del total de animales cuantificados en las dos zonas, $n= 358$; encontrándose divididos en reproductores el 22.3 % (80), engorda 7.2 % (25), lechones 62.2 % (223) y destete 8.3 % (30) (cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de animales en las Unidades de Producción Porcina, por sexo de Nacajuca, Tabasco.

	% por sexo		
	% General	HEMBRA	MACHO
REPRODUCTORES	22.3	85 (68)	15 (12)
ENGORDA	7.2	36 (9)	64 (16)
LECHONES	62.2	46 (103)	53.3 (119)
DESTETE	8.3	50 (15)	50 (15)

Reproducción y Genética: Las razas que se encontraron en las unidades de producción fueron Landrace 30 % (9), Yorkshire 13.3 % (4), Pietran 3.3 % (1), Duroc 6.7 % (2) y cruza de las anteriores en un 46.7 % (14). El 40 % (12) de las unidades de producción tiene semental propio, 40 % (12) rentan semental y el 20 % solo tiene animales de engorda por lo cual no requiere de semental. La vida útil de los sementales en promedio es de 1-2 años el 50 % (6); de 3-4 años el 41.6 % (5) y más de 5 años 8.4 % (1). Las hembras reproductoras el promedio de vida de servicio reproductivo es de 1-2 años 54 % (15), de 3-4 años 32 % (9) y más de 5 años el 14 % (4). Los partos por años reportado por los productores fueron de 2 partos por año. El número de lechones que nacen por partos de 4-8 (21 %), 9-12 lechones (61 %) y 13 a 14 lechones el 18 %.

Infraestructura y equipo: En la infraestructura de las unidades de producción porcina de Nacajuca Tabasco, se encontró que el 97 % (29) de los corrales son de concreto y el 3 % (1) de otros materiales, como tubos de fierro. En el caso de los pisos el 100 % de estos eran de concreto. Todos los corrales del municipio contaban con techos de los cuales el 97 % es de lámina de zinc y el 3 % de guano.

Los comederos en el 60 % (18) están hechos de concreto y el 17 % (5) se utiliza recipientes de plástico y el 23 % (7) le ofrece alimento en el piso. Los tipos de bebederos se encontraron que utilizan chupón en el 17 % (5), concreto 63 % (19) y plástico un 20 % (6).

Nutrición: La fuente de alimentación utilizada para las dos zonas fue alimento comercial en un 17 % (5) y alimentación mixta el 83 % (25) (alimento comercial,

desecho de cocina, maíz). En el ofrecimiento de la alimentación diaria de los animales de Nacajuca Tabasco el 67 % (20) ofrece 2 veces al día y el 33 % (10) ofrece 3 veces al día.

Sanidad: La sanidad animal en el municipio de Nacajuca, Tabasco, se encontró que las unidades de producción porcina se desparasitan en un 73 (22) % y el 27 % (8) no desparasitan. Los desparasitantes utilizados con mayor frecuencia son el Febendazol en un 64 % (14), Ivermectina en un 18 % (4), levamizol en un 14 % (3) y la utilización de alguna de las mezclas de los antes mencionados un 4 % (1).

Los intervalos de desparasitación fueron de 1-4 meses 17 % (4), de 5-6 meses 35 % (8) de 7-9 meses el 17 % (4) y 1 año el 31 % (7). En ninguna de las unidades de producción porcina se aplica algún tipo de calendario de vacunación. Los signos clínicos en general encontrados fueron, vómitos 6 %, diarreas 41 %, padecimientos pódales 19 %, dermatitis 6 %, traumatismo 12 % y anorexia 16 %, encontrándose en varias etapas fisiológicas de los animales; siendo los lechones los más afectados en un 52 %, seguido de las cerdas en un 45 % y solo un 3 % los sementales.

Los signos clínicos generales en cerdas adultas, fueron mastitis 84 %, abortos 8 %, momificaciones 8 %; la signología clínica en machos como orquitis, fue nula. Los signos clínicos en lechones encontrados fueron hernias en un 41 %, criptorquidismo 15 %, malformación 29 % y artritis 15 %. De las 29 unidades de producción que reportaron muertes, la causa mas común fue el aplastamiento en lechones en un 72 % (21), hipoglucemia/hipotermia 24 % (7) e inanición 4 % (1).

Recursos humanos: Los recursos humanos encontrados en las unidades de producción 40 % posee estudios de primaria, el 27 % secundaria, 20 % preparatoria y el 13 % de estos cuentan con una licenciatura, como Medico Veterinario Zootecnista, Maestro de secundaria e Ingeniería Química. El

promedio de edades de los productores resultó entre los 40 años, variando de los 26 a 65 años de edad. Los productores cuentan con ayudantes de los cuales el 36 % son hombres y el 64 % mujeres, solo 2 productores pagan salario de 600 pesos semanales al ayudante, quienes se encargan de la limpieza y alimentación.

Economía: La inversión para medicamentos al mes es de 0 -100 pesos 57 %, de 200-300 33 %, de 500-1000 7 % y mas de 1000 pesos el 3 %. El porcentaje de inversión al mes para alimentación de las pjaras, es de 500-700 pesos 27 %, 800 a 1000 40 % y más de 1000 pesos el 33 %. El propósito económico de las unidades de producción mostró que son para el autoconsumo en el 14 %, venta en pie 83 % y la venta de carne el 3 %, demostrando que la venta al destete es la de mayor auge, El precio de venta de los lechones reportado es de 600-700 pesos en un 15 % y de 800-1000 pesos el 85 %.

DISCUSIÓN

Araque en (2009), describe que la Crianza semi-tecnificada en los cerdos se encuentran limitados en espacios pequeños; esto quiere decir que todos están confinados en corrales con métodos moderados de crianza. Esto coincide con lo encontrado en las zonas de estudio del municipio de Nacajuca, Tabasco, donde la mayoría de las unidades de producción los tienen en confinamiento en el traspatio de su casa y los productores les brindan las necesidades básicas para su desarrollo. La crianza de traspatio resulta económica por los escasos recursos empleados y la poca utilización de mano de obra. No se requiere de mano de obra calificada y tienen poca productividad (Ballina, 2010). El presente estudio del municipio de Nacajuca, Tabasco, el tipo de crianza y su manejo en general, es determinante en el sistema de traspatio, sin embargo, no se coincide con lo descrito por Ballina (2010), debido que en la actualidad los cerdos ya no deambulan libremente, estos se encuentran alojados en pequeños corrales de distintos materiales y métodos de crianzas con el mínimo manejo y la inversión en instalación. Perezgrovas en (2007), describe que en muchas granjas no se

llevan registros, por lo que se desconocen los niveles de producción tanto reproductivos como productivos y como identificación más común es el uso de aretes de plástico con números consecutivos; o bien por medio de muescas que se hacen al nacer; Según Losada en (2011), reporta que los productores de porcino, 80 % no lleva registro, además de no utilizar algún tipo de identificación, mientras que el 20 % lleva un registro de su producción; en comparación con el presente estudio, se mostró que los resultados coinciden con este último donde los productores no llevan algún tipo de registro.

En un trabajo realizado en Lima, Perú, se menciona que los animales fueron agrupados en 4 categorías: lechones, engorda, cerdas y sementales (Lazo, 2017), recalando que son los ciclos productivos de esta especie, coincidiendo con lo descrito en los resultados del presente trabajo, donde se reporta que los ciclos productivos son similares.

En cuanto a las razas en el presente estudio se describió que están compuestas por Landrace, Yorkshire, Pietran, Duroc y Cruzas de las anteriores coincidiendo con Losada en (2011), quien menciona que los productores prefieren utilizar cruza (híbridos), principalmente Yorkshire-Landrace/Pietrain y Yorkshire-Landrace/Duroc. Mientras que Rivera *et al.* (2015), en la ciudad de México, reportó que el 81 % de los productores optó por las razas puras conformadas por animales Landrace, Pietran y Yorkshire y el 19 % de cruza, siendo mayor el porcentaje de razas puras.

Según Lazo (2017), en la proliferación de las piaras los sementales forman parte fundamental para su crecimiento. Refiere que el 26 % es alquilado, el 72 % tienen al verraco propio; mientras el 2 % no utiliza verraco y compra semen; además señala que a las cerdas las tienen produciendo durante 2.5-3.5 años en un 72 %, mientras el 28 % las mantiene produciendo durante 3.5-4.5 años. En comparación con el presente estudio, se reportó que hay una preferencia por utilizar la monta directa; y los partos en la mayoría de las unidades de

producción son de 2 por año, de igual forma Lazo (2017), describe que la edad de producción y los partos por año, es de 2 partos al año en el 53 %, el 33 % tiene 2.5 partos y el 15 % 3 partos por año. El número de lechones reportados en este trabajo, sobresalió de 9 a 12 lechones; de esta forma coincide con Losada (2011), con un promedio de 12 lechones nacidos en cada parto por hembra.

En instalaciones en un estudio en Perú, mostró que el 15 % tenía cerco de cemento, el 70 % de madera, el 4 % de piedra, el 1 % de cemento con fierro, el 2 % de cemento con madera y el 8 % de fierro; el piso el 22 % es de cemento, el 6 % de cemento y tierra; y el 72 % de tierra; El 14 % tenía techo de lámina, el 3 % de lámina con costal, el 69 % de costal, el 8 % de madera y el 6 % de tela; los comederos el 18 % eran de cemento, el 3 % de cemento y llantas, el 5 % cemento y plancha galvanizada, el 28 % de llanta y el 44 % de madera; en los bebederos el 20 % utilizaba chupones, el 45 % tiene llantas y el 35 % de madera (Lazo, 2017). En otro estudio hecho por Morales *et al.* (2014), describe que los corrales están hechos de madera en un 93.5 % y otros materiales 6.5 %; Los pisos son de tierra 53.2 %, cemento 25.5 %, tierra y cemento 21.3 %; Los comederos de madera en un 36.2 %, llanta 23.4 %, cemento y madera 17 %, cemento 10.6 %, llanta y madera 8.5 %, otros combinados 4.2 %; Los bebederos de madera 44.4 %, no tiene 40 %, llanta 6.7 %, otros combinados 8.8 %. En comparación con el presente estudio, se muestran que los corrales son de concreto y de otros materiales, como tubos de fierro, los pisos de concreto, los corrales cuentan con techos de láminas de zinc y techo de guano, hay comederos de concreto ó utilizan recipientes de plástico y otros ofrecen alimento en el piso, los tipos de bebederos encontrados fueron chupón, concreto y plástico; estos resultados no coinciden con Lazo, (2017) y Morales *et al.* (2014) debido a que no hay tanta variedad en los materiales de construcción, tipos de bebederos y comederos.

En el estudio hecho en Lima, Perú, señalan que la alimentación de cerdos el 3 % recibe alimento concentrado, el 14 % recibe alimentación mixta y el 83 % recibe solo restos de comida (Lazo, 2017). En otro estudio realizado en la ciudad de

México, se menciona que la alimentación de los cerdos está basada en el uso de alimento balanceado 10 %, tortilla dura 23 %, desperdicios orgánicos de la casa/restaurante 20 % y subproductos (vísceras de pollo y sangre) 14 % (Rivera et al., 2015). Otro estudio hecho por Morales et al. (2014), describe que el alimento proporcionado a los cerdos se basa en concentrado con 4.2 %, con resto de comida 72.9 % y 22.9 % recibe alimentación mixta. En comparación con los estudios anteriores y el presente se describe que los productores alimentan a sus animales con alimento comercial y alimentación mixta (alimento comercial, desecho de cocina, maíz), coincidiendo con lo reportado anteriormente por otros autores.

Lazo (2017), menciona que el 100 % desparasita y aplica alguna vacuna a sus animales. En comparación con el presente estudio, se reporta, que es alto el índice de productores que desparasita, sin embargo, para el caso de la vacunación es nulo en estas unidades de producción, siendo los fármacos más utilizados para desparasitar el Fenbendazol, Levamizol e Ivermectina. En un estudio hecho en la zona metropolitana de la Ciudad de México, reportan que la mayor parte de las unidades de producción el 80 %, de los animales presentan signos clínicos, siendo los más relevantes los respiratorios, mientras que los digestivos (diarreas) ocupan el 20 % (Losada, 2011). En otro estudio, el 52 % indicó que el problema más frecuente era la diarrea y el 38 % tos, en un menor porcentaje 1 % indicó lesiones en la piel, el 1 % refirió tener otro tipo de problema sanitario (Lazo, 2017). En otro estudio, Rivera et al. (2007) reportan que los signos respiratorios fueron considerados los de mayor importancia con el 62 % de los propietarios mientras que los digestivos se presentan en menor proporción 20 %, así como las lesiones físicas externas en un 4 %. En comparación con el municipio de Nacajuca, Tabasco, algunos signos clínicos coinciden con los estudios anteriores el cual fueron; vómitos, diarreas, signos pódales, dermatitis, traumatismo y anorexia. Estos signos clínicos se encontraron en varias etapas fisiológicas, como cerdas reproductoras, sementales y lechones.

En el estudio realizado por Lazo (2017) señaló que los niveles de escolaridad de los encuestados el 34 % había culminado la educación primaria, el 59% la educación secundaria y el 3 % no recibió educación alguna. En otro estudio en la ciudad de México el nivel de educación incluyó estudios de primaria con el 26.6 %, secundaria con el 46.6 % y preparatoria con el 6.8 %, el resto reportó no haber terminado la primaria 47 % (Rivera *et al.*, 2015). En el estudio hecho por Morales *et al.* (2014) describe en el apartado de educación de los productores, el 51 % tenía educación primaria, 27.5 % secundaria, 15.7 % superior y una parte de los encuestados no contestó la pregunta. En comparación con los dueños de las unidades de producción del municipio de Nacajuca Tabasco, el porcentaje más alto se indicó en los productores con estudios de primaria, coincidiendo con Morales *et al.* (2014), y se describe que el porcentaje restante lo ocupan los estudios de secundaria, preparatoria y universidad, entre los que destacan Médico Veterinario Zootecnista, Maestro de Secundaria e Ingeniero Químico. Según Morales *et al.*, (2014) la edad promedio de los productores es de 51.3 años (rangos de 19 a 74 años). Otro estudio, la edad del encuestado fueron agrupadas en 3 categorías. El 7 % eran personas entre 10-30 años, el 68 % eran personas entre 31-60 años y el 25 % eran personas entre 61-90 años, la edad promedio es de 51 años, siendo la edad máxima 81 años y la menor 16 años (Lazo, 2017). En comparación con el presente estudio, la edad promedio de los productores no coincide con los estudios anteriores ya que el promedio de edades de los productores resulto ser los 40 años, variando desde los 26 a 65 años de edad. Mutua *et al.* (2011), señala que las personas encargadas de realizar las tareas diarias (como alimentar a los animales y limpiar los corrales), son menores de 30 años en un 56 %, de las cuales el 69 % eran mujeres. En otro estudio, el 70 % de los casos, el dueño es el que se encarga del cuidado de los animales, mientras que 30 % se apoya con trabajadores (Losada, 2011). Otro estudio demuestra que, respecto al sexo del encuestado, el 57 % eran hombres y el 43 % mujeres (Lazo, 2017). Comparando con el presente estudio se señala que los productores cuentan con ayudantes quienes en menor porcentaje son hombres y en su

mayoría son mujeres, de esta forma coincide con los reportado por Mutua *et al.* (2011), siendo las mujeres las dedicadas a esta actividad. Solo dos productores reportados en este estudio señalan que pagan salario semanal al ayudante, quien realiza la limpieza y alimentación de los cerdos, esto es mínimo en comparación con lo reportado por Losada (2011).

En el estudio hecho en Perú señalan que la inversión de dinero reportada para la alimentación de los animales al día fue en promedio de 24 ± 19.4 soles (equivaliendo 144.72 a 116.98 pesos mexicanos al día), invirtiendo al mes \$ 3,509.4 (Morales *et al.*, 2014). Comparado el municipio de Nacajuca Tabasco, las cantidades que se invierten al mes oscilan entre \$500 a 1000; siendo menor la cifra en comparación que las reportadas en Perú. Losada en (2011), menciona que el principal lugar en el que los productores venden a los animales, ya sea a intermediarios o clientes particulares, es en la casa, 40 % o al pie de granja 30 %; el 10 % los vende en el rastro y directamente al carnicero en un 10 %. En el estudio hecho por Lazo en (2017) el 44% indicó que eran para venta, mientras el 56 % para venta y consumo propio. En comparación, la finalidad económica de las unidades de producción, muestra que los productores contemplan el autoconsumo, la venta de carne y la venta en pie, siendo esta ultima la más reportada en el municipio no coincidiendo con lo reportado por los autores anteriores, debido a que ellos refieren que el autoconsumo es el mayor beneficio de la crianza.

En el estudio hecho en Perú, la compra de los cerdos el 12 % lo realiza mediante la conformación física del animal, el 63 % lo realiza al “ojo” y el 25 % determina el precio mediante el pesado de animales (Lazo, 2017). Otro estudio menciona que los animales para engorda (lechones), son adquiridos de 20 Kg en 40 dólares (809.2 pesos mexicanos) (Rivera *et al.*, 2015). Philipps en (2013), menciona el precio de los animales varió de acuerdo al peso y la edad de estos; los lechones fueron vendidos en un rango de entre 20.000 y 40.000 pesos chilenos por animal (equivaliendo 609.28 a 1,218.55 pesos mexicanos). En comparación, el precio de

venta de lechones en las unidades de producción porcina del municipio de Nacajuca Tabasco, coincide con el estudio de Philipps en (2013), en el precio de venta de 600 a 1000 pesos mexicanos

CONCLUSIONES

La porcicultura del municipio de Nacajuca Tabasco, se comprobó que es una práctica pecuaria muy limitada y esta es basada en la crianza tradicional, por ende la unidad de traspatio es la predominante.

Se pudo observar que en el manejo y la infraestructura hay mejoras en pocas escalas como el confinamiento en pequeños corrales que permiten a la producción tener un mejor rendimiento; sin embargo, en la parte sanitaria y económica por lo aquí reportado es necesario establecer mínimas en la parte sanitaria. A pesar de que la producción porcina en el estado de Tabasco está por debajo de otros estados y las condiciones críticas del país afectan a esta actividad, es necesario con los resultados aquí mencionados.

REFERENCIAS

Alonso P.F.A y Rodríguez D J. E, 2016. La Carne de Cerdo en el Mundo y las Importaciones y Exportaciones del Producto por México. Los Porcicultores y su entorno 18 (110), pp 64-74.

Araque H. 2009. Sistemas de producción de cerdo. Recuperado el 11 de marzo de 2017.
http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Clase_VII.pdf.

Ballina G.B.A. 2010. Manejo sanitario eficiente de los cerdos. Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria e Instituto Nacional Tecnológico. Recuperado el 11 de marzo de 2017, de <https://goo.gl/u2I1dz>.

- Gutiérrez R. E. J, Aranda C. FJ, Rodríguez V. RI, Bolio G. ME, Ramírez G S y Estrella T.J. 2012. factores sociales de la crianza de animales de traspatio en Yucatán, México. *Bioagrocencias*. Vol. 5 no 1. pp. 21-26.
- Gutiérrez C. S. González G. R. Calzada R. M. A, Ruiz R. J. M, Reyes M. F. 2007. Diagnostico pecuario de las zonas tropicales de México. La porcicultura en México y alternativas para el trópico, Universidad Autónoma Chapingo, Centro Regional Universitario del Sureste. pp. 31- 42.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI. 2018. Obtenido de <http://cuentame.inegi.org.mx>
- Losada N. 2011. Costos de producción y evaluación del impacto de diversos insumos sobre la rentabilidad de unidades productoras de cerdos de traspatio en la zona metropolitana de la Ciudad de México [tesis de licenciatura]. México, DF: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Lazo N. J. M. 2017. “Caracterización de la crianza porcina de traspatio en el distrito de San Antonio - Huarochirí “. Tesis para obtener el Título Profesional de Médica Veterinaria. Universidad Ricardo Palma. Facultad de Ciencias Biológicas. Escuela Profesional de Ciencias Veterinarias. Lima, Perú 2017.pp. 28-33.
- Morales R, Rebatta M, Lucas J, Mateo J, Ramos D. 2014. Caracterización de la crianza no tecnificada de cerdos en el parque porcino del distrito de Villa el Salvador, Lima-Perú. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia. pp. 39-44.
- Perezgrovas G.R. 2007. Cría de cerdos autóctonos en comunidades indígenas. Barrio de Fátima, San Cristobal de las Casas, Chiapas, México: Universidad Autónoma de Chiapas-Instituto de Estudios Índigenas, Centro Universitario Campus III. 87-120.

- Philipps R. A. S. 2013. Caracterización de sistemas productivos de traspatio que mantienen aves y cerdos, en la región del libertador general Bernardo O'Higgins y riesgo asociado a la mantención y diseminación de agentes transmisibles. Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias, Mención Medicina Preventiva Animal. Universidad de Chile Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Escuela de postgrado y postítulo. pp. 43.
- Rivera J, Losada H, Cortes J, Grande D, Vieyra J, Castillo A, González RO. 2007. Cerdos de traspatio como estrategia para aliviar pobreza en dos municipios conurbados al oriente de la Ciudad de México [en línea]. *Livestock Research for Rural Development*.
- Rivera J., Méndez F.; Puebla H.; Nicolás; Herrera J.; Licea G.& Martínez M. 2015. B3-144 Sistemas de producción de cerdos urbanos de traspatio al oriente del Valle de México. Memorias del V Congreso Latinoamericano de Agroecología. Archivo digital: descarga y online isbn 978-950-34-1265-7. pp. 1-4.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2016. Población ganadera porcina.

Wilfrido Miguel Contreras Sánchez
Secretario de Investigación, Posgrado y Vinculación

Pablo Marín Olán
Director de Difusión, Divulgación Científica y Tecnológica

Francisco Cubas Jiménez
Jefe del Departamento Editorial de Publicaciones No Periódicas

